

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Slavica S. VUJOVIĆ

**PREDIKTIVNI ZNAČAJ PLAZMA
PROTEINA A VEZANOG ZA TRUDNOĆU
I SLOBODNOG HUMANOG
HORIJSKOG GONADOTROPINA ZA
TOK I ISHOD TRUDNOĆE**

DOKTORSKA DISERTACIJA

BEOGRAD, 2014.

UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF MEDICINE

Slavica S. VUJOVIĆ

**PREDICTIVE VALUE OF PREGNANCY
ASSOCIATED PROTEIN A AND FREE
HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN
IN MATERNAL AND FETAL
COMPLICATIONS**

DOCTORAL DISSERTATION

BELGRADE, 2014.

MENTOR:

Prof. dr Milan Terzić, redovni profesor na katedri za ginekologiju i akušerstvo, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.

KOMENTOR:

Prof. dr Aleksandra Isaković, vanredni profesor na katedri za medicinsku biohemiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.

ČLANOVI KOMISIJE:

1. Prof.dr Milica Berisavac, profesor u penziji, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
2. Prof.dr Oliver Stoviojčić, Institut za sudsku medicinu, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. Prof. dr Olivera Kontić-Vučinić, katedra za ginekologiju i akušerstvo, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

DATUM ODBRANE:

*Mojim Nadji i Maksimu
koji svemu daju pravi smisao*

ZAHVALNICA

Eksperimentalni dio ove disertacije realizovan je na Poliklinici Umberto I Univerziteta "La Sapienza" u Rimu.

Posebnu zahvalnost želim da uputim mom mentoru, prof. dr Milanu Terziću, prije svega što je prihvatio mentorstvo nad ovim radom i ukazao mi povjerenje i slobodu u kreiranju same teze. Neizmjereno sam mu zahvalna na nesebičnoj podršci, razumijevanju i nadasve iskrenom bodrenju, posebno u trenucima kada bi se pojavljivale poteškoće. Ne mogu, a da ne iskažem duboku zahvalnost na srdačnoj saradnji kao i za strpljenje i razumijevanje kada je za tehničke stvari tokom realizacije ovog rada trebalo odvojiti neracionalno puno vremena. Želim istaći da mi posebno zadovoljstvo i čast čini njegov potpis na ovom radu.

Iskrenu zahvalnost dugujem prof. Aleksandri Isakovaić na korisnim savjetima i sugestijama, a prvenstveno za predusretljivost, ekspeditivnost i ljubaznost koji su mi ulivali dodatni podsticaj i odgovornost.

Posebno zadovoljstvo mi predstavlja dugogodišnja saradnja sa dragim prof. dr Oliverom Stojkovićem koja datira još od vremena mojih postdiplomskih studija. On je zaslužan za moju vjeru da sve stvari, koliko god djelovale nepremostive, imaju rešenje. Zbog njega vjerujem da je u poslu kojim se bavimo uvijek moguće realizovati prave ideje. Srećna sam što sam upoznala takvog čovjeka i saradnika. Hvala mu na svemu u ovih proteklih petnaestak godina. Hvala mu što je „kriv“ za moju vezanost za institucije i ljude od ugleda i značaja koji su obogatili moju biografiju.

Neizmjernu zahvalnost dugujem mom divnom prof. dr Alessandru Pali sa Univerziteta „La Sapienza“ u Rimu koji je učinio da budem uvijek radovidjen "gost" prvo u laboratoriji na čijem je čelu, a potom i na čitavoj Poliklinici Umberto I.

Zahvalnost dugujem srdačnom i prijateljskom osoblju Laboratorije za dijagnostiku polnih hormona, kao i osoblju Laboratorije za citogenetiku na Odjeljenju za ginekologiju, obstetrik i perinatologiju Poliklinike Umberto I, koji su svaki moj dan u Rimu činili prijatnim i bili puni razumijevanja i strpljenja za moj istarživački rad. Posebnu zahvalnost dugujem dr Alessi-i Papi koja je tada bila na svom specijalističkom stažu i u svakom trenutku bila moja iskrena podrška koja mi je u tim danima, u zemlji u kojoj sam bila stranac, puno značila.

Zahvalna sam mojim dragim kolegama i prijateljima sa Studijskog programa za biologiju sa PMF u Podgorici na ukazanom povjerenju kao i podršci i bodrenju tokom realizacije ove disertacije.

Posebno, sentimentalnu, zahvalnost dugujem mojoj porodici, osobito mom suprugu, koji su imali razumijevanja i strpljenja sve vrijeme mog usavršavanja i ako ponekad na njihovu štetu. Iz današnje perspektive sam posebno svjesna suludosti preseljenja mojih najdražih u cilju realizacije ove doktorske disertacije i njihove podrške i za takve „avanture“. Na tome sam im nizrecivo zahvalna. Znam da vrijeme ne mogu vratiti i osjećam se krivcem za trenutke koje sam krala od njih i sebično dala nauči. Nadam se da ću nadoknaditi sve što sam im uskratila.

Mojim dragim roditeljima, osim zahvalnosti, želim reći da bez njihove pomoći, sigurno, ne bih uspjela!

SLAVICA VUJOVIĆ

REZIME

Biohemijska analiza seruma trudnice u svrhu dijagnostike Daunovog sindroma i oštećenja neuralne cijevi postala je sastavni dio svake moderno organizovane prenatalne brige. Primjena ovog neinvazivnog testa osim nesumnjive koristi u detekciji pomenutih poremećaja, sve više se čini da je korisna u kliničkoj procjeni ugroženosti ploda i trudnice.

Brojne su komplikacije trudnoće koje se mogu klinički otkriti tek u kasnom drugom ili trećem tromjesečju kada je moguće samo uočiti, ali ne više i otkloniti posledice. U praksi nedostaju testovi koju mogu predskazati neke od važnih komplikacija tokom kasne trudnoće. Zato je cilj ovog rada bio utvrditi eventualne kliničke vrijednosti negativnog nalaza biohemijskog testa izbora za Dunov sindrom; analizirati njegove izolovane nalaze povišenih odnosno sniženih vrijednosti slobodnog β hCG-a kao i PAPP-A kao predskazatelje toka trudnoće i perinatalnog ishoda.

Ispitivanje je izvršeno na uzorku od 700 trudnica. Iz studije su isključeni svi slučajevi hromozomopatija ploda, višeplođnih trudnoća, trudnice sa hroničnim oboljenjima, izvršena analiza broja prethodnih trudnoća, abortusa i starosne dobi trudnica kako bi se utvrdili mogući ograničavajući faktori važni za analizu postavljenu kao osnovni cilj ovog rada.

Zapaženo je da su povećane vrijednosti slobodnog β -hCG u prvom tromjesečju trudnoće kod slučajeva intrauterine retardacije rasta kao i kod nulipara i većinom kod mlađih trudnica, dok su niže vrijednosti izolovanih nalaza ovog parametra zapaženi kod trudnica sa gestacijskim dijabetesom. Postoji pozitivna korelacija između povišenih nivoa PAPP-A u prvom tromjesečju trudnoće i krajnje

težine pri rođenju. Niže koncentracije PAPP-A u toku prva dva tromjesečja trudnoće povezane su sa ranijim započinjanjem spontanog porođaja u terminu za porođaj, kao i sa intrauterinom retardacijom rasta i gestacijskim dijabetesom.

Hormonski testovi sa ciljem procjene rizika i predviđanja ishoda gestacijskih bolesti mogu dati relevantne informacije lekaru, ako se interpretiraju pažljivo. Neinvazivna metoda biohemijskog izbora za Daunov sindrom nakon isključenja fetalnih hromozomopatija i malformacija koristan je test u smislu kliničke procjene toka i ishoda trudnoće kao neonatalnog statusa. U svakom slučaju, ovi podaci ukazuju na veliko buduće polje razvoja za kliničke implikacije placentarnih hormona i signalnih faktora koji daju informaciju o fetusu i majci i naročito odražavaju genetske, vaskularne, infektivne ili metaboličke poremećaje koji se mogu javiti u toku trudnoće.

Ključne riječi: *β hCG, PAPP-A, prevremeni porođaj, mala porođajna težina, gestacijski dijabetes, PIH, IUGR*

SUMMARY

Biochemical analysis of maternal serum for the purpose of diagnosis of Down's syndrome and neural tube defects has become an integral part of every modern organized prenatal care. The application of this noninvasive test unless undoubted benefit in the detection of these disorders, the more it seems to be useful in the clinical assessment of vulnerability of the fetus and the pregnant woman.

Numerous complications of pregnancy that can be clinically detected only in the late second or third trimester when it can only be seen, but no more and eliminate the consequences. In practice, missing tests that can predict some of the major complications in late pregnancy. The aim of this study was to determine the potential clinical value of negative results of biochemical test of choice for Down's syndrome analyze its isolated are elevated or reduced levels of free β hCG's and PAPP-A as predictors to pregnancy and perinatal outcomes.

This research was conducted on sample of 700 pregnant women. Were excluded from the study all cases of fetal chromosomal abnormalities, multiple pregnancies, pregnant women with chronic diseases, the analysis of the number of previous pregnancies, abortions and age of pregnant women in order to identify possible limiting factors are important for the analysis of the set as a main goal of this paper.

There was a higher levels of free β -hCG in the first trimester of pregnancy in cases of intrauterine growth retardation and in nulliparous and mostly in young pregnant women, while lower values of isolated findings of this parameter observed in pregnant women with gestational diabetes. There is a positive correlation between elevated levels of PAPP-A in the first trimester and final weight at birth.

Lower concentrations of PAPP-A during the first two trimesters of pregnancy are associated with an earlier beginning of spontaneous delivery at term delivery, as well as intrauterine growth retardation and gestational diabetes.

Hormonal tests to assess the risk and predicting the outcome of gestational diseases may provide relevant information to the doctor, if interpreted carefully. Non-invasive biochemical method of choice for Down's syndrome after exclusion of fetal malformations and chromosomal abnormalities is a useful test in terms of clinical assessment of outcome of pregnancy a neonatal status. In any case, these data indicate a major field development for future clinical implications of placental hormones and signaling factors that give information about the fetus and the mother, and in particular reflect genetic, vascular, infectious or metabolic disorders that can occur during pregnancy.

Key words: *β hCG, PAPP-A, preterm delivery, gestational diabetes, PIH, IUGR*

SADRŽAJ

Poglavlje 1. UVOD	1
1.1. Humani horionski gonadotropin (hCG)	4
1.2. Plazma-protein A vezan za trudnoću (PAPP-A)	5
1.2.1. Struktura PAPP-A	6
1.2.2. Kompleks PAPP-A/proMBP	8
1.2.3. Sinteza PAPP-A	9
1.2.4. Funkcija PAPP-A	11
1.2.5. PAPP-A u trudnoći	12
1.3. Ograničenja u rastu fetusa (Fetal Growth Restriction – FGR)	13
1.3.1. Endokrini aspekt FGR-a	15
1.3.1.1. hCG	15
1.3.1.2. Faktori rasta i insulinu slični faktori rasta (GH i IGF-ovi)	16
1.4. Preeklempsija	18
1.4.1. Endokrini aspekt preeklempsije	19
1.4.1.1. hCG	20
1.4.2. Kombinovani hormonski testovi za predviđanje rizika od nastanka preeklempsije	21
1.5. Šećerna bolest u trudnoći (gestacijski dijabetes)	22
1.5.1. Endokrini aspekt dijabetesa kod majke i fetalne makrosomije	23
1.5.1.1. Somatotropni hormoni	23
1.5.1.2. Drugi placentalni hormoni	24
1.6. Prevremeni porođaj	25
1.7. Uzroci male tjelesne težine u ranoj trudnoći	26
Poglavlje 2. CILJ	28
Poglavlje 3. ISPITANICE I METODE	30
3.1 Princip ASSAY-a za slobodan hCG β (ELISA)	32
3.2. Princip ASSAY-a za PAPP-A (ELISA)	33
3.3. Izvor podataka i jedinice posmatranja u istraživanju	34
3.3.1. Modeli podataka u istraživanju	34
3.3.2. Obrada podataka	35
Poglavlje 4. REZULTATI	38
4.1 Analiza rezultata poređenih u odnosu na kontrolnu grupu	44
4.2 Analiza parametara grupe trudnica sa zabilježenom intrauterinim zaostajanjem u rastu (IUGR)	48
4.3 Analiza rezultata prevremenih porođaja	53
4.4. Analiza parametara po grupama broja prethodnih abortusa	59
4.5 Analiza rezultata prema broju prethodnih porođaja	61
4.6 Analiza parametara u grupi trudnica sa hipertenzijom koja je izazvana trudnoćom (PIH)	65
4.7. Analiza parametara u odnosu na porođajne težine	71
4.8. Analiza parametara u odnosu na gestacijski dijabetes	74
4.9. Analiza uticaja prevremenih porođaja na porođajnu težinu	80
4.10. Analiza parametara u odnosu na starosno doba trudnica	81
4.10.1 Rezultati analize porođajnih težina u odnosu na starosnu dob trudnice ..	85

<i>4.11 Rezultati uticaja komplikacija u trudnoći na porođajne težine</i>	87
<i>4.12 Uticaj starosne dobi na komplikacije u trudnoći</i>	92
<i>4.13 Analiza rezultata biohemijskih parametara PAPP-A MoM i slobodnog βhCG MoM</i>	93
<i>4.14 Analiza rezultata nenumeričkih obilježja kontrolne i ispitivanih grupe</i>	98
<i>Poglavlje 5. DISKUSIJA</i>	104
<i>Poglavlje 6. ZAKLJUČCI</i>	121
<i>Poglavlje 7. LITERATURA</i>	123

1. UVOD

Nauka zapravo postaje interesantna tek tamo gdje ona prestaje.

Justus Fon Libig

Život čovjeka ne počinje rođenjem. Njegov normalan razvoj traje 280 dana prije dolaska na svijet. Bazična i klinička istraživanja embrionalnog i fetalnog razdoblja donose sve više spoznaja o životu u uterusu. Fetus počinje postupno obavljati mnoge životno važne fiziološke funkcije i postaje sve manje zavisn o svojoj majci. Ljudsko biće počinje razvijati i individualnost u ranoj fazi svog postojanja. Dolazak na svijet je dakle nastavak, a ne početak priče o životu čovjeka (1).

Širok spektar hormonskih promjena doprinosi fiziološkoj adaptaciji majke u toku gestacije. Ravnoteža tečnosti, krvnog pritiska, varenja, disanja, metabolizma energije i minerala, imunskog odgovora, i nekoliko bihevioralnih funkcija su reprogramirane u toku trudnoće i modulirane hormonskim promjenama, od vrlo rane gestacije do porođaja kao i nakon toga (2). Ove hormonske promjene se razlikuju u patološkim trudnoćama i mogu biti praćene radi dijagnoze ili predviđanja rizika od gestacijskih bolesti, uzimajući u obzir i hormonske nivoe i prethodne faktore rizika kod majke.

Intrauterusna tkiva (placenta, amnion, horion, decidua) imaju hormone i citokine (3) koji igraju odlučujuću ulogu u fiziološkom odnosu između fetusa i majke, u reprogramiranju endokrinog sistema majke, i u mehanizmima za signalizaciju koji određuju vrijeme parturicije, tj. porođaja (4-9). Nivo informacija u vezi sa placentalnim hormonima se povećao zadnjih nekoliko godina i imao je veliki uticaj na prepoznavanje sistema gestacijskih poremećaja. Istovremeno,

najnovije analize su sada postale dostupne i dozvolile su preciznu provjeru nekoliko placentalnih hormona u cirkulaciji majke i fetusa kao i u amnionskoj tečnosti. Kao prirodna posledica ovih dostignuća, placentalni hormoni su ispitivani kao biohemijski markeri gestacijskih bolesti.

Pretjerano oslobađanje nekih placentalnih hormona u vezi sa gestacijskim bolestima može biti dio adaptivne reakcije placente i fetalnih membrana na nepovoljne uslove u okolini, kao što su hipertenzija, hipoksija i infekcija, ili malformacije fetusa i placente. Visoke koncentracije ovih hormona u perifernoj krvi majke, u krvi fetusa (vrpca), i u amnionskoj tečnosti, klinički su dostupni znaci povećane hormonske sinteze. Neurohormoni i steroidi imaju više endokrinih osobina i mjerljivi su u serumu, pljuvački ili urinu majke, dok su faktori rasta i citokini više izmijenjeni u vrpčanom serumu i amnionskoj tečnosti, vjerovatno zbog adaptivne reakcije fetusa. Ove hormonske promjene su vjerovatno nespecifični funkcionalni pratioci strukturnih promjena kao što su proliferacija trofoblastnih ćelija i povećana istaknutost stroma resica (3).

Potencijalni problem u izvođenju zaključaka iz rezultata epidemioloških studija i njihovoj primjeni na kliničku praksu je da „normalne“ hormonske koncentracije mogu da se mijenjaju od jedne populacije do druge i takođe iz nedelje u nedelju gestacije. Ovaj problem je srećom prevaziđen uvođenjem multipli medijana (MoM) zdravih osoba, kao jedinice za konvertovanje hormonskih koncentracija i računanje devijacija više i manje u odnosu na normalnu medijanu.

Neinvazivni program prenatalnog izbora za Daunov sindrom započinje 1970. godine mjerenjem alfa-fetoproteina (AFP) u serumu trudnica (4). Već je tada uočeno da su povećane vrijednosti MS-AFP (maternal serum-AFP) povezane sa oštećenjem neuralne cijevi kao i malformacijama gastrointestinalnog trakta fetusa. Uočeno je takođe da se uz povišene vrijednosti MS-AFP češće dijagnosticiraju intrauterin zastoj u rastu, prevremeni porođaj i fetalna i neonatalna smrt (10,11). Kasnih osamdesetih i ranih devedesetih godina započinje izbor za trizomiju 21 i ostale hromozomske abnormalnosti određivanjem vrijednosti humanog horionskog gonadotropina (hCG) ili slobodnog β -hCG (12-15).

Već u ranom periodu primjene perinatalnog izbora publikovane su mnoge studije o povezanosti povišenih vrijednosti hCG i slobodnog β -hCG i prenatalne ugroženosti kakva se već opažala kod povišenih vrijednosti AFP u majčinom serumu (15, 16-22).

Današnja nastojanja idu u smislu „pomjeranja“ prenatalnog biohemijskog izbora za Down-ov sindrom iz drugog u prvo tromjesečje trudnoće. Tako je 1997. godine grupa autora s *Royal College of Obstetricians and Gynaecologist* preporučila prenatalni biohemijski test izbora za Down-ov sindrom između 9. i 13. nedjelje gestacije (23). Kao vrlo koristan serumski marker prvog tromjesečja navodi se *pregnancy associated plasma protein-A* (PAPP-A) plazma protein vezan za trudnoću-A, a ističe se i važnost njegovog mjerenja u kombinaciji sa slobodnim β -hCG (24-29). Uočeno je da pomenuta kombinacija serumskih markera ima jednaku dijagnostičku pouzdanost kao i prenatalni biohemijski odabir u drugom tromjesečju (30-32). Prednost je naravno, u ranijem dobijanju nalaza što omogućava raniju primjenu invazivnih dijagnostičkih postupaka i prekid trudnoće u slučajevima lošeg nalaza. Posebno se, zadnjih godina, u svrhu detekcije trizomije 21 tokom prvog tromjesečja, uz serumske markere kao što su PAPP-A i slobodni β -hCG, mjeri i nuhalni nabor za koga se smatra da je najbolji ultrazvučni marker trizomije 21 (8-10,33).

Prema nekim radovima, prenatalni test izbora za Down-ov sindrom i oštećenje neuralne cijevi, osim što ukazuje na rizik za aneuploidiju i određene malformacije ploda, potencijalni je pretskazatelj kasnijih komplikacija trudnoće (34,35). Zadnjih nekoliko godina zapaženo je da uz povećane vrijednosti hCG ili slobodnog β -hCG u drugom tromjesečju trudnoće češće dolazi do ugroženosti ploda u smislu spontanog pobačaja, prevremenog obublivanja posteljice, hipertenzije/preeklampsije (36-40). Da bi pomenuti biohemijski markeri imali veću prognostičku vrijednost u navedenom smislu, potrebno je tačno odrediti gestaciju, te isključiti višeploidnu trudnoću, hromozomopatije i dijabetes (24,25,30,41-43).

1.1. HUMANI HORMONSKI GONADOTROPIN (hCG)

hCG je glikoprotein koji se sastoji od dvije nekovalentno vezane podjedinice, α i β , koga proizvode sincitiotrofoblastne ćelije placente. hCG u serumu majke ima najveću vrijednost u 8-10. nedelji i onda opada i dostiže plato u 18-20. nedelji gestacije. Pet molekula povezanih sa hCG su prisutni u serumu majke: "nonnicked" hCG koji predstavlja aktivni hormon; hCG kome nedostaje peptidna veza (nicked hCG); slobodna α -subjedinica; slobodna β -subjedinica; i slobodna β -jedinica kojoj nedostaje peptidna veza (32-34). Slobodna β -jedinica se može dobiti iz tri izvora, tj. direktnom produkcijom trofoblastnih ćelija, disocijacijom hCG-a u slobodne α -subjedinice i β -subjedinice i tako što će enzimi makrofaga ili neutrofilni enzimi osloboditi hCG molekul (35). Slobodni β -hCG koji cirkuliše u serumu majke čini samo oko 0.3-4% ukupnog hCG (36,37).

Barros i saradnici su 2006. (38) ukazali na povećan nivo hCG-a u majčinom serumu kod trudnoća sa Daunovim sindromom, i od tada se hCG uključuje u većinu programa testiranja (38, 39). Zaista, nivoi hCG-a u majčinom serumu u drugom tromjesečju su značajno viši kod slučajeva Daunovog sindroma u poređenju sa normalnim trudnoćama, sa prosječno 2.00 MoM (38, 40, 41).

Istraživanja na nivou molekularne biologije su pokazala da kod trizomije 21 trofoblasti pokazuju značajan porast β -hCG mRNK i manje povećanje α -hCG mRNK, što dovodi do zaključka da je jedan od uzroka visokih nivoa hCG-a u serumu majke povećana proizvodnja i sekrecija hCG-a od strane placente (44). Ova istraživanja su potvrđena relativnom nezrelošću placente, koja nastavlja da izlučuje veliku količinu hCG-a kao u prvom tromjesečju (45). Štaviše, genetičko mapiranje je pokazalo da se geni α -podjedinice i geni β -podjedinice hCG-a ne nalaze na hromozomu 21, ali se nalaze na hromozomima 6 i 19 (46,47), iako oni mogu biti eksprimirani putem različitih mehanizama (48).

Do drugog tromjesečja, hCG u serumu majke i slobodni β -hCG su najosjetljiviji pojedinačni analiti u testiranju na Daunov sindrom (38,41,43). Prava prednost upotrebe slobodnog β -hCG umjesto čitavog molekula je još uvijek pitanje oko koga se vode debate (43). Nekoliko grupa istraživača se zalažu da slobodna β -podjedinica hCG-a može uvećati procenat otkrivanja Daunovog sindroma,

zahvaljujući većoj razlici u koncentracijama na medijanu u trudnoćama koje imaju ovaj sindrom i onim koje ga nemaju (37,41,43). Ova ispitivanja nisu bila potvrđena od strane drugih grupa autora (42,46). Moguće objašnjenje za ove razlike možda leži u nekom aspektu procesa skladištenja seruma majke (42).

Nivoi slobodnog β -hCG u majčinom serumu u prvom tromjesečju su značajno povećani kod trudnoća sa Daunovim sindromom (48-50). što je činjenica koja može opravdati pomjeranje testiranja sa drugog na prvo tromjesečje. Testiranje koje bi bilo efikasno u prihvatljivim granicama se može obavljati još između 9. i 15. nedelje gestacije (49). Izgleda da mjerenje slobodne β -podjedinice daje bolje rezultate mjerenja u prvom tromjesečju u poređenju sa mjerenjem ukupnog hCG-a (49,51,52), iako su oba tipa mjerenja u značajnoj korelaciji (50).

1.2. PLAZMA-PROTEIN A VEZAN ZA TRUDNOĆU (PAPP-A)

Brzo posle opisa i izolacije PAPP-A su obavljene prve kliničke studije sa ciljem da se odredi njegova klinička korisnost kao indeks placentalne funkcije i njegova prediktivna vrijednost kada su u pitanju ishodi trudnoća kojima prijeti prekid, ektopičnih trudnoća i drugih bolesti u trudnoći. Od 1990. naročito se razvio interes za određivanje PAPP-A u vezi sa testiranjem na Daunov sindrom u prva tri mjeseca trudnoće.

Već odavno je poznato da humana placenta proizvodi dosta različitih proteina u toku trudnoće, koji se ne pojavljuju ili se pojavljuju samo u tragovima u serumima negravidnih žena . Uz dobro poznate hormone kao što su humani horionski gonadotropin (HCG) i humani placentalni laktogen (HPL), u toku poslednjih nekoliko decenija otkriveni su i drugi proteini. Jedan od njih je plazma protein A vezan za trudnoću (PAPP-A). Iz seruma trudnica, prvi su ga izdvojili, zajedno sa ostalim sa trudnoćom vezanim plazma proteinima B, C i D, Lyon i njegovi saradnici 1974 (17). Preliminarna ispitivanja mjerenja PAPP-A u kasnoj trudnoći su dovela do optimističnih zaključaka, naročito u vezi sa predviđanjem pojave različitih akušerskih abnormalnosti, ali kasnije je interes za PAPP-A opao. Novi period istraživanja vezanih za PAPP-A se javio posle publikacije Bukowskog

i saradnika (8), koji su objavili da se smanjeni nivoi ovog proteina javljaju u trudnoćama sa Daunovim sindromom.

PAPP-A je glikoprotein od 750-kDa, kojeg specifično proizvode ćelije trofoblasta. Zbog toga se, dakle, može naći u plazmi samo kod trudnica, ali ne i kod žena koje nisu trudne i muškaraca (8). Sastoji se od četiri podjedinice od kojih se samo dvije nalaze isključivo u PAPP-A (12).

Nivoi PAPP-A u serumu majke se otkrivaju još u 8. nedelji gestacije nakon čega se povećavaju kroz trudnoću (17). Kao što su prvi primjetili Bukowski i saradnici (8), nivoi PAPP-A u serumu majke, kada se mjere između 8. i 13. nedelje gestacije, su značajno smanjeni u trudnoćama sa Daunovim sindromom, prosječno ga ima 2.5 puta manje (17). Interesantno je da se nivoi PAPP-A u majčinom serumu vraćaju u domen normalnih vrijednosti između 17. i 19. nedelje gestacije (22,23).

1.2.1. Struktura plazma proteina A vezanog za trudnoću (PAPP-A)

PAPP-A je homotetrametrički glikoprotein velike molekularne težine od oko 750-820 kDa sa izoelektričnom tačkom $pI = 4.4$ (8,17) Posle otkrića PAPP-A od strane Bukowskog i saradnika (8) kasnija purifikacija i karakterizacija sastojaka plazme trudnica je pokazala da je PAPP-A makromolekularni glikoprotein (Mr 800 kDa) dimerne strukture, a svaki monomer se sastoji od dvije očigledno identične podjedinice sa molekularnom težinom od 200 kDa.

Dokazano je da PAPP-A postoji u serumu trudnica kao heterotetrametički 2:2 kompleks sa proformom eozinofilnog glavnog osnovnog proteina (proMBP), od otprilike 500 kDa, i taj se kompleks zove PAPP-A/proMBP (12). Kod negravidnih žena se PAPP-A nalazi kao homodimer od 400 kDa (17).

PAPP-A gen je lociran na humanom hromozomu 9q33.1 (14). Sekvenca aminokiselina PAPP-A je određena kroz parcijalno proteinsko sekvenciranje i kroz sekvenciranje klonirane cDNK (12,14).

cDNK sekvenca PAPP-A pokazuje da se njegova forma u serumu dobija od preproteina sa navodnim signalnim peptidom od 22 rezidue i pro-sekvencom od 58 rezidua. Zreli polipeptid PAPP-A sadrži 1547 aminokiselinskih rezidua i 14 navodnih mjesta N-glikolizacije koja su sva vjerovatno zauzeta (aktivna). Opisano je sedam serinskih (Ser) rezidua koje navodno služe za vezivanje glikozaminoglikana. PAPP-A podjedinica sadrži 82 polucisteinske rezidue koje su sve premošćene. Cisteinske (Cys) rezidue su grupisane u nekoliko relativno velikih grupa (klastera) koje čine strukturalni domen (15-17).

PAPP-A pripada metcinkovoj superfamiliji metaloproteinaza (12). Ova superfamilija uključuje 4 familije cink peptidaza sa članovima koji su i prokarioti i eukarioti – aktacini, reprotizini, seralizini i metaloproteinaze matriksa (MMP) koje se nazivaju i matriksini. PAPP-A se može smatrati prvim članom nove metcinkove familije, pod imenom papalizini. Osim cink-vezujućeg motiva, svi članovi imaju dobro sačuvanu metionin reziduu kao dio superimposable „Met turn“, koja se smatra važnom za integritet aktivnog mjesta. Zna se da svi domeni metcinkovih katalita imaju istu osnovnu arhitekturu od pet β -niti (β -strand) koje čine jedan β -list (β -sheet), i tri α -heliksa. Aktivno mjesto se nalazi duž ivice spoljašnje niti β -lista u prostoru između dva polu-domena (22).

Molekul PAPP-A ima sekvence motiva koji su tipični za metcinkovu superfamiliju metaloproteinaza, ali se razlikuje u nekoliko aspekata od prethodno klasifikovana 4 člana te porodice.

Navodno Zn^{2+} vezivno mjesto, koje je pronađeno u PAPP-A molekulu, je veoma slično aktivnom mjestu Zn^{2+} matriks metaloproteinaza, i dosta slično aktivnim mjestima nađenim kod drugih metaloproteinaza (17). Interesantno je da u molekulu PAPP-A linerna distanca između cink motiva i sačuvane Met rezidue iznosi 63 aminokiseline, dok je kod drugih metcinkina ova distanca kraća – između 7 i 44 rezidue (14).

Uz izduženi cink-vezujući motiv, C-terminalni kraj PAPP-A ima pet motiva od približno 60 rezidua, koje su slične sa kratkim ponavljajućim konsenzus sekvencama (engl. short consensus repeats, SCR), ponovcima. Proteini koji imaju SRC obuhvataju tri klase proteina u plazmi i plazma membrani. Klasa I SCR

uključuje sistem komplemenata. Klasa II SCR uključuje selektine. PAPP-A se razlikuje od ove dvije klase i zbog toga se definiše kao klasa III (17).

Molekul PAPP-A sadrži tri motiva od približno 26 rezidua koji su slični sa „lin noč“ motivima ponavljanja (eng. lin-notch repeats, LNR). Ovi motivi su slični LNR koji je nađen u nekoliko proizvoda homeotskih gena za regulaciju diferencijacije ranog tkiva (50).

2001. godine opisana je i sekundarna struktura PAPP-A (50). Elementi sekundarne strukture – 5 β -niti (S1-S5) i tri α -heliksa (HA-HC), koji su karakteristični za sve metcinkine, su opisani kao proteolitski domen PAPP-A. Osim toga, za ova tri elementa, α -helikse H-i, H-ii, H-iii, se smatra da su umetnuti između S2 i S3, S3 i S4, i S4 i S5. H-ii i H-iii heliksi nisu primijećeni kod poznatih metcinkina.

U organizmu, PAPP-A se uglavnom izlučuje kao aktivna proteinaza u unutarćelijski prostor. Neka mjesta PAPP-A polipeptida, vjerovatno na C-terminalnoj strani proteolitskog domena, mogu biti važna za odgovarajuće savijanje i sekreciju (37).

1.2.2. Kompleks PAPP-A/proMBP

Cirkulišući PAPP-A je kompleks sa proformom eozinofilnog glavnog osnovnog proteina (proMBP) koji je povezan disulfidnim mostom (50).

Konstituent cirkulišuće PAPP-A je MBP koji nastaje obradom od 222 rezidua preproMBP, i sadrži signalni peptid od 15 ili 16 rezidua. Proforma MBP koja se sastoji od 207 rezidua se obrađuje kako bi se dobila zrela MBP koja ima 117 rezidua. Proforma je kisjela ($pI = 4.0$), veoma heterogeno glikolizirana, a sa druge strane, MBP je vrlo bazan ($pI = 11$) i nije glikoliziran (37,39,50). ProMBP je manje toksična od zrelog MBP-a, koji je citotoksičan za ćelije sisara. Ima višestruke uloge u funkciji efektoru u ćelijama sisara i može izazvati oštećenje tkiva ako se udruži sa eozinofilnim infiltratima. MBP je najzastupljenija komponenta u specifičnim granulama eozinofilnih leukocita. Ona sačinjava više

od 50% proteinskog sadržaja granula u eozionofilnim leukocitima, iz koje se oslobađa degranulacijom. Proforma MBP se dakle sintetiše od strane placente i izlučuje u cirkulaciju majke (15,19).

Serum trudnica sadrži molarni višak proMBP-a u poređenju sa PAPP-A (37). ProMBP ne ulazi u kompleks samo sa PAPP-A, nego i sa angiotenzinogenom koji proizvodi placenta i komplementom C3 dg, koji je jaki imunomodulator (17,19). Asocijacija PAPP-A i proMBP se realizuje u cirkulaciji kroz formaciju disulfidnog mosta (21). ProMBP sadrži slobodne cisteinske SH-grupe, a mehanizam kompleksne formacije uključuje razmjenu tiolsulfida sa jednim ili više posebno izloženih PAPP-A disulfidnih mostova (21). Kovalentni kompleks PAPP-A/proMBP se mora formirati u ekstracelularnom prostoru posle sekrecije, jer se, u placenti, PAPP-A i proMBP ne proizvode u istom tipu ćelija. O'Reilly-Green i saradnici (34) su pretpostavili da formacija ovog kompleksa zahtijeva specifičnu interakciju između ova dva proteina. Međutim, nije neophodno da proMBP bude u specifičnoj interakciji sa aktivnim mjestom PAPP-A, sve dok IGFBP-4 nije u mogućnosti da dođe do njega zbog sterične prepreke ili zbog alosterične promjene u konformaciji PAPP-A do koje dovodi proMBP. Dokazano je da je disulfidno vezivanje cisteinskih rezidua u proMBP i PAPP-A blizu aktivnog mjesta u primarnoj strukturi, tako da je model koji se zasniva na steričnoj prepenci prihvatljiv. Specifična interakcija između jedne cisteinske rezidue proMBP i cink atoma aktivnog mjesta PAPP-A se takođe može uzeti u obzir kao mogući inhibitorni mehanizam. Ovo može biti slično mehanizmu zamjene propeptidnih cisteina (propeptide cysteine switch mechanism) koji je poznat kod drugih metcinkina (34).

1.2.3. Sintaza PAPP-A

In situ hibridizacijom je dokazano da je glavno mjesto sinteze i PAPP-A i proMBP u toku trudnoće placenta. I ekspresije PAPP-A i proMBP gena su među najzastupljenijim u placenti. PAPP-A iRNK je lokalizovana na sincitiotrofoblastima i septalnim X ćelijama koje se dobijaju od trofoblasta, dok se proMBP iRNK nalazi na samo placentnim X ćelijama (9,12). Odnos između

specifične zastupljenosti između proMBP i PAPP-A iRNK u placenti se mijenja u toku trudnoće: nivoi obje iRNK su niži u prvom tromjesečju nego u završnom periodu, nivoi PAPP-A iRNK se povećavaju relativno više nego nivoi proMBP-ove (17). Ovaj podatak se slaže sa vrijednošću molarnog odnosa u nivoima proMBP i PAPP-A u serumu. Desetostruko je više proMBP u prvom tromjesečju, a četverostruko više u trećem tromjesečju (14).

Analize su pokazale da su i PAPP-A iRNK i proMBP iRNK prisutne u nekoliko reproduktivnih i nereproduktivnih tkiva, iako su njihovi nivoi tamo mnogo niži od onih u placenti. Niske količine iRNK u neplacentalnim tkivima se reflektuju u veoma niskim koncentracijama proteina PAPP-A i proMBP u serumu muškaraca i negravidnih žena (18,37) PAPP-A iRNK i proMBP iRNK se proizvode u ženskim reproduktivnim tkivima, tj. u placenti, ali i jajnicima, jajovodima, edometriju i miometriju kod žena u postmenopauzi. Sinteza oba proteina se dešava i u nereproduktivnim tkivima, tj. u bubrezima, debelom crijevu, ćelijama koštane srži, grudima i karcinomu dojki. Sekretija PAPP-A je dokazana i kod osteoblasta i u koštanim stromalnim ćelijama, kod granuloznih ćelija i vaskularnih ćelija glatkih mišića, i sve ove ćelije su IGF-zavisne od aktivnosti proteinaze IGFBP-4 (17).

Manje specifična imunohistohemijska ispitivanja zasnovana na tehnikama koje koriste poliklonalna antitijela, otkrivaju različite tipove PAPP-A reaktivnih ćelija. Pozitivnost na PAPP-A obuhvata tri različita tipa specijalizovanih ćelija mezenhinskog porijekla: endokrine ćelije, hepatocite, i hematopoetske ćelije. Pozitivne epitelijalne ćelije se nalaze i u digestivnom i urogenitalnom traktu. Lejdig ćelija pokazuje najjaču i najkonzistentniju imunohistohemijsku reaktivnost. U ekstragenitalnim organima postoji niz različitih reaktivnih ćelija PAPP-A. Sve ove ćelije imaju zajedničko to što imaju višu frekvencu u nezrelim nego u zrelim ćelijama, u fetalnim nego u odraslim organima, u proliferaciji nego u sekretiji (9,12) .

1.2.4. Funkcija PAPP-A

Poznavanje biološke funkcije PAPP-A je ono što nije bilo poznato u periodu od njenog otkrića 1974. sve do 1999.

PAPP-A je izgleda predominantna proteinaza insulinu sličnog faktora rasta (IGFBP) u serumu trudnica. 1999. Lorens i njegovi saradnici (53) su objavili rad o izolaciji IGF-zavisne i IGFBP-4-specifične proteaze iz humanih fibroblasta i o identifikaciji istog kao sa trudnoćom udružen plazma protein A. Tako je IGF-zavisna IGFBP-4 proteaza ili PAPP-A postala novi član metcinkove familije metaloproteaza koje učestvuje u normalnoj i patološkoj fiziologiji insulinu sličnog faktora rasta (IGF). PAPP-A predstavlja predominantnu IGFBP-4 proteazu u serumu trudnica i specifično razgrađuje IGF-vezivni protein 4 (IGFBP-4), što za posledicu ima oslobađanje IGF vezanog za IGFBP-4. Razdvajanjem IGFBP-4, PAPP-A pojačava bioaktivnost IGF-a. Po ovome je PAPP-A jedinstven među drugim multifunkcionalnim proteazama koje imaju sposobnost da razgrađuju IGFBP-4. Pored IGFBP-4, PAPP-A može u serumu trudnica djelimično doprinijeti proteolitskoj aktivnosti IGFBP-5, što nije slučaj sa IGFBP-3 (17,21).

Funkcija PAPP-A se mora sagledati u vezi sa proMBP-om. Poređenje između rPAPP-A i kompleksa iz trudničkog seruma PAPP-A/proMBP pokazuje iznenađujuću razliku od više od stotruko veće proteolitske aktivnosti. Ovo pokazuje da proMBP funkcioniše i kao inhibitor proteinaze. Pokazano je da i serum i plazma trudnica imaju samo u tragovima PAPP-A koji nije u kompleksu (<1%) koji ima mnogo višu specifičnu aktivnost nego kompleks PAPP-A/proMBP. Mjerljiva aktivnost PAPP-A/proMBP kompleksa se vjerovatno javlja u prisustvu djelimično inhibiranog PAPP-A koji postoji u odnosu 2:1 u kompleksu sa proMBP. Podatak da proMBP inhibira PAPP-A u serumu trudnica može objasniti biološku funkciju ovog proteina van eozinofilnih leukocita. Takođe, ovdje imamo novi mehanizam inhibicije proteinaze. On se karakteriše kovalentnim disulfidnim vezama između enzima i njegovog inhibitora (19).

Zbog velike koncentracije PAPP-A u serumu trudnica, proMBP-ova inhibitorna funkcija je vjerovatno važna za PAPP-A koja je prisutna u cirkulaciji, koja ako ne bi bila inhibirana, bi izazvala dramatični porast aktivnosti IGFBP-4

proteinaze u cirkulaciji. Neobično visoka aktivnost IGFBP-4 proteinaze izazvana njenim nevezivanjem sa PAPP-A, može biti potrebna lokalno za placentalni razvoj (19).

Inhibitorna uloga takođe može biti važna ne samo u trudnoći nego i kod muškaraca i negravidnih žena, iako je sinteza i PAPP-A i proMBP mnogo niža. Sugerisano je da IGF-zavisna IGFBP-4 protaza PAPP-A može igrati značajnu ulogu u lokalnim proliferativnim reakcijama kao što su razvoj aterosklerotičnog plaka, zaliječivanje rana, remodelacija kostiju, kao i u nekim aspektima humane reprodukcije (53).

Proliferacija određenih ćelija može biti stimulisana autokrino i parakrino, njihovom sekrecijom PAPP-A, što bi zauzvrat izazvalo povišene vrijednosti bioaktivnosti insulinu sličnog faktora rasta. Okolne ćelije drugačijeg tipa koje mogu da proizvode i izlučuju proMBP obezbjeđuju način da se kontroliše ova proliferacija i to inhibiranjem enzimske aktivnosti PAPP-A (19). Poznato je da kulture fibroblasta proizvode PAPP-A, ali ne i proMBP, a sinteza PAPP-A i proMBP se dešava u placenti u različitim tipovima ćelija, kako je pokazala in situ hibridizacija (53).

Ipak, iako proMBP uglavnom ima inhibitornu ulogu prema PAPP-A u cirkulaciji, ne može se isključiti i mogućnost da igra i drugačije uloge na drugim mjestima. Ovdje je zanimljivo spekulirati da PAPP-A/proMBP predstavlja latentni oblik PAPP-A, koji postaje aktivan u određenim okolnostima na površini ćelije (19).

1.2.5. PAPP-A u trudnoći

Koncentracije PAPP-A je najviša u toku trudnoće. Tada nivoi u plazmi rastu faktorom od oko 150, u poređenju sa stanjem van trudnoće (9). PAPP-A je najzastupljeniji u cirkulaciji majke sa srednjim vaskularnim sadržajem od oko 250 mg na kraju trudnoće (16).

Kod žena koje nose jedno dijete, PAPP-A je prvi put detektovan u majčinoj krvi oko 28 dana posle implantacije (9). Koncentracija PAPP-A u serumu raste eksponencijalno dvostruko svaka 3-4 dana u toku prvog tromjesečja, a onda nivoi i dalje rastu u toku cijele trudnoće sve do porođaja. Može se primijetiti da nivoi nastavljaju da rastu sporijim tempom do 36. nedelje, posle čega nivoi rastu mnogo brže u preostalom dijelu trudnoće (27). Maksimalni nivoi su na samom kraju trudnoće.

Posle parturicije, nestajanje PAPP-A iz periferne krvi je sporije nego što je to slučaj sa drugim molekulima koje proizvode trofoblasti, prosječan poluvijek PAPP-A posle normalnog porođaja je 52.9 ± 25.8 sati (46). Ako se terminacija trudnoće desi u prvom tromjesečju, prosječan poluvijek traje 51 sat. Posle hirurške terminacije ektopičnih trudnoća kod pacijentkinja sa kiretažom decidue, PAPP-A nestaje značajno brže nego kod žena sa netaknutom deciduom. Dakle, poluvijek PAPP-A je duži u prisustvu decidue nego u njenom odsustvu. Ovi rezultati ukazuju da se proizvodnja PAPP-A nastavlja od strane decidue posle nestanka trofoblasta u ranoj trudnoći (46).

Samo male količine PAPP-A se mogu naći van cirkulacije majke. Količine PAPP-A u tragovima su detektovane u amnionskoj tečnosti, kolostrumu i fetalnoj krvi. Koncentracije u cirkulaciji fetusa su 1000 puta manje i nivoi PAPP-A u amnionskoj tečnosti su barem 10 puta manji nego u cirkulaciji majke (54). Distribucija ukupnog PAPP-A u fetusu, placenti, i majci, ukazuje na predominantno izlučivanje PAPP-A od strane trofoblastnih ćelija u cirkulaciju majke (32).

1.3. OGRANIČENJA U RASTU FETUSA (FETAL GROWTH RESTRICTION – FGR)

FGR, koji se takođe naziva i intrauterusno ograničenje rasta, je složeno stanje za koje ne postoji definicija oko koje se svi slažu. Sa patološke tačke gledišta, FGR karakteriše ometan rast fetusa i ne treba ga miješati sa slučajevima

male tjelesne težine djeteta pri rođenju, što obuhvata i djecu koja su prevremeno rođenja sa normalnim razvojem, ili čak sa fetusima koji su mali s obzirom na svoje gestacijsko doba, što je širok pojam koji obuhvata FGR ali i normalne fetuse koji imaju porodičnu tendenciju da budu ispod prosjeka populacije kada je u pitanju težina (55). Tradicionalno, radne definicije FGR se odnose na težinu pri rođenju od 2 SD (standardna devijacija) ispod aritmetičke sredine (56) ili manje od 10. procenta za isto gestaciono doba (57), ali ovi kriterijumi bolje definišu novorođenčad koja su mala za svoje gestacijsko doba.

Upotreba standarda za veličinu fetusa može smanjiti stopu pogrešnih dijagnoza za FGR (56,57). Postoji sve više dokaza da prilagođavanje krivulja standarda za veličinu fetusa prema visini, težini, paritetu, etničkoj grupi roditelja i polu fetusa omogućava bolje prepoznavanje genetski malih fetusa od onih sa ograničenjem rasta u različitim populacijama (58). Dodatno, prilagođene krivulje rasta fetusa omogućavaju detektovanje fetusa koji se rađaju sa normalnom težinom, ali koji ne dostižu svoj puni genetski potencijal. Kod ovih fetusa je takođe povećan rizik od perinatalnog mortaliteta i cerebralne paralize (59).

FGR je heterogen poremećaj kojeg izaziva više faktora koji imaju uzroke u fetusu, placenti ili majci (59). Abnormalni fetalni kariotip, npr. trizomija 21 ili 18 (60), ili urođene malformacije fetusa, kao što su defekti neuralne cijevi ili bubrežna dizplazija, su u velikoj mjeri povezani sa FGR (61). Višestruka gestacija je važan uzrok FGR, koji nastaje možda zbog toga što se dijele antenatalni hranljivi sastojci majke, zbog placentalne disfunkcije ili genetičkih faktora, sa ukupnim procentom od oko 15-30% u nastajanju FGR (62,63).

FGR se pojavljuje u 3-10% u razvijenim zemljama i 6-30% u zemljama u razvoju (64-66). Procentualna korelacija između smanjenja tjelesne težine pri rođenju i veće učestalosti fetalnih bolesti i smrtnosti je bila primijećena od strane nekoliko autora (67-71). Naročito se FGR vezuje za neonatalnu smrt, nekrotizirajući enterokolitis, i sa sindromom poremećaja respiratornih organa, a manje se vezuje za intraventrikularnu hemoragiju (72). Epidemiološke studije su pokazale da je FGR značajan faktor rizika za kasniji razvoj hronične hipertenzije,

ishemične srčane bolesti, dijabetesa, i opstruktivne plućne bolesti u odraslom dobu (73,74).

Zbog relevantne zastupljenosti FGR-a i njegovih neonatalnih posledica, vrlo je važno odgovarajućim ispitivanjima predvidjeti ovu heterogenu patologiju. Uz ultrazvučne protokole, testiranje majčinog seruma je u žiži raznih ispitivanja, i stalno se pojavljuju novi pokazatelji bolesti, jer se nijedan pojedinačan metod za sada nije pokazao kao potpuno zadovoljavajući (75).

1.3.1. Endokrini aspekt FGR-a

Zbog toga što je FGR multifaktorijalna heterogena patologija, teško je naći zajednički endokrini obrazac. Dugo vremena su u istoriji akušerstva serum majke i nivoi urinarnog estriola i placentalnog laktogena (PL) bili pokazatelji koji su se pratili kada je u pitanju fetalno zdravlje (76,77) i fetalni rast (77-79). Smanjenje njihovih vrijednosti se povezivalo sa FGR-om. Infuzija dihidroepiandrosteron sulfata (DHEA-S) sa određivanjem plazma E2 proteina koji se odlikuju aktivnim mjestom sa cisteinom i koncentracije estetrola je služila za procjenjivanje placentalnih i fetalnih funkcija u 70-tim godinama (80). Posle perioda negodovanja, kada su većina centara napustili endokrinološka testiranja u korist ultrazvučnih pristupa, ponovo se javio entuzijazam za praćenje hormonskih pokazatelja zdravlja fetusa jer se pokazalo da nivo hCG može da predvidi FGR (81, 82). U posljednje vrijeme pažnja je bila usmjerena na ukazivanje moguće korelacije između fetalnog rasta i sinteze GH, GH-vezivnog proteina (GHBP), IGF-ova i leptina od strane placente.

1.3.1.1. hCG

Iako je veza između visokih nivoa hCG vrijednosti u drugom tromjesečju i FGR-a bila naširoko istražena, to je pitanje ipak kontroverzno. Nekoliko autora je objavilo da postoji značajan rast nivoa hCG-a u majčinom serumu u drugom tromjesečju trudnoće kod pacijenata koji razvijaju FGR, koji se kreću od 1.21 do

2.5 MoM (83,84), i otprilike dupli do trostruki porast u riziku od nastajanja FGR-a je primjećen kod osoba sa neobjašnjivo visokim nivoima hCG-a u drugom tromjesečju (84,85). Takođe, slobodni β -hCG se povezuje sa trudnoćama kod kojih se javlja FGR kao i kod onih koje se neuspješno završavaju (86). U posljednje vrijeme, visok nivo β -fragmenta hCG-a u majčinom urinu u drugom tromjesečju se takođe povezuje sa FGR-om (87). Strukturno jezgro β -fragment je metabolit hCG-a koji se sakuplja u urinu majke i koji može biti koristan pokazatelj aktivnosti trofoblasta (88). Ipak, FGR se blisko vezuje sa preeklampsijom, a ona je vrlo zbunjujući faktor, jer patološke odlike preeklampsije uključuju pretjerano lučenje hCG-a od strane placente. Studija sa ciljem da riješi ovo pitanje je zapravo pokazala da hCG nivoi u drugom tromjesečju nisu bili povišeni kod žena koje su nosile fetuse čija je veličina zaostajala u rastu, a koje kasnije nisu dobile preeklampsiju (89).

U trećem tromjesečju, nivoi hCG-a u majčinom serumu su značajno veći kod trudnoća sa FGR-om, što se vezuje za patološku velocimetriju protoka u pupčanoj arteriji, praćeno vaskularnom insufijencijom placente, dok trudnoće sa FGR-om sa normalnim Doplerovim parametrima pokazuju normalne hCG nivoe (90).

1.3.1.2. Faktori rasta i insulinu slični faktori rasta (GH i IGF-ovi)

U toku trudnoće, pituitarni hormon rasta (GH) majke se progresivno zamljenjuje placentalnim GH (91,92), što je varijanta GH molekula koji proizvode sincitiotrofoblasti (93). Njegova biološka aktivnost je modulirana od strane proteina vezanih za hormon rasta (GHBP) (95,96), čiji su nivoi u trudnoći slični onima van trudnoće (94). Za placentalni GH se misli da igra ulogu u razvoju i funkciji placente i da ima indirektni uticaj na rast fetusa, pošto u fetalnu cirkulaciju ne ulaze značajniji nivoi ovog hormona (97,98).

Nivoi GH u serumu majke i placentalnom GH-u su niži kod trudnoća sa FGR-om, sa prosječnim smanjenjem od 50% u trećem tromjesečju, kada cirkulišući GH proizvodi gotovo isključivo placenta (99, 100). Interesantno je da se nivoi slobodnog GH dalje smanjuju zbog povećanih koncentracija GHBP-a

(101). Nizak nivo placentalnog GH nije možda samo rezultat veličine placente, nego možda i smanjene proizvodnje GH od strane placente. Populacija ćelija kod kojih je zastupljen placentalni GH se smanjuje u toku trudnoća sa FGR-om, iako se relativni nivoi GH iRNK u pojedinačnim jedrima ne razlikuju (102). Ove ćelije su funkcionalno normalne, ali njihovo smanjenje u broju ukazuje na oštećenje funkcionalne organizacije placente.

Insulinu slični faktori rasta (IGF) predstavljaju porodicu proinsulinu sličnih polipeptida koji stimulišu diobu i diferencijaciju ćelija. IGF-I i IGF-II iRNK su prisutni u mnogim fetalnim tkivima od 9. nedelje gestacije (103), a proteini se mogu detektovati u cirkulaciji od 15. nedelje (104). U postnatalnom periodu, većina efekata GH koji se odnose na stimulisanje rasta se ostvaruje kroz IGF-I (105). Značaj IGF-I i IGF-II za rast fetusa je pokazana kod miševa kod kojih se isključuju izvjesni geni, gdje je disrupcija bilo IGF-I (106) ili IGF-II (107) gena imala za posledicu ozbiljan FGR, što ukazuje na značajnu ulogu IGF-ova na fetalni rast. U poslednje vrijeme, Vuds i saradnici (108) su objavili rezultate prvog ispitivanja slučaja 15-godišnjeg dječaka sa homozigotnim parcijalnim nedostatkom IGF-I gena, što je imalo za posledicu ekstreman poremećaj u rastu koji je počeo u materici i nastavio se posle rođenja.

I majčin i fetalni IGF-I utiču na metabolizam placente i tako regulišu dostupnost supstrata koji su potrebni za rast fetusa (109). Izgleda da su IGF-ovi majke i fetusa nezavisno regulisani, jer nema korelacije između nivoa IGF-I u serumu majke i serumu vrpce. Dakle, majčin IGF-I može uticati na fetalni rast samo kroz svoj efekat na placentalnu funkciju (110).

Niski nivoi IGF-I majke su primijećeni u poslednjem tromjesečju trudnoća sa komplikacijom FGR i abnormalanim obrascem krvotoka u pupčanoj arteriji (111-114), ali nije ustanovljena stalna veza između nivoa IGF-I majke i težine fetusa pri rođenju. Interesantno je da se ovaj hormonski obrazac vezuje za značajan porast IGF-vezivnog proteina 1 (IGFBP-1), ali ne i sa IGFBP-3 nivoima (115). Mjerenje IGF-i i IGFBP-1 u krvi pupčane vrpce ostvareno kroz kordocentezu u toku trećeg tromjesečja trudnoće izgleda da povećava prediktivnu vrijednost ultrazvuka za procjenjivanje težine fetusa koji ima fetalnu retardaciju. Težina djeteta pri rođenju

je u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijama IGF-I u krvi pupčane vrpce i u obrnutoj korelaciji sa IGFBP-1 (116).

1.4. PREEKLEMPSIJA

Preeklampsija je dobro definisan klinički entitet nejasne etiologije. Neki autori su sugerisali da to nije jedna jedinstvena bolest, nego sindrom sa mnogo mogućih uzroka (117). Ozbiljna i / ili rana preeklampsija su važan uzrok morbiditeta i smrtnosti kod fetusa i majki.

Preeklampsija se tradicionalno definiše kao stalno povišenje krvnog pritiska, edem, i proteinurija koja je dijagnosticirana u trudnoći. Dok su proteinurija i hipertenzija vrlo važne za njenu dijagnozu i tretman, edem se više ne preporučuje kao dijagnostički pokazatelj, jer je čest i nespecifičan. Prema nedavnoj klasifikaciji koju je predložio Nacionalni edukativni program za visoki krvni pritisak, minimalni kriterijumi za dijagnozu preeklampsije su proteinurija, koja se definiše kao ekskrecija proteina u urinu od 300 mg ili više za 24 sata, i hipertenzija, koja se definiše kao krvni pritisak od 140/90 mm HG ili viši, i prvi put se dijagnosticira posle 20. nedelje gestacije (118).

Pouzdan rani pokazatelj preeklampsije bi omogućio blagovremenu identifikaciju pacijentkinja. Međutim ovakav pouzdan pokazatelj još uvijek nije dostupan. Do sada, preventivne intervencije, kao što su dodatak kalcijuma u ishrani (119) ili upotreba aspirina (120), i suplementacija n-3 masnim kisjelinama kao što je riblje ulje (121), su pokazale ograničenu efikasnost. Upotreba heparina niske molekularne težne, suplementacija vitaminom C i E sa pozitivnim efektom na oksidativni stres (122), i upotreba atenolola (123) su dale rezultate koji više obećavaju, ali je njihova uloga u kliničkoj praksi i dalje stvar ispitivanja, tako da strogo nadgledanje ostaje glavna strategija da se izbjegnu komplikacije. Čak i u ovom kontekstu, predviđanje rizika od nastajanja preeklampsije je važno da bi se trudnicama sa rizikom mogla posvetiti intenzivnija antenatalna pažnja.

Veliki broj testova je bio predložen za predviđanje preeklempsije, od jednostavnih pitanja za pacijente tipa kako se osjećaju (124) i standardnih metoda antenatalne brige, kao što je mjerenje krvnog pritiska i proteinurije, do biohemijskih testova, infuzije vazokonstriktornih supstanci, hematoloških pokazatelja i ultrasonografskih procjena. U poslednjoj deceniji, sve veći broj radova je potvrdio vezu između rizika od preeklempsije i Doplerom detektovanih promjena u uterušnoj arteriji (124-128). Povećana vaskularna otpornost je odgovorna za tipične modifikacije Doplerovih talasa i brzine krvotoka uterušnih arterija (129). Međutim sistematska kvantitativna studija je pokazala da brzina protoka u uterušnoj arteriji Dopler ima ograničenu dijagnostičku preciznost u predviđanju preeklempsije (130).

Pošto nijedan od sadašnjih metoda ne kombinuje preciznost, reproduktivnost i jednostavnost da bi bili univerzalni prediktivni pokazatelji preeklempsije (131,132), i dalje postoji veliki zahtjev za novim pokazateljima, tako da su i placentalni hormoni ispitivani u ovu svrhu.

1.4.1. Endokrini aspekt preeklempsije

Nedavna ispitivanja su sugerisala da preeklempsija nastaje zbog invazije plitkih endovaskularnih citotrofoblasta u spiralne arterije, što karakteriše povećanje apoptotičkog indeksa citotrofoblasta, pretjeranu inflamatornu reakciju, i aktivaciju entotelijalnih ćelija, kao i relativnu placentalnu ishemiju (133,135). U normalnim trudnoćama, nizak pritisak kiseonika u prvom tromjesečju sprečava trofoblaste da se diferenciraju u invanzivniji fenotip, u tom mehanizmu posreduje transformišući faktor rasta (TGF β 3) (136,137). Fiziološko povećanje pritiska kiseonika između 10. i 12. nedelje gestacije uslovljava smanjenje TGF β 3 i zbog toga trofoblasti mogu da se diferenciraju u invanzivniji tip. U placenti sa preeklempsijom, nivoi TGF β 3 ostaju visoki, i trofoblasti su tako zaustavljeni u jednom nezrelom stanju, a njihova invanzivnost je smanjena (135). Druga važna odlika preeklempsije je da invanzivni trofoblasti dospijevaju u blizinu spiralnih arterija, ali ne mogu da uđu u njih, sprečavajući tako pretvaranje spiralnih arterija

u niskootporne kanale i izlučivanje hipertenzivnih supstanci od strane placente (133).

Pošto patološke promjene trofoblasta igraju centralnu ulogu u razvoju preeklampsije i javljaju se prije pojave kliničkih znakova i simptoma, nije iznenađujuće da se nivoi nekih placentalnih hormona mijenjaju kod majke, što ukazuje na poremećaj u placentalnoj funkciji. Nivoi nekoliko placentalnih hormona su povišeni u serumu majke mnogo prije nego se preeklampsija spolja dijagnosticira, i oni se mogu smatrati prekliničkim manifestacijama ranijih faza ove bolesti. Dakle, sugerisano je da bi takvi hormoni mogli biti rani prediktivni pokazatelji preeklampsije.

1.4.1.1. hCG

Pacijenti sa očiglednom preeklampsijom u trećem tromjesečju imaju povišene nivoe hCG-a. Opšte je prihvaćeno da placenta ostaje glavni izvor hCG-a kod pacijentkinja sa preeklampsijom, ali se još vodi debata oko toga da li je placentalna povećana produkcija ovog hormona odgovorna za visoke nivoe hCG-a. Neki smatraju da se izlučivanje hCG-a može povećati kao posledica abnormalne placentalne invazije ili placentalne nezrelosti (98). Takođe, razlog može biti i reakcija trofoblasta na hipoksiju sa razvojem hipersekretornog stanja (136). U poređenju sa normalnim trudnoćama, placente pacijentkinja sa neobjašnjivo povišenim hCG nivoima u serumu u drugom tromjesečju su uglavnom veće, imaju povećanu gustinu hCG-pozitivnih trofoblasta pri čemu se placentalne resice intenzivnije boje na hCG (137). Suprotno ovome, jedna druga studija je pokazala jednaku zastupljenost β -hCG iRNK u normalnim i preeklampsičnim placentalnim tkivima (136).

Postoji dosta podataka o tome da li je samo povišenje hCG vrijednosti (obično iznad 2.0 MoM) između 14. i 24. nedelje gestacije prediktivno za preeklampsiju (34,121,128,136-138). Rezultati ovih studija se slažu u tome da trudnice za povišenim nivoima hCG-a u drugom tromjesečju imaju povišen rizik od nastajanja preeklampsije, ali se razlikuju što se tiče preciznosti tog testa i

njegovoj prediktivnoj vrijednosti. Mnogi faktori doprinose neslaganju među ovim studijama. Osjetljivost i specifičnost testa zavisi od metoda ispitivanja, kliničkih i epidemiološki prošlosti pacijentkinja, gestacionog doba kada su uzorci za ispitivanje uzeti, i granica koja se uzima da razlikuje visoki od normalnog nivoa hCG nivoa.

Ipak, u svim ovim studijama je pokazano da se ne više od trećine budućih slučajeva preeklempsije mogu predvidjeti testiranjem samo nivoa hCG-a u drugom tromjesečju, ako se pretpostavi da stopa pogrešno-pozitivnog rezultata na testu mora ostati u okviru 10%. Ako se snizi granica sa 2.0 MoM na 1.0 MoM povećaće se, naravno, osjetljivost testa, ali bi visoka stopa pogrešno pozitivnih rezultata testa učinila test beskorisnim kao indikator za profilaktičku intervenciju (136,138). Pošto preeklempsija ima relativno malu zastupljenost u mnogim populacijama, svaki novi test bi trebao da ima visoku specifičnost i pozitivnu prediktivnu vrijednost da se identifikuju žene sa visokim rizikom i izbjegnu emocionalni i socijalni troškovi koji bi bili posledica pogrešno pozitivnih rezultata na testovima.

Alternativa za testiranje nivoa hCG-a u serumu je mjerenje urinarnog izlučivanja strukturnog jezgra fragmenta hCG-a, β -subjedinice, koja je krajnji proizvod metabolizma hCG-a. Izgleda da se povećani rizik od preeklempsije povezuje sa povišenim koncentracijama β -jezgrenog fragmenta (34,138). Ipak, test ima lošu efikasnost i ne dodaje osjetljivost testu koji mjeri hCG u serumu.

1.4.2. Kombinovani hormonski testovi za predviđanje rizika od nastanka preeklempsije

Napravljen je pokušaj da se izdvoji ono najbolje iz testova kako bi se identifikovale žene koje imaju rizik od nastanka ozbiljne preeklempsije u populaciji sa niskim rizikom. Nekoliko složenih modela koji uključuju kliničke i biološke pokazatelje je testirano multivarijatnom logističkom regresijom, kako bi taj prediktivni model imao najvišu osjetljivost i što je moguće manje varijabli (139). Neke kliničke varijable, kao što su starost, rasa i indeks tjelesne težine

majke, ili koncentracije hCG i AFP u drugom tromjesečju, nisu uopšte bile prediktivne, vjerovatno zbog toga što je cilj studije bila ozbiljna preeklampsija, pa pacijentkinje sa blažim i srednjim oblicima bolesti nisu uzimane u obzir. Najbolji model je uključivao nuliparitet, istoriju preeklampsije, povišeni arterijski pritisak, i niske koncentracije estriola u drugom tromjesečju, ali je imao samo skromnu osjetljivost i stopu specifičnosti (140).

Sugerisano je da inhibin A može biti osjetljiviji od ukupnog hCG-a u predviđanju preeklampsije i da dodatak hCG-a ne poboljšava osjetljivost koja se dobija putem samog inhibina A (135). Ova navodna superiornost inhibina A nad hCG-om nije bila potvrđena jednom drugom sličnom studijom (141), ali postoji slaganje da korištenje duplih testova ne dodaje puno osjetljivosti u odnosu na pojedinačne pokazatelje, jer oni vjerovatno odražavaju isti patofiziološki fenomen koji vodi prezastupljenosti oba hormona u placenti.

1.5. ŠEĆERNA BOLEST U TRUDNOĆI (GESTACIJSKI DIJABETES)

Šećerna bolest je česta komplikacija u trudnoći i odgovorna je za povećani rizik od nepovoljnih ishoda po majku i dijete. Gestacijski dijabetes, koji se definiše kao glukozna intolerancija koja se dijagnostizira u trudnoći, može biti dijagnostizirana jednostavnim testiranjem npr. glukoze našte (engl. fasting plasma glucose) (142) i skraćenim testom opterećenja glukozom (engl. glucose challenge test, GCT) (143). Ovo testiranje je bilo univerzalno prihvaćeno mnogo godina, ali ima dosta kontroverze o tome da li je prepoznavanje i tretman gestacionog dijabetesa koristan za ishod trudnoće (144).

Bilo bi poželjno da se individualna podložnost gestacijskom dijabetesu prepozna prije početka intolerancije glukoze, ali ovo je i dalje težak zadatak (142,143). Debata se nastavlja oko toga da li gestacijski dijabetes predstavlja stanje glukozne intolerancije koje izaziva trudnoća ili samo pogoršanje već postojeće insulinske rezistencije koje će postati očigledno u budućnosti bez obzira na trudnoću.

Kao posledicu povišene proizvodnje insulina od strane fetalnog pankreasa posle pretjeranog nivoa transplacentalne glukoze, djeca majki sa dijabetesom mogu biti velika za svoje gestaciono doba ili čak makrosomična. Makrosomija se definiše u slučaju kada je tjelesna težina djeteta na rođenju veća od 4000 grama (142). Makrosomična djeca su više podložna porođajnoj traumi i operativnom porođaju (143,144). Uz to, djeca koja su velika za svoje gestacijsko doba imaju povećani rizik od neonatalne hipoglikemije zbog preostalog viška insulina. Iz ovih razloga je identifikacija fetalnog ekscitivnog rasta / makrosomije važna da bi se spriječila akušerska trauma i da bi se bolje planirala neonatalna pomoć (144).

Trenutni standardni metod za antenatalnu dijagnozu makrosomije je ultrasonografija, ali je upotreba serijskih ultrazvučnih snimaka da se procjeni fetalni rast skupa, troši se puno vremena, a njena preciznost je i dalje nezadovoljavajuća (145). U ovom kontekstu, biohemijski pokazatelji fetalnog pretjeranog rasta bi bili korisni, naročito ako bi bili osjetljivi i specifični kao ultrazvučna biometrija. Placentalni hormoni mogu biti kandidati za takve pokazatelje, jer se nekoliko endokrinih i metaboličkih funkcija placente mijenjaju u toku trudnoća sa dijabetesom (146,147).

1.5.1. Endokrini aspekt dijabetesa kod majke i fetalne makrosomije

1.5.1.1. Somatotropni hormoni

Naglašena fetalna makrosomija može se javiti čak iako se vrši adekvatna kontrola glukoze u krvi majke (148). Ozbiljna fetalna hiperinsulinemija se u ovom slučaju može pripisati nekom faktoru koji nije pretjerani nivo glukoze, već moguće humanom placentalom laktogenu (engl. human placental lactogen, hPL), koji izaziva proliferaciju i povišenu funkciju β -ćelija pankreasa (149). U skladu sa ovom hipotezom, koncentracije hPL-a u majčinom serumu koje se mjere u trećem tromjesečju su povišene kod trudnoća sa dijabetesom i komplikacijom fetalne makrosomije (148).

IGF-ovi i IGFBP i placentalnog i fetalnog porijekla mogu objasniti fetalnu makrosomiju povezanu sa dijabetesom. Ovo su potvrdile studije kod miševa koje su pokazale ulogu povišene zastupljenosti IGF-II gena u mehanizmu fetalnog pretjeranog rasta (148) i otkrile su da su IGF nivoi visoki kod makrosomične djece (149-151).

Slično kao kod normalnih trudnoća, koncentracije IGF-I i IGF-II kod žena sa dijabetesom su povišene u serumu kako gestacija napreduje, a plato dostižu u trećem tromjesečju. Nivoi oba IGF-a kao i IGFBP-1 do -3 su otprilike isti kod normalnih i dijabetičnih trudnoća u cirkulaciji majke, dok su koncentracije IGF-I, IGF-II i IGFBP-3 veće u krvi pupčane vrpce djece koju rađaju majke sa dijabetesom (141,143). Postojale su sugestije da je nivo IGF-I povišen u serumu pupčane vrpce makrosomičnih fetusa bez obzira na majčin dijabetes, dok je nivo IGF-II povišen kod fetusa majki sa dijabetesom bez obzira na makrosomiju (148). Ipak, ovaj podatak nije bio konzistentan u različitim studijama (141,143,145-148).

Ovaj mehanizam povišenja IGF kod fetusa majki sa dijabetesom je i dalje kontroverzan. Postoje indicije da je povećana placentalna proizvodnja rezultat povišene ekspresije IGF-II iRNK kod placenti u slučajevima gestacijskog dijabetesa, ali ni ovaj podatak nije bio konzistentno potvrđen u drugim studijama (141).

1.5.1.2. Drugi placentalni hormoni

Osnovni faktor rasta fibroblasta je moćni mitogeni i angiogeni faktor kojeg proizvode razna fetalna tkiva i tkiva odraslih, ali koji se detektuje u perifernoj cirkulaciji samo u vrlo specifičnim okolnostima, kao i u trudnoći. Osnovni nivoi faktora rasta fibroblasta u serumu pupčane vrpce i amnionskoj tečnosti i kod pacijenata sa gestacijskim dijabetesom i kod onih sa pregestacionim dijabetesom su mnogo veći nego kod zdravih pacijentkinja (149). Nivoi u majčinom serumu su viši kod dijabetičnih nego kod normalnih trudnoća i koreliraju pozitivno kada je u pitanju težina pri rođenju.

Nivoi α -hCG-a u majčinom serumu se mjere kontinuirano u pravilnim odgovarajućim vremenskim intervalima kod dobro kontrolisanih pacijenata sa dijabetesom koji su zavisni od insulina, i u odgovarajućim kontrolama bez dijabetesa (151). Nivoi α -hCG-a su niži kod žena sa dijabetesom, ali ne koreliraju sa fetalnom makrosomijom.

Ima dosta sakupljenih podataka o učešću placentalnih IGF-ova, IGFBP-ova i leptina u mehanizmima koji dovode do fetalne makrosomije povezanom sa šećernom bolesti kod majke. Bez obzira na vezu između ovih endokrinih pokazatelja i fetalne makrosomije, nedostatak njihove dijagnostičke snage je razočaravajući. Sa ispitivanjem novih navodnih pokazatelja, prenatalna dijagnoza fetalne makrosomije se i dalje oslanja na ultrazvučnu biometriju.

1.6. PREVREMENI POROĐAJ

Prevremeni porođaj se definiše kao porođaj koji se javio prije nego se navršše 37 gestacionih nedelja. Ova pojava komplikuje skoro 10% svih porođaja i krivac je za oko 70% svih neonatalnih smrti širom svijeta (151,153). Prevremeni porođaj je vodeći uzrok neonatalnog morbiditeta i mortaliteta svuda, pa i u tako međusobno udaljenim mjestima kao što su SAD (154), Južni Brazil (155), i podsaharska Afrika (156). Njegov ogromni uticaj na zdravlje ljudi nije promijenjen konstantnim poboljšanjem akušerstva i neonatalne brige (151).

Visok procenat prevremenih rođenja danas se može povezati se nedostatkom efikasnijih terapija koje se zasnivaju na glavnim uzrocima prevremenog porođaja i mehanizmima koji vode sprečavanju istog. Oko jedna trećina slučajeva prevremenog rođenja se povezuje sa intrauterusnom infekcijom, što je uzrok koji se može spriječiti, jer se pokazalo da testiranje i tretman infekcija nižeg genitalnog trakta smanjuje zastupljenost prevremenih porođaja (129, 153). Ipak, mnogi slučajevi se i dalje nazivaju idiopatskim, i zbog toga se ne može koristiti racionalna profilaksa. Drugo ograničenje u prevenciji prevremenih porođaja je loša prediktivna vrijednost procjene kliničkog rizika u identifikovanju žena kojima je potrebno stalno nadgledanje i profilaktičke intervencije.

Prevremeni porođaj je sindrom koji mogu izazvati mnogi uzroci, koji predstavljaju ili nefunkcionisanje mehanizama koji su odgovorni za održavanje uterusnog mirovanja ili preopterećenost normalne parturicijske kaskade (6). Otkriveno je da se određeni broj hormona i citokina mijenjaju u trudnoćama kod kojih postoji rizik da se završe prevremenim porođajem i smatrali su se potencijalnim pokazateljima ovog sindroma, iako mnogi od ovih pokazatelja nemaju dokazanu ulogu u mehanizmu porođaja. Obrazloženje ovih testova varira, jer su neki dizajnirani da samo iz predostrožnosti detektuju povišenje hormona čiji se nivo zaista podiže kako se parturicija približava, npr. kortikotropin-rilizing hormon (CRH) i estriol, dok drugi, npr. hCG i hPL se interpretiraju kao markeri placentalne disfunkcije i / ili uticaja fetusa. Uz to, proinflamatorni citokini su izabrani kao potencijalni markeri jer signaliziraju imune i inflamatorne reakcije koje prate intrauterusne infekcije.

Povišeni nivoi β -hCG-a u serumu predviđaju povišeni rizik od perinatalne smrti (153, 157), malu tjelesnu težinu pri rođenju, djecu koja su mala za svoje gestacijsko doba, prevremenu (preranu) rupturu membrana, i prevremeno rođenje (152, 156, 158), ali ne i rani prevremeni porođaj (prije 34. nedelje) (158). Kod trudnica sa povišenim rizikom od prevremenog porođaja mogu biti ispitivane vrijednosti hCG-a i u cervikalnom i vaginalnom sekretu. Pojedinačna vrijednost β -hCG-a koja je viša od 50 mIU dobijena između 24. i 28. nedelje gestacije u cervikovaginalnom sekretu predviđa dvostruko veći rizik od porođaja prije 34. nedelje (156).

1.7. UZROCI MALE TJELESNE TEŽINE U RANOJ TRUDNOĆI

Mala tjelesna težina pri rođenju je značajan uzrok bolesti i smrtnosti među novorođenčadima, i može biti posledica oštećene placentalne funkcije u toku prva tri mjeseca trudnoće (157). Dokazano je da rizik rađanja djeteta sa niskom tjelesnom težinom posle pune trudnoće bez komplikacija varira u zavisnosti od cirkulišućih koncentracija izvjesnog placentalnog proteina u prvih deset nedelja po začeću, a radi se o plazma proteinu A koji je udružen sa trudnoćom (PAPP-A).

Slab rast fetusa je, dakle, možda već predodređen prije vremena kada uglavnom počinje akušersko nadgledanje po završetku prva tri mjeseca trudnoće.

PAPP-A djeluje kao proteaza na vezivne proteine insulinu sličnog faktora rasta (Insuline-like growth factor - IGF) (98) i može dakle uvećati poznate stimulišuće efekte placentalnog IGF-(76). Cirkulišuće koncentracije PAPP-A se povećavaju u toku prva tri mjeseca trudnoće i ovaj protein je vrlo zastupljen u trofoblastima (157). U ovom radu, istraživana je moguća veza između težine djeteta pri rođenju nakon pune trudnoće i nivoa PAPP-A u majci u prva tri mjeseca trudnoće. Određivana je specifičnost veza uslovljenosti nekih faktora od PAPP-A, tako što smo je upoređivan sa slobodnom β -podjedinicom u humanom horionskom gonadotropinu (β -CG), još jednim proteinom izvednim iz trofoblasta čiji se nivoi u cirkulaciji mijenjaju u toku prva tri mjeseca trudnoće (98), ali koji funkcionalno nema veze sa IGF sistemom.

Faktori koji uslovljavaju razliku u tjelesnoj težini pri rođenju su rast fetusa i trajanje trudnoće. Sagledavana je veza između koncentracije PAPP-A i rasta fetusa koristeći analizu višestruke linearne regresije i identifikovana je jaka, pozitivna korelacija između nivoa PAPP-A u prva tri mjeseca trudnoće i krajnje težine pri rođenju posle 38-41 nedelja gestacije. Nije bilo značajne veze između nivoa slobodnog β -CG i tjelesne težine pri rođenju pri istom gestacionom uzrastu (159).

Niže koncentracije PAPP-A u toku prva tri mjeseca trudnoće su se povezivale sa ranijim započinjanjem spontanog porođaja u terminu za porođaj (159).

Veza između PAPP-A nivoa, veličine fetusa i vremena porođaja je biološki uvjerljiva, jer je PAPP-A vrlo prisutan u trofoblastima u prva tri mjeseca trudnoće i može biti odgovoran za aktivaciju IGF-ova.

2. CILJ

S obzirom da je već ranije evaluiran rad o uspješnosti testa izbora za Daunov sindrom i oštećenje neuralne cijevi, postoji veliki interes za nastavkom ispitivanja o mogućoj daljnjoj kliničkoj primjeni ovog testa.

Naime, zanimljivom se čini grupa trudnoća s negativnim nalazom biohemijskog testa izbora za Daunov sindrom, za koju postoje u literaturi kontradiktorni podaci o eventualnoj ugroženosti s različitim patološkim zbivanjima u kasnijoj trudnoći. Naravno, neizostavan izazov za posebno praćenje predstavljaju trudnoće s lažno pozitivnim pomenutim testom. No, kako je izvjesnije da će se ovakve trudnoće pratiti sa intenzivnijim i budnijim nadzorom, grupa trudnica sa negativnim nalazom ovog testa predstavlja manje istražen domen. Kako na umu moramo imati da ne postoje trudnoće bez rizika, već samo one sa visokim i nižim rizikom, smatrali smo grupu trudnica sa negativnim nalazom ovog testa od značaja za dalje praćenje.

Prema tome, ovo istraživanje ima cilj da utvrdi da li su odstupanja referentnih vrijednosti nekih biohemijskih parametara (slobodni β hCG i PAPP-A) u korelaciji sa komplikacijama u trudnoći, to jeste, sa intrauterinim zaostajanjem u rastu (IUGR), hipertenzijom izazvanom trudnoćom (PIH), gestacijskim dijabetesom, kao i sa malom porođajnom težinom i prevremenim porođajem.

U svrhu procjene validnosti ovih biohemijskih parametara u predikciji komplikacija u trudnoći neophodno je:

- Odrediti vrijednosti biohemijskih markera prvog trimestra trudnoće u svim ispitivanim grupama trudnica (trudnoće sa intrauterinim zaostajanjem u rastu, sa hipertenzijom izazvanom trudnoćom, sa gestacijskim

dijabetesom, sa zabilježenim prevremenim porođajem i u grupi sa malom porođajnom težinom) kao i u kontrolnoj grupi (fiziološki zdrave trudnice);

▫ Utvrditi mogući uticaj starosne dobi, pariteta, broja prethodnih abortusa na vrijednosti ispitivanih biohemijskih parametara kao i na tok i ishod trudnoće;

▫ Izvršiti analizu perinatalnog ishoda u grupi trudnica sa vrijednostima slobodnog β hCG $\geq 2,5$ MoM-a kao i u grupi sa vrijednostima PAPP-A $\geq 2,5$ MoM-a;

▫ Utvrditi da li vrijednosti serumskih markera negativnog testa izbora za Daunov sindrom mogu u kasnijem toku trudnoće upućivati na pojavu lošeg perinatalnog ishoda.

3. ISPITANICE I METODE

Ovo istraživanje je urađeno na Odjeljenju Ginekologije, Perinatologije i Opstetrike Poliklinike Umberto I Univerziteta «La Sapienza» u Rimu. Obuhvatilo je 830 trudnica između desete i trinaeste nedjelje trudnoće. Kao sastavni dio skrininga trizomije 21, ispitanicama su određivane vrijednosti plazma proteina-A vezanog za trudnoću (PAPP-A) i slobodnog beta-humanog horionskog gonadotropina (free- β HCG), u kombinaciji sa nuhalnom translucencom (NT).

Podaci o trudnoći pacijentkinja su dobijeni popunjavanjem odgovarajućeg upitnika. Ukupno je kontaktirano 720 pacijentkinja. Ispitanice čiji su fetusi pokazivali hromozomske ili strukturne promjene, kao i pacijentkinje koje su bolovale od hroničnih patologija, to jeste od hronične hipertenzije i insulin-vezanog dijabetesa, su isključene. Dvije ispitanice nisu pristale na popunjavanje upitnika, četiri su izvršile prekid trudnoće, od kojih dvije bez navođenja razloga, a dvije zbog sindroma Down. Stoga je ukupan broj tretiranih u našoj konačnoj analizi 700.

Analiza je obuhvatila obradu baze podataka koju sačinjavaju: anamneza, demografski podaci, sonografski nalazi i biohemijski rezultati.

Komplikacije koje su se pojavile u toku trudnoće praćenih ispitanica bile su sledeće:

- spontani pobačaj (pod spontanim pobačajem se podrazumijeva gubitak fetusa prije 24 nedjelje trudnoće);
- prijevremeni porođaj (porođaj prije 37. nedjelje kompletne trudnoće);
- intrauterina retardacija rasta (IUGR);

- hipertenzija kao posledica trudnoće (PIH) sa i bez proteinurija (pritisak veći od 140/90 mmHg kod žena sa negativnom anamnezom na hipertenziju i insuficijenciju bubrega);

- gestacijski dijabetes (dijabetes koji je dijagnosticiran svakog puta kada su dvije vrijednosti u roku od tri sata vršenja testa tolerancije na ugljenohidrate (OGTT) premašivale krajnju vrijednost koja se toleriše, a to je 140mg/dl);

- uginuće ploda u materici;

- prijevremeno pucanje vodenjaka (pucanje amniohorijalnih membrana prije početka porođajnih bolova);

- mala težina novorođenčeta na porođaju i makrozomija.

Prema preporukama Svjetske zdravstvene organizacije (WHO), porođajna težina jeste prva izmjerena težina novorođenčeta u toku prvog sata nakon porođaja.

U cilju našeg proučavanja vršili smo analizu dva pomenuta biohemijska parametra, slobodnog hCG β i PAPP-A, kao i neke od navedenih komplikacija u trudnoći, to jeste IUGR, PIH, gestacijski dijabetes, kao i prijevremeni porođaj i porođajnu težinu.

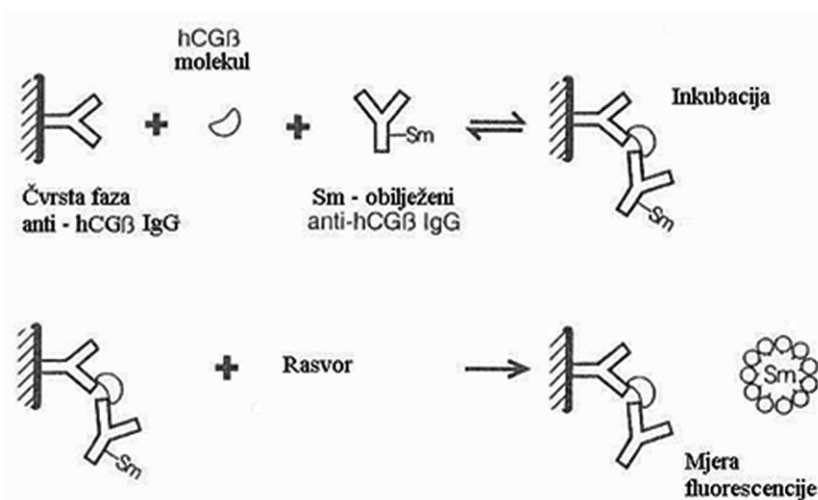
Biohemijska analiza za PAPP-A je urađena korišćenjem kit-a na imunofluoroscentnost (Wallac DELFIA Xpress). Za slobodan hCG β je korišćen kit na imunofluoroscentnost (Wallac DELFIA Xpress). Doze su analizirane u dvostrukom obimu. Rezultati su izraženi kao multipla mediana (MoM) specifičnih gestacijskih doba (EG). Mjerenje Crown-Rump Length-a (CRL) i nuhalne translucence (NT) su izvršena endovaginalnom sondom. Rizik za sindrom Down je procjenjivan koristeći LifeCycle software (verzija 2.2.4 PerkinElmer Life Sciences, Wallac Oy). Pacijentkinje koje su se pokazale pozitivne na screening, svrstane su u kategoriju realnog rizika sindroma Down i to u razmjeri većoj od 1:380, u saglasnosti sa indikativnim reperima, i istima je savjetovano da pristupe hromozomskoj analizi, kako putem vilocenteze (CVS) tako i amniocenteze (A).

Koeficijent korelacije Pearson-a korišćen je za korelaciju između promjenljivih (PAPP-A, slobodnog β -HCG β) i svakog suprotnog ishoda. Statistička analiza je urađena korišćenjem Microsoft Excel ND Sigmastat verzija 3.1. Za identifikaciju svakog oprečnog ishoda vršena je procjena osjetljivosti i lažno pozitivnog za sve ginekološke komplikacije. Statistički je uzeta u obzir vrijednost p-value manje od 0.05.

3.1 PRINCIP ASSAY-A ZA SLOBODAN HCG β (ELISA)

AutoDELFIJA Free hCG β assay je čvrsti, dvojni fluoroimunometrički esej baziran na direktnoj «sendvič» tehnici u kojoj su dva monoklonalna antitijela (derivati miša) usmjerena prema dvije odvojene antigenske determinante na molekulu free hCG β . Standardi, kontrole i uzorci (serumi) uzeti od trudnica, sadrže hCG β , koji reaguje sa imobiliziranim hCG β specifičnim antitijelima. HCG β je tretiran «samarijum-labelled» monoklonalnim antitijelima. Obilježena antitijela reaguju sa specifičnim antigenskim mjestima. Za ovu reakciju neophodna je samo jedna inkubacija.

Formirani rastvor disosuje na samarijum jone iz obilježenih antitijela koji formiraju visoko fluorescentne helate sa komponentama iz rastvora. Fluorescencija samarijuma je proporcionalna koncentraciji hCG β iz tretiranog uzorka (Slika 1.).

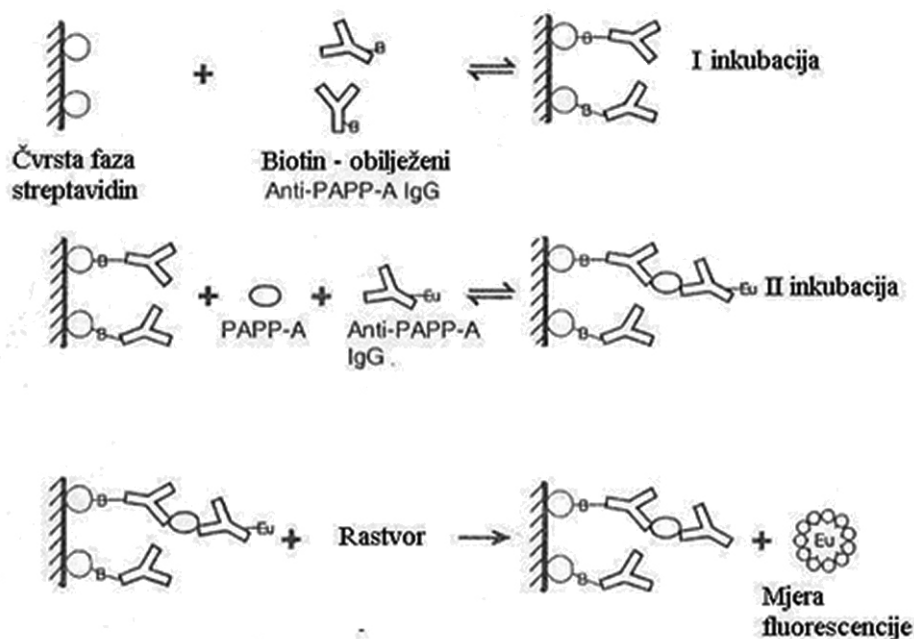


Slika 1: Prikaz principa testa za određivanje slobodnog hCG β .

3.2. Princip ASSAY-a za PAPP-A (ELISA)

AutoDELFIJA PAPP-A je dvostruki, čvrsti, fluorometrički esej baziran na indirektnoj «sendvič» tehnici u kojoj dva monoklonalna antitijela (derivati miša) reaguju sa dvije odvojene antigene determinante na PAPP-A/proMBP kompleksu.

U ovom eseju odvijaju se dva inkubaciona procesa. U prvoj inkubaciji, antitijela obilježena biotinom reaguju sa mikrotitarskim trakama punjenim streptavidinom. Nakon toga trake se ispiraju. U drugoj inkubaciji, standardi, kontrole i uzorci (serumi) reaguju sa antitijelima obilježenim helatima europiuma. Nakon ispiranja traka koje slijedi, dodaje se specifičan rastvor za dati kit koji disosuje jone europiuma iz obilježenih antitijela. Ovi joni formiraju visoko fluorescentne helate sa komponentama dodatog rastvora ovog kita. Fluorescencija svakog uzorka je proporcionalna koncentraciji PAPP-A (Slika 2.).



Slika 2. Prikaz principa testa za određivanje PAPP-A.

3.3. IZVOR PODATAKA I JEDINICE POSMATRANJA U ISTRAŽIVANJU

Obilježja se mogu podijeliti u četiri grupe: socio-demografske karakteristike majke, anamneza porodilje, porođaj i karakteristike novorođenčeta (Tabela 1).

Tabela 1: Opis sadržaja baze podataka (porođaja).

Grupe varijabli	Varijable
Socio-demografske karakteristike majke	mjesto porođaja zdravstvena ustanova godina porođaja
Anamnestički podaci	starost majke broj ranijih porođaja broj ranijih prekida trudnoće komplikacije u trudnoći
Aktuelni porođaj	termin porođaja komplikacije tokom porođaja broj novorođenčadi
Karakteristike novorođenčeta	tjelesna masa patološko stanje

3.3.1. Modeli podataka u istraživanju

Analizirana je baza podataka sa kodiranim varijablama (Tabela 2) radi bolje čitljivosti i razumijevanja rezultata.

Generisano je «znanje» odnosno «učenje» na osnovu pomenutih varijabli, za klasifikovanje slogova u bazi u formiranoj grupi na osnovu varijable tjelesne mase na rođenju. Kriterijum za transformaciju ove varijable prihvaćen je na osnovu već usvojenih standarda «WHO».

Tabela 2: Pregled varijabli u bazi podataka.

Naziv	Vrijednost
Mjesto	Rim
Starost	<25 25-35 35+
Prethodni porođaji	pp0 pp1 pp2 pp>2 pp-prethodni porođaji
Prethodni abortusi	Ne Da
Komplikacije u trudnoći	Ne Da
Termin porođaja	Prevremeni U predviđenom terminu Prolongirani
Tjelesna masa na rođenju	<2500gr. 2500-3000 3000-4000 >4000

3.3.2. Obrada podataka

Za statističko opisivanje podataka i njihove odnose koji su bili od značaja za istraživanje, korišćene su deskriptivne statističke metode tabelarnog i grafičkog prikaza, mjere centralne tendencije: aritmetička sredina (AS) i medijana (MED); i mjere varijabiliteta: standardna devijacija (SD), zatim maksimalna (MAX) i minimalna vrijednost (MIN).

Za pretstavljanje odnosa između varijabli korišćeni su stubičasti dijagrami za varijable u bazi mjerene nominalnom ili ordinarnom skalom i dijagrami tipa «kutije» (box plots), za opis odnosa kontinuirane i kategorijske varijable.

Grafici su crteži koji, po pravilu, jasnije i upečatljivije prikazuju parametre, mada su često vrlo neprecizni. Raznovrsnost mogućnosti prikazivanja jednodimenzionalne i višedimenzionalne slike i sl. Pojačavaju i izdvajaju neke vrijednosti. Koliko doprinose prikazivanju istraživanja, na isti način mogu da ih prikažu i nerealno. Realnost ispitaivanih parametara se dobija uz pretstavljanje analitičkog postupka i grafičko prikazivanje. Na osnovu grafičkog prikaza bez analitičkog postupka ne donose se zaključci.

Korišćenje elipsi pri grafičkom prikazivanju ima višestruko značenje. Veličina elipse upućuje na homogenost uzorka. Uže elipse znače da je uzorak homogen. Dužina glavne ose pokazuje povezanost dva ispitivana parametra. Ugao koji zaklapa glavna osa elipse sa apscisom predstavlja smjer povezanosti (rastuća ili opadajuća). Centar elipse je srednja vrijednost uzorka u odnosu na oba parametra.

U slučaju dva ili više subuzoraka, vizuelno se pokazuje postojanje sličnosti ili razlika između njih. Ako se dvije elipse poklapajurazlika ne postoji, kada su elipse razdvojene, odnosno nemaju zajedničkih tačaka, postoji značajna razlika između subuzoraka za posmatrane parametre, a kada se elipse djelimično preklapaju, obavezno se mora zaključivati samo na osnovu izvedenih analiza. Na osnovu grafičkog prikaza elipsi (intervala povjerenja) moguće je uočiti međusobni položaj i karakteristiku svake od ispitivanih grupa.

Dendogram u ovom radu grafički prikazuje klasterizaciju (grupisanje) subuzoraka po analiziranim parametrima na osnovu međusobnih distanci.

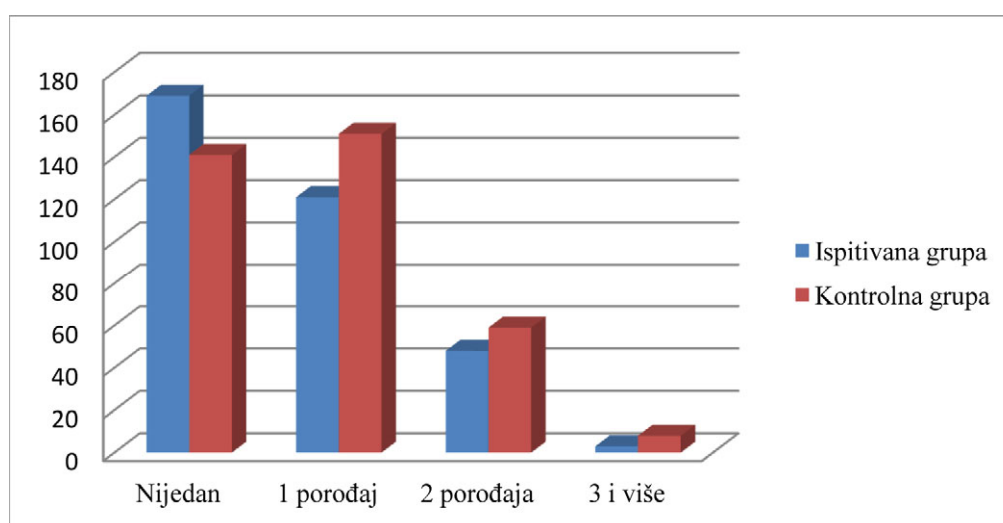
Model logističke regresije namijenjen je proučavanju međusobnog odnosa jedne promjenljive označene kao zavisne dihotomnog tipa i skupa promjenljivih označenih kao nezavisne ili prediktor varijable. U istraživanju je korišćen ovaj model za logističku regresionu analizu varijable tjelesna masa novorođenčeta na rođenju.

Statistička analiza kontinuiranih varijali izvodila se primjenom t-testa i ANOVA testom. Upoređivanje razlika proporcija izvršeno je pomoću χ^2 -testa i Fisherovog egzaktnog testa. Statistička značajnost je određivana s obzirom na vrijednost $p < 0,05$.

4. REZULTATI

Podaci o trudnoći pacijentkinja su dobijeni popunjavanjem odgovarajućeg upitnika. Ukupno je ispitivano 720 pacijentkinja. Ispitanice čiji su fetusi pokazivali hromozomske ili strukturne promjene, kao i pacijentkinje koje su bolovale od hroničnih patologija, to jeste od hronične hipertenzije i insulinvezanog dijabetesa, su isključene. U ispitivanoj grupi bilo je ukupno 341 trudnica (48,7%) odnosno 359 u kontrolnoj (51,3%). Ova razlika nije bila statistički značajna ($\chi^2 = 0,119$; $df = 1$; $p > 0,05$).

Analiza broja prethodnih porođaja pokazuje da je kod 310 žena ovo bio prvi porođaj (44,3%), dok je kod 272 bio drugi (38,9%) a kod 107 treći (15,3%). Kod 11 žena bilo je četiri i više porođaja ranije (1,6%) (Grafikon 1).



Grafikon 1. Histogram raspodjele broja prethodnih porođaja.

Analiza je kod ukrštanja kategorija nalaza kontrolne grupe trudnica u odnosu na podjelu po paritetu 0 pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 7,497$; $df = 1$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posledica toga što žene koje nisu pripadale kontrolnoj grupi češće imaju paritet 0 (49,6%) za razliku od onih koje pripadaju kontrolnoj grupi (39,2%).

Analiza je kod ukrštanja kategorija nalaza kontrolne grupe trudnica u odnosu na podjelu po 1 prethodnom porođaju pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 3,185$; $df = 1$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama paritet 1 je bio približno jednak.

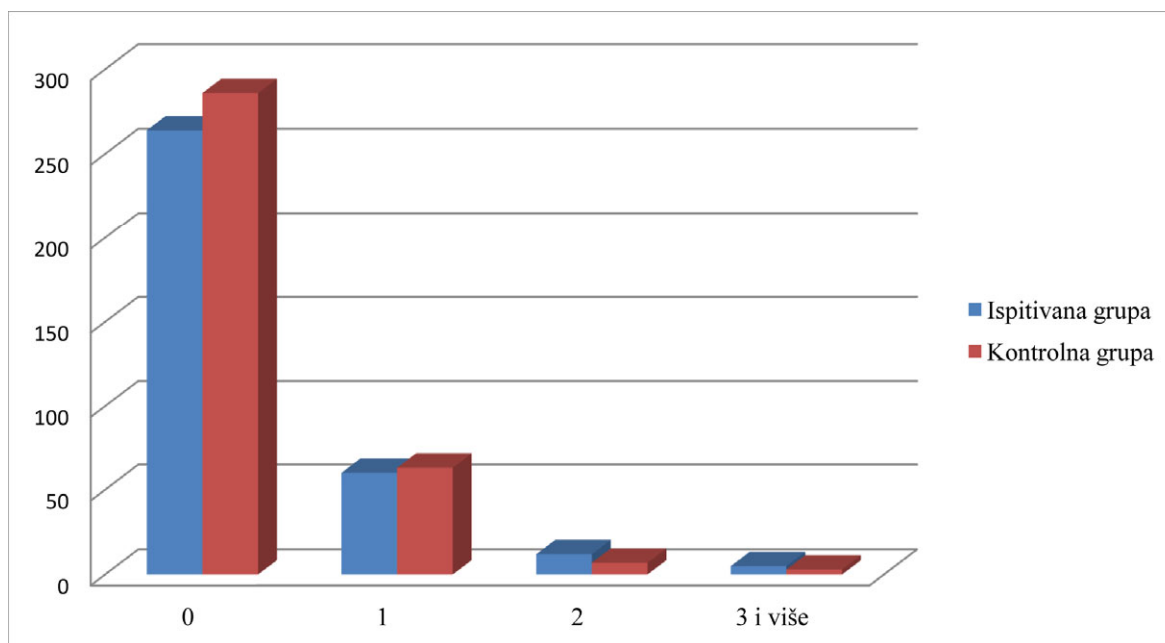
Analiza je kod ukrštanja kategorija nalaza kontrolne grupe trudnica u odnosu na podjelu po 2 prethodna porođaja pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 0,751$; $df = 1$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama je taj broj bio približno jednak.

Analiza je kod ukrštanja kategorija nalaza trudnica kontrolne grupe u odnosu na podjelu po 3 i više prethodna porođaja pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 2,057$; $df = 1$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama taj broj je bio približno jednak i jako rijedak.

Tabela 3. Broj ranijih abortusa.

Broj ranijih abortusa	Ispitivana grupa	Kontrolna grupa	Ukupno
0	264 (77.4%)	286 (79.7%)	550 (78.6%)
1	60 (17.6%)	63 (17.5%)	123 (17.6%)
2	12 (3.5%)	7 (1.9%)	19 (2.7%)
3 i više	5 (1.5%)	3 (0.8%)	8 (1.1%)
Ukupno	341 (48.71%)	359 (51.29%)	700 (100.0%)

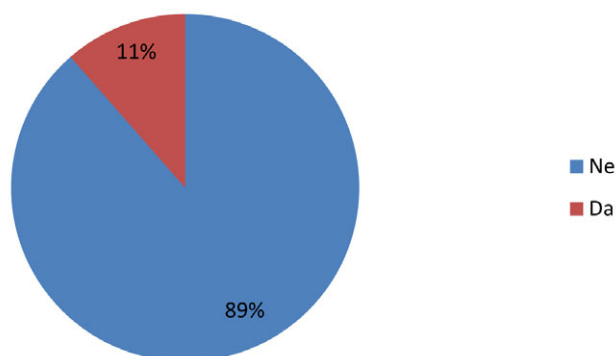
Analiza broja prethodnih abortusa pokazuje da kod 550 žena nije bilo ranijih abortusa (78,6%), dok je kod 123 bio samo jedan (17,6%) a kod 19 dva (2,7%). Kod 8 žena bilo je tri i više abortusa ranije (1,1%) (Grafikon 2). Dobijena razlika bila je statistički visoko značajna ($\chi^2 = 17,994$; $df = 4$; $p < 0,01$) (Tabela 3).



Grafikon 2. Histogram raspodjele broja prethodnih abortusa.

Analiza je kod ukrštanja kategorija nalaza kontrolne grupe u odnosu na podjelu po broju prethodnih abortusa pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($F = 4,478$; $df = 5$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama broj ranijih abortusa bio približno jednak (Grafikon 2).

Analiza broja nalaza prevremenih porođaja kod trudnica u našoj studiji pokazuje da ih kod 620 žena nije bilo (88,6%), dok je kod 80 bilo; i ova razlika je visoko statistički značajna ($\chi^2 = 29,942$; $df = 1$; $p < 0,01$).



Grafikon 3. Broj prevremenih porođaja.

Analiza broja trudnica kod kojih je zabilježena intrauterina retardacija rasta (IUGR) u našem radu pokazuje da kod 664 žena je nije bilo (94,9%), dok je kod 36 bilo i ova razlika je visoko statistički značajna ($\chi^2 = 33,018$; $df = 1$; $p < 0,01$) (Tabela 4).

Analiza broja nalaza gestacijskog dijabetesa kod trudnica u našem radu pokazuje da kod 680 žena ga nije bilo (97,1%), dok je kod 20 bilo i ova razlika je visoko statistički značajna ($\chi^2 = 35,995$; $df = 1$; $p < 0,01$) (Tabela 4).

Analiza broja nalaza trudnoćom izazvane hipertenzije (PIH) u našem radu pokazuje da kod 635 žena nije zabilježena (90,7%), dok je kod 65 zabilježena i ova razlika je visoko statistički značajna ($\chi^2 = 31,078$; $df = 1$; $p < 0,01$) (Tabela 4).

Tabela 4. Broj nalaza IUGR-a, gestacijskog dijabetesa i PIH-a.

Vrsta nalaza	Broj trudnica (%)	
	Da	Ne
IUGR	36 (5,1%)	664 (94,9%)
Gestacijski dijabetes	20 (2,9%)	680 (97,1%)
PIH	65 (9,3%)	635 (90,7%)

Analiza broja novorodjenčadi čija je tjelesna težina bila manja od 2500g pokazuje da je takvih slučajeva bilo 44, dok je kod 656 novorodjenčadi težina bila veća (93,7%). Ova razlika je visoko statistički značajna ($\chi^2 = 34,707$; $df = 1$; $p < 0,01$) (Tabela 5, Grafikon 4).

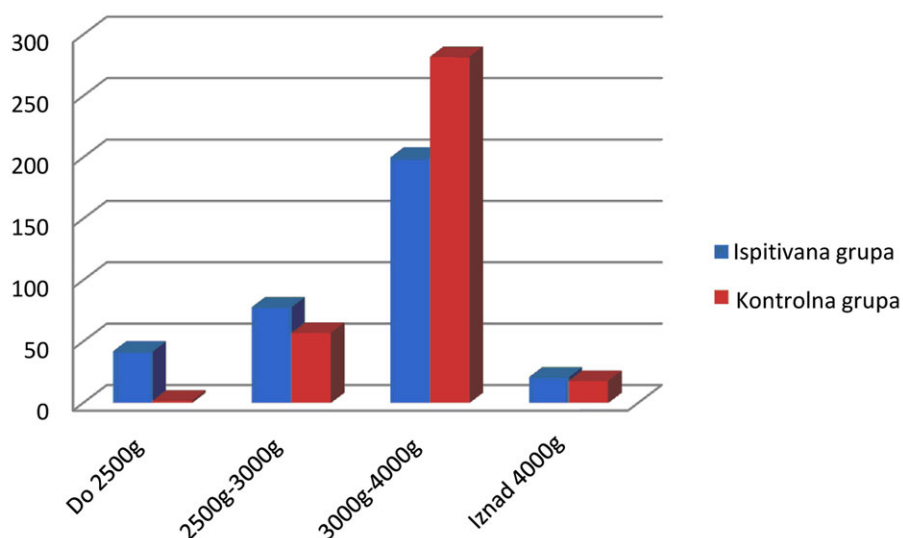
Analiza broja novorodjenčadi čija se tjelesna težina kretala od 2500g do 3000g u našem radu pokazuje da ih je bilo 135. U odnosu na ostatak grupe od 565 (80,7%) i ova razlika je visoko statistički značajna ($\chi^2 = 26,014$; $df = 1$; $p < 0,01$) (Tabela 5, Grafikon 4).

Analiza broja novorodjenčadi sa tjelesnom težinom od 3000g do 4000g u našem radu pokazuje da ih je bilo 482 dok ih je u ostatku grupe bilo 218 (31%). I ova razlika je visoko statistički značajna ($\chi^2 = 11,340$; $df = 1$; $p < 0,01$) (Tabela 5, Grafikon 4).

Analiza broja novorođenčadi čija je tjelesna težina veća od 4000g u našem radu pokazuje da ih je bilo 34 dok ih je u ostatku grupe bilo 666 (95,1%). I ova razlika je visoko statistički značajna ($\chi^2 = 29,278$; $df = 1$; $p < 0,01$) (Tabela 5, Grafikon 4).

Tabela 5. Tjelesna težina novorođenčadi.

Tjelesna težina	Broj novorođenčadi (%)		
	Kontrolna grupa	Ispitivana grupa	Ukupno
Do 2500g	2 (0.56%)	42 (12.32%)	44 (6,3%)
2500g-3000g	57 (15.88%)	78 (22.87%)	135 (19,3%)
3000g-4000g	282 (78.55%)	200 (58.65%)	482 (68,9%)
Iznad 4000g	18 (5.01%)	21 (6.16%)	34 (4,9%)
Ukupno	359 (51.29%)	341 (48.71%)	700(100.00%)



Grafikon 4. Histogram raspodjele tjelesnih težina novorođenčadi.

Analiza je pokazala da postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 5,499$; $df = 1$; $p < 0,05$), a ona nastaje kao posljedica toga što trudnice koje nisu pripadale kontrolnoj grupi češće imaju novorođenčad porođajnih težina od 2500-3000g (23,0%) za razliku od onih koje pripadaju kontrolnoj grupi (15,9%).

Analiza je kod ukrštanja kategorija nalaza trudnica kontrolne grupe u odnosu na podjelu po ovoj porođajnoj težini pokazala da postoji statistički visoko

značajna razlika ($\chi^2 = 32,298$; $df = 1$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posljedica toga što žene koje nisu pripadale kontrolnoj grupi daleko manje imaju porodjajne težine od 3000-4000g (58,7%) u odnosu na kontrolnu grupu (78,5%).

Analiza je kod ukrštanja kategorija nalaza kontrolne grupe trudnica u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini preko 4000g pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 0,039$; $df = 1$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama tj i kod pripadnica kontrolne grupe i kod ispitivane broj novorođenčadi sa porodjajnom težinom preko 4000g bio približno jednak.

U tabeli 6. prikazan je broj trudnica po starosnim kategorijama za cijelu grupu ispitanica u kojoj se uočava najveći broj u grupi od 25 do 35 godina.

Tabela 6. Broj trudnica po starosnim kategorijama.

	Broj trudnica		
	Kontrolna grupa	Ispitivana grupa	Ukupno
do 25 godina	15 (4.18%)	14 (4.11%)	29 (4.14%)
od 25-35 godina	308 (85.79%)	289 (84.75%)	597 (85.28%)
preko 35 godina	36 (10.03%)	38 (11.14%)	74 (10.58%)
Ukupno	359 (51.28%)	341 (48.71%)	700 (100.00%)

Tabela 7. Deskriptivni parametri za numerička obilježja u ovom radu za cijelu grupu trudnica (ispitanica).

	Minimum	Maksimum	Srednja vrijednost; Standardna devijacija
Vrijednosti PAPP-A	0.16	15.00	2.737; 2.086
Vrijednosti freehCG	6.00	941.00	70.726; 62.227
Gestacijska nedjelja biohemijske analize	10.00	13.43	11.902; 0.783
Godine starosti	18.00	45.00	31.16; 3.739
Nedjelja porođaja	9.00	42.00	39.071; 2.912
PAPP-A MoM	0.11	5.35	1.17; 0.721
freehCG MoM	0.13	79.60	1.393; 3.144

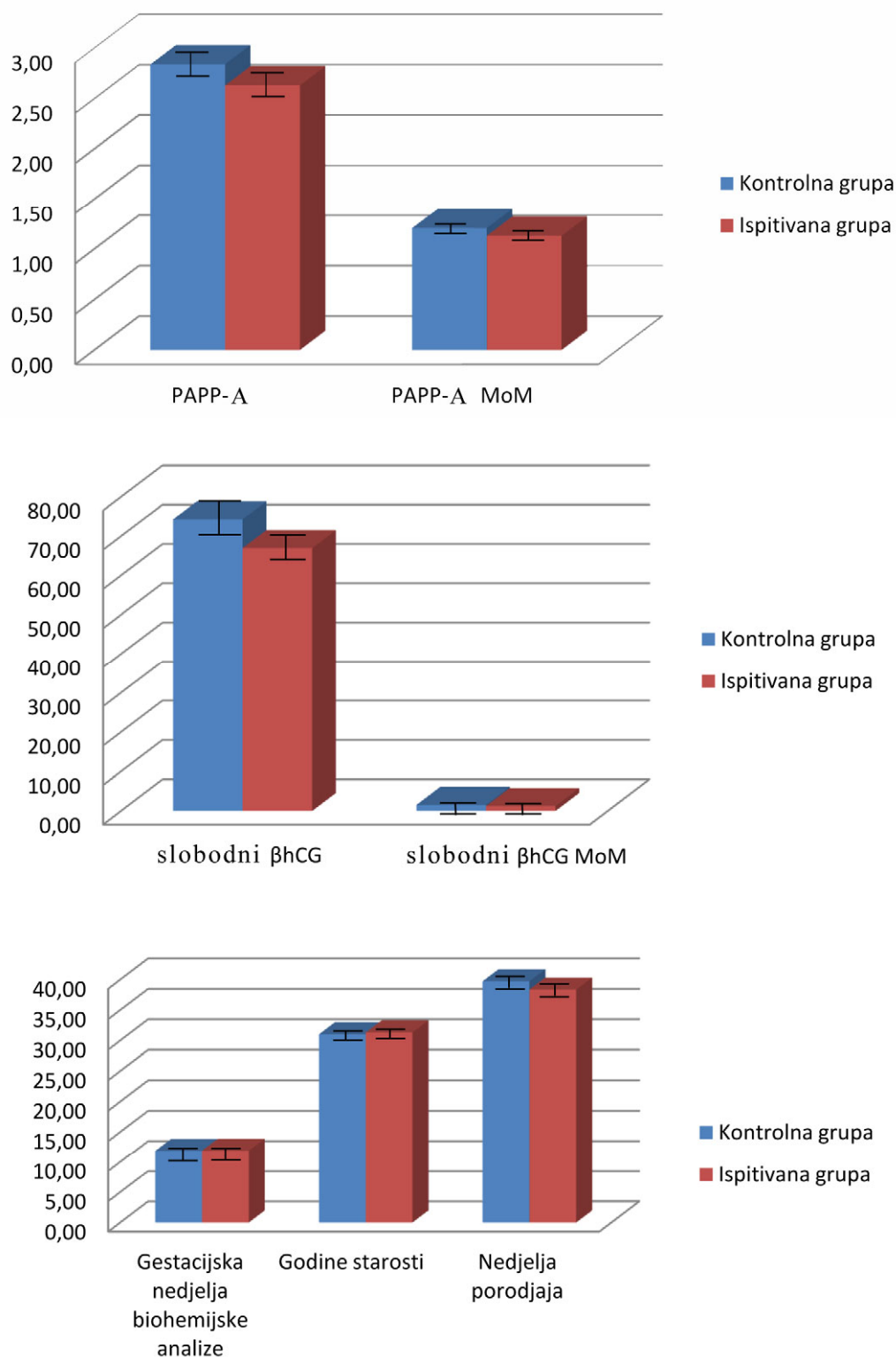
Analiza je pokazala da je raspodjela vrijednosti numeričkih obilježja u našem radu približno normalna (Kolmogorov Smirnov z je svuda bilo manje od 1,96 odnosno $p > 0,05$) što je dozvolilo primjenu parametarskih metoda u daljoj analizi (Tabela 7).

4.1. ANALIZA REZULTATA POREĐENIH U ODNOSU NA KONTROLNU GRUPU

U tabeli 8. i grafikonu 5 prikazane su deskriptivne vrijednosti parametara za numerička obilježja u ovom radu u odnosu na podjelu na kontrolnu i ispitivanu grupu. Kontrolnu grupu čine fiziološki zdrave trudnice, to jeste trudnice kod kojih nisu zabilježene komplikacije poput intrauterine retardacije rasta, gestacijskog dijabetes, trudnoćom izazvane hipertenzije, prevremenog porodjaja kao ni mala porodajna težina.

Tabela 8. Deskriptivni parametri za numerička obilježja u kontrolnoj i ispitivanoj grupi.

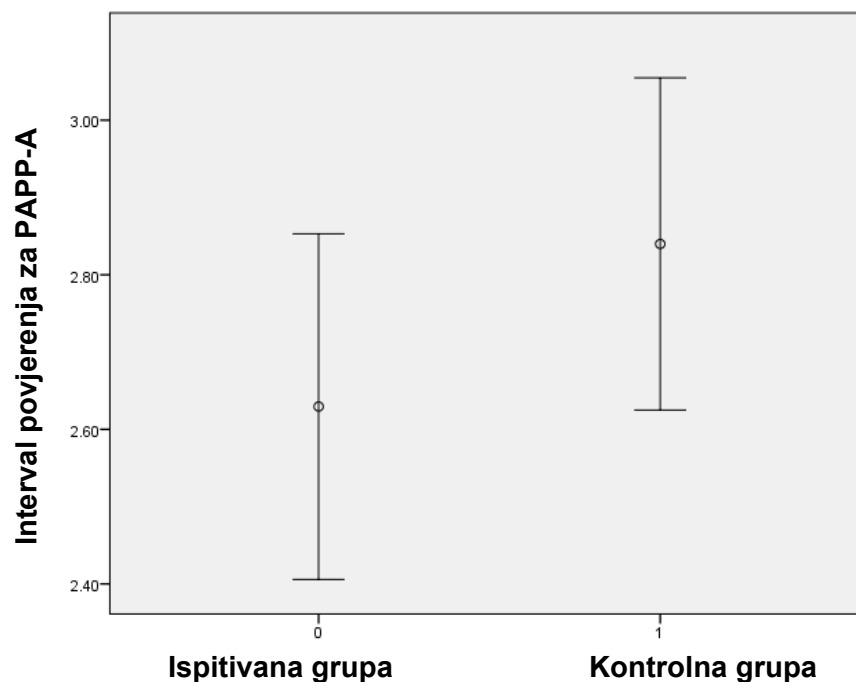
	Kontrolna grupa			Ispitivana grupa		
	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Interval povjerenja	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Interval povjerenja
PAPP-A	2.83	2.071; 0.109	(2.40, 3.26)	2.63	2.099; 0.113	(2.41, 2.85)
freeβhCG	74.28	70.461; 3.718	(68.50, 80.06)	66.98	52.016; 2.816	(61.45, 72.51)
PAPP-A MoM	1.20	0.706; 0.037	(0.15, 1.25)	1.13	0.735; 0.039	(1.05, 1.21)
freeβhCG MoM	1.53	4.291; 0.226	(1.05, 2.01)	1.25	0.944; 0.051	(1.15, 1.35)
Gestacijska nedjelja biohemijske analize	11.88	0.797; 0.042	(11.80, 11.96)	11.92	0.768; 0.041	(11.84, 12.00)
Godine starosti	31.01	3.755; 0.198	(30.62, 31.40)	31.32	3.721; 0.202	(30.93, 31.72)
Nedjelja porodaja	39.73	1.192; 0.063	(39.61, 39.86)	38.37	3.871; 0.21	(37.96, 38.78)



Grafikon 5. Histogram vrijednosti parametara u kontrolnoj i ispitivanoj grupi.

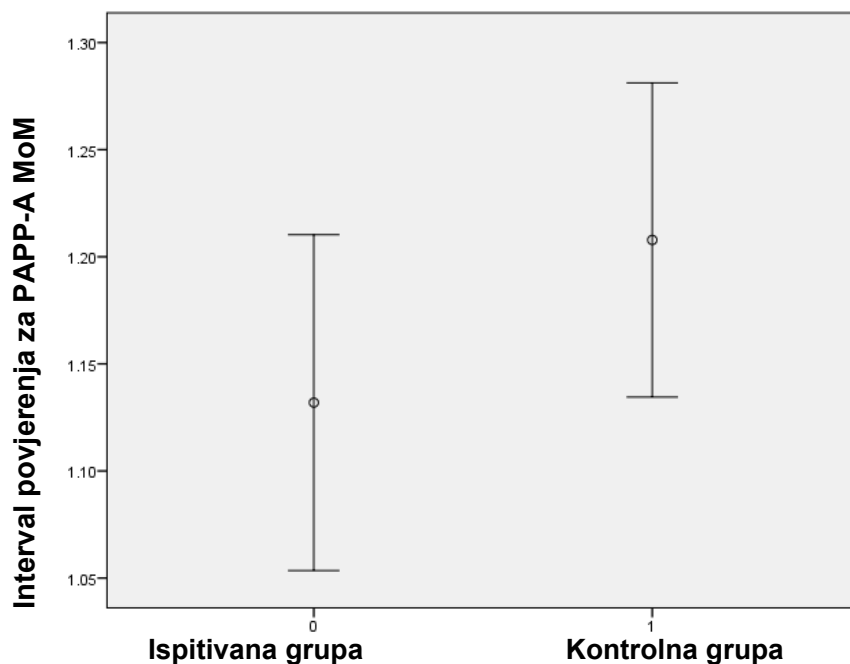
Analiza je pokazala da u kontrolnoj i ispitivanoj grupi nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijdnostima svih analiziranih parametara (za

PAPP-A: $t = 1,780$, $p = 0,183$; free β hCG: $t = 2,420$, $p = 0,120$; za PAPP-A MoM: $t = 1,938$, $p = 0,164$; za free β hCG MoM: $t = 1,465$, $p = 0,227$). Osim kod vrijednosti koje se odnose na nedjelju porodjaja ($t = 40,312$; $p = 0,000$), a ona je posljedica nešto većih prosječnih vrijednosti kod žena u kontrolnoj grupi u odnosu na ispitivanu. Ostala poređena numerička obilježja nisu se statistički značajno razlikovala ($p > 0,05$).



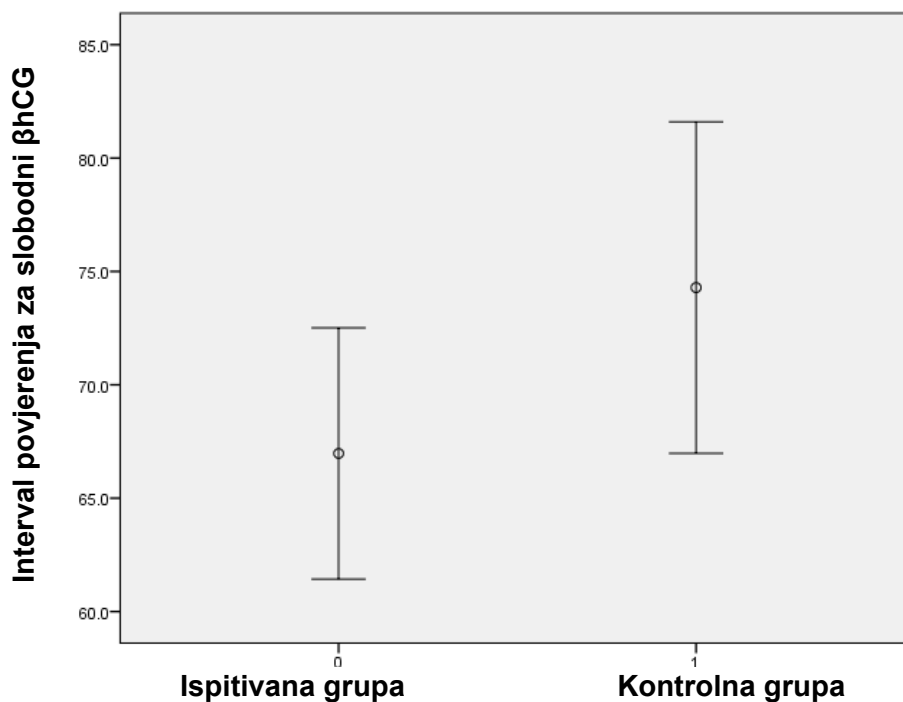
Grafikon 6. Intervali povjerenja vrijednosti PAPP-A u kontrolnoj i ispitivanoj grupi.

Na grafikonu 6 se uočava manja vrijednost medijane PAPP-A kao i pomjeranje intervala povjerenja ka manjim vrijednostima ovog parametra u ispitivanoj u odnosu na kontrolnu grupu.



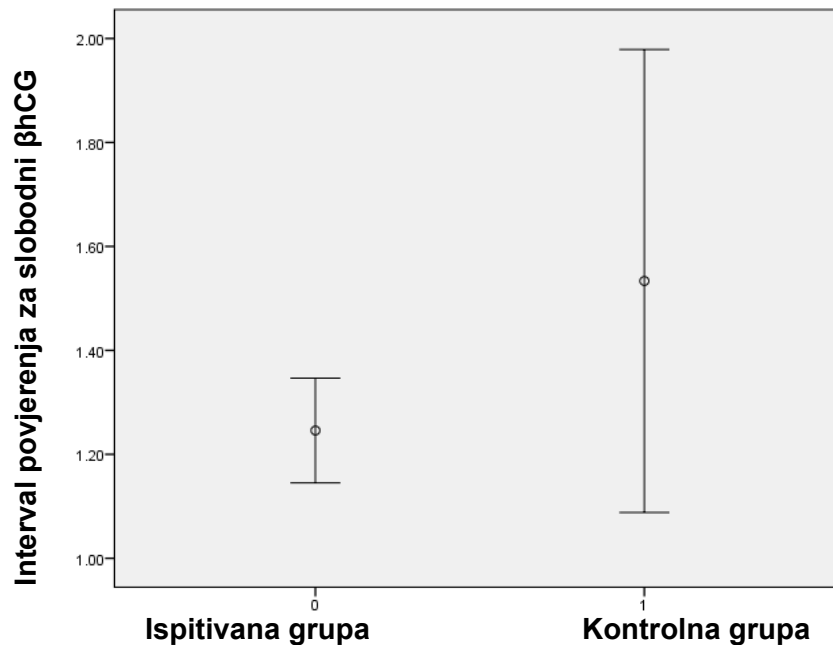
Grafikon 7. Intervali povjerenja za vrijednosti PAPP-A MoM u kontrolnoj i ispitivanoj grupi.

Na grafikonu 7 se takodje uočava niža medijana PAPP-A MoM kao i pomjeranje intervala povjerenja u opsegu nižih vrijednosti ovog parametra u ispitivanoj nego u kontrolnoj grupi.



Grafikon 8. Intervali povjerenja vrijednosti slobodnog β hCG u kontrolnoj i ispitivanoj grupi.

Na grafikonu 8 se zapažaju niže vrijednosti medijane i intervala povjerenja vrijednosti slobodnog β hCG-a u ispitivanoj nego u kontrolnoj grupi.



Grafikon 9. Intervali povjerenja za vrijednosti slobodnog β hCG MoM u kontrolnoj i ispitivanoj grupi.

Interval povjerenja za vrijednosti slobodnog β hCG MoM u ispitivanoj grupi ima znatno uži opseg vrijednosti u odnosu na kontrolnu grupu i kreće se od 1,15 do 1,35 u ispitivanoj, dok je u kontrolnoj grupi taj opseg od 1,05 do 1,63.

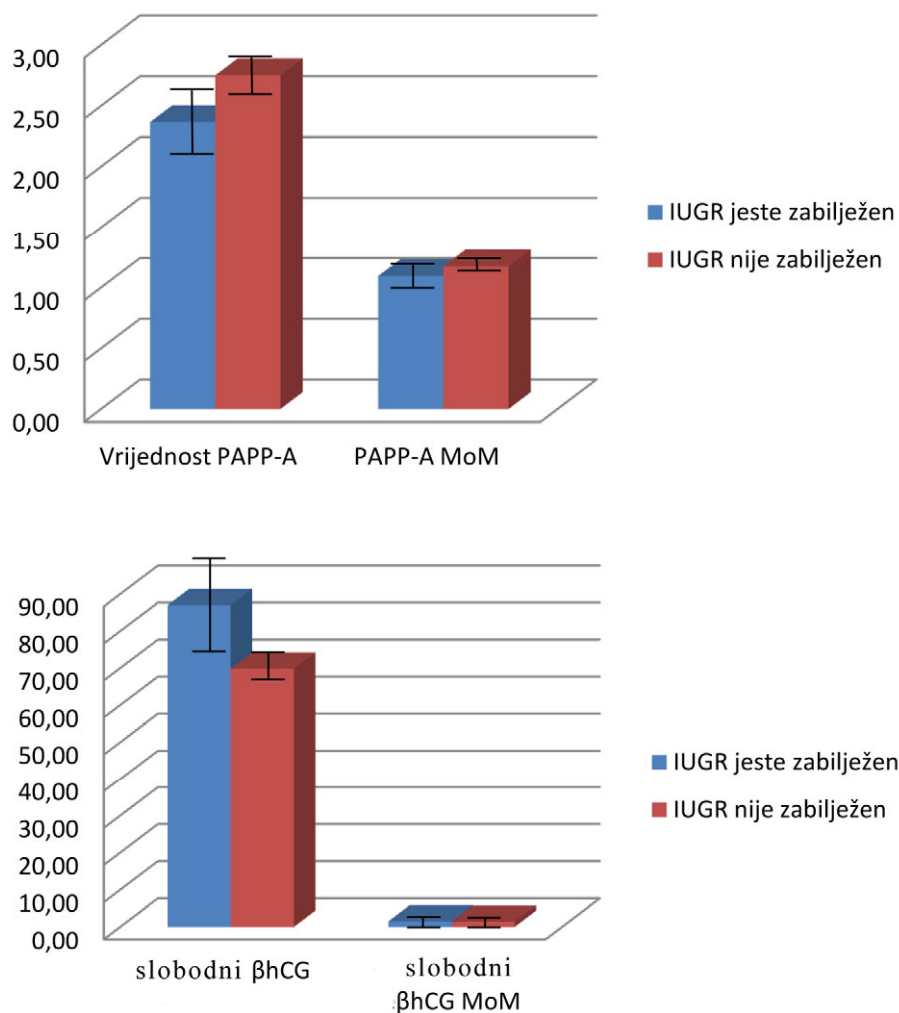
4.2 ANALIZA PARAMETARA GRUPE TRUDNICA SA ZABILJEŽENOM INTRAUTERINIM ZAOSTAJANJEM U RASTU (IUGR)

U tabeli 9. prikazane su deskriptivne vrijednosti parametara za numerička obilježja u našem radu u odnosu na podjelu po IUGR atributu za cijelu grupu ispitanica.

Tabela 9. Deskriptivni parametri za numerička obilježja u grupi trudnica sa intrauterinom zaostajanjem u rastu i u kontrolnoj grupi.

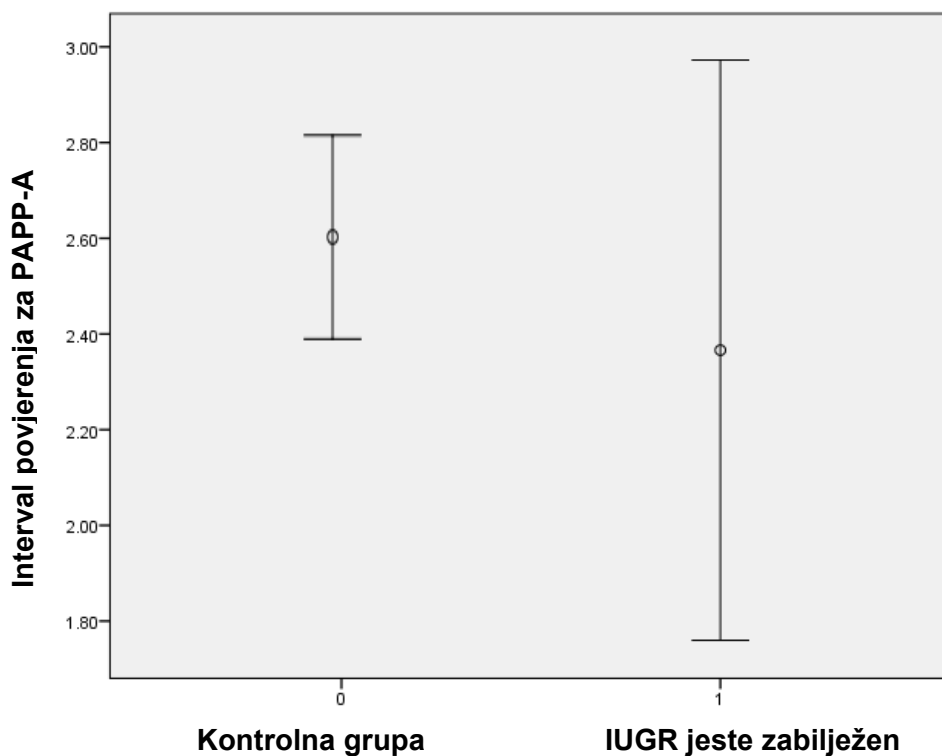
	IUGR jeste zabilježen			Kontrolna grupa		
	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Interval povjerenja	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Interval povjerenja
PAPP-A	2.37	1.791; 0.298	(1.78, 2.95)	2.83	2.071; 0.109	(2.40, 2.85)
freeβhCG	87.00	86.98; 18.115	(51.50, 122.51)	74.28	70.461; 3.718	(68.50, 84.50)
PAPP-A MoM	1.09	0.916; 0.152	(0.80, 1.39)	1.20	0.706; 0.037	(0.15, 1.32)
freeβhCG MoM	1.52	1.815; 0.302	(0.91, 2.11)	1.53	4.291; 0.226	(1.05, 1.63)
Gestacijska nedjelja biohemijske analize	11.96	0.823; 0.137	(11.70, 12.23)	11.88	0.797; 0.042	(11.80, 11.96)
Godine starosti	31.44	3.699; 0.616	(30.24, 32.65)	31.01	3.755; 0.198	(30.62, 31.98)
Nedjelja porođaja	38.11	2.755; 0.459	(37.21, 39.01)	39.73	1.192; 0.063	(39.61, 39.86)

Analiza je pokazala da u odnosu na IUGR podjelu nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima svih analiziranih parametara u tabeli 9, osim kod vrijednosti koja se odnosi na nedjelju porođaja ($t = 3,677$; $p = 0,181$), a ona je posljedica nešto većih prosječnih vrijednosti u kontrolnoj grupi. Ostala poređenja numeričkih obilježja nisu se statistički značajno razlikovala ($p > 0.05$) (Tabela 9, Grafikon 10)-(za PAPP-A: $t = 1,068$, $p = 0,302$; za slobodni β hCG: $t = 1,298$, $p = 0,255$; za PAPP-A MoM: $t = 0,138$, $p = 0,10$; za slobodni β hCG MoM: $t = 0,138$, $p = 0,711$).

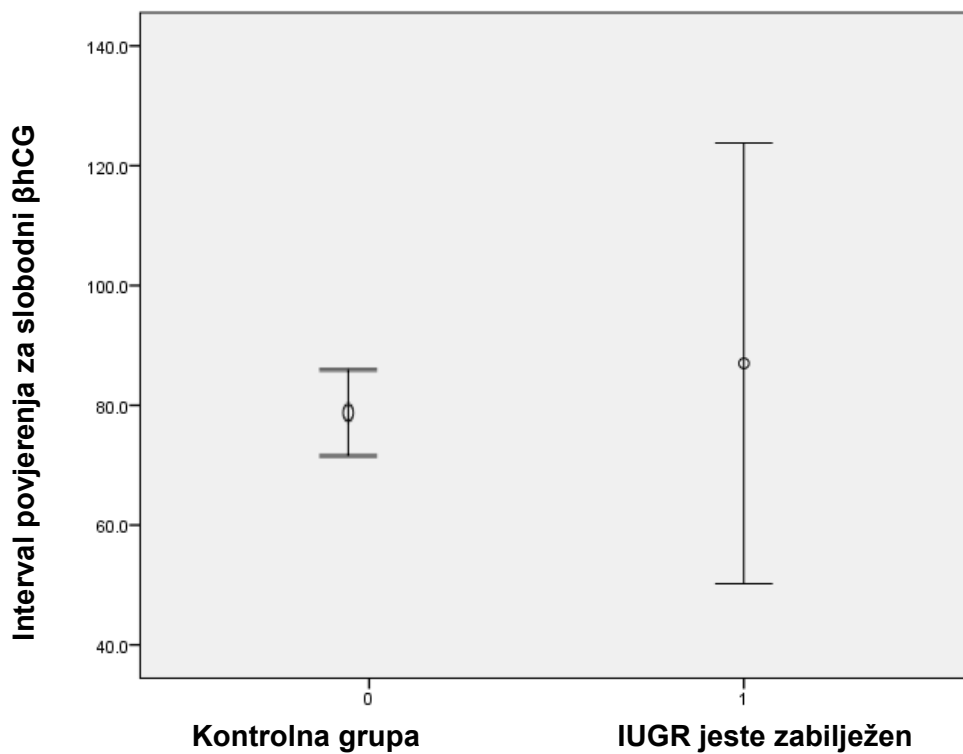


Grafikon 10. Histogram vrijednosti ispitivanih parametara u kontrolnoj i u grupi trudnica sa zabilježenim intrauterinim zaostajanjem u rastu.

Na grafikonu 11 se uočava širi interval povjerenja vrijednosti PAPP-a u grupi trudnica kod kojih je zabilježeno untrauterino zaostajanje u rastu u odnosu na interval povjerenja tog parametra u kontrolnoj grupi.

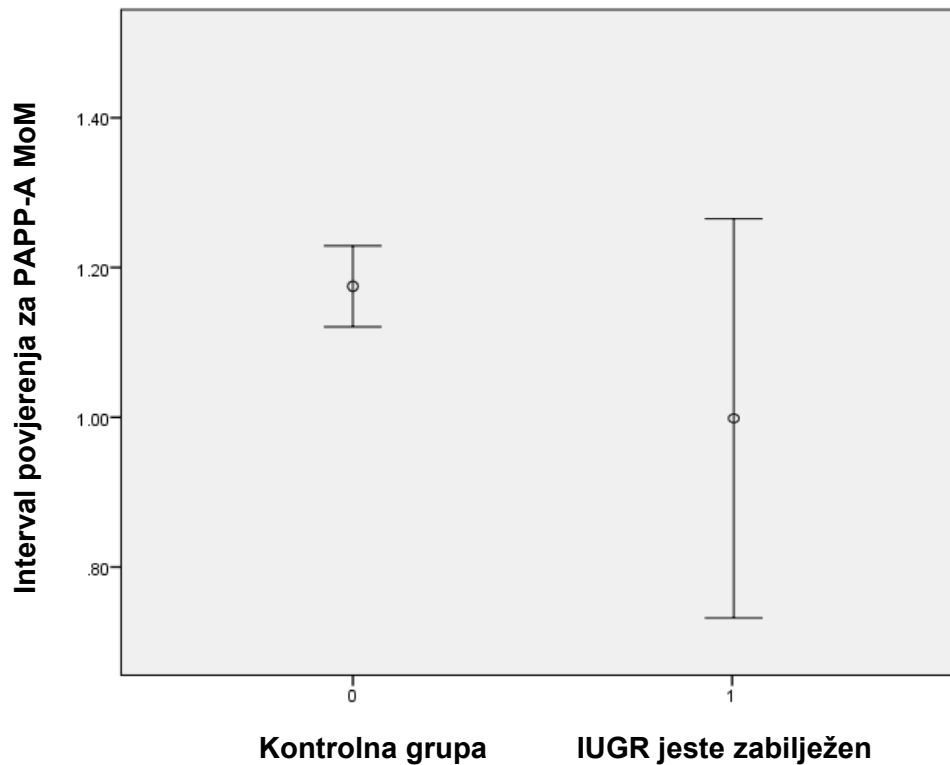


Grafikon 11. Intervali povjerenja za PAPP-A u kontrolnoj i u grupi trudnica kod kojih je zaboljevena intrauterina restrikcija rasta.



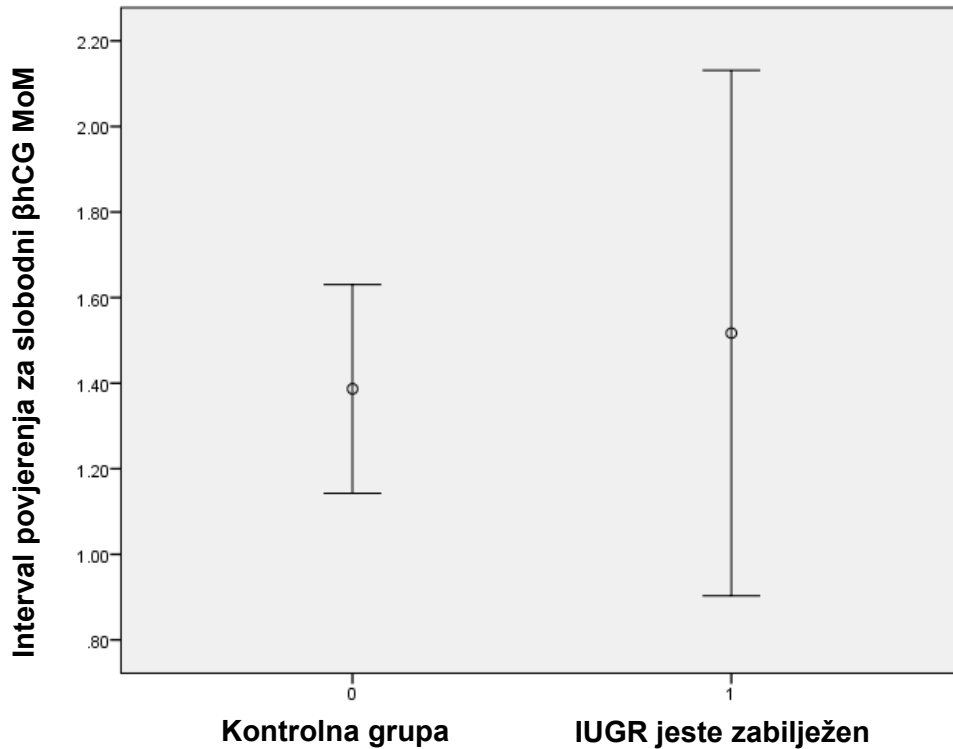
Grafikon 12. Intervali povjerenja vrijednosti slobodnog β hCG u kontrolnoj i u grupi trudnica sa zabilježenim intrauterinim zaostajanjem u rastu.

Interval povjerenja vrijednosti slobodnog β hCG-a je znatno širi u grupi trudnica sa intrauterinim zaostajanjem u rastu u odnosu na dati interval u kontrolnoj grupi i bilježi raspon od 51,50 do 122,51, koji se kod kontrolne grupe kreće od 68,50 do 84,50 (Grafikon 12).



Grafikon 13. Intervali povjerenja za PAPP-A MoM u kontrolnoj i u grupi trudnica sa intrauterinim zaostajanjem u rastu.

Grafikon 13 pokazuje pomjeranje intervala povjerenja za PAPP-a MoM u grupi trudnica sa intrauterinim zaostajanjem u rastu ka nižim vrijednostima u odnosu na kontrolnu grupu.



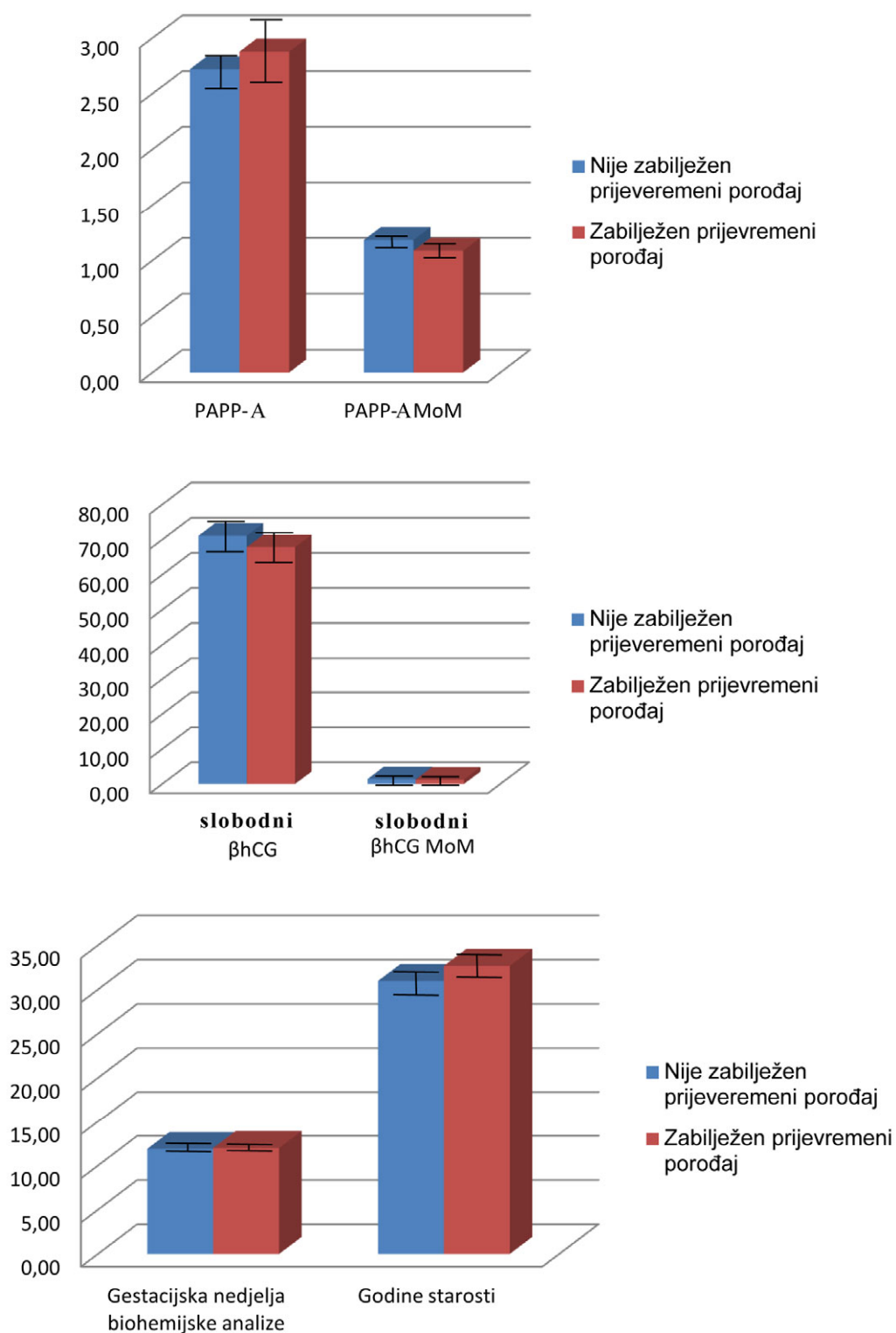
Grafikon 14. Intervali povjerenja vrijednosti slobodnog β hCG MoM u kontrolnoj i u grupi trudnica sa intrauterinim zaostajanjem u rastu.

Interval povjerenja za slobodni β hCG MoM u grupi trudnica sa intrauterinim zaostajanjem u rastu pokazuje širi opseg u odnosu na taj interval povjerenja u kontrolnoj grupi (Grafikon 14).

4.3. ANALIZA REZILTATA PREVREMENIH POROĐAJA

U tabeli broj 10 i grafikonu 15 prikazane su deskriptivne vrijednosti parametara za numerička obilježja analiziranih u grupi sa prevremenim porođajima i u kontrolnoj grupi. Analiza je pokazala da grupa trudnica sa prevremenim porođajem nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima svih analiziranih parametara u ovoj tabeli, osim kod vrijednosti koje se odnose na prosječnu starost trudnica ($t = 7,005$; $p = 0,008$), a ona je posledica nešto većih prosečnih vrijednosti kod žena kod kojih je zabilježena nešto veća prosječna starost. Ostala poređena numerička obilježja nisu se statistički značajno ($p \geq 0,05$) razlikovala (analiza za PAPP-A- $t = 0,873$ $p = 0,351$; za slobodni β hCG – $t =$

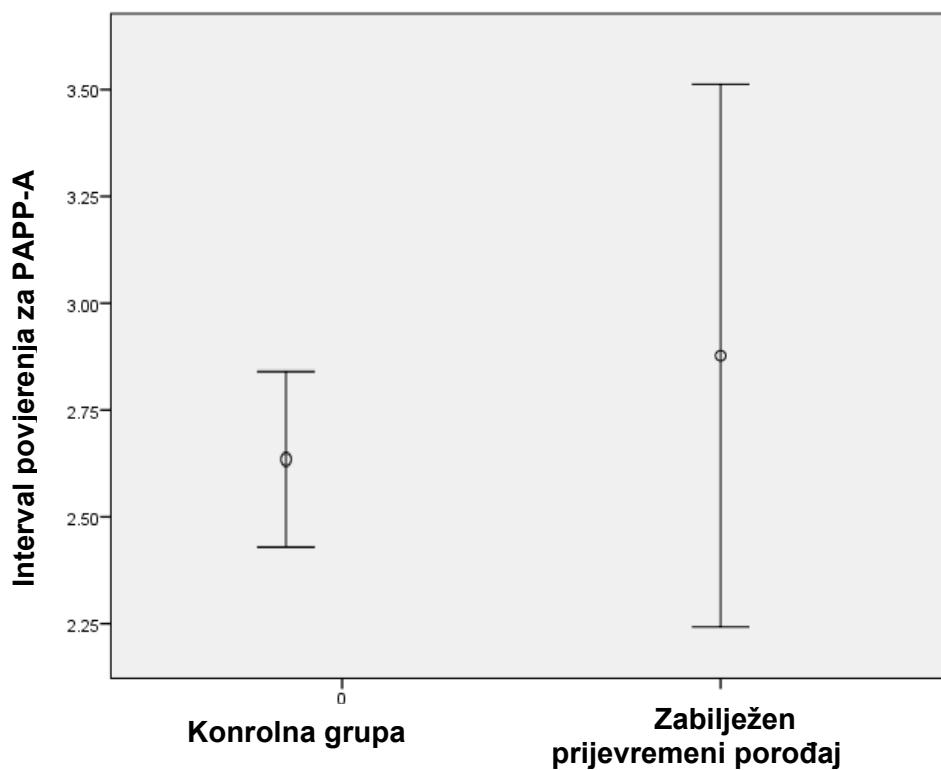
0,376, $p = 0,540$; za PAPP-A MoM – $t = 2,329$, $p = 0,128$; za slobodni β hCG MoM – $t = 0,082$, $p = 0,775$)



Grafikon 15. Histogram vrijednosti ispitivanih parametara u kontrolnoj i u grupi trudnica sa prevremenim porođajima.

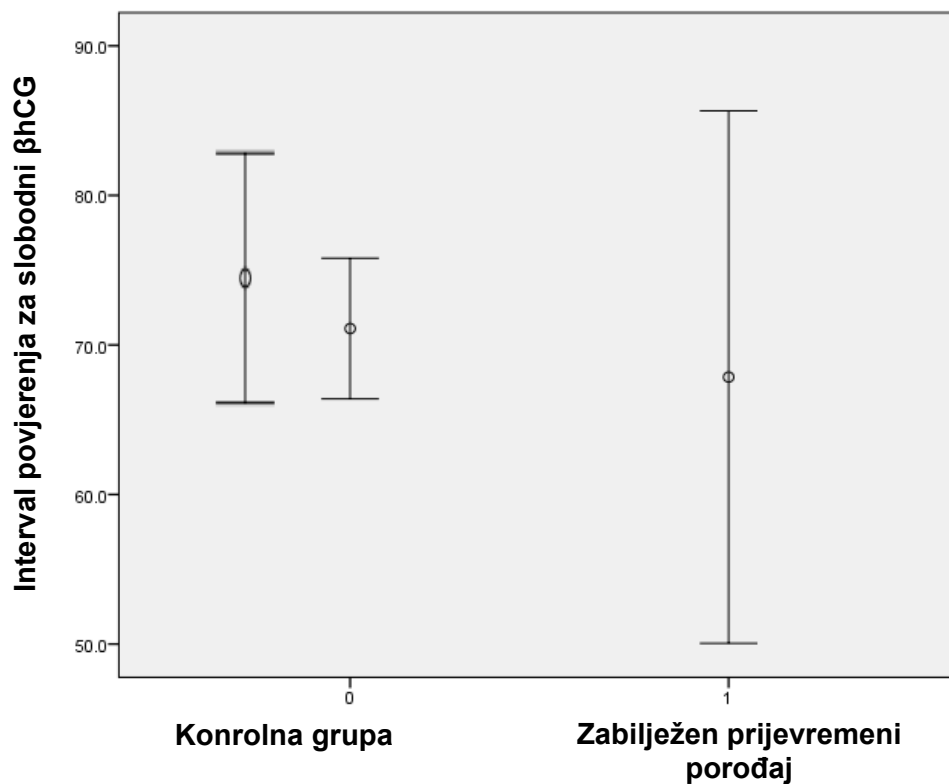
Tabela 10. Deskriptivni parametri za numerička obilježja u grupi trudnica sa prevremenim porođajem i u kontrolnoj grupi.

	Kontrolna grupa			Zabilježen prijevremeni porođaj		
	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Interval povjerenja	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Interval povjerenja
PAPP-A	2.83	2.071; 0.109	(2.40, 2.85)	2.88	2.853; 0.319	(2.25, 3.50)
freeβhCG	74.28	70.461; 3.718	(68.50, 84.50)	67.85	59.985; 8.942	(50.32, 85.38)
PAPP-A MoM	1.20	0.706; 0.037	(0.15, 1.32)	1.09	0.893; 0.099	(0.89, 1.28)
freeβhCG MoM	1.53	0.291; 0.226	(1.05, 1.63)	1.28	1.395; 0.155	(0.97, 1.58)
Gestacijska nedjelja biohemijske analize	11.88	0.797; 0.042	(11.80, 11.96)	11.99	0.849; 0.094	(11.80, 12.18)
Godine starosti	31.01	3.755; 0.198	(30.62, 31.98)	32.68	3.929; 0.439	(31.81, 33.54)
Nedjelja porođaja	39.73	1.192; 0.063	(39.61, 39.86)	35.60	2.237; 0.25	(35.11, 36.09)



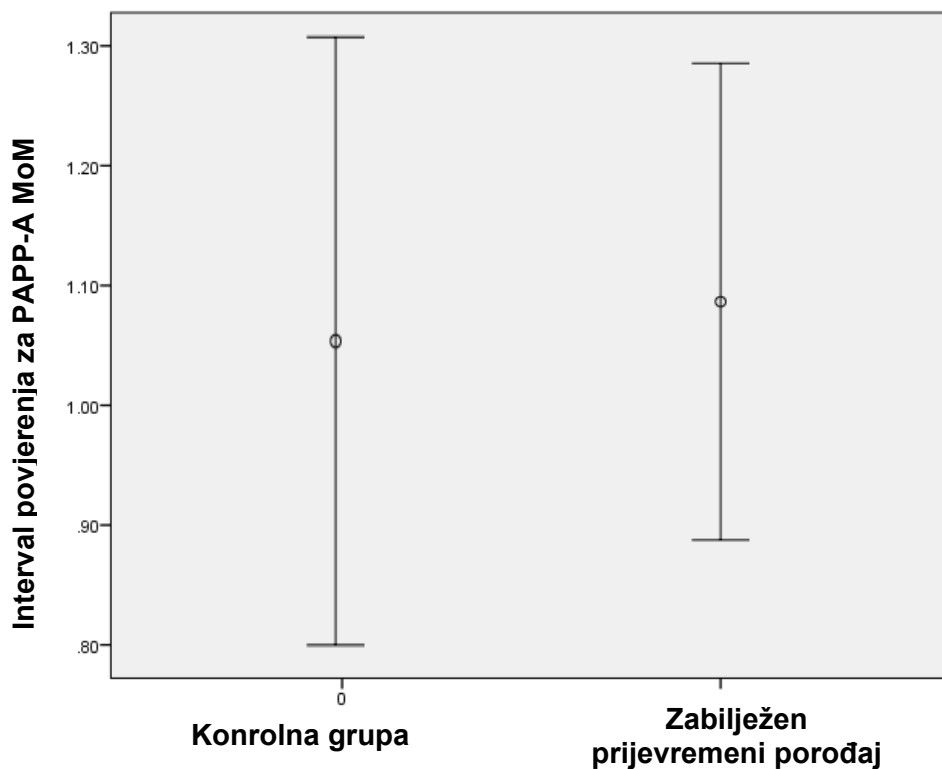
Grafikon 16. Intervali povjerenja za PAPP-A u kontrolnoj i u grupi trudnica sa prevremenim porođajima.

Na grafikonu 16 se uočava širi interval povjerenja za vrijdnosti PAPP-A kod trudnica koje su imale prevremene porođaje u odnosu na kontrolnu grupu.



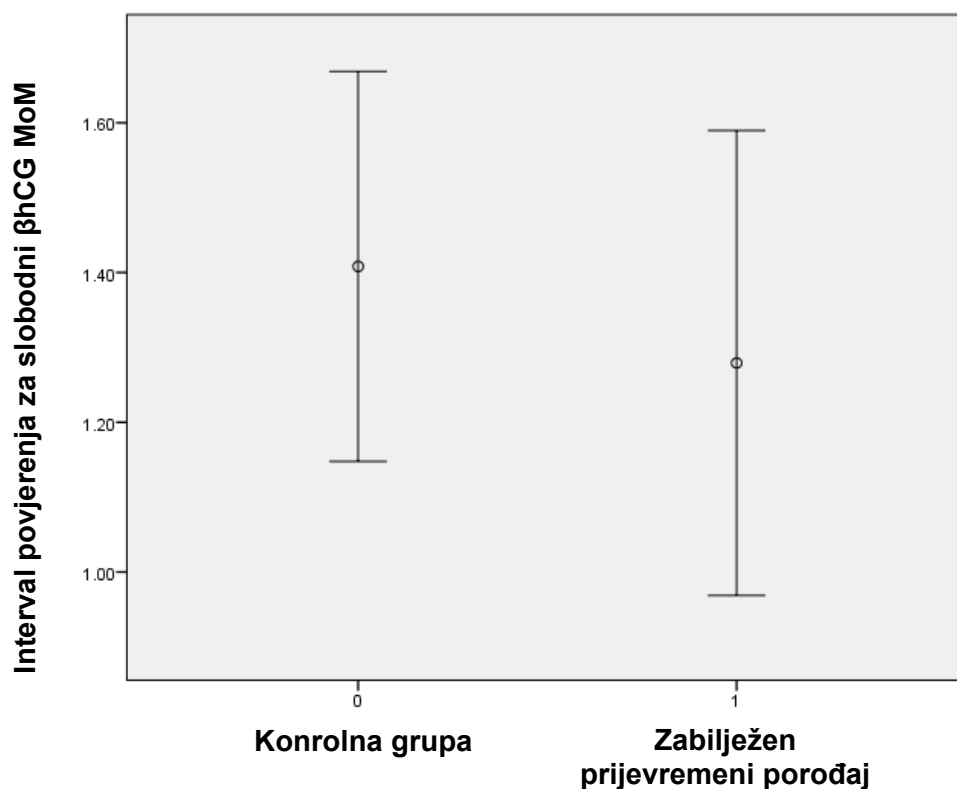
Grafikon 17. Intervali povjetenja za vrijednosti slobodnog beta hCG u kontrolnoj i u grupi trudnica sa prevremenim porođajima.

Grupa trudnica koje su imale prevremene porođaje ima širi interval povjerenja za slobodni beta hCG u odnosu na trudnice iz kontrolne grupe.



Grafikon 18. Intervali povjerenja za PAPP-A MoM u kontrolnoj i u grupi trudnica sa prevremenim porođajima.

Interval povjerenja za PAPP-A MoM pokazuje nešto uži opseg vrijednosti kod trudnica koje su imale prevremene porođaje u odnosu na taj interval u kontrolnoj grupi (Grafikon 18).



Grafikon 19. Intervali povjerenja za slobodni β hCG MoM u kontrolnoj i u grupi trudnica sa prevremenim porođajima.

Na grafikonu 19 se uočava da ne postoje značajne razlike u opsegu intervala povjerenja za vrijednosti slobodni β hCG MoM u kontrolnoj i u grupi trudnica sa prevremenim porođajima, s tim što je u grupi trudnica sa prevremenim porođajima ovaj opseg pomjeren u smjeru nešto nižih vrijednosti u odnosu na kontrolnu grupu.

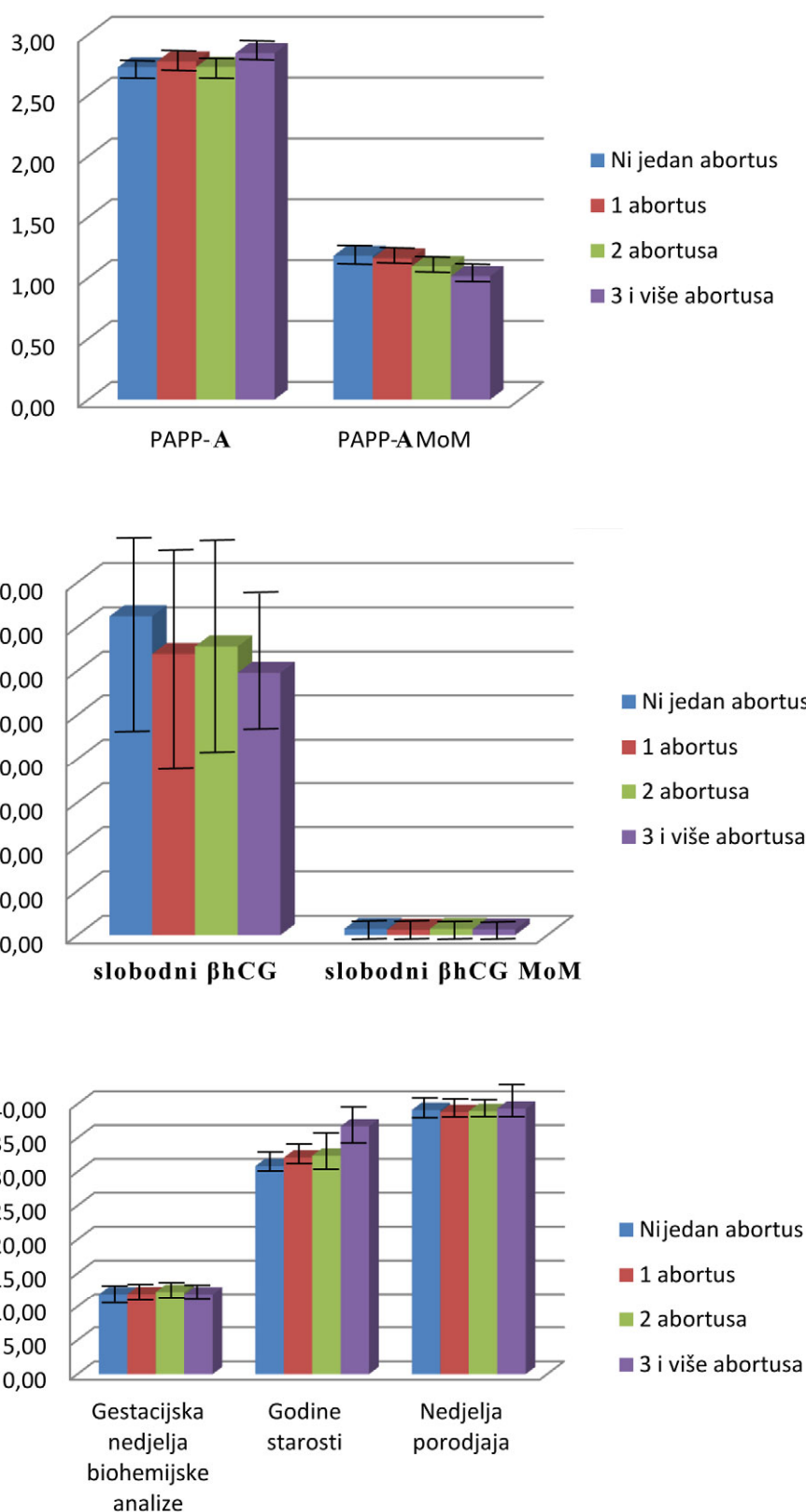
4.4. ANALIZA PARAMETARA PO GRUPAMA BROJA PRETHODNIH ABORTUSA

U tabeli 11. prikazane su deskriptivne vrijednosti parametara za numerička obilježja u našem radu u odnosu na podjelu po broju prethodnih abortusa za cijelu grupu trudnica.

Tabela 11. Deskriptivni parametri za numerička obilježja u našem radu za podjelu po broju prethodnih abortusa.

	Broj prethodnih abortusa							
	Ni jedan abortus		1 abortus		2 abortusa		3 i više abortusa	
	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška
PAAP-A	27.31	21.32; 0.09	27.79	21.21; 0.191	27.34	17.445; 0.4	28.47	12.319; 0.503
freehCG	72.39	67.991; 28.992	63.83	33.166; 29.904	65.53	33.234; 16.244	59.55	29.958; 12.23
PAPP-A MoM	11.80	0.736; 0.031	11.61	0.674; 0.061	10.95	0.728; 0.167	8.21	0.367; 0.15
freehCG MoM	14.36	3.529; 0.15	11.91	0.646; 0.058	14.05	0.747; 0.171	13.04	11.092; 0.453
Gestacijska nedjelja biohemijske analize	11.88	0.772; 0.033	11.92	0.819; 0.074	12.24	0.862; 0.198	11.89	0.87; 0.355
Godine starosti	30.85	3.639; 0.155	32.11	3.691; 0.333	32.37	4.621; 1.06	36.72	4.535; 1.851
Nedjelja porođaja	39.13	2.91; 0.124	38.85	3.06; 0.276	38.95	2.094; 0.48	39.33	2.757; 1.125

Analiza je pokazala da u odnosu na broj prethodnih abortusa nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima svih analiziranih parametara u tabeli broj 16, osim kod vrijednosti godina starosti trudnica ($F = 5,185$; $p < 0,01$), a ona je posledica nešto većih prosečnih vrednosti godina kod žena sa većim brojem ranijih abortusa, odnosno kako broj prethodnih abortusa raste rastu i vrijednosti godina starosti. Ostala poređena numerička obilježja nisu se statistički značajno razlikovala ($p > 0,05$) po broju prethodnih abortusa (Tabela 11, Grafikon 20).



Grafikon 20. Histogram raspodjele ispitivanih parametara u odnosu na broj prethodnih abortusa.

4.5. ANALIZA REZULTATA PREMA BROJU PRETHODNIH POROĐAJA

Tabela 12. Deskriptivni parametri za numerička obilježja u našem radu za podjelu po broju prethodnih porođaja.

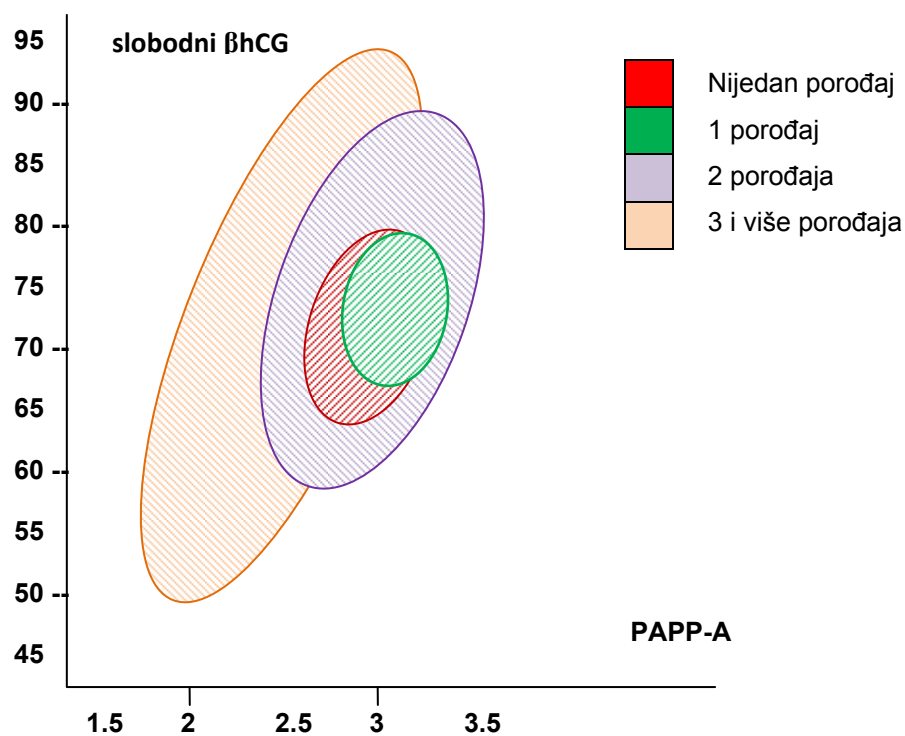
	Broj prethodnih porođaja							
	Ni jedan porođaj		1 porođaj		2 porođaja		3 i više porođaja	
	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška
PAAP-A	2.66	1.952; 0.111	2.85	2.341; 0.142	2.72	1.840; 0.178	2.27	1.135; 0.342
freehCG	69.59	69.082; 3.924	71.23	49.637; 3.009	72.48	72.131; 6.973	70.36	34.497; 10.401
PAPP-A MoM	1.12	0.662; 0.037	1.23	0.754; 0.045	1.15	0.811; 0.078	1.18	0.468; 0.141
freehCG MoM	1.49	4.601; 0.261	1.28	0.833; 0.050	1.36	1.253; 0.121	1.30	0.676; 0.204
Gestacijska nedjelja biohemijske analize	11.94	0.772; 0.439	11.86	0.775; 0.046	11.89	0.828; 0.080	11.67	0.859; 0.259
Godine starosti	30.25	3.675; 0.209	31.54	3.706; 0.225	32.57	3.368; 0.326	33.82	3.027; 0.913
Nedjelja porođaja	39.36	2.741; 0.156	38.98	2.939; 0.178	38.51	3.309; 0.320	38.36	1.859; 0.560

Analizom parametara iz tabele 12 rezultati ukazuju da ne postoje statistički značajne razlike među svim ispitivanim kategorijama odnosno PAPP-A, $F=0.587$, $p=0.624$, Turkey test potvrdio da nema razlike ni između koja dva para grupa po broju porođaja.

Takođe je analizom utvrđeno da za slobodni β hCG ($F=0.078$, $p=0.972$)-nema statističke značajnosti, Turkey test potvrdio da nema razlike ni između koja dva para grupa po broju porođaja.

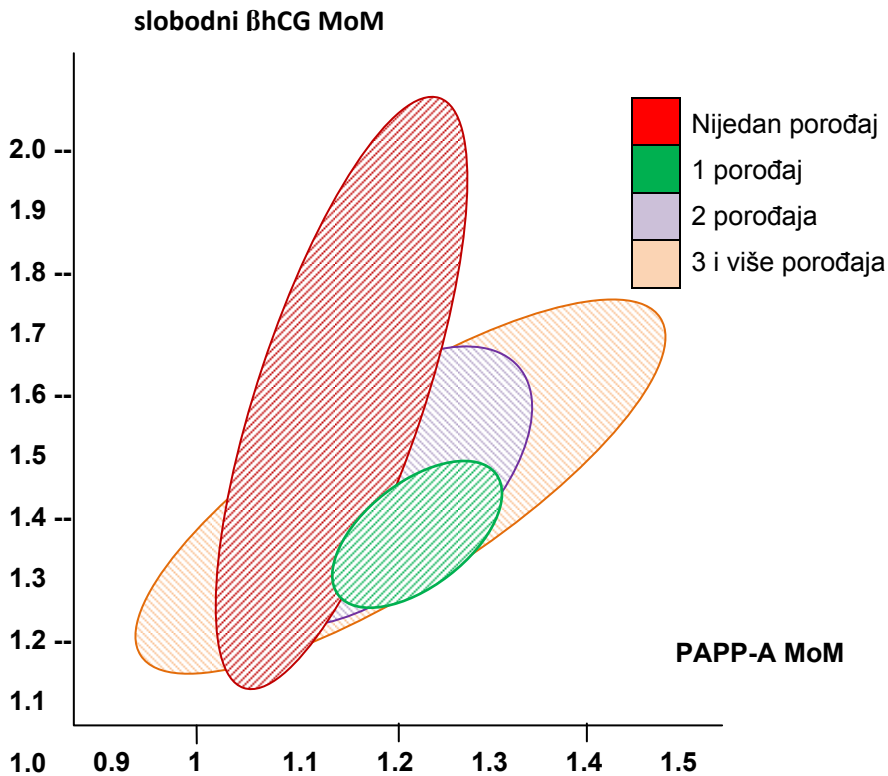
Analiza za PAPP-a MoM ($F=1.154$, $p=0.326$)-ukazuje da nema statističke značajnosti, Turkey test je potvrdio da nema razlike ni između koja dva para grupa po broju porođaja.

Rezultati testa za free slobodni β hCG MoM ($F=0.222$, $p=0.881$) -takođe ukazuju da nema statističke značajnosti, Turkey test je potvrdio da nema razlike ni između koja dva para grupa po broju porođaja



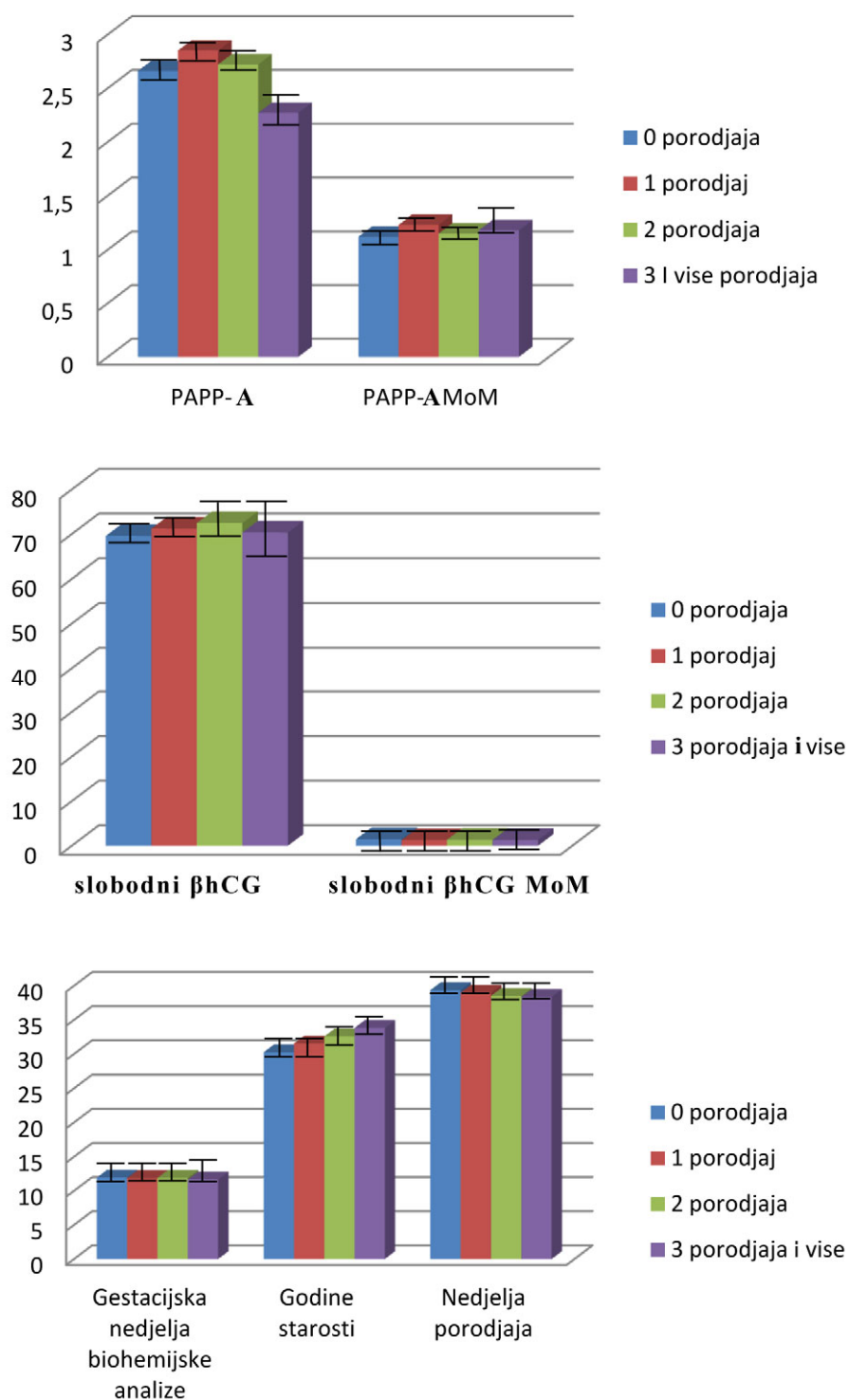
Grafikon 21. Elipse (interval povjerenja) PAPP-A i slobodni β hCG po grupama u odnosu na broj prethodnih porođaja.

Na grafikonu 21 se jasno uočava da u grupi trudnica koja nije imala prethodnih porođaja, to jeste grupa trudnica čiji su ovo parametri prve trudnoće, odnos oba parametra nije jednoznačno definisan, tj postoje uzorci u kojima su vrijednosti veće, kao i uzorci kod kojih su vrijednosti manje u odnosu na ostale grupe. Međutim, grupe trudnica koje su imale prethodne porođaje pokazuju trend rasta oba parametra sa porastom broja prethodnih porođaja.



Grafikon 22. Elipse (interval povjerenja) vrijednosti PAPP-A MoM i free slobodni β hCG MoM po grupama u odnosu na broj prethodnih porođaja.

Uočava se trend rasta oba parametra (PAPP-A MoM i slobodni β hCG MoM) sa porastom broja prethodnih trudnoća. Jasno se vidi da najveća razlika odnosa oba parametra postoji između grupe koja nije imala ranijih porođaja i grupe koja je imala jedan porođaj. Takođe se uočava da parameter free slobodni β hCG ima najveći interval povjerenja u grupi koja nije imala ranijih porođaja. U toj grupi je i interval povjerenja za vrijednost PAPP-A MoM najuži i orjentisan ka nešto nižim vrijednostima u odnosu na ostale grupe. Na grafiku se vidi i da je interval povjerenja vrijednosti PAPP-A MoM najveći u grupi trudnica sa najvećim brojem prethodnih porođaja (Grafikon 22).



Grafikon 23. Histogram raspodjele ispitivanih parametara prema broju prethodnih porodjaja.

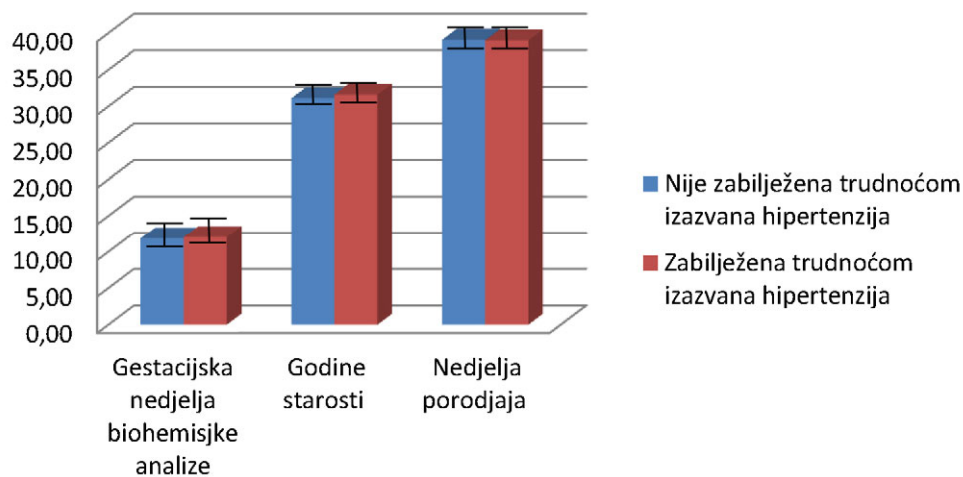
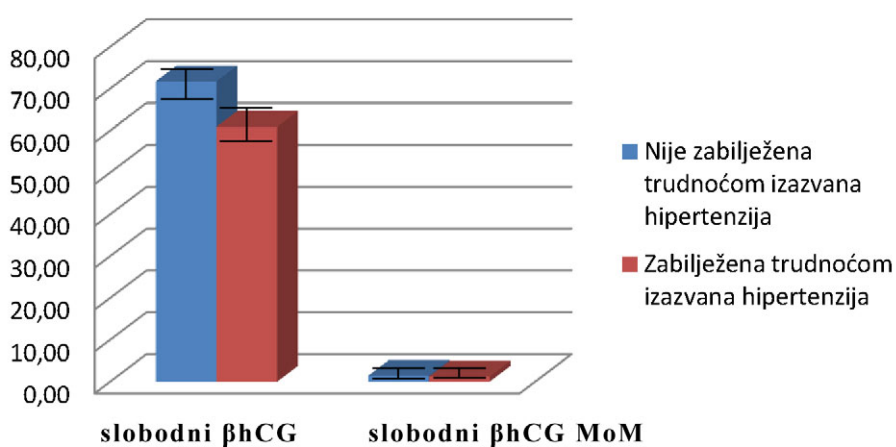
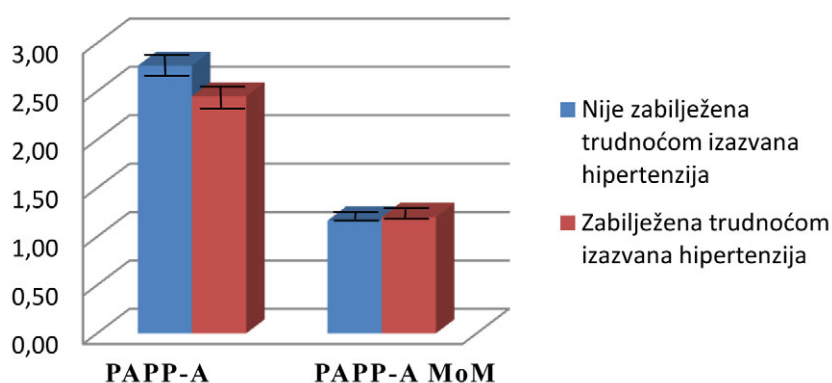
4.6 ANALIZA PARAMETRA U GRUPI TRUDNICA SA HIPERTENZIJOM KOJA JE IZAZVANA TRUDNOĆOM (PIH)

U tabeli 13. prikazane su deskriptivne vrijednosti parametara za numerička obilježja u našem radu u odnosu na podjelu po grupama i to grupa trudnica sa hipertenzijom koju izaziva trudnoća (PIH) i kontrolna grupa.

Tabela 13. Deskriptivni parametri za numerička obilježja u kontrolnoj i u grupi trudnica sa hipertenzijom izazvanom trudnoćom.

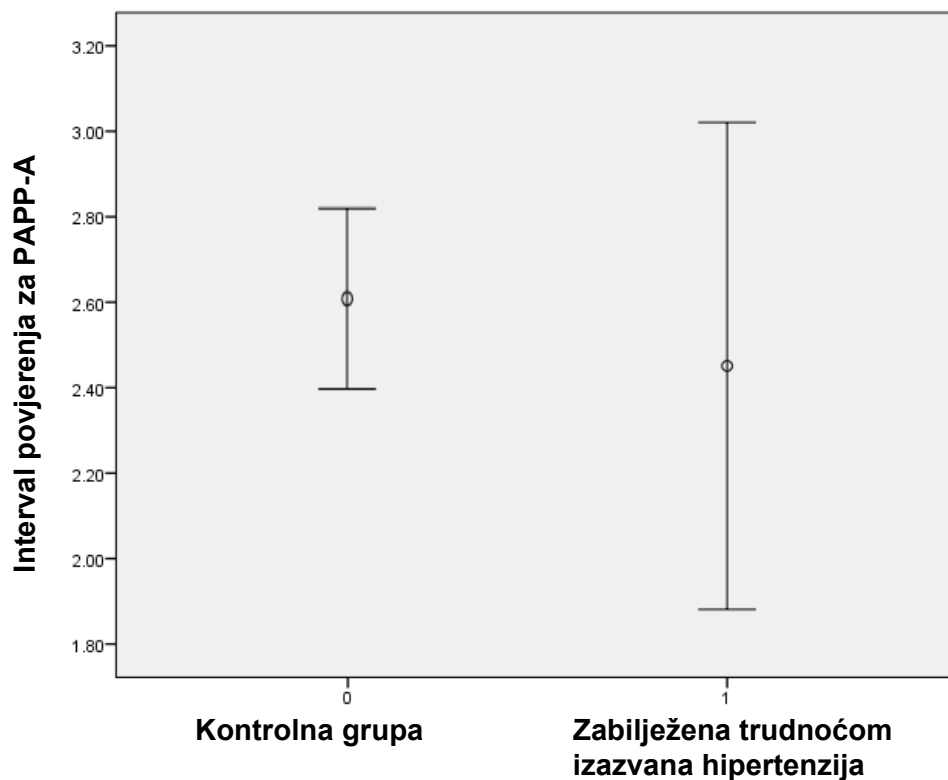
	Kontrolna grupa			Zabilježena trudnoćom izazvana hipertenzija		
	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Interval povjerenja	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Interval povjerenja
PAPP-A	2.83	2.071; 0.109	(2.40, 2.85)	2.45	2.45; 0.285	(1.87, 3.02)
freeβhCG	74.28	70.461; 3.718	(68.50, 84.50)	60.89	60.893; 4.563	(53.37, 70.00)
PAPP-A MoM	1.20	0.706; 0.037	(0.15, 1.32)	1.20	1.203; 0.106	(1.00, 1.41)
freeβhCG MoM	1.53	4.291; 0.226	(1.05, 1.63)	1.22	1.216; 0.085	(1.05, 1.40)
Gestacijska nedjelja biohemijske analize	11.88	0.797; 0.042	(11.80, 11.96)	12.06	12.061; 0.104	(11.50, 12.86)
Godine starosti	31.01	3.755; 0.198	(30.62, 31.98)	31.62	31.62; 0.505	(29.00, 34.00)
Nedjelja porođaja	39.73	1.192; 0.063	(39.61, 39.86)	39.00	39; 0.231	(38.00, 40.00)

Analiza je pokazala da u ovom poređenju nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima svih analiziranih parametara u tabeli broj 13.



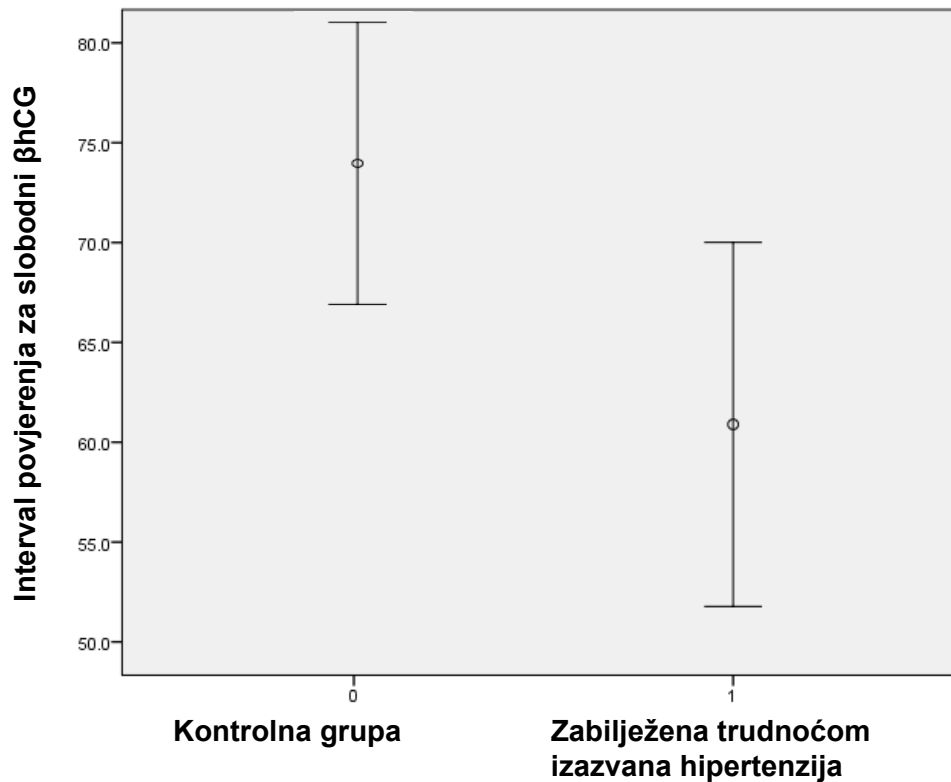
Grafikon 24. Histogram ispitivanih parametara u odnosu na kontrolnu i grupu trudnica sa hipertenzijom koju izaziva trudnoća.

Na grafikonu 24 se uočavaju nešto niže vrijednosti oba biohemijska parametra što nije u skladu sa literaturnim podacima.



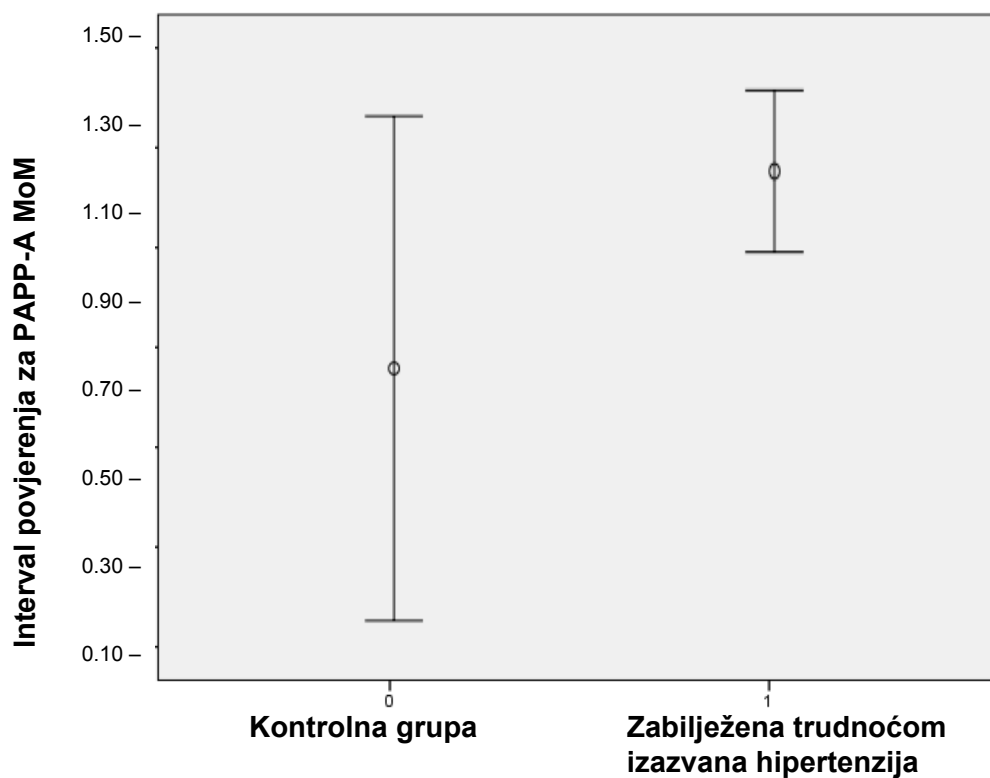
Grafikon 25. Intervali povjerenja za PAPP-A u kontrolnoj i u grupi trudnica sa hipertenzijom izazvanom trudnoćom.

Na grafiku 25 se uočava širi interval povjerenja za vrijednosti PAPP-A u grupi trudnica sa hipertenzijom izazvanom trudnoćom u odnosu na kontrolnu grupu.



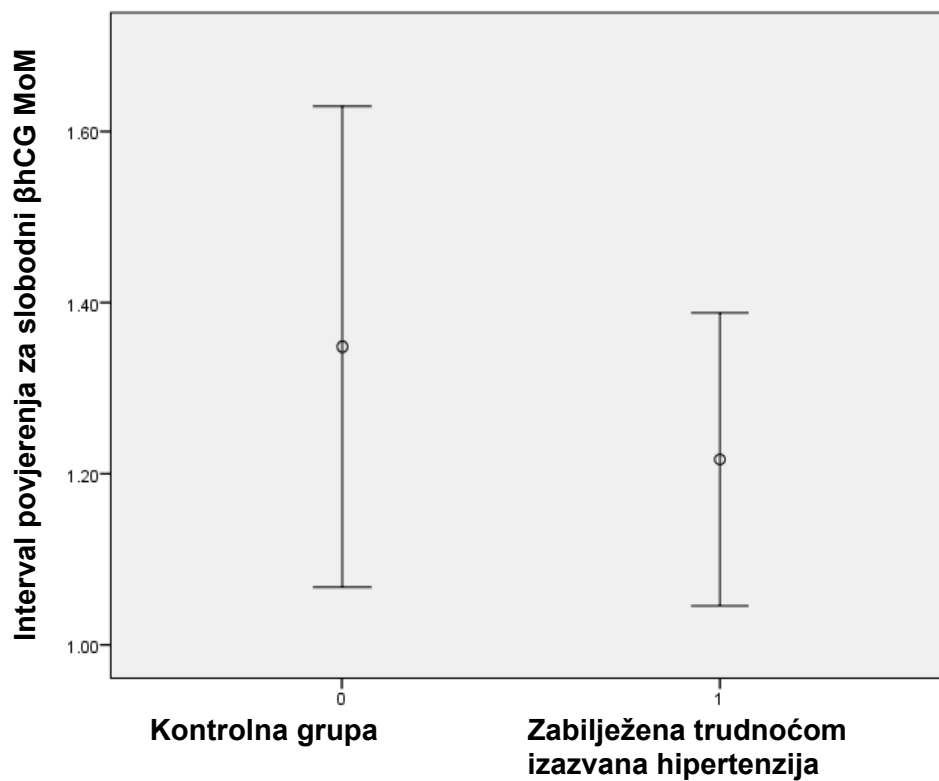
Grafikon 26. Intervali povjerenja za slobodni β hCG u kontrolnoj i u grupi trudnica sa hipertenzijom koju izaziva trudnoća.

Opseg intervala povjerenja za parametar slobodni β hCG ne pokazuje statistički značajne-razlike s tim da su vrijednosti ovog opsega kod grupe trudnica sa PIH-om pomjerenje ka nižim vrijednostima kao i medijana (Grafikon 26).



Grafikon 27. Intervali povjerenja za PAPP-A MoM u kontrolnoj grupi trudnica i u grupi sa hipertenzijom koju izaziva trudnoća.

Na ovom grafikonu se uočava približno jednak opseg intervala za PAPP-A MoM sa neznatnim pomjeranjem ka nižim vrijednostima u kontrolnoj grupi.



Grafikon 28. Intervali povjerenja za slobodni β hCG MoM u kontrolnoj i grupi trudnica sa hipertenzijom izazvanom trudnoćom.

Na grafikonu 28 se uočava nešto širi opseg intervala povjerenja za slobodni β hCG MoM u kontrolnoj grupi.

4.7. ANALIZA PARAMETARA U ODNOSU NA POROĐAJNE TEŽINE**Tabela 14. Biohemijski parametri u odnosu na porođajne težine.**

	Težina novorođenčeta							
	do 2500g		od 2500-3000g		od 3000-4000g		preko 4000g	
	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška
PAPP-A	2.59	2.217; 0.334	2.67	2.668; 2.35	2.77	2.766; 2.098	2.76	2.759; 2.091
freeβhCG	73.96	60.303; 15.121	73.96	73.955; 41.173	70.95	70.947; 63.606	63.20	63.204; 34.008
PAPP-A MoM	1.16	0.142; 0.943	1.04	0.057; 0.661	1.19	0.031; 0.698	1.35	0.156; 0.894
freeβhCG MoM	1.39	0.261; 1.735	1.84	0.588; 6.814	1.28	0.048; 1.057	1.12	0.100; 0.575

Analiza je pokazala da u odnosu na podjelu po porođajnoj težini do 2500g nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima nivoa PAPP-A ($t = 0,498$; $p > 0,05$). Neparametarska provjera (obzirom na velike SD) potvrdila je odsustvo statistički značajne razlike ($z = 1,388$; $p > 0,05$).

Analiza je pokazala da u odnosu na podjelu po porođajnoj težini do 2500g nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima nivoa slobodnog hCG ($t = 0,355$; $p > 0,05$). Neparametarska provjera (obzirom na velike SD) potvrdila je odsustvo statistički značajne razlike ($z = 1,286$; $p > 0,05$).

Analiza je pokazala da u odnosu na podjelu po porođajnoj težini od 2500 do 3000g nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima PAPP-A ($t = 0,429$; $p > 0,05$). Neparametarska provjera (obzirom na velike SD) potvrdila je odsustvo statistički značajne razlike ($z = 1,357$; $p > 0,05$).

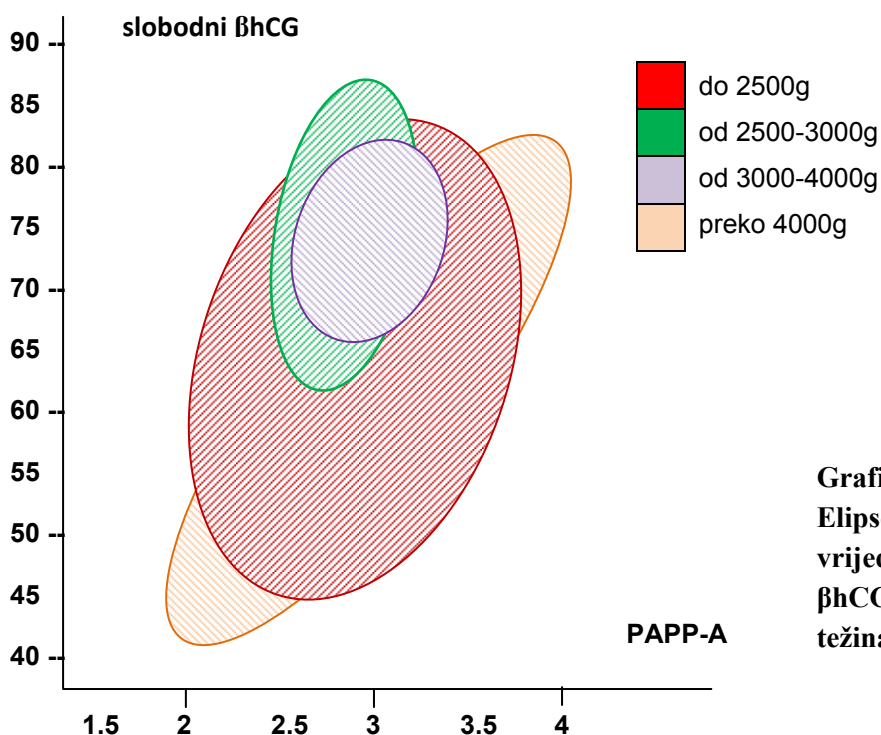
Analiza je pokazala da u odnosu na podjelu po porođajnoj težini od 2500 do 3000g nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima slobodnog hCG ($t = 0,448$; $p > 0,05$). Neparametarska provjera (obzirom na velike SD) potvrdila je odsustvo statistički značajne razlike ($z = 1,514$; $p > 0,05$).

Analiza je pokazala da u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini od 3000 do 4000g nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima nivoa PAPP-A ($t = 0,535$; $p > 0,05$). Neparametarska provjera (obzirom na velike SD) potvrdila je odsustvo statistički značajne razlike ($z = 1,400$; $p > 0,05$).

Analiza je pokazala da u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini od 3000 do 4000g nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima slobodnog hCG ($t = 0,044$; $p > 0,05$). Neparametarska provjera (obzirom na velike SD) potvrdila je odsustvo statistički značajne razlike ($z = 0,911$; $p > 0,05$).

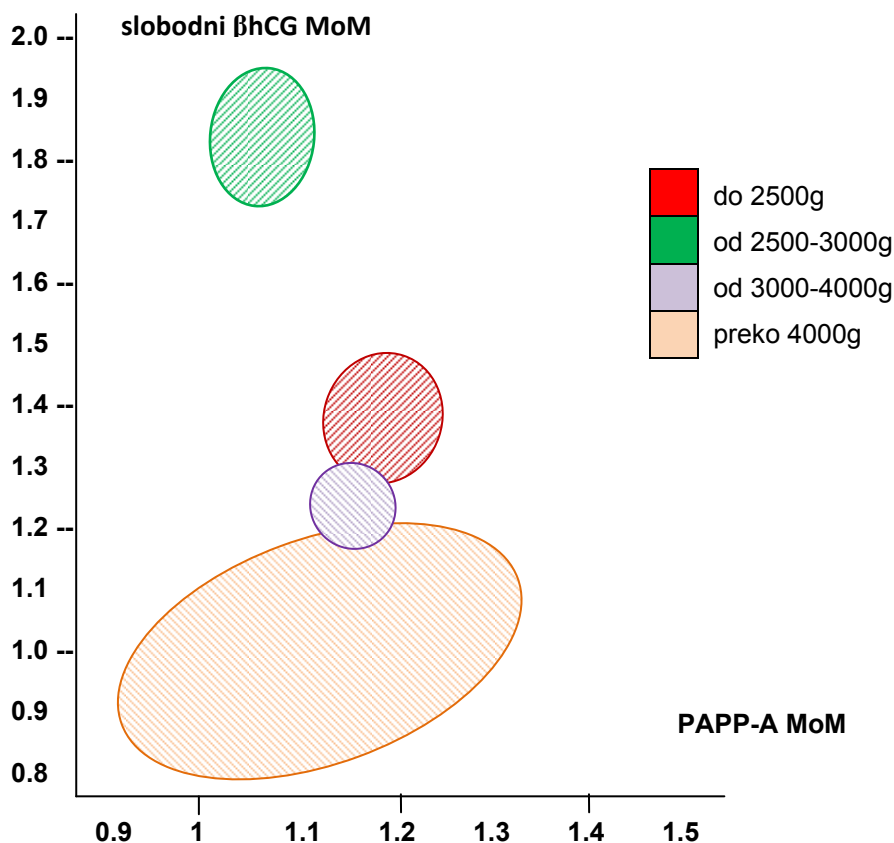
Analiza je pokazala da u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini preko 4000g nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima PAPP-A ($t = 0,062$; $p > 0,05$). Neparametarska provjera (obzirom na velike SD) potvrdila je odsustvo statistički značajne razlike ($z = 1,311$; $p > 0,05$).

Analiza je pokazala da u odnosu na ovu podjelu nema statistički značajne razlike u prosečnim vrijednostima slobodnog β hCG ($t = 0,722$; $p > 0,05$). Neparametarska provjera (obzirom na velike SD) potvrdila je odsustvo statistički značajne razlike ($z = 0,253$; $p > 0,05$).



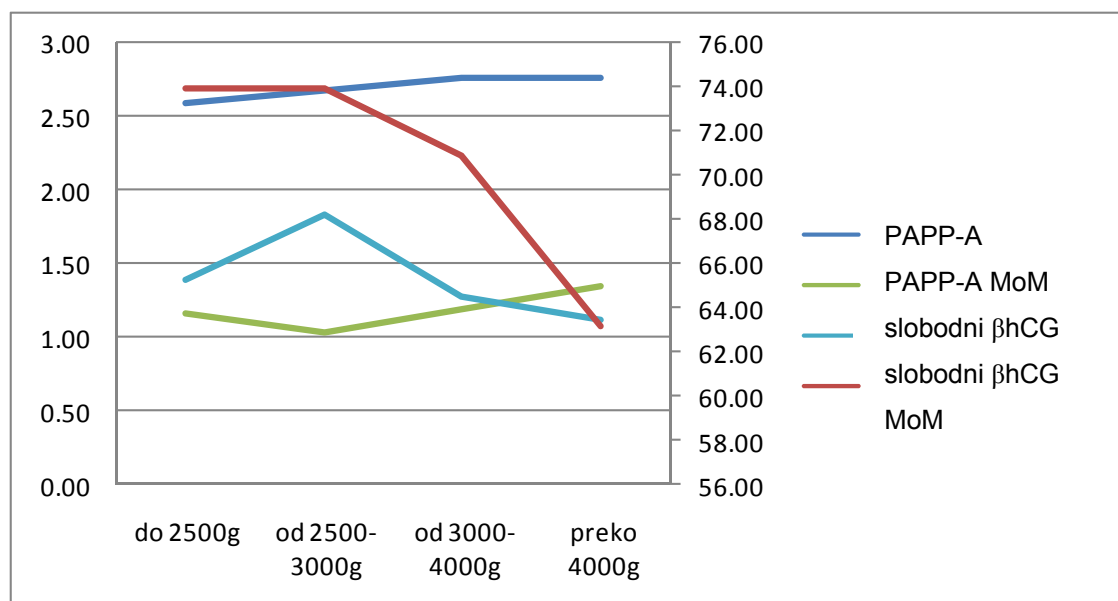
Grafikon 29.
Elipse (interval povjerenja)
vrijednosti PAPP-A i slobodnog
 β hCG po grupama porodajnih
težina.

Uočava se da u odnosu na grupe po porođajnim težinama odnos oba parametra nije jednoznačno definisan (Grafikon 29).



Grafikon 30. Elipse (interval povjerenja) vrijednosti PAPP-A MoM i slobodnog β hCG MoM po grupama porođajnih težina.

Na grafikonu 30 je evidentna razlika u vrijednostima slobodnog β hCG među grupama tjelesnih težina većih od 4000 grama u odnosu na grupu porođajnih težina manjih od 2500 grama kao i onih od 2500 do 3000 grama. Takođe se izdvaja grupa porođajnih težina preko 4000 g po vrijednostima PAPP-A MoM koje imaju najširi interval povjerenja u odnosu na ostale grupe.



Grafikon 31. Prosječne vrijednosti biohemijskih parametara prema porođajnim težinama.

Na grafikonu 31 se uočava trend rasta vrijednosti i PAPP.A i PAPP-A MoM sa porastom tjelesne težine na rođenju. Takođe se uočava i trend pada vrijednosti slobodnog β hCG sa porastom porođajne težine.

4.8. ANALIZA PARAMETARA U ODNOSU NA GESTACIJSKI DIJABETES

Tabela 15. Biohemijski parametri u kontrolnoj i u grupi trudnica sa gestacijskim dijabetesom.

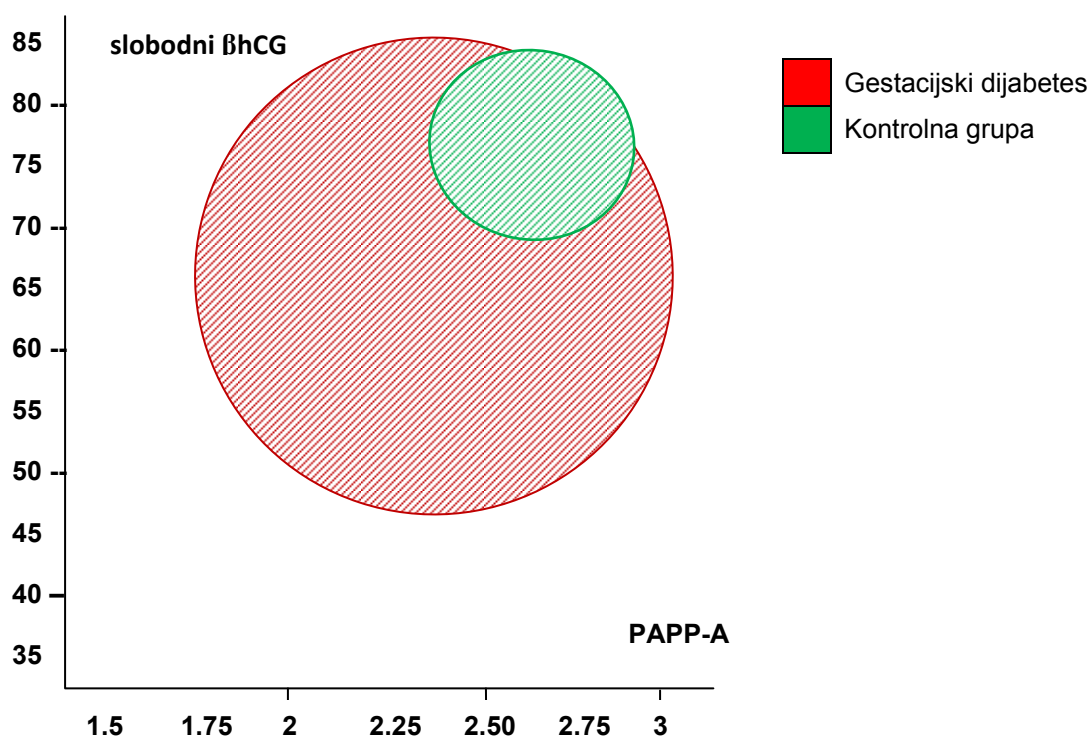
	Gestacijski dijabetes			Kontrolna grupa		
	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Interval povjerenja	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Interval povjerenja
PAPP-A	2.34	1.530; 0.342	(1.56, 3.05)	2.83	2.071; 0.109	(2.40, 2.85)
freeβhCG	68.85	31.746; 7.098	(54.50, 85.00)	74.28	70.461; 3.718	(68.50, 84.50)
PAPP-A MoM	1.11	0.524; 0.117	(0.85, 1.34)	1.20	0.706; 0.037	(0.15, 1.32)
freeβhCG MoM	1.33	0.660; 0.147	(1.13, 1.95)	1.53	4.291; 0.226	(1.05, 1.63)

Analizom rezultata iz tabele 15 uočene su razlike među trudnicama koje su imale gestacijski dijabetes i kontrolne grupe u odnosu na vrijednosti PAPP-A. Uočava se da postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 9.107$; $df = 1$; $p < 0,05$).

Analiza je pokazala i razlike među trudnicama koje su imale gestacijski dijabetes i kontrolne grupe u odnosu na vrijednosti slobodnog β hCG koje su statistički značajne ($\chi^2 = 8.753$; $df = 1$; $p < 0,05$).

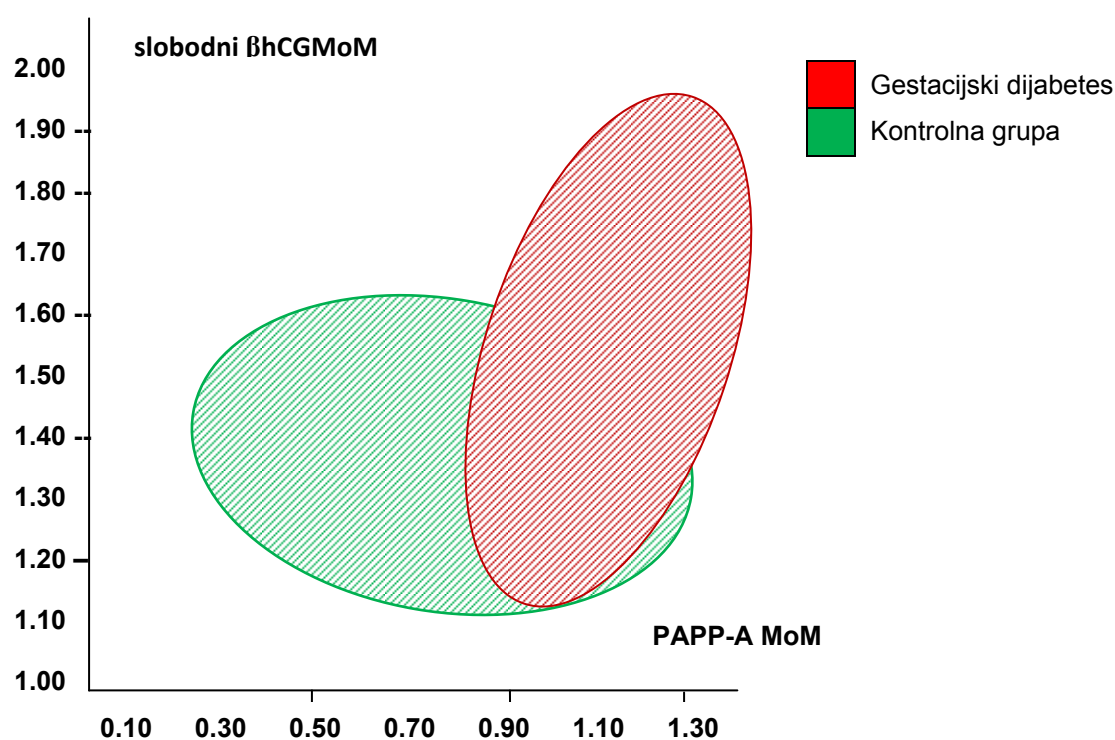
Kod analize razlike među trudnicama koje su imale gestacijski dijabetes i kontrolne grupe u odnosu na vrijednosti PAPP-A MoM uočeno je da postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 11.301$; $df = 1$; $p < 0,05$).

Analize razlike među trudnicama koje su imale gestacijski dijabetes i kontrolne grupe u odnosu na vrijednosti slobodnog β hCG MoM takođe pokazuju da postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 4.968$; $df = 1$; $p < 0,05$).



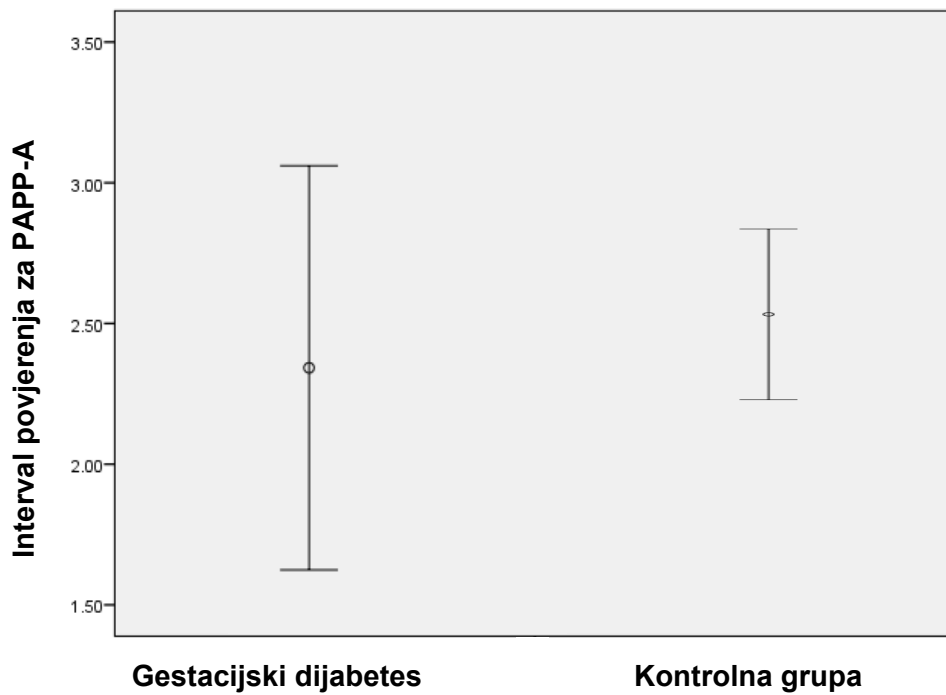
Grafikon 32. Elipse (interval povjerenja) za vrijednosti PAPP-A i slobodnog β hCG u kontrolnoj i grupi trudnica sa gestacijskim dijabetesom.

Sa grafikona 32 je moguće vidjeti da odnos oba parametra znatno dominira u grupi trudnica sa gestacijskim dijabetesom što ukazuje na izrazito širi opseg intervala povjerenja kako za PAPP-A tako i za slobodni β hCG.

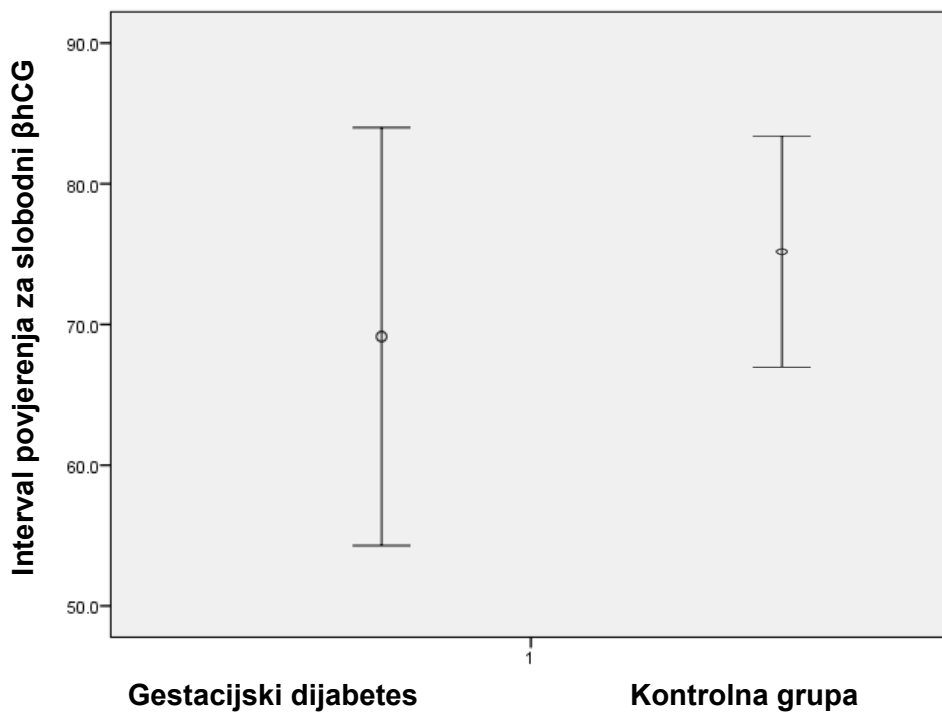


Grafikon 33. Elipse (interval povjerenja) za PAPP-A MoM i slobodni β hCG MoM u kontrolnoj i u grupi trudnica sa gestacijskim dijabetesom.

Na grafikonu se jasno uočava razlika u orijentaciji elipsa kontrolne i ispitivane grupe. Ugao koji zaklapaju glavne ose elipsi sa apscisom ukazuju na rastuću povezanost u ispitivanoj grupi kao i na opadajuću u kontrolnoj grupi. Jasno se uočava rastući trend vrijednosti slobodnog β hCG MoM u grupi trudnica sa gestacijskim dijabetesom, kao i znatno uži opseg intervala povjerenja za PAPP-A MoM koji je pomjeren ka visim vrijednostima. Uži interval povjerenja za slobodni β hCG MoM i širi za PAPP-A MoM uočava se u kontrolnoj grupi.



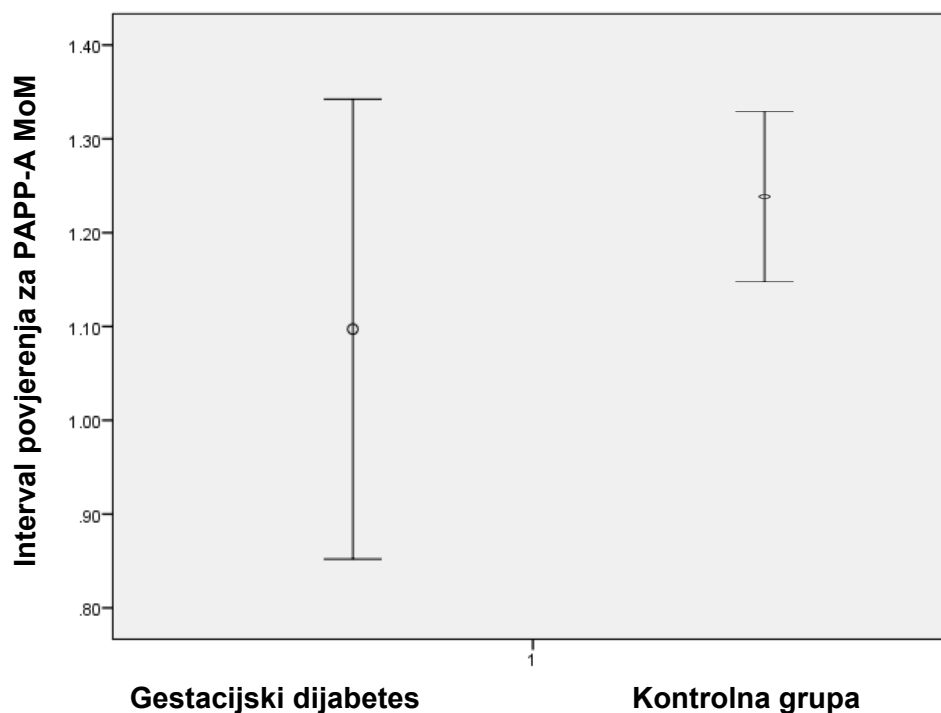
Grafikon 34. Intervali povjerenja za PAPP-A u kontrolnoj i u grupi trudnica sa gestacijskim dijabetesom.



Grafikon 35. Intervali povjerenja za slobodni β hCG u kontrolnoj i u grupi trudnica s agestacijskim dijabetesom.

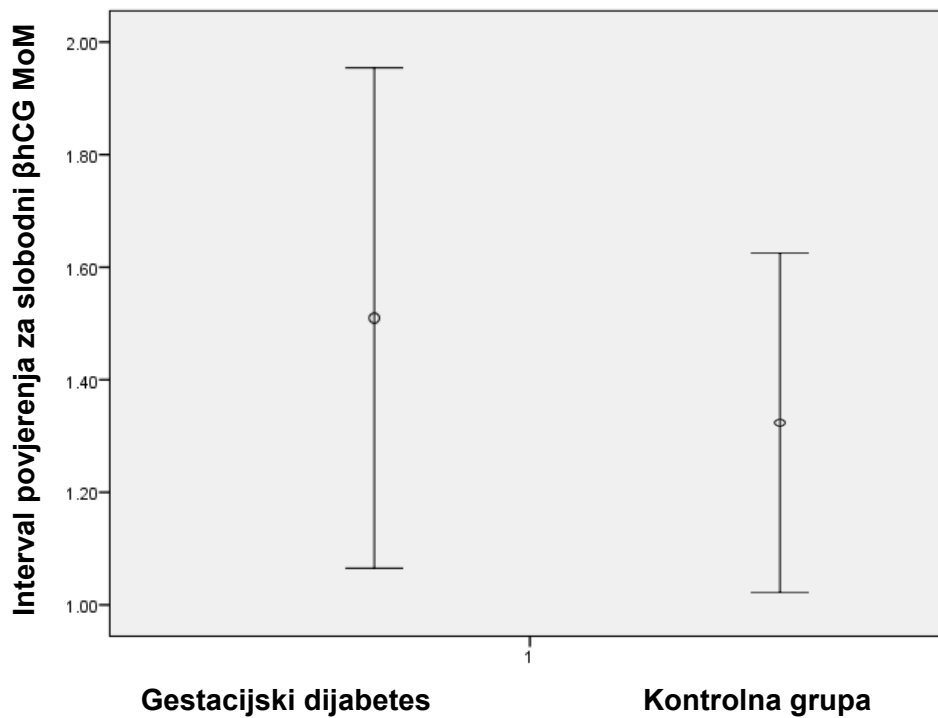
Na grafikonu 34 jasno se zapaža širi opseg interval posmatranog parametra u grupi trudnica sa gestacijskim dijabetesom u odnosu na taj interval u kontrolnoj grupi.

Interval povjerenja za free β hCG ima širi opseg za grupu ispitivanih trudnica koji pokazuje pomjeranja ka nižim vrijednostima ovog parametra u odnosu na kontrolnu grupu (Grafikon 35).



Grafikon 36. Intervali povjerenja za PAPP-A u kontrolnoj i u grupi trudnica sa gestacijskim dijabetesom.

Na grafikonu 36 može se zapaziti širi interval povjerenja za PAPP-A MoM u grupi trudnica sa gestacijskim dijabetesom čiji je opseg pomjeren ka domenu znatno nižih vrijednosti u odnosu na kontrolnu grupu.



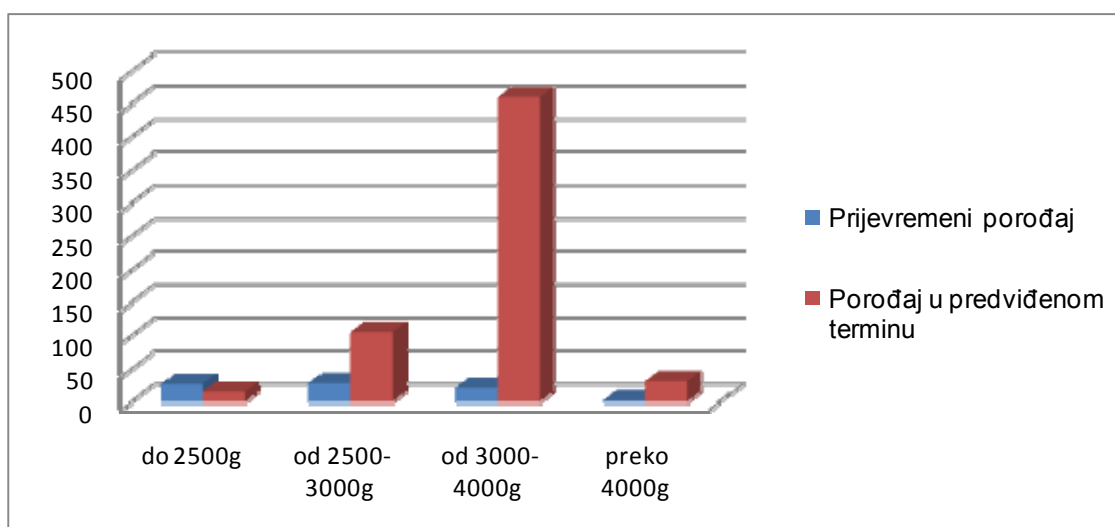
Grafikon 37. Intervali povjerenja za slobodni β hCG MoM za kontrolnu i za grupu trudnica sa gestacijskim dijabetesom.

Grafikon 37 pokazuje širi interval povjerenja za vrijednosti slobodnog β hCG MoM u grupi trudnica sa gestacijskim dijabetesom, ali za razliku od pomjerenja kod PAPP-A MoM ovdje se uočava pomjerenje ka višim vrijednostima u ispitivanoj u odnosu na kontrolnu grupu.

4.9. ANALIZA UTICAJA PREVREMENIH POROĐAJA NA POROĐAJNU TEŽINU

Tabela 16. Uticaj prevremenih porođaja na porođajnu težinu.

	Porođajna težina				Ukupno
	do 2500g	od 2500-3000g	od 3000-4000g	preko 4000g	
Prijevremeni porođaj	28 (63.64%)	29 (21.48%)	22 (4.56%)	2 (5.88%)	81 (11.57%)
Porođaj u predviđenom terminu	16 (36.36%)	106 (78.52%)	460 (95.44%)	32 (94.12%)	619 (88.42%)
Ukupno	44 (6.28%)	135 (19.28%)	482 (68.85%)	34 (4.85%)	700 (100.00%)



Grafikon 38. Histogram raspodjele težina novorođenčadi u odnosu na termin porođaja

Analizom Tabele 16 i Grafikona 38 došli smo do sledećih rezultata: kod ukrštanja prevremenih porođaja u odnosu na podjelu po porođajnoj težini manjoj od 2500 g pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 126,425$; $df = 1$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posledica toga što su žene kod kojih nije zabilježen prevremeni porođaj daleko češće imale i novorođenčad čija je težina iznosila manje od 2500g (97,4%) od onih kod kojih je zabilježen prevremeni porođaj (65,0%).

Analiza je pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 16,699$; $df = 1$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posledica toga što su žene koje nisu imale prevremeni porođaj daleko češće imale i porođajnu težinu od 2500-3000g (82,9%) nego što je to zabilježeno kod trudnica sa prevremenim porođajem (63,7%).

Analiza je pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 72,043$; $df = 1$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posledica toga što su žene koje nisu imale prevremeni porođaj daleko češće imale porođajne težine u interval od 3000-4000g (74,2%) od onih koje su imale prevremene porođaje (27,5%).

Analiza je pokazala da ne dobijamo statistički značajnu razliku ($\chi^2 = 1,086$; $df = 1$; $p > 0,05$), kada je u pitanju porođajna težina veća od 4000g između grupa trudnica sa i bez prevremenog porođaja, jer je procenat onih trudnica i sa i bez prevremenog porođaja približno jednak kada su u pitanju porođajne težine više od 4000g.

4.10. ANALIZA PARAMETARA U ODNOSU NA STAROSNO DOBA TRUDNICA

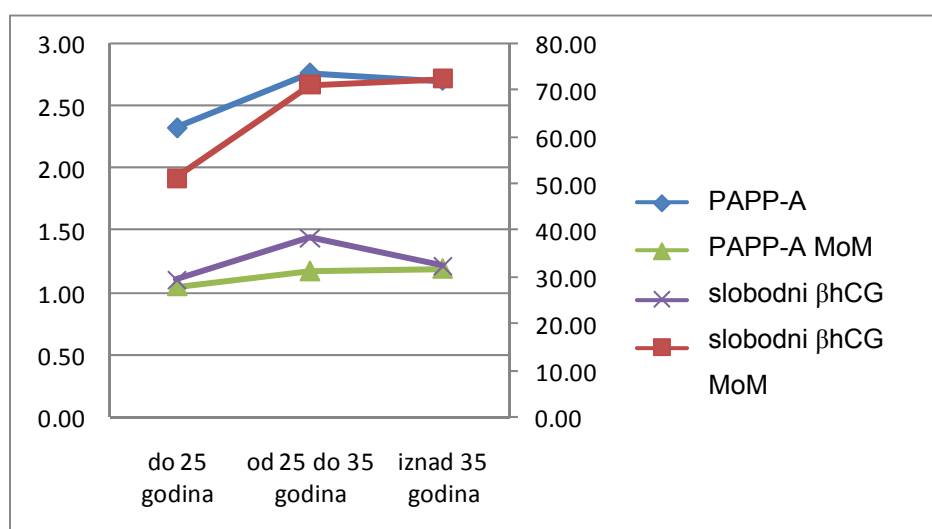
Deskriptivni parametri numeričkih obilježja u odnosu na starosnu dob trudnica

Deskriptivni parametri numeričkih obilježja u našem radu u odnosu na podjelu po kategorijama starosti trudnica ukazuju na činjenicu da je do 25 godina bilo 24, a od 25 do 35 godina 549 i preko 35 godina 127.

Tabela 17. Biohemijski parametri u odnosu na starosnu doba trudnice.

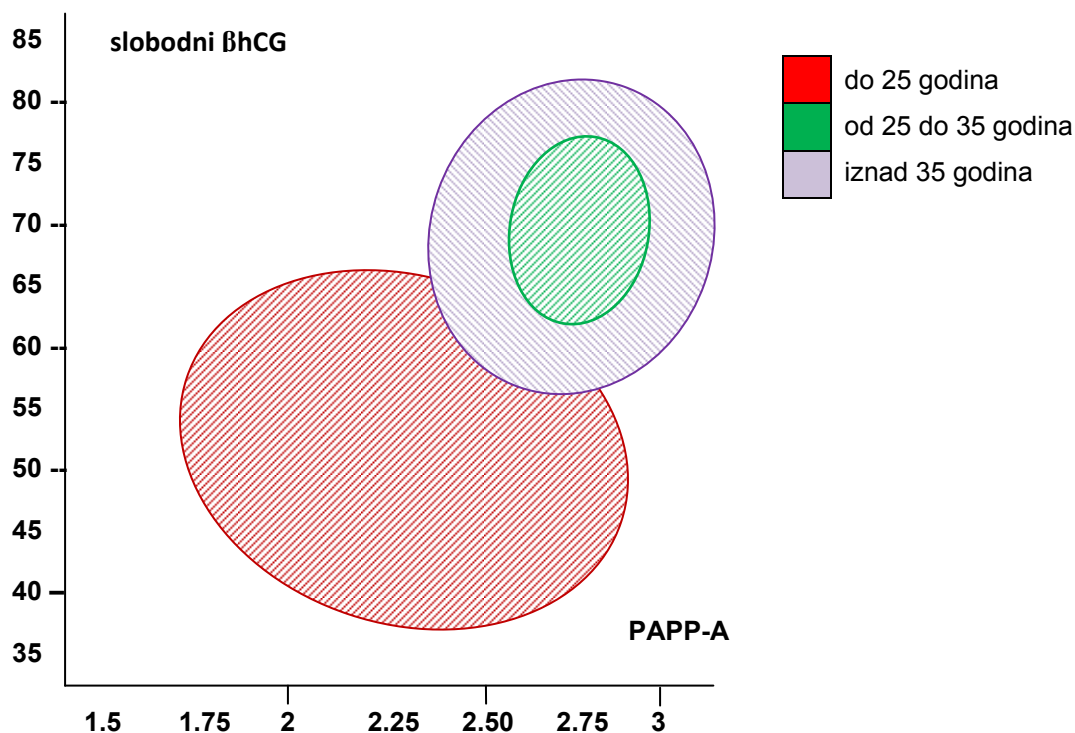
	Starosna kategorija trudnice					
	do 25 godina		od 25 do 35 godina		iznad 35 godina	
	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška	Sr. vrijednost	Stand. Dev; Stand. Greška
PAPP-A	2.33	1.454; 0.2968	2.76	2.168; 0.0925	2.70	1.809; 0.1605
freeβhCG	51.31	31.833; 6.499	71.17	63.166; 2.695	72.49	62.188; 5.518
PAPP-A MoM	1.05	0.070; 0.460	1.17	0.030; 0.735	1.19	0.078; 0.736
freeβhCG MoM	1.10	0.136; 0.883	1.44	0.145; 3.468	1.21	0.069; 0.653

Analiza je pokazala da u odnosu na podjelu po kategorijama starosti ispitivanih trudnica nema statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima PAPP-A i slobodnog β hCG ($F = 0,411$ odnosno $1,221$; $p > 0,05$). Neparametarska provjera (obzirom na velike SD) potvrdila je odsustvo statistički značajne razlike ($\chi^2 = 0,253$ odnosno $2,298$; $p > 0,05$).



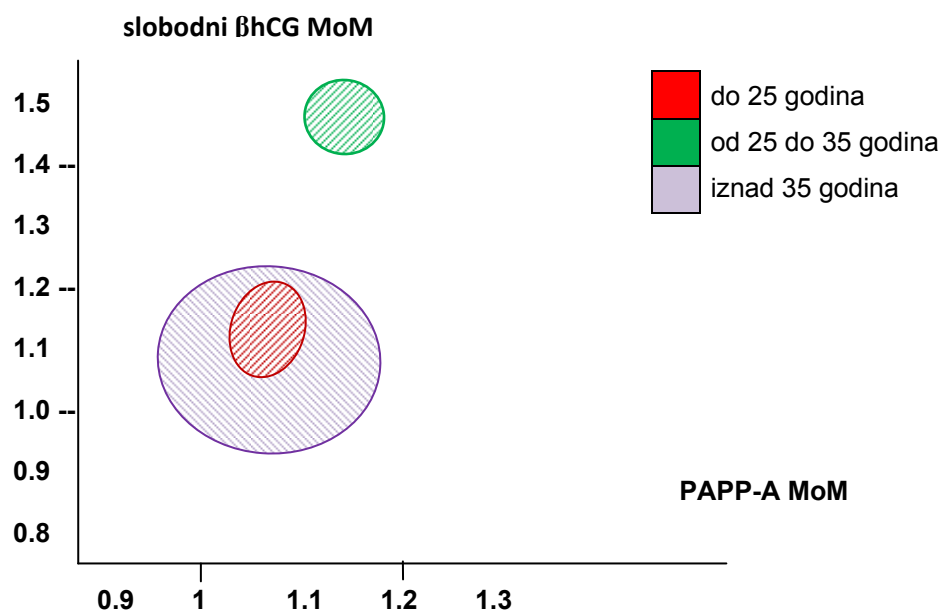
Grafikon 39. Prosječne vrijednosti biohemijskih parametara u odnosu na starost trudnice.

Na grafikonu 39 može se zapaziti linearan trend rasta vrijednosti PAPP-A MoM sa porastom starosti trudnica. Trend rasta vrijednosti slobodnog β hCG takođe je evidentan sa porastom broja godina starosti, s tim što se jasno izdvajaju izrazito niže vrijednosti ovog parametra kod mlađih trudnica, tj onih čija je starosna dob do 25 godina.



Grafikon 40. Elipse (interval povjerenja) vrijednosti PAPP-A i slobodnog β hCG po kategorijama starosne dobi trudnica.

Uočava se da u odnosu na starost ispitanica, grupa trudnica do 25 godina ima manje vrijednosti parametra PAPP-A, u poređenju sa ostalim grupama. U slučaju parametra slobodni β hCG, grupa trudnica iznad 35 godina ima veće vrijednosti ovog parametra u odnosu grupu trudnica do 25 godina. Odnos oba parametra među grupama trudnica od 25 do 35 godina i trudnica iznad 35 godina nije jednoznačno definisan, tj postoje uzorci u kojima su vrijednosti manje, kao i uzorci u kojima su vrijednosti veće.

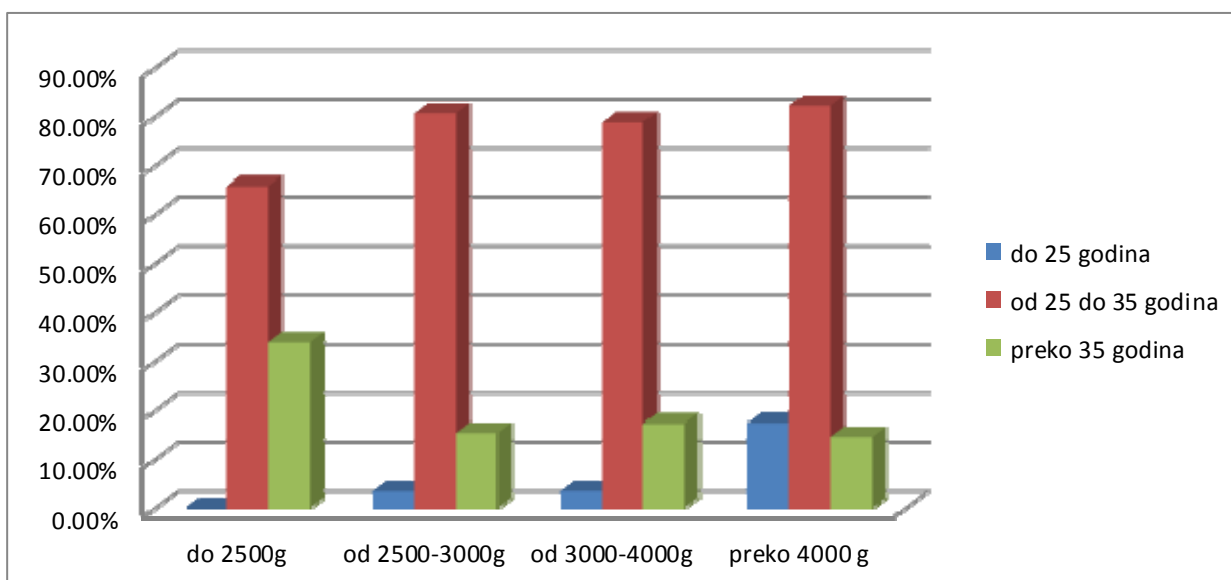


Grafikon 41. Elipse (interval povjerenja) vrijednosti PAPP-A MoM i slobodnog β hCG MoM po kategorijama starosne dobi trudnica.

Na ovom grafiku se uočava da kategorija starosne dobi trudnica preko 35 godina ima najveći interval povjerenja za PAPP-A MoM, kao i da se interval povjerenja za slobodni β hCG MoM ove grupe značajno razlikuje od datog intervala za grupu trudnica starosti od 25 do 35 godina. Značajne razlike oba parametra uočavaju se u kategoriji trudnica do 25 godina u odnosu na grupu trudnica starosti od 25 do 35 godina. Odnos oba parametra medju grupama starijim od 35 i mlađim od 25 nije jednoznačno definisan.

4.10.1 REZULTATI ANALIZE PORODAJNIH TEŽINA**U ODNOSU NA STAROSNU DOB TRUDNICE****Tabela 18. Starost trudnica i težina novorođenčeta.**

Starost trudnice	Težina novorođenčeta				Ukupno
	do 2500g	od 2500-3000g	od 3000-4000g	preko 4000 g	
do 25 godina	0 (0.00%)	5 (3.70%)	18 (3.73%)	6 (17.65%)	29 (4.14%)
od 25 do 35 godina	29 (65.91%)	109 (80.74%)	380 (78.84%)	28 (82.35%)	546 (78.00%)
preko 35 godina	15 (34.09%)	21 (15.56%)	84 (17.43%)	5 (14.71%)	125 (17.86%)
Ukupno	44 (6.29%)	135 (19.29%)	482 (68.86%)	39 (5.57%)	700 (100.00%)

**Grafikon 42. Histogram raspodjele težina novorođenčadi po kategorijama starosti trudnica.**

Iz tabele 18 i grafikona 42 analiza je kod ukrštanja kategorija starosti trudnica u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini do 2500g pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 9,130$; $df = 2$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posledica toga što kod trudnica mlađih od 25 godina u našem radu nijedno novorođenče nije

imalo porodjajnu težinu manju od 2500g, dok je broj takve novorodjenčadi evidentan kod starijih trudnica i to kod 5,3% žena starosti od 25 do 35 godina, i 11,8% onih starijih od 35 godina. Dakle, sa porastom starosti trudnice raste broj novorodjenčadi čija je porodjajna težina manja od 2500g.

Analiza je kod ukrštanja kategorija starosti trudnica u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini od 2500 do 3000g pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 0,768$; $df = 2$; $p > 0,05$), jer je u svim starosnim kategorijama procentualno prisustvo porođajnih težina od 2500-3000 g približno jednako.

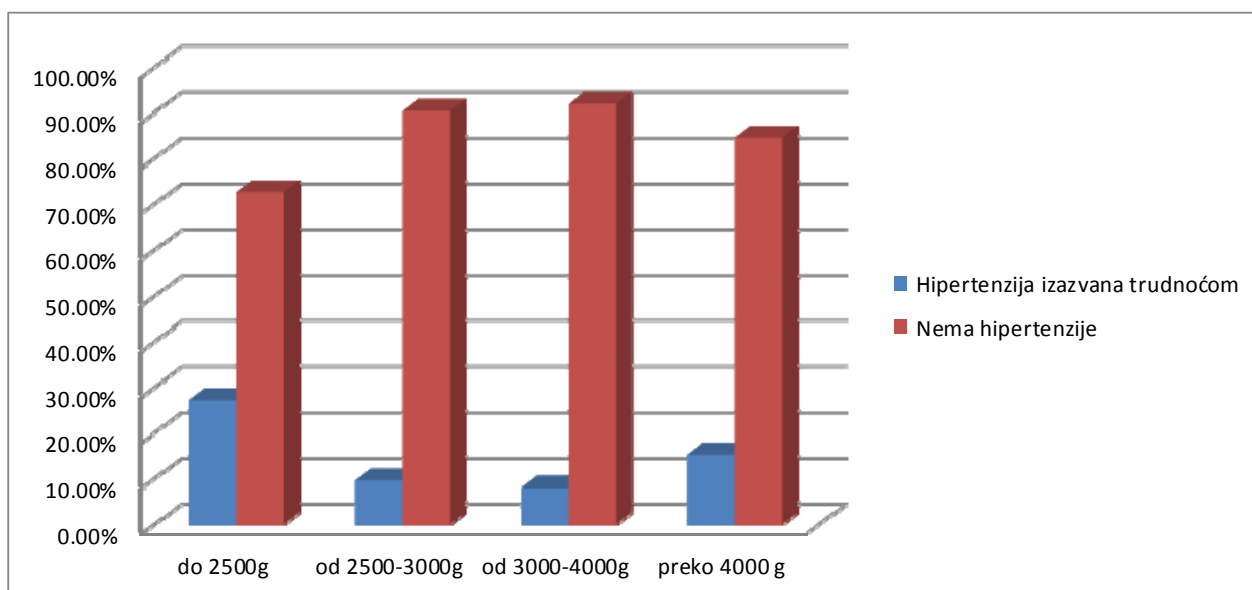
Analiza je kod ukrštanja kategorija starosti trudnica u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini od 3000 do 4000grama pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 0,892$; $df = 2$; $p > 0,05$), jer je u svim starosnim kategorijama procentualno prisustvo PT30-40 približno jednako.

Analiza je kod ukrštanja kategorija starosti trudnica u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini preko 4000grama pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 0,328$; $df = 2$; $p > 0,05$), jer je u svim starosnim kategorijama procentualno prisustvo PT4 približno jednako.

4.11. REZULTATI UTICAJA KOMPLIKACIJA U TRUDNOĆI NA POROĐAJNE TEŽINE

Tabela 19. Uticaj trudnoćom izazvane hipertenzije izazvane trudnoćom na težinu novorođenčeta.

	Težina novorođenčeta				Ukupno
	do 2500g	od 2500-3000g	od 3000-4000g	preko 4000 g	
Hipertenzija izazvana trudnoćom	12 (27.27%)	13 (9.63%)	39 (8.09%)	6 (15.38%)	70 (10.00%)
Nema hipertenzije	32 (72.73%)	122 (90.37%)	443 (91.91%)	33 (84.61%)	630 (90.00%)
Ukupno	44 (6.29%)	135 (19.29%)	482 (68.86%)	39 (5.57%)	700 (100.00%)



Grafikon 43. Histogram raspodjele težina novorođenčadi u kontrolnoj i u grupi trudnica sa hipertenzijom koju izaziva trudnoća.

Analiza je kod ukrštanja kategorija PIH trudnica u odnosu na podjelu po težini novorođenčeta do 2500 g pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 18,130$; $df = 1$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posledica toga što žene kod kojih nije zabilježena hipertenzija izazvana trudnoćom (PIH) su ređe imale i novorodjenčad

težine do 2500g (5,1%) od onih kod kojih je PIH zabilježena (18,5%). Dakle, hipertenzija koju uzrokuje trudnoća češće uzrokuje malu porođajnu težinu (do 2500g).

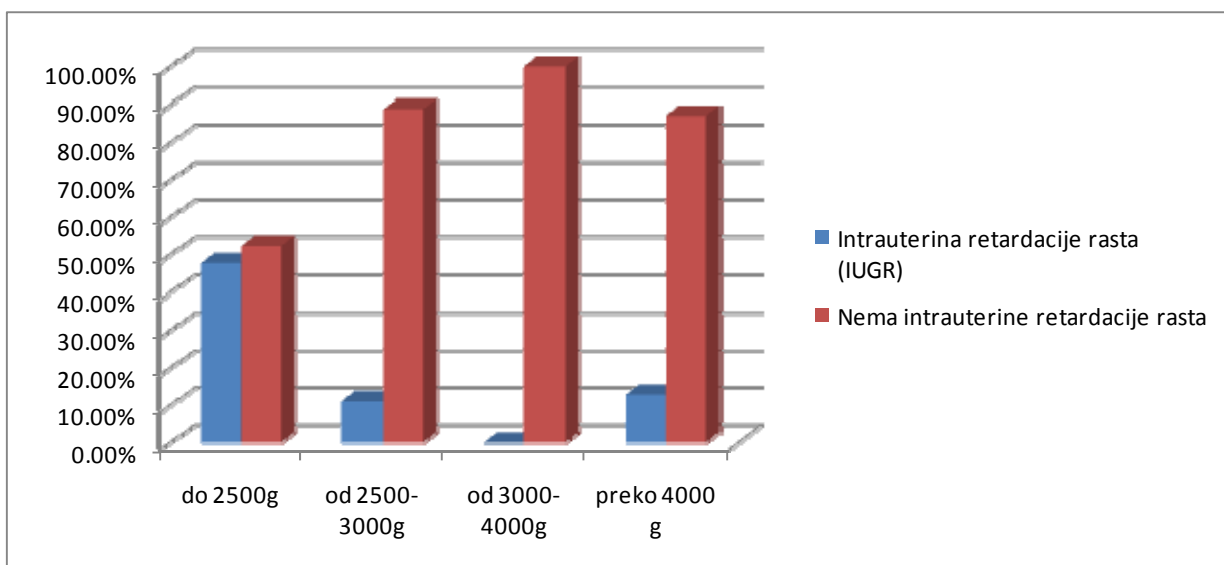
Analiza je kod ukrštanja kategorija PIH nalaza trudnica u odnosu na podjelu po porođajnoj težini od 2500-3000 g pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 0,023$; $df = 1$; $p > 0,05$), jer je u svim PIH kategorijama procentualno prisustvo porođajnih težina od 2500-3000 g bilo približno jednako.

Analiza je kod ukrštanja kategorija PIH kod trudnica u odnosu na podjelu po porođajnoj težini od 3000-4000 g pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 2,621$; $df = 1$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama, to jeste i kod trudnica sa zabilježenom hipertenzijom izazvanom trudnoćom kao i kod onih bez PIH, procentualno prisustvo porođajnih težina od 3000-4000 g bilo približno jednako.

Analiza je kod ukrštanja kategorija PIH trudnica u odnosu na podjelu po porođajnoj težini preko 4000 g pokazala da postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 3,708$; $df = 1$; $p < 0,05$), a ona nastaje kao posledica toga što kod žena kod kojih nije zabilježena PIH češće imamo i PT4 (5,2%) od onih kod kojih je PIH zabilježena (1,5%).

Tabela 20. Odnos intrauterine retardacije rasta i težine novorođenčadi.

	Težina novorođenčeta				Ukupno
	do 2500g	od 2500-3000g	od 3000-4000g	preko 4000 g	
Intrauterina retardacije rasta (IUGR)	21 (47.73%)	15 (11.11%)	0 (0.00%)	5 (12.82%)	41 (5.86%)
Nema intrauterine retardacije rasta	23 (52.27%)	120 (88.89%)	482 (100.00%)	34 (87.18%)	659 (94.14%)
Ukupno	44 (6.29%)	135 (19.295)	482 (68.86%)	39 (5.57%)	700 (100.00%)



Grafikon 44. Histogram raspodjele težine novorođenčadi u kontrolnoj i u grupi trudnica sa intrauterinom retardacijom rasta.

Analiza je kod ukrštanja kategorija IUGR trudnica u odnosu na podjelu po porođajnoj težini do 2500 g pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 174,531$; $df = 1$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posledica toga što žene kod kojih je IUGR negativan češće nisu imale porođajne težine do 2500g (96,5%) od onih kod kojih je IUGR nije zabilježen, što je bio i očekivan rezultat.

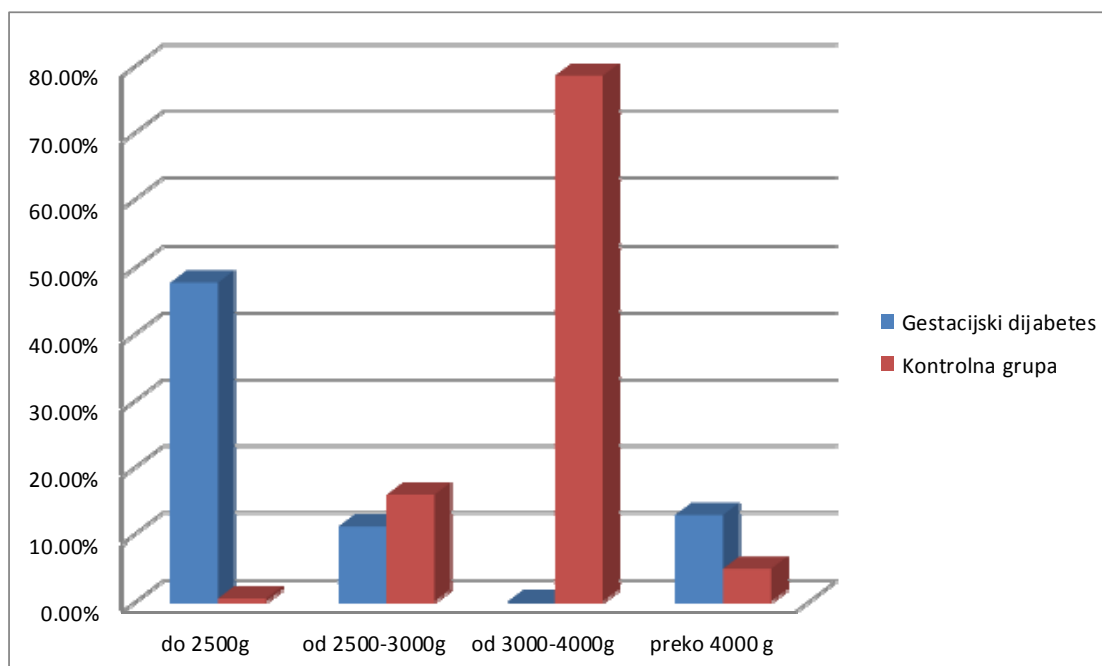
Analiza je kod ukrštanja kategorija IUGR trudnica u odnosu na podjelu po porođajnoj težini od 2500-3000 g pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 12,212$; $df = 1$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posledica toga što žene kod kojih je IUGR negativan češće nisu imale PT25-3 (81,9%) od onih kod kojih je IUGR zabilježen (58,3%)

Analiza je kod ukrštanja kategorija IUGR trudnica u odnosu na podjelu po porođajnoj težini od 3000-4000 g pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 83,912$; $df = 1$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posledica toga što ni jedna trudnica kod koje je zabilježena IUGR nije imala novorođenče porođajne težine veće od 3000g. Što je u skladu sa očekivanim rezultatima

Analiza je kod ukrštanja kategorija IUGR nalaza trudnica u odnosu na podjelu po porođajnoj težini preko 4000 g pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 1,937$; $df = 1$; $p > 0,05$), jer je u svim IUGR kategorijama procentualno prisustvonovorodenčadi sa težinom preko 4000 g bilo približno jednako.

Tabela 21. Učestalost trudnica sa gestacijskim dijabetesom po kategorijama težine novorođenčeta.

	Težina novorođenčeta				Ukupno
	do 2500g	od 2500-3000g	od 3000-4000g	preko 4000 g	
Gestacijski dijabetes	21 (47.73%)	15 (11.11%)	0 (0.00%)	5 (12.82%)	41 (5.86%)
Kontrolna grupa	2 (0.56%)	57 (15.88%)	282 (78.55%)	18 (5.01%)	359 (51.29%)
Ukupno	23 (3.28%)	72 (10.28%)	282 (40.29%)	23 (3.28%)	



Grafikon 45. Histogram raspodjele težina novorođenčeta u kontrolnoj i grupi trudnica sa gestacijskim dijabetesom.

Analiza je kod ukrštanja kategorija gestacijskog dijabetesa trudnica u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini do 2500g pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 1,640$; $df = 1$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama dijabetesa (i odsustva i prisustva) procentualno prisustvo porođajnih težina bilo približno jednako.

Analiza je kod ukrštanja kategorija gestacijskog dijabetesa trudnica u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini od 2500 do 3000g pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 0,242$; $df = 1$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama dijabetesa (i odsustva i prisustva) procentualno prisustvo novorođenčadi tejslesne težine od 2500-3000 g bilo približno jednako.

Analiza je kod ukrštanja kategorija gestacijskog dijabetesa trudnica u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini od 3000 do 4000g pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 0,362$; $df = 1$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama dijabetesa (i odsustva i prisustva) procentualno prisustvoovih porođajni težina bilo približno jednako.

Analiza je kod ukrštanja kategorija gestacijskog dijabetesa u odnosu na podjelu po porodjajnoj težini preko 4000g pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 4,178$; $df = 1$; $p < 0,05$), a ona nastaje kao posledica toga što su žene kod kojih je postojao gestacijski dijabetes češće imale novorodjenčad sa porodjajnom težinom preko 4000g (PT4) (20,0%) od onih kod kojih nije bilo gestacijskog dijabetesa (4,7%).

4.12. UTICAJ STAROSNE DOBI NA KOMPLIKACIJE U TRUDNOĆI

Tabela 22. Uticaj starosne dobi trudnica na komplikacije u trudnoći.

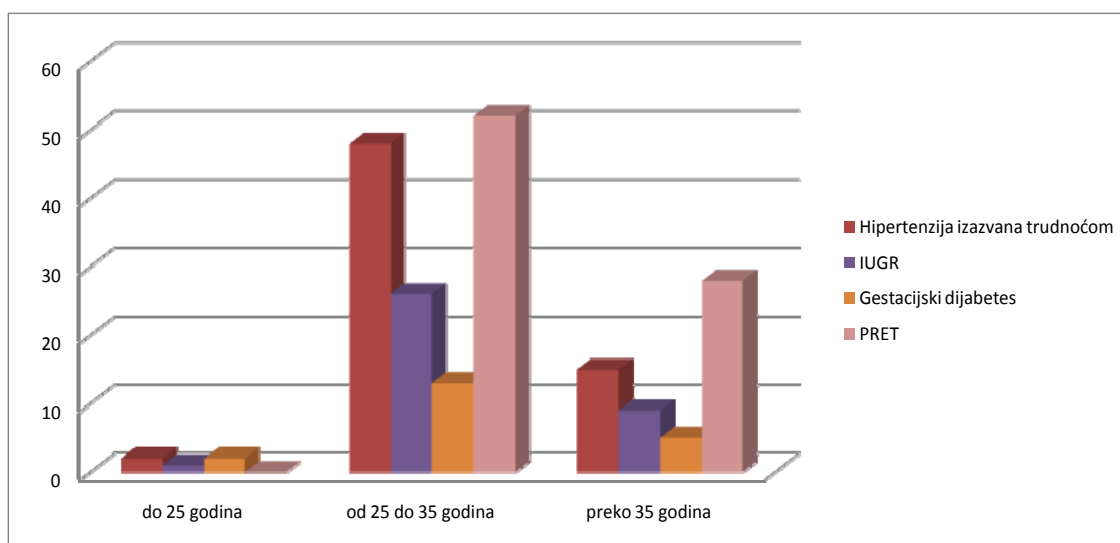
		Kategorija starosti trudnica			
		do 25 godina	od 25 do 35 godina	preko 35 godina	Ukupno
Hipertenzija izazvana trudnoćom	Ne	22 (91.67%)	501 (91.26%)	112 (88.19%)	635 (90.71%)
	Da	2 (8.33%)	48 (8.74%)	15 (11.81%)	65 (9.29%)
IUGR	Ne	23 (95.83%)	523 (95.26%)	118 (92.91%)	664 (94.86%)
	Da	1 (4.17%)	26 (4.74%)	9 (7.09%)	36 (5.14%)
Gestacijski dijabetes	Ne	22 (91.67%)	536 (97.63%)	122 (96.06%)	680 (97.14%)
	Da	2 (8.33%)	13 (2.37%)	5 (3.94%)	20 (2.86%)
PRET	Ne	24 (100.00%)	497 (90.53%)	99 (77.95%)	620 (88.57%)
	Da	0 (0.00%)	52 (9.47%)	28 (22.05%)	80 (11.43%)
Ukupno		24 (3.43%)	549 (78.43%)	127 (18.14%)	700 (100.00%)

Analiza je kod ukrštanja kategorija starosti trudnica u odnosu na podjelu po parametru PIH pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 1,179$; $df = 2$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama starosti (dakle, i kod mlađih i starijih) procentualno prisustvo PIH bilo približno jednako.

Analiza je kod ukrštanja kategorija starosti trudnica u odnosu na podjelu po parametru IUGR pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 1,217$; $df = 2$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama starosti (dakle, i kod mlađih i starijih) procentualno prisustvo IUGR bilo približno jednako.

Analiza je kod ukrštanja kategorija starosti trudnica u odnosu na podjelu po prisustvu nalaza gestacijskog dijabetesa pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 3,600$; $df = 2$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama starosti (dakle, i kod mlađih i starijih) procentualno prisustvo gestacijskog dijabetesa bilo približno jednako, ali ako se posmatra sa starosnom granicom 25 godina onda je $\chi^2 = 2,957$ ($df = 1$, $p = 0,112$).

Analiza je kod ukrštanja kategorija starosne dobi trudnica u odnosu na podjelu po kategoriji prevremeni porođaj pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 19,320$; $df = 2$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posledica toga što mlađe žene češće nisu imale prevremeni porođaj (100,0%) za razliku od sredovječnih i starijih (90,5% odnosno 77,9%). Dakle, kod najmlađih prevremeni porođaj je potpuno odsutan a kako raste starost trudnica ima i više prevremenih porođaja (Grafikon 46).



Grafikon 46. Histogram raspodjele ispitivanih komplikacija u trudnoći u odnosu na starost trudnice.

4.13 ANALIZA REZULTATA BIOHEMIJSKIH PARAMETARA

PAPP-A MoM I SLOBODNOG β hCG MoM

Utvrđeno je da kod trudnica u našem radu njih 669 ima PAPPAMoM nalaz do 2,5 a preko toga 31 (4,4%). Takođe, nalaz slobodnog hCGMoM do 2,5 ima 658 trudnica a preko 2,5 njih 42 (6,0%).

Tabela 23. Zastupljenost ispitivanih kategorija po grupisanim vrijednostima PAPP-A MoM i slobodnog β hCG MoM.

		PAPP-A MoM			free β hCG MoM			Ukupno
		do 1.0	od 1.0 do 2.5	preko 2.5	do 1.0	od 1.0 do 2.5	preko 2.5	
IUGR	Da	21	12	3	11	22	3	36
	Kontrolna grupa	317	319	28	293	332	39	664
Gestacijski dijabetes	Da	10	10	0	9	10	1	20
	Kontrolna grupa	328	321	31	295	344	41	680
PIH	Da	33	28	4	28	33	4	65
	Kontrolna grupa	305	303	27	276	321	38	635
PRET	Da	52	23	5	41	34	5	80
	Kontrolna grupa	286	308	26	263	320	37	620
Starost trudnice	do 25 godina	20	22	0	25	15	2	42
	od 25-35 godina	273	269	27	241	290	38	569
	iznad 35 godina	45	40	4	38	49	2	89
Porodajna težina	do 2500g	32	14	4	23	22	5	50
	od 2500-3000g	77	53	5	61	64	9	134
	od 3000-4000g	217	244	21	206	248	28	482
	preko 4000g	12	20	2	14	20	0	34
Broj porođaja	Nijedan	155	147	8	141	155	14	310
	Jedan	121	133	18	115	136	21	272
	Dva	58	44	5	44	567	7	107
	Tri i više	4	7	0	4	7	0	11

Analiza je pokazala da ne postoji statistički značajna razlika među kategorijama IUGR u pogledu kategorija vrijednositi PAPP-A MoM ($\chi^2=3.663$, $df=2$, $p=0.160$), kao ni u pogledu slobodnog β hCG MoM ($\chi^2=2.626$, $df=2$, $p=0.269$).

Analiza je pokazala da ne postoji statistički značajna razlika među kategorijama gestacijskog dijabetesa u pogledu kategorija vrijednosti PAPP-A MoM ($\chi^2=0.956$, $df=2$, $p=0.620$), kao ni u pogledu slobodnog β hCG MoM ($\chi^2=0.047$, $df=2$, $p=0.977$).

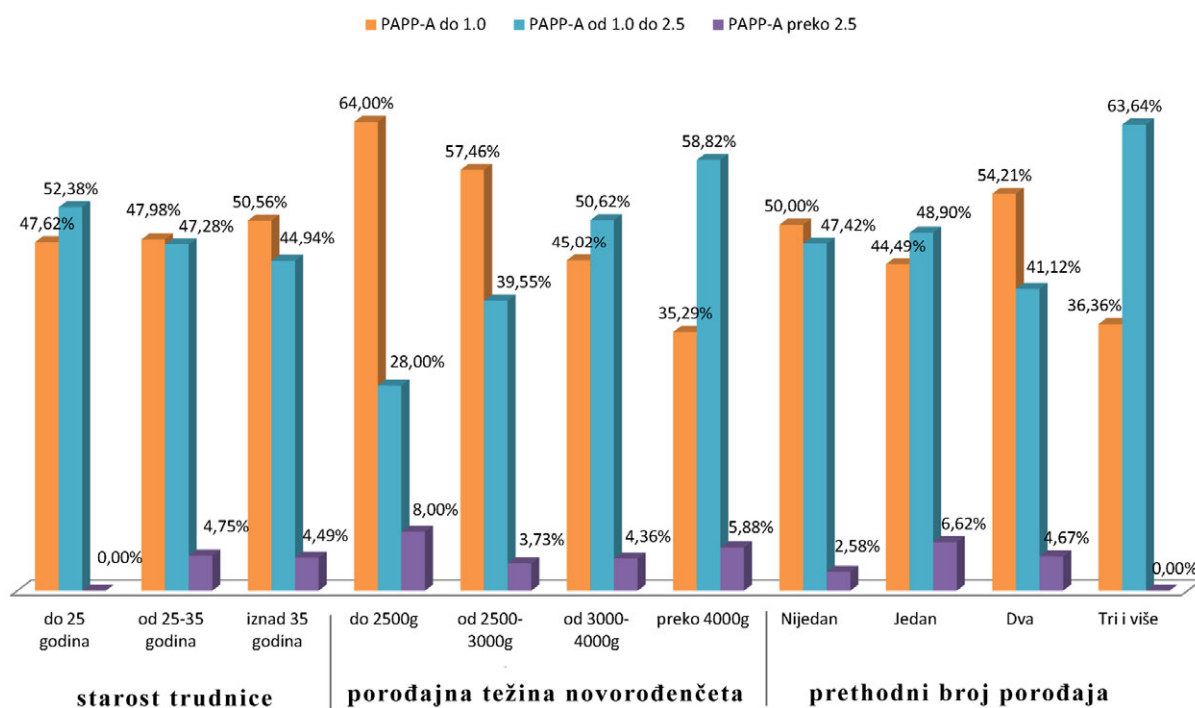
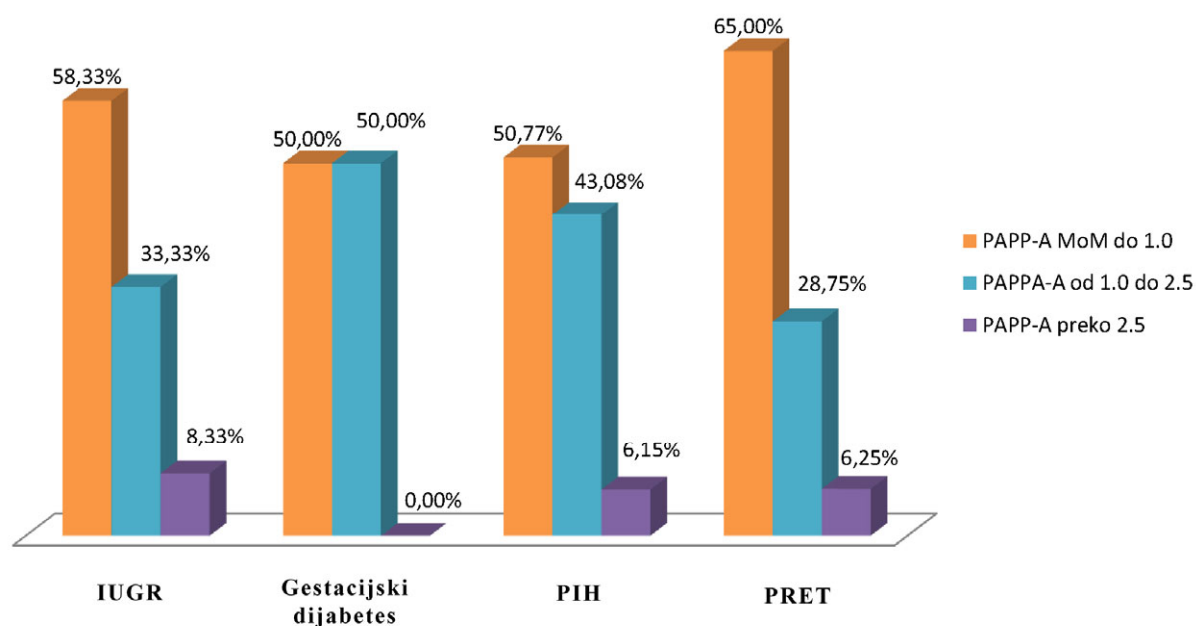
Analiza je pokazala da ne postoji statistički značajna razlika među kategorijama PIH u pogledu kategorija vrijednosti PAPP-A MoM ($\chi^2=0.842$, $df=2$, $p=0.657$), kao ni u pogledu slobodnog β hCG MoM ($\chi^2=0.005$, $df=2$, $p=0.997$).

Analiza je pokazala da postoji statistički značajna razlika među kategorijama prevremeno porođaja u pogledu kategorija vrijednosti PAPP-A MoM ($\chi^2=12.465$, $df=2$, $p=0.002$), dok ne postoji u pogledu slobodnog β hCG MoM ($\chi^2=2.445$, $df=2$, $p=0.294$). Turkey post hoc test je pokazao da postoji razlika među svim parovima kategorija PAPP-A MoM.

Analiza je pokazala da ne postoji statistički značajna razlika među kategorijama starosti trudnice u pogledu kategorija vrijednosti PAPP-A MoM ($\chi^2=2.434$, $df=2$, $p=0.657$), kao ni u pogledu slobodnog β hCG MoM ($\chi^2=7.505$, $df=2$, $p=0.111$).

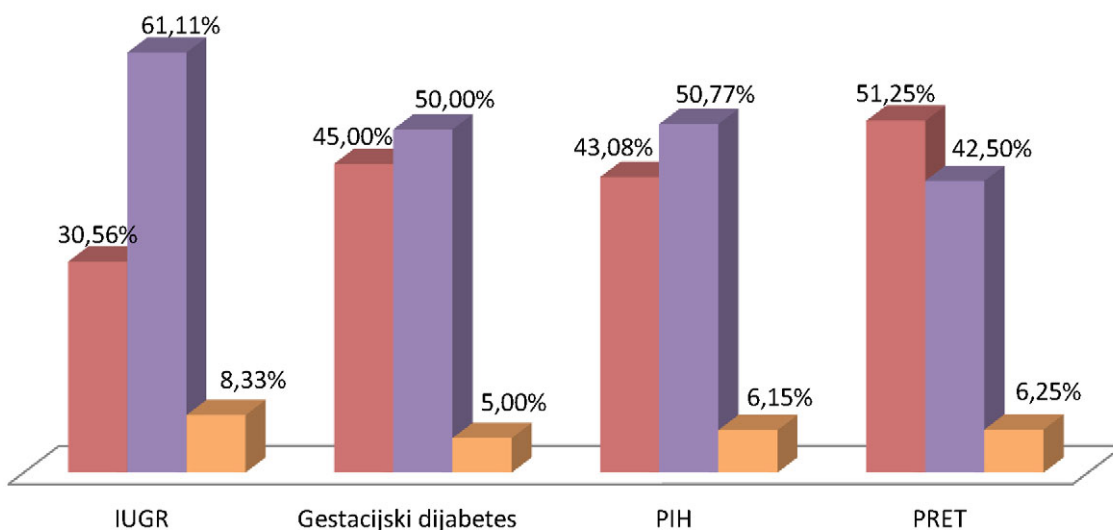
Analiza je pokazala da postoji statistički značajna razlika među kategorijama porođajne težine u pogledu kategorija vrijednosti PAPP-A MoM ($\chi^2=17.105$, $df=2$, $p=0.009$), dok ne postoji u pogledu slobodnog β hCG MoM ($\chi^2=4.989$, $df=2$, $p=0.545$). Turkey post hoc test je pokazao da postoji razlika između grupe vrijednosti PAPP-A MoM manje od 1.0 sa ostalim grupama.

Analiza je pokazala da ne postoji statistički značajna razlika među kategorijama broja ranijih porođaja u pogledu kategorija vrijednosti PAPP-A MoM ($\chi^2=9.570$, $df=2$, $p=0.144$), kao ni u pogledu slobodnog β hCG MoM ($\chi^2=4.309$, $df=2$, $p=0.635$).

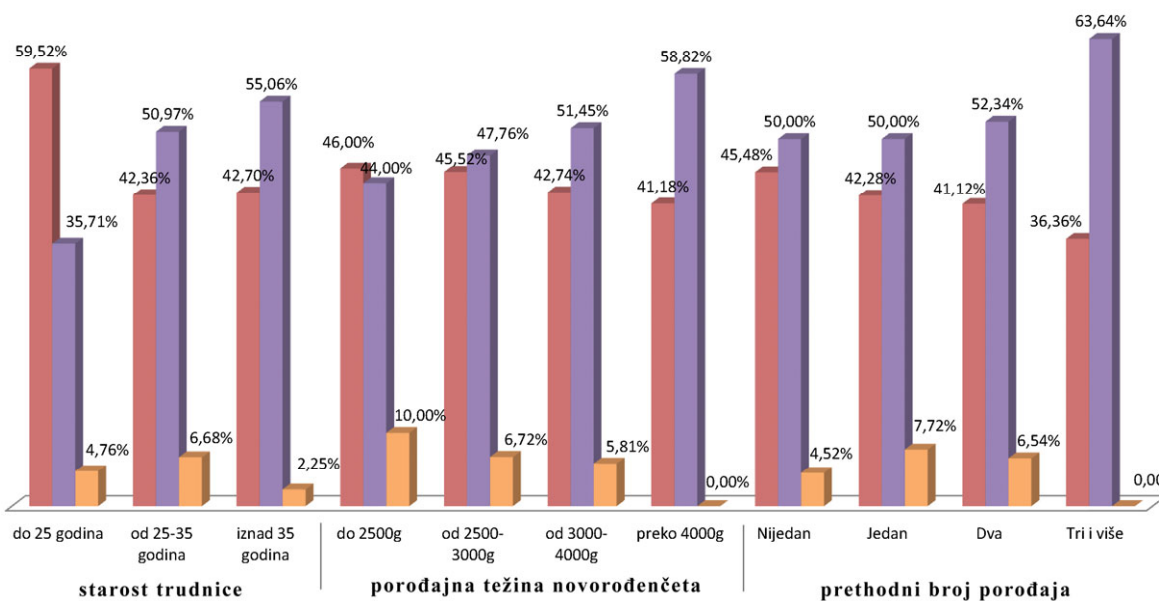


Grafikon 47. Histogram raspodjele ispitivanih parametara po vrijednostima PAPP-A MoM.

■ slobodni β hCG MoM do 1.0 ■ slobodni β hCG MoM od 1.0 do 2.5 ■ slobodni β hCG MoM preko 2.5



■ slobodni β hCG MoM do 1.0 ■ slobodni β hCG MoM od 1.0 do 2.5 ■ slobodni β hCG MoM preko 2.5



Grafikon 48. Histogram raspodjele ispitivanih parametara po vrijednostima slobodnog β hCG MoM.

4.14 ANALIZA REZULTATA NENUMERIČKIH OBILJEŽJA

KONTROLNE I ISPITIVANIH GRUPA

Tabela 24. Raspodjela prevremenih porođaja u odnosu na ispitivane kategorije.

		Prijevremeni porođaj		Ukupno
		Ne	Da	
IUGR	Da	24	12	36
	Ne	596	68	664
Gestacijski dijabetes	Da	18	2	20
	Ne	602	78	680
PIH	Da	52	13	65
	Ne	568	67	635
Prethodni abortusi	Nijedan	494	56	550
	1 abortus	107	16	123
	2 abortusa	14	5	19
	3 i više	5	3	8

Analiza je kod ukrštanja kategorija nalaza prevremeni porođaj trudnica u odnosu na podjelu po kategoriji intrauterina retardacija rasta (IUGR) pokazala da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 17,990$; $df = 1$; $p < 0,01$), a ona nastaje kao posledica toga što žene koje nisu imale prevremene porođaje češće nemaju ni intrauterinu retardaciju rasta (IUGR) (96,2%) za razliku od onih koje imaju prevremeni porođaja (85,0%).

Analiza je kod ukrštanja kategorija nalaza prevremenog porođaja trudnica u odnosu na podjelu po gestacijskom dijabetesu pokazala da ne postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 0,071$; $df = 1$; $p > 0,05$), jer je u svim kategorijama (dakle, i kod prisustva i odsustva prevremenih porođaja) broj nalaza gestacijskog dijabetesa bio približno jednak i vrlo rijedak.

Analiza je kod ukrštanja kategorija trudnica na osnovu prijevremenog porođaja u odnosu na podjelu po PIH pokazala da postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 5.201$; $df = 1$; $p < 0,05$), a ona nastaje kao osledica češćeg prisustva prevremenih porođaja u grupi trudnica sa trudnoćom izazvanom hipertenzijom (16,3%) u odnosu na broj prevremenih porođaja u grupi trudnica koje nisu imale trudnoćom izazvanu hipertenziju (8,4%).

Analiza je kod ukrštanja kategorija trudnica na osnovu prijevremenog porođaja u odnosu na podjelu po broju prethodnih abortusa pokazala da postoji statistički značajna razlika ($\chi^2 = 14.384$; $df = 3$; $p < 0,05$), a ona nastaje kao posledica toga što žene koje nisu imale prevremene porođaje nisu imale ranije abortuse (80,1%), za razliku od onih koje imaju prevremene porođaje (70%).

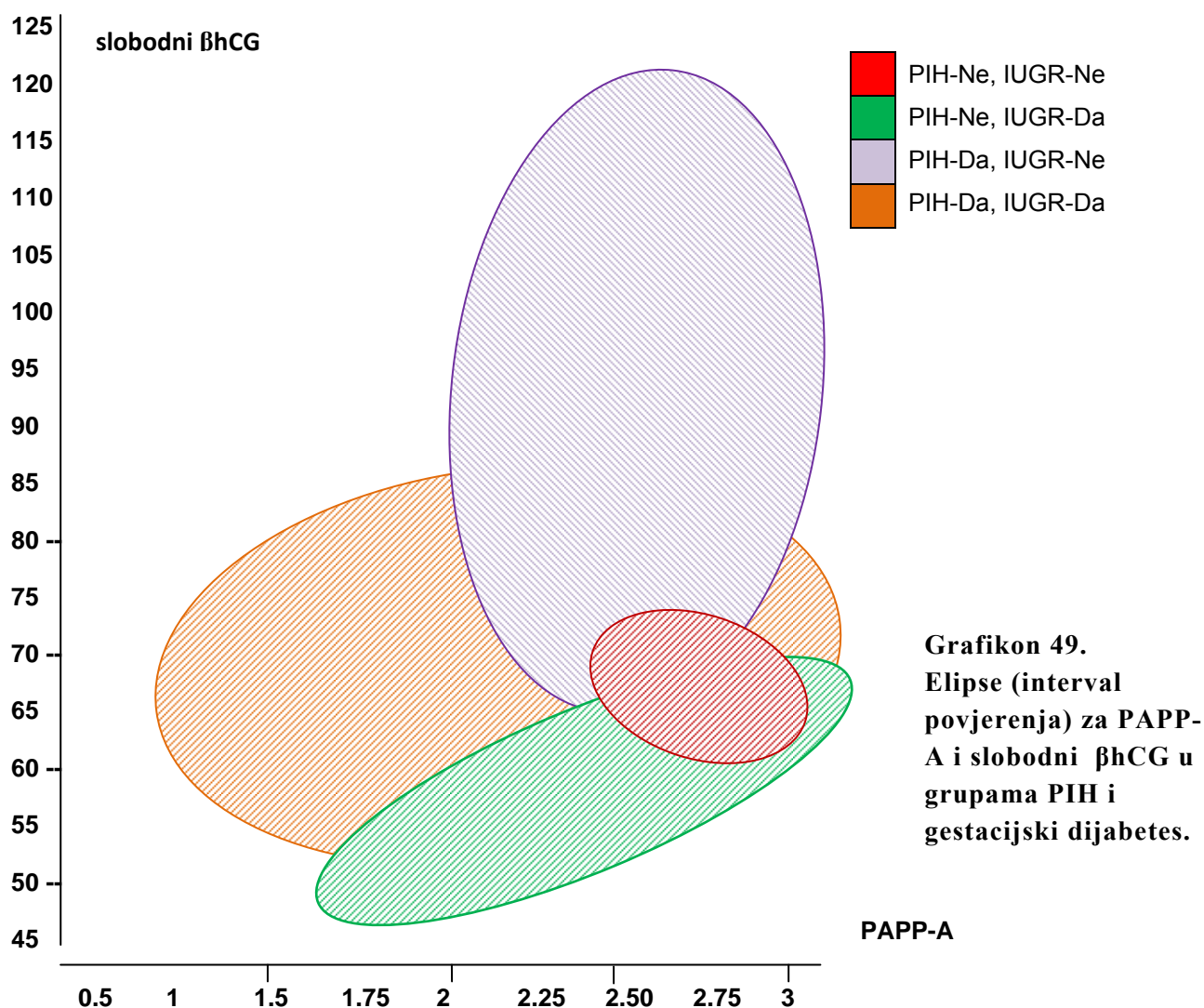
Tabela 25. Povezanost PIH i gestacijskog dijabetesa trudnica u ovom radu.

Korelacija biohemisjskih parametara ρ (p)	IUGR	PIH	Gestacijski dijabetes
IUGR	-	0,126 ($p=0.001$)	-0.040 ($p=0.291$)
PIH	0,126 ($p=0.001$)	-	0,034 ($p=0.372$)
Gestacijski dijabetes	-0.040 ($p=0.291$)	0,034 ($p=0.372$)	-

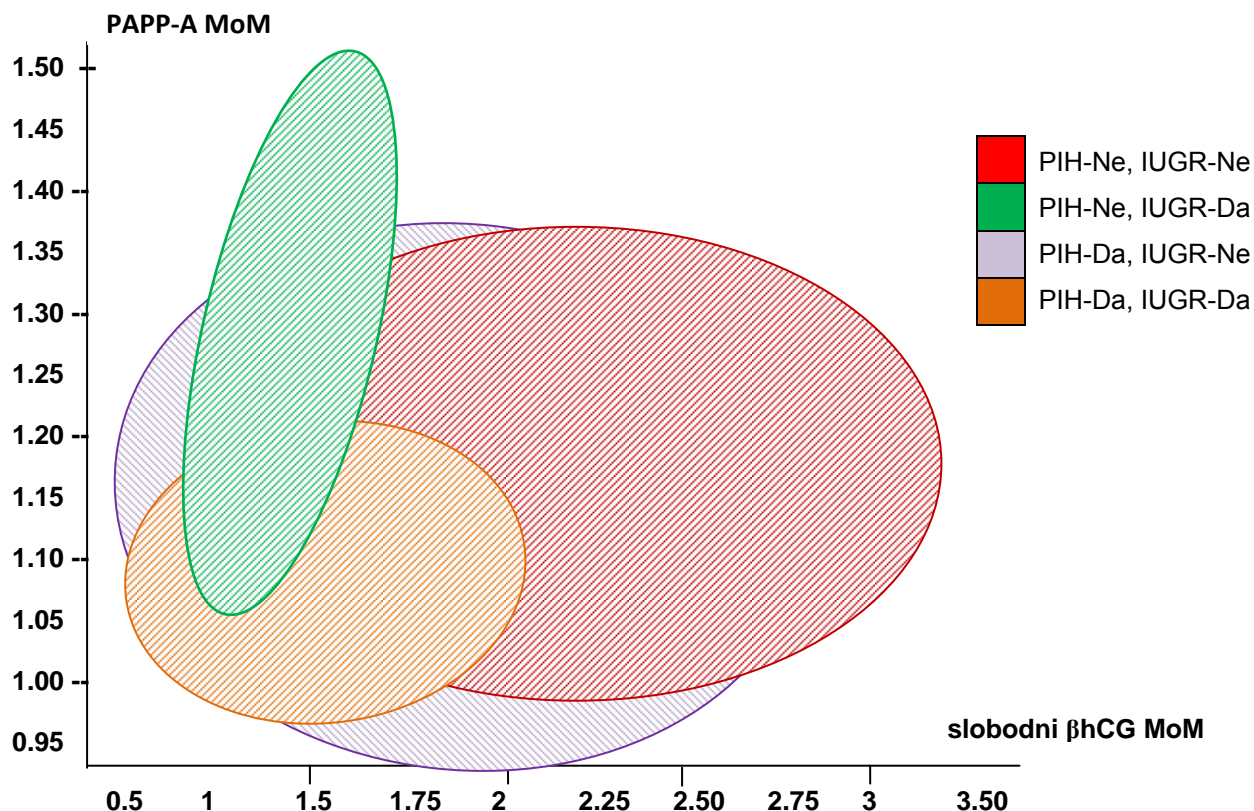
Analiza povezanosti IUGR, PIH i gestacijskog dijabetesa pokazala je da jedina statistički značajna povezanost slabog intenziteta ($\rho=0.126 < 0.3$) postoji između IUGR i PIH i to postojanje PIH utiče na pojavu IUGR i obratno. Sve druge povezanosti analizirane u tabeli 25 nisu bile statistički značajne.

Tabela 26. Biohemijski parametri u odnosu na grupu trudnica sa intrauterinom retardacijom rasta i grupu trudnica sa trudnoćom izazvanom hipertenzijom.

PIH	IUGR	PAPP-A	βHCG	PAPP-A MoM	βHCG MoM
Ne	Ne	2.78	70.8	1.17	1.4
	StDev; StGreska	2.074; 0.841	60.171; 2.440	0.694; 0.028	3.338; 0.135
Ne	Da	2.51	59.4	1.28	1.19
	StDev; StGreska	2.375; 0.317	37.849; 5.057	0.868; 0.116	0.701; 0.094
Da	Ne	2.46	92.62	1.13	1.56
	StDev; StGreska	1.803; 0.347	124.518; 23.963	0.966; 0.186	2.073; 0.3999
Da	Da	2.07	70.16	0.98	1.37
	StDev; StGreska	1.829; 0.609	29.492; 9.831	0.787; 0.262	0.639; 0.213

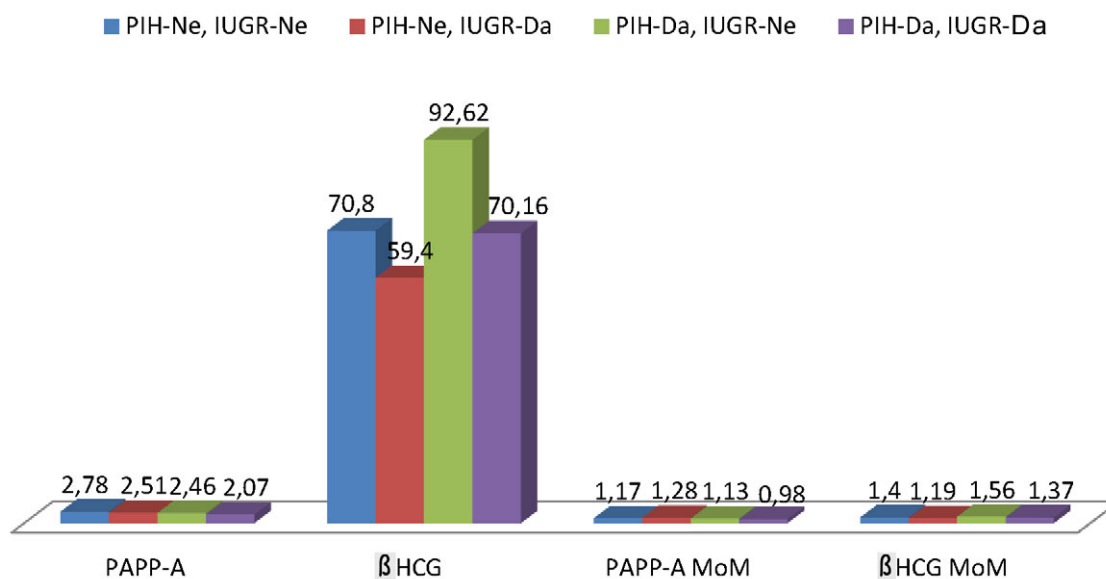


Na grafikonu 49 se jasno uočava izraženija homogenost parametara u rupi koja nema zabilježeno intrauterine zaostajanje u rastu kao i hipertenziju izazvanu trudnoćom nego u svim ostalim grupama.



Grafikon 50. Elipse (interval povjerenja) za PAPP-A MoM i slobodni β hCG MoM u grupama PIH i gestacijski dijabetes.

Dominantno širi opseg intervala povjerenja za slobodnog β hCG MoM može se primijetiti kod grupe koja nije imala i trudnoćom izazvanu hipertenziju kao i intrauterino zaostajanje rasta u odnosu na sve ostale grupe. Takođe se sa grafikona 50 zapaža trend rasta za PAPP-A MoM u grupi kod koje je postojalo intrauterine zaostajanje u rastu ali ne i trudnoćom izazvana hipertenzija. Na osnovu ugla koji zaklapa najduža osa elipse sa apscisom evidentana je razlika u intervalima povjerenja za oba parametra između grupe koja je imala intrauterine zaostajanje u rastu bez zabilježene trudnoćom izazvane hipertenzije i grupe u kojoj nije bilo intrauterine retardacije rasta ali jese hipertenzije koja je bila izazvana trudnoćom.

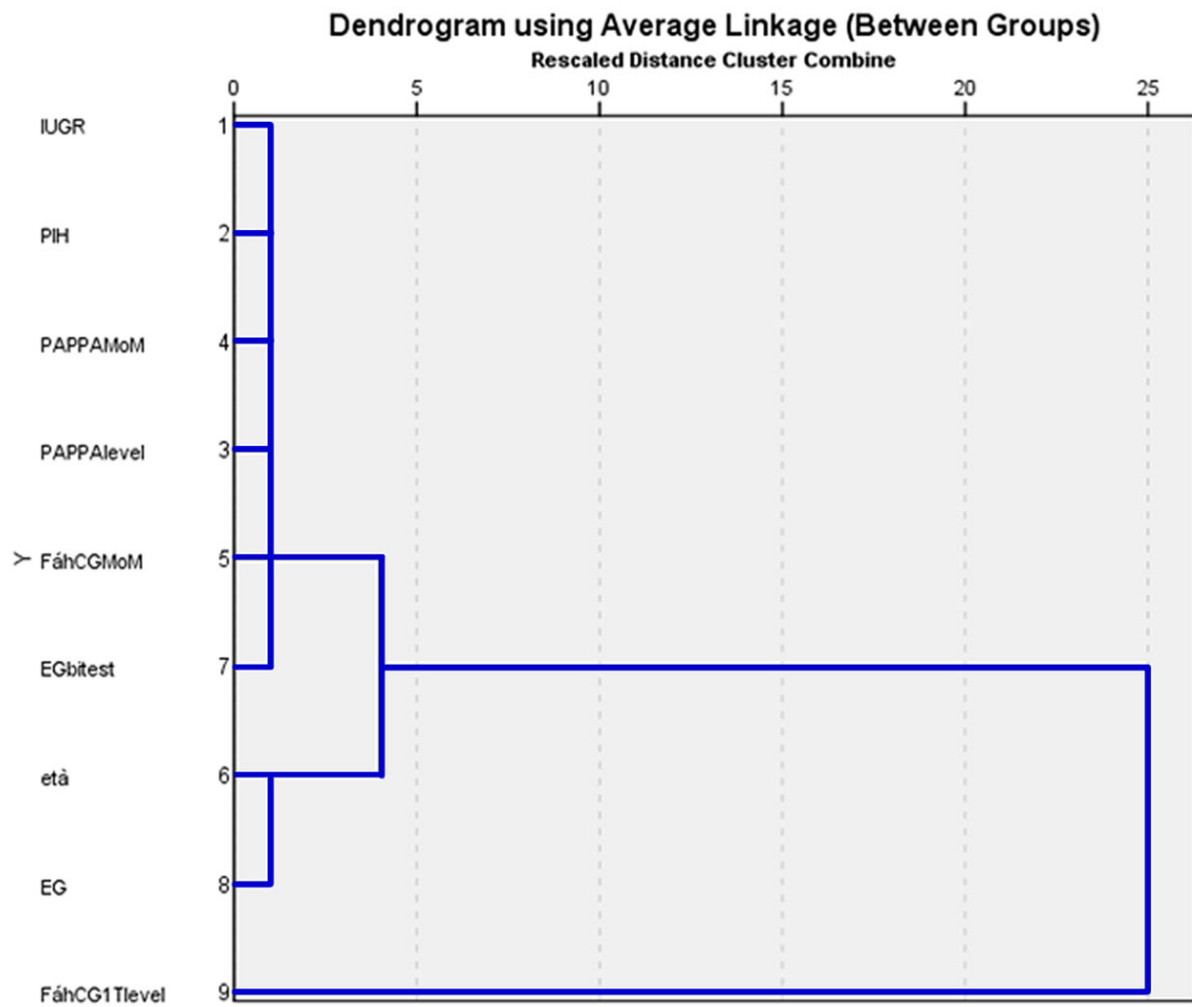


Grafikon 51. Histogram raspodjele biohemijskih parametara u grupama PIH gestacijski dijabetes.

Tabela 27. Matrica distanci.

	PIH	IUGR	GESTACIJSKI DIJABETES	PRIJEVREMENI PORODAJ	POROĐAJNA TEŽINA <2500 gr	STAROSNA DOB TRUDNICE
PAPP-A	8153.87	8034.61	8214.35	7907.88	8104.69	3454.47
βhCG	6201939.35	6200316.51	6205433.29	6197391.37	6201703.53	6006491.63
PAPP-A MoM	1280.79	1232.18	1299.22	1229.78	1265.11	1039.14
βhCG Mom	8195.96	8176.00	8236.44	8144.52	8190.92	7362.96

Distance iz tabele ukazuju da je najmanje rastojanje između varijabli IUGR, PIH, PAPP-A MoM, i slobodni β hCG MoM, a najveće između eta (broj godina trudnice) i slobodni β hCG, slobodni β hCG MoM i starosti trudnica, što se može uočiti na dijagramu (Grafikon 52).



Grafikon 52. Dendrogram distanci između ispitivanih kategorija.

5. DISKUSIJA

Glavni zadatak savremene perinatalne medicine je rađanje živog i zdravog potomstva. Tokom antenatalnih posjeta naročito je važno što ranije uočiti nepravilnosti toka trudnoće koje mogu izazvati ugroženost ploda. Zato svaki prenatalni rizik treba ozbiljno analizirati i shodno tome sprovesti određene postupke da bi se spriječile teške posledice za fetus (160).

Dostupnost neinvazivnih, isplativih, pouzdanih metoda za procjenu rizika i ranu dijagnozu je vrlo važan preduslov za racionalnu selekciju ciljne populacije za primjenu preventivnih intervencija, a u cilju sprečavanja gestacijskih bolesti i njihove posledice. U tu svrhu je najpogodnije primijeniti laboratorijske testove biohemijskih ispitivanja bioloških tečnosti majke. Među njima placentalni hormoni mogu biti koristan pokazatelj zbog njihove obilne zastupljenosti u cirkulaciji majke i njihove bliske veze sa patofiziološkom pozadinom gotovo svake komplikacije u trudnoći.

Neinvazivni program prenatalnog biohemijskog testiranja počinje 1970. godine mjerenjem AFP u serumu trudnica (17). Već je tada uočeno da su povećane vrijednosti alfa-feto proteina seruma majke (engl. maternal serum alfa fetoprotein, MS-AFP) povezane sa oštećenjem neuralne cijevi kao i malformacijama gastrointestinalnog trakta fetusa. Uočeno je takođe da se uz povišene vrijednosti MS-AFP češće dijagnostifikuju intrauterin zastoj u rastu, prevremeni porođaj i fetalna i neonatalna smrt (6, 7). Kasnih osamdesetih i ranih devedesetih godina počinje izbor za trizomiju 21 i ostale hromozomske abnormalnosti određivanjem vrijednosti hCG ili slobodnog β -hCG (77-80).

Već u ranom periodu primjene perinatalnog izbora publikovane su mnoge studije o povezanosti povišenih vrijednosti hCG i slobodnog β -hCG i prenatalne ugroženosti kakva se već opažala kod povišenih vrijednosti AFP u majčinom serumu (7, 11-15).

Današnja nastojanja idu u smislu „pomjeranja“ prenatalnog biohemijskog odabira za Down-ov sindrom iz drugog u prvo tromjesečje trudnoće. Tako je 1997. godine grupa autora s *Royal College of Obstetricians and Gynaecologist* preporučila prenatalni test izbora za Down-ov sindrom između 9. i 13. nedjelje gestacije (161). Kao vrlo koristan serumski marker prvog tromjesečja navodi se za trudnoću vezan plazma protein A (PAPP-A), a ističe se i važnost njegovog mjerenja u kombinaciji sa slobodnim β -hCG (87-92). Uočeno je da pomenuta kombinacija serumskih markera ima jednaku dijagnostičku pouzdanost kao i prenatalni biohemijški odabir u drugom tromjesečju (93-95). Prednost je naravno, u ranijem dobijanju nalaza što omogućava raniju primjenu invazivnih dijagnostičkih postupaka i prekid trudnoće u slučajevima lošeg nalaza. Posebno se, zadnjih godina, u svrhu detekcije trizomije 21 tokom prvog tromjesečja, uz serumske markere kao što su PAPP-A i slobodni β -hCG, mjeri i nuhalni nabor za koga se smatra da je najbolji ultrazvučni marker trizomije 21 (8-10, 87).

Prema nekim radovima, prenatalni test izbora za Down-ov sindrom i oštećenje neuralne cijevi, osim što ukazuje na rizik za aneuploidiju i određene malformacije ploda, potencijalni je pretkazatelj kasnijih komplikacija trudnoće (119, 120). Zadnjih nekoliko godina zapaženo je da uz povećane vrijednosti hCG ili slobodnog β -hCG u drugom tromjesečju trudnoće češće dolazi do ugroženosti ploda u smislu spontanog pobačaja, prevremenog obublivanja posteljice, hipertenzije/preeklampsije (121-124). Da bi pomenuti biohemijški markeri imali veću prognostičku vrijednost u navedenom smislu, potrebno je tačno odrediti gestaciju, te isključiti višeploidnu trudnoću, hromozomopatije i dijabetes (24, 25, 30, 125-127).

Mnoge studije u kojima se prati perinatalni ishod kod povišenih vrijednosti slobodnog β -hCG i PAPP-A iznose protivrečne rezultate u svojim analizama. Razlozi leže vjerovatno u činjenici da su koristili manje grupe ispitanica s

različitim graničnim vrijednostima rizika za Down sindrom kao i različitim vrijednostima opsega slobodnog β -hCG i PAPP-A (50, 54, 122, 124, 135, 136, 146, 153). Štaviše, autori nisu imali iste kriterijume izbora rizične i kontrolne grupe, a posmatrane su i različite komplikacije tokom perinatalnog razdoblja. Odibo i saradnici u svojoj studiji kod povišenih vrijednosti slobodnog β -hCG nalaze statistički značajno veću učestalost intrauterinog zastoja u rastu i prevremenih porođaja u poređenju s kontrolnom grupom (162). Međutim, u ovom radu nismo naišli na slično zapažanje. Odnosno, analizirani biohemijski markeri nisu ukazivali na pozitivnu korelaciju između povećane vrijednosti free β -hCG i IUGR. Takođe Chapman i saradnici, u grupi od 246 trudnica s lažno pozitivnim rizikom za Down-ov sindrom ne nalaze statistički značajno povećan rizik za loš perinatalni ishod u poređenju sa 889 trudnica kontrolne grupe (163). Sličnog zapažanja bili su Dugan i saradnici (164).

Intrauterinaretardacija rasta (IUGR) je multifaktorska heterogena patologija (165) i iz tog razloga je nemoguće dati jedinstvenu preporuku za njegovo otkrivanje. U kliničkoj praksi, za rano otkrivanje fetusa koji su pod rizikom da razviju ili već imaju ograničenje rasta je od ogromne važnosti ustanoviti intenzivni program praćenja fetusa, čiji je cilj da se definiše najbolji termin za parturiciju (166).

Iako ultrazvuk ostaje standardna tehnika za otkrivanje IUGR-a i praćenje fetusa, praćenje biohemijskih pokazatelja, kao što je IGF-I u krvi pupčane vrpce, mogu da učine ultrazvučne procjene preciznijim (167). Uz to, biohemijski pokazatelji u serumu majke možda imaju svoje mjesto u procjenjivanju rizika od IUGR-a. Nivoi hCG-a od 2.0 MoM u majčinom serumu u drugom tromjesečju se povezuju sa duplo do trostruko većim rizikom od IUGR-a. (168).

Mjerenja PAPP-A u trudnoći su dovela do optimističnih zaključaka naročito u vezi sa predviđanjem pojave različitih akušerskih abnormalnosti. Nivoi PAPP-A u serumu majke se otkrivaju još u 8. nedelji gestacije nakon čega se povećavaju kroz trudnoću (168). Nivoi PAPP-A u serumu majke, kada se mjere između 8. i 13. nedelje gestacije, su značajno smanjeni u trudnoćama sa Daunovim sindromom, prosječno ga ima 2.5 puta manje (169). Interesantno je da se nivoi

PAPP-A u majčinom serumu vraćaju u domen normalnih vrijednosti između 17. i 19. nedelje gestacije (170).

Intrauterina restrikcija rasta (IUGR) nastavlja biti važan faktor u perinatalnom mortalitetu i morbiditetu u modernoj obstetrici (171). Fizički parametri patološkog fetalnog rasta postaju tipični pokazatelji u drugoj polovini trudnoće, iako nedavne studije sugerišu da ove indikatore mogu predstavljati i rani parametri prvog trimestra (172). Dvije skorašnje prospektivne studije su pokazale da redukcija nivoa PAPP-A je u asocijaciji sa povećanom incidencom male porođajne težine (173).

Drugi mogući uzroci IUGR su velike strukturne abnormalnosti placente (placentalni hemangiom, abnormalni umeci u vrpce, placenta bilobata) ili abnormalna lokalizacija placente (npr. placenta previa – prednjačeća posteljica) (168). Naročito se kod trudnih žena sa hipersenzitivnim poremećajima zastupljenost IUGR povećava 2 do 3 puta (168), a ozbiljnost hipertenzije je u direktnoj korelaciji sa prisustvom IUGR-a, što se pokazalo i u našem radu. Pušenje majke (174), slaba ishrana majke (175), nehranjenost majke, i prisustvo neke hronične bolesti majke (172) ili urođena infekcija, se povezuju sa nastankom IUGR-a.

Histopatološke studije su pokazale da placente sa IUGR-om imaju resice sa ograničenom angiogenezom zbog manje zastupljenosti vaskularnog endotelijalnog faktora rasta (176,177), što je povezano sa time što placenta ne može da prenese kiseonik i što kao posledica toga pada srednja vrijednost zastupljenosti pO_2 u resicama. Preeklempsija, koja je jedan od faktora koji najviše doprinose IUGR-u, izaziva intravaskularnu koagulaciju, deponovanje fibrina u spiralnim arterijama, i kao posledicu toga, placentalnu hipoperfuziju (178, 179).

I majčin i fetalni IGF-I utiču na metabolizam placente i tako regulišu dostupnost supstrata koji su potrebni za rast fetusa (180). Izgleda da su IGF-ovi majke i fetusa nezavisno regulisani, jer nema korelacije između nivoa IGF-I u serumu majke i serumu vrpce. Dakle, majčin IGF-I može uticati na fetalni rast samo kroz svoj efekat na placentalnu funkciju (181).

Zaključak studije koja je sprovedena 2009-te godine, potvrđuje da je nizak nivo PAPP-A u značajnoj vezi sa povećanim rizikom od intrauterine restrikcije rasta (182). Sprovedena je i studija u kojoj se prate PAPP-A i ADAM12 kao markeri za intrauterinu retardaciju rasta kroz njihove uloge u sistemu insulinolikih faktora rasta. U slučajevima koji su rezultovali slabim fetalnim rastom, nivoi PAPP-A i ADAM12 od 11 do 14 nedjelje su bili značajno niži od normalnih u ovom primjeru (183). Takođe je dokazano i u radu Fox-a et al. da je PAPP-A koristan marker za identifikaciju fetalne restrikcije rasta u drugom tromesečju (184).

Prilikom akušerskih savjetovanja treba imati u vidu da svaki test ima ograničenu moć da predvidi apsolutni rizik za pojedinca.

Promatrajući uticaj pariteta, broja prethodnih trudnoća, zatim broja prethodnih abortusa kao i starosne dobi na vrijednosti nivoa biohemijskih markera u našem ispitivanju sa strogim selekcijskim kriterijumima željeli smo dobiti što realnije rezultate. Shodno tome, s porastom starosne dobi naišli smo na trend rasta kada su u pitanju vrijednosti free β -hCG i PAPP-A ali koje nisu pokazale statističku značajnost. Takođe, statističke značajnosti nisu uočene ni kod kategorije broj prethodnih abortusa.

Analizom uticaja broja prethodnih trudnoća i porođaja na nivo serumskih markera nađeno je da je nivo slobodnog β -hCG bio najveći u prvoj trudnoći i da s povećanjem brojem trudnoća i porođaja pokazuje trend pada (160). Ovi podaci potvrđuju ranija saznanja o uticaju broja ranijih trudnoća i porođaja na nivo hCG i slobodnog β -hCG (u drugom tromesečju) (163-168). Trenutno nema dobrih naučnih objašnjenja koja bi mogla objasniti veze između posmatranih bioloških varijabli. Za pretpostaviti je da je intenzivnija sinteza i sekrecija horionskog gonadotropina i slobodnog β -hCG u prvoj trudnoći možda povezana s pojačanom imunosupresivnom aktivnošću horionskog gonadotropina kod majke, kod koje je prva trudnoća i prva senzibilizacija na implantiranu posteljicu i plod.

Ćelije trofoblasta već u ranim nedjeljama sintetišu i luče velike količine horionskog gonadotropina koji štiti zametak od odbacivanja supresivskom kontrolom majčinog imunološkog sistema (169-170). HLA ("human leukocyte

antigen“) djeluje kao modulator imunogene ekspresije na embionalne produkte koji bi mogli nepovoljno djelovati na očuvanje trudnoće zbog relativne fetomaternalne genetske nepodudarnosti (171).

Mnogi autori smatraju da su povećane vrijednosti biohemijskih markera u direktnoj vezi sa insuficijencijom posteljice, odnosno poremećajima uteroplacentarne cirkulacije (128-133). Fiziološka vaskularizacija posteljice utiče povoljno na fetalni rast. Poremećaji uteroplacentarne cirkulacije često imaju za posledicu intrauterin zastoj u rastu, hipertenziju u trudnoći, preeklampsiju, a baš su u tim trudnoćama uočene povećane vrijednosti ovih biohemijskih markera (134-135). Zapažanja u ovom radu idu u prilog činjenici da ne postoji statistička značajnost ispitivanih biohemijskih parametara u kontrolnoj i u grupi trudnica sa zabilježenom hipertenzijom izazvanom trudnoćom (PIH). Što nije u saglasnosti sa studijom Lin-a i saradnika koja je sprovedena 1998. godine koja pokazuje da su nivoi PAPP-A povećani u trudnoćama sa trudnoćom izazvanom hipertenzijom. Kasnije studije su pronašle da je ova promjena značajnija kod ozbiljnijih oblika preeklampsije, a da je porast PAPP-A prethodio dolasku hipertenzije i albuminurije (165).

Dostupnost velikog broja nalaza o nivou hCG u drugom tromjesečju, kao i free β -hCG u prvom, su omogućili da se ispita da li je povišen nivo koncentracija ovog hormona u serumu majke prediktivan za trudnoćom izazvanu hipertenziju i preeklampsiju.

Drugi aspekt koji se uzimao u obzir je pitanje da li bi testiranje hCG-a imalo različite rezultate u predviđanju trudnoćom izazvane hipertenzije kao i preeklampsije kod žena koje su prvorotkinje i onih koje su višerotkinje. Studija koja je uključivala samo prvorotke je imala za zaključak da mjerenje hCG nivoa i Doplerov ultrazvuk uterusnih arterija imaju sličnu prediktivnu vrijednost, s tim što hCG ima mnoge operativne prednosti (185). Ipak, mnogo šira (n=6138) i dobro sprovedena studija koja je ispitivala prvorotke i višerotke odvojeno, je došla do drugačijih zaključaka (186). Visoki nivoi hCG-a u majčinom serumu u drugom tromjesečju se povezuju sa nastankom preeklampsije među višerotkinjama, ali ne i prvorotkinjama. Ovo povezivanje je veće u slučajevima ozbiljne preeklampsije

(187). Studija grupe prvorođene iz iste populacije u Finskoj (188) je otkrila da je vjerovatnoća nastanka preeklampsije posle pozitivnog testa bila veoma slična ukupnoj zastupljenosti bolesti, što ukazuje da testiranje nivoa hCG u drugom tromjesečju dodaje malo informacija za predviđanje rizika od nastanka preeklampsije među prvorođenicama što se pokazalo i u ovom radu. Štaviše, analize u ovom radu su ukazale na nešto nižu prosječnu vrijednost ovog parametra među trudnicama kod kojih je zabilježena trudnoćom izazvan hipertenzija u odnosu na grupu fiziološki zdravih trudnica, ali ne bilježi statističku značajnost.

Sumiranjem podataka koje su sakupile šest studija koje su procijenjivale vrijednost mjerenja hCG-a u serumu majke u drugom tromjesečju kako bi se predvidjela preeklampsija, određena je granica 2.0 MoM da bi se odredile osobe sa visokim nivoom hCG-a, sa vrijednošću iznad toga test bi se smatrao pozitivnim. Ovoj granici je dodijeljena specifičnost od 90%. Test se pokazao kao malo osjetljiv, jer je samo 23.7% žena koje su kasnije imale preeklampsiju imalo povišene nivoe hCG u drugom tromjesečju. Relativni rizik od 2.54 odražava pozitivnu prediktivnu vrijednost. Test se pokazao boljim kada se koristio u populacijama kod kojih preeklampsija ima zastupljenost višu od 3.5%, čime se dostigla pozitivna prediktivna vrijednost od 9.5% (189).

U mnogim objavljenim radovima ističe se povezanost visokog nivoa hCG ili slobodnog β -hCG s hipertenzivnim poremećajima u trudnoći (52, 186). Naime, s ranim vaskularnim oštećenjima placente dolazi do smanjenja oksigenacije, a kao odgovor na takve uslove javlja se hiperplazija sinciciotrofoblasta i posledično pojačana produkcija hCG (52,186-190). Postoje i eksperimentalni dokazi koji idu u prilog ovoj tvrdnji. Naime kad se normalna placenta izloži hipoksičnim uslovima dolazi do pojačane produkcije hCG (58). Kod trudnoća u kojima se razvija hipertenzija, obično se radi o ranoj uteroplacentarnoj hipoperfuziji što dovodi do smanjenog snabdijevanja kiseonikom, proliferacije sinciciotrofoblasta i povećane produkcije hCG (191). Ispitivanja tkiva posteljice u trudnoćama s Downovim sindromom ukazuju na zaostatak u razvoju u sazrijevanju posteljice od čak dvije nedjelje u odnosu na posteljice normalnih fetusa (192). Pretpostavlja se da zbog te nezrelosti posteljice dolazi do pojačanog lučenja hCG/slobodnog β -hCG u slučajevima DS.

Nešto što se javlja u svim ovim studijama je visoka negativna prediktivna vrijednost hCG-a u majčinom serumu u drugom tromjesečju (189). Vrijednosti niže od 2.0 MoM (koje se detektuju kod 80-90% svih prvotkinja) ukazuju na veoma nisku mogućnost dobijanja preeklampsije (<4%), što na prvi pogled može zvučati korisno u predviđanju dobrog rezultata nakon negativnih testova. Ovaj podatak se mora pažljivo interpretirati jer sve studije su sprovedene u populacijama gdje je zastupljenost preeklampsije bila ispod 5%, i vjerovatno je da bi u izabranim populacijama sa višom zastupljenošću ili sa specifičnim faktorom rizika, vjerovatnoća preeklampsije porasla i među mnogim pacijentima koje imaju normalne vrijednosti hCG-a na testovima. Nameće se zaključak da bi pomjeranje granične vrijednosti od 2.0 MoM ka nižim vrijednostima za ovaj parametar u cilju predikcije trudnoćom izazvane hipertenzije moglo poslužiti u konsaltingu i praćenju potencijalno kompromitovanih trudnoća.

Spencer i saradnici posebno ističu prognostičku valjanost mogućeg rizika kod trudnica čiji je nivo vrijednosti hCG ili β -hCG uglavnom povišen (85). Autori su utvrdili da je u ovoj grupi trudnica veći broj komplikacija u trudnoći: malformacija, smrti ploda, prevremenih porođaja, abrupcije posteljice, preeklampsije. Zbog toga mnogi autori kod povećanih vrijednosti hCG ili slobodnog β -hCG preporučuju pojačan ultrazvučni nadzor bez obzira na uredan kariogram (192). U skladu sa literaturnim podacima i u ovom radu je zabilježena veća prosječna vrijednost free β -hCG u ispitivanim grupama u odnosu na kontrolnu, to jeste grupu koju su sačinjavale fizioloski zdrave trudnice. Međutim ova razlika, nakon statističke obrade, nije pokazala statističku značajnost. Ali se nameće stav da među testiranim trudnicama sa većim vrijednostima free β -hCG ima potencijalno više onih čije trudnoće mogu biti afektovane gestacijskim dijabetesom, trudnoćom izazvanom hipertenzijom, intrauterinom retardacijom rasta ili pak prevremenim porođajem ili malom porođajnom težinom.

PAPP-A nivoi su malo, ali ne značajnije, niži kod trudnica sa dijabetesom bez obzira na njegovu povezanost sa velikom težinom novorođenčadi i placentalnom makrosomijom (175). Međutim u ovom radu uočene su statistički značajne razlike u vrijednostima PAPP-A kao i PAPP-A MoM između grupe trudnica sa gestacijskim dijabetesom u odnosu na grupu fiziološki zdravih

trudnica. U studiji koju su radili Owens i saradnici (193) primijećeni su značajno niži PAPP-A nivoi kod trudnoća sa dijabetesom u 8-14. nedelji gestacije. Korelacija između nivoa PAPP-A u serumu i ozbiljnosti i trajanja dijabetesa nije ustanovljena, ali postoji pozitivna veza između relativne tjelesne težine pri rođenju i PAPP-A nivoa u toku trudnoće sa komplikacijom dijabetesa, što je situacija u kojoj fetalni rast odstupa od normalnog. Potvrđeno je da su nivoi PAPP-A u serumu majki sa dijabetesom niži u prvom tromjesečju, tako da se ovo može uzeti u obzir u interpretaciji biohemijskih rezultata testova.

Autori uglavnom ističu statistički značajno nižu vrijednost hCG kao i slobodnog β -hCG kod višerotki ili pak kod žena sa većim ukupnim brojem prethodnih trudnoća (4, 46, 194), što se pokazalo i u ovom radu za kategoriju trudnica koje su imale tri i više porođaja, ali ne i za one koju su imale jedan ili dva prethodna porođaja. Naprotiv, rezultati ovog rada pokazuje nešto veće prosječne vrijednosti ovog parametra kod trudnica sa jednim i dva prethodna porođaja u odnosu na nulipare. Međutim te razlike ne bilježe i statističke značajnosti.

Može se zaključiti da je u trudnoćama sa visokim vrijednostima hCG, ali i slobodnog β -hCG, a bez bolesti trofoblasta, trizomije 21 ili neke druge vrste hromozomopatije, uočen niz problema koji su vezani za loš tok i ishod trudnoće. U brojnim radovima ističe se tako veća učestalost hronične insuficijencije posteljice koja dovodi do intrauterinog zastoja u rastu, intrauterine smrti ploda, prevremenog porođaja te preeklampsije (49, 55, 195, 196). Veća mogućnost pojave IUGR-a kod ispitanica sa povećanim vrijednostima free β -hCG zabilježena je i u ovom radu, nasuprot vrijednostima kod prevremenog porođaja. Naime, u ovom radu, u kategoriji trudnica sa prevremenim porođajima uočene su nešto niže prosječne vrijednosti ovog hormona koje nisu pokazale statističku značajnost. Fox i sar. (197) navode da su vrijednosti slobodnog β -hCG preko 2,5 MoM-a statistički značajno češće udružene sa pomenutim gestacijskim problemima. Spenser pak, navodi da je rizik za loš ishod trudnoće čak sedam puta veći u slučajevima kada su istovremeno i MS-AFP i slobodni β -hCG iznad 2 MoM-a (85). Posebno se iznose opažanja o udruženosti uteroplacentalne insuficijencije i povećane vrijednosti slobodnog β -hCG (49, 58, 198). Smanjena oksigenacija u tim slučajevima izaziva,

prema ovim autorima, hiperplaziju sinciciotrofoblasta što rezultira povećanim lučenjem hCG. Oslabljena uteroplacentarna cirkulacija u tim slučajevima ima za posledicu intrauterini zastoj u rastu fetusa.

S druge strane, s povećanjem životnog doba kod velikog broja žena dolazi do povećanja tjelesne mase, povišenja krvnog pritiska, poremećaj metabolizma šećera što se može odraziti i na intrauterino stanje ploda. Kod „starijih“ trudnica, posebno onih starijih od 35 godina, bilježi se veća učestalost kongenitalnih anomalija (199-201), neonatalnog morbiditeta, kasne fetalne (202, 203, 204) i rane neonatalne smrti (170, 180, 204, 205). Budući da se „visoko“ životno doba trudnice, bez obzira na kvalitet neonatalne zaštite, smatra rizičnim faktorom za fetalni i neonatalni morbiditet i mortalitet, da se zaključiti da je starostno doba trudnice još jedan faktor koga treba uvažavati kod usklađivanja ispitivane i kontrolne grupe što je i urađeno u ovom radu. Podjela u tri starosne kategorije, do 25, od 25 do 35 i preko 35 godina ukazala je na trend rasta prosječnih vrijednosti oba ispitivana biohemijska parametra, i free β -hCG i PAPP-A, ali je analiza pokazala da među njima nije bilo statističke značajnosti. Obzirom na velike standardne devijacije urađena je i neparametarska provjera koja je takođe potvrdila odsustvo statistički značajne razlike ($\chi^2 = 0,253$ odnosno 2,298; $p > 0,05$). Međutim analiza učestalosti dobijene ukrštanjem obilježja kategorija starosti trudnica i težine novorođenčadi do 2500 grama pokazala je da postoji statistički visoko značajna razlika ($\chi^2 = 9,130$; $df = 2$, $p < 0,01$) koja je posledica činjenice da u ovom radu ni jedna trudnica, mlađa od 25 godina, nije imala novorođenče tjelesne težine manje od 2500 grama, dok je broj takve novorođenčadi evidentan kod žena starosti od 25 do 35 godina (5,3%), i 11,8% onih starijih od 35 godina. Dakle, sa porastom starosti trudnice raste i rizik dobijanja novorođenčadi male porođajne težine, to jeste porođajne težine manje od 2500 grama. Analizom podataka za ostale porođajne težine nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u svim starosnim kategorijama.

Analiza rezultata prosječnih vrijednosti biohemijskih parametara u ovom radu nije pokazala statistički značajne razlike ni u jednoj od kategorija porođajnih težina; to jeste ni za one manje od 2500 grama, kao ni one veće od 4000 grama za koje su u literaturi migu naći oprečni rezultati. Takođe je i neparametarska

provjera obzirom na velike standardne devijacije u ovim kategorijama potvrdila odsustvo statistički značajne razlike. Međutim, rezultati ovog rada ukazuju na evidentan trend rasta vrijednosti PAPP-A, kao i pada vrijednosti slobodnog hCG-a sa porastom porođajnih težina.

PAPP-A je moćno sredstvo za testiranje na Daunov sindrom kod trudnoća i ima posebnu prednost da postiže zadovoljavajuće rezultate još u prvom tromjesečju trudnoće (85). U poređenju sa ostalim pokazateljima pojedinačno, PAPP-A obezbjeđuje najveću stopu otkrivanja Daunovog sindroma kod ranijih testiranja (60).

Kao dio multicentralne, neintervencijske grupne studije, uzet je serum 4288 žena, 8-12-e nedelje gestacije koje su na kraju imale trudnoću sa jednim djetetom bez komplikacija i koje su rodile normalne, zdrave bebe u terminu. Studija je obuhvatila kompletne podatke o ovima ženama kada su u pitanju njihove godine, paritet, visina, indeks tjelesne težine, rasa i status pušača-nepušača (206).

Ustanovilo se da su veći procenat novorođenčadi sa malom tjelesnom težinom (ispod 2500g) rodile žene sa koncentracijom PAPP-A u prva tri mjeseca trudnoće koja spada u 5% sa najmanjom količinom (9 od 201, 4.5%) u poređenju sa drugim ženama (65 od 4.087, 1.6%, $p=0.002$). Koristeći multivarijetetnu logističku regresiju (prilagođavanje vrijednosti prema visini, rasi, indeksu tjelesne težine, statusu pušač-nepušač i elektivnog porođaja majke), porast od jedne \log_{10} jedinice PAPP-A MoM u toku prva tri mjeseca trudnoće (otprilike ekvivalentan rasponu od 1.og do 99.og procenta) je bio povezan sa 80% smanjenja rizika od rađanja djeteta male tjelesne težine (procenat rizika ± 0.2 , 95% CI, 0.1, $P=0.002$). Za razliku od toga, nije ustanovljen značajniji zavisan odnos u slučaju slobodnog β -CG (procenat se prilagođava ± 0.6 , 95%CI, 0.2-1.3, $P=0.17$) (206, 207).

Takođe je opisana značajna pozitivna korelacija između nivoa PAPP-A u prvom tromjesečju i relativne tjelesne težine pri rođenju i nivoa PAPP-A u serumu majke u kasnoj trudnoći i težine pri rođenju (210, 211, 213-217). Niži nivoi PAPP-A u prvom tromjesečju predviđaju lošiji fetalni rast. Niži nivo PAPP-A u prvom tromjesečju može da sugeriše da će taj fetus biti mala, ali normalna beba.

Sa druge strane, može se spekulirati da je manja placenta odgovorna za slabiji fetalni rast, tako da postoji jedna podgrupa normalnih trudnoća kod kojih veličina ili kapacitet placente ograničava fetalni rast (211, 215, 217-220).

Rezultati ukazuju da rizik od rađanja bebe sa malom tjelesnom težinom može biti uslovljen placentalnom aktinošću IGF-ova u vrlo ranoj trudnoći.

Srednji nivoi PAPP-A su viši kod prvorođkinja, što se pokazalo i u ovom radu. Uticaj gravidnosti na PAPP-A nivoe je interesantan, ali je biološki značaj ove veze nejasan, jer se placente ne razlikuju u težini kod prvorođki i višerođki. Podatak o pozitivnoj korelaciji između PAPP-A i težine placente je očekivan zbog proteina koje proizvode trofoblasti (208).

Smanjenje PAPP-A u serumu majke ne zavisi od (bilo kakve) promjene u sintezi ovog proteina u placenti, jer zastupljenost PAPP-A iRNK nije značajno smanjena u placentama sa Daunovim sindromom. Štaviše, korelacija između nivoa zastupljenosti PAPP-A u serumu i tkivu nestaje kod trudnoća sa Daunovim sindromom. Ovi podaci nameću zaključak da je smanjenje PAPP-A u serumu majke posttranslaciono i da može biti izazvano promjenom u mehanizmima izlučivanja placente ili promjenama u stabilnosti izlučenog proteina (209).

Rezultati dobijeni nakon analize starosne dobi učestalosti trudnica koje su imale prevremene porođaje pokazala je statistički visoko značajnu razliku ($\chi^2 = 19,320$; $df = 2$; $p < 0.01$), koja je nastala kao posledica činjenice da ni jedna trudnica mlađa od 25 godina nije imala prevremeni porođaj za razliku od onih koje su pripadala grupi od 25 do 35 godina i starijoj od 35 godina (90,5% odnosno 77,9%). Dakle, zastupljenost prevremenih porođaja ipak nije bila najzastupljenija u najstarijoj kategoriji ispitivanih trudnica u ovom radu.

Teže je, međutim objasniti učestaliju pojavu prevremenog porođaja kod trudnica s povećanim vrijednostima slobodnog β -hCG. Pretpostavlja se da insuficijencija posteljice s hipoksijom i ranim vaskularnim poremećajima koji se odražavaju povećanim vrijednostima hCG/slobodnog β -hCG u drugom tromjesječju, može biti pokretač reakcija prevremenog porođaja s prevremenim pucanjem vodenjaka. Naime, postoje dokazi da u procesu inicijacije porođaja i

pucanja plodovih ovojnica učestvuju i ćelije cerviksa i decidue kao i ćelije amniohorijalnih ovoja (221-225). Lučenje enzima proteaze koji djeluje na razgradnju ekstracelularnog matriksa cerviksa i amniohorijalnih ovojnica, moglo bi biti posledica određenih patoloških dešavanja kojima se aktiviraju ćelije cerviksa, decidue i amniohoriona. Istovremeno aktivacijom citokina pojačava se sposobnost proteaze da razgrađuje ekstracelularni matriks, što sve može izazvati pucanje plodovih ovojnica i prevremeni porođaj (217, 226). Međutim, ovo istraživanje ne ide u prilog literaturnoj činjenici da je kod trudnica sa prevremenim porođajima nivo vrijednosti free β -hCG povećan. Naime, prosječna vrijednost free β -hCG MoM kod trudnica sa prevremenim porođajima u ovom radu iznosila je 1,28 dok je u kontrolnoj grupi, to jeste u grupi fiziološki zdravih trudnica sa terminskim porođajima taj nivo iznosio 1,53. Bez obzira na ovu razliku analiza je pokazala da među njima nema statističke značajnosti. Takođe su i vrijednosti drugog prognostičkog parametra, PAPP-A, to jeste njegovih prosječnih multiplih medijana, u ovoj ispitivanoj grupi bile prosječno niže u odnosu na kontrolnu (1,09 u odnosu na 1,20), ali ne i statistički značajno.

Upotreba prediktivnih pokazatelja prevremenog porođaja ima dva komplementarna cilja. Prvi je rana identifikacija žena koje imaju veći rizik od prevremenog porođaja, što je preduslov za planiranje preventivnih strategija, ako ne za odlaganje porođaja, onda barem za poboljšanje perinatalnog ishoda. Idealni pokazatelj ne bi trebao samo da bude tačan, nego i prisutan dovoljno rano da se obavi efikasna profilaksa. Takav idealni test je teško ostvariti zbog toga što je sindrom prevremenog porođaja heterogen i vjerovatno zbog toga što se patološki proces koji dovodi do prevremenog porođaja često razvija kasno u trudnoći, što čini težim predviđanje njegove pojave. Drugi cilj je predviđanje prevremenog porođaja posle početka spontanih prevremenih porođajnih muka, što može da pomogne u kliničkoj odluci da poboljša preventivne i terapijske mjere kako bi se izbjegle nepovoljne posledice.

Brojni, već prije citirani radovi, ukazuju na značajnu povezanost visokog nivoa hCG i slobodnog β -hCG s komplikacijama vezanim za trudnoću poput IUGR, hipertenzije i prevremenog porođaja (50, 56, 136, 227-234). Međutim,

postoje i radovi u kojima pomenuta veza nije utvrđena (234-237). Vjerovatno je takvo neslaganje posledica različitog odabira ispitivanih grupa.

Naime, posmatrajući kriterijume za selekciju u drugim radovima primjećuje se da, osim u jednom nama poznatom radu, ispitivanu grupu čine sve trudnice s povišenim vrijednostima hCG/slobodnog β -hCG bez obzira na visinu procijenjenog rizika za Downov sindrom (16, 21, 49, 50, 238-243).

U istraživanju Bačića i saradnika (160) prosječna starost trudnica s visokim vrijednostima slobodnog β -hCG iznosila je $27,05 \pm 3,86$ godina, a čak je 64% ispitanica bilo nulipara. Međutim, u ovom istraživanju nije nađena statistički značajna razlika za parametre kao što su IUGR, prijeteci prevremeni porođaj i trudnoćom izazvana hipertenzija.

Mnoge studije, iako većinom fokusirane na hCG, a manje na slobodni β -hCG, pokazale su povezanost njihove povećane vrijednosti i preeklampsije (55, 208, 229, 230, 243-246). Iako etiologija hipertenzije/preeklampsije odnosno gestoza još uvijek nije u potpunosti poznata, sigurna je njena povezanost s poremećajima u razvoju trofoblastnog tkiva, koji započinju vrlo rano u trudnoći za vrijeme invazije trofoblasta. Tako se hipertenzija u trudnoći češće javlja kod žena koje su prvi put izložene horionskim resicama, naročito ako su resice brojnije (višeplodna trudnoća ili mola hidatoza). Slične tendencije postoje i u slučajevima hipertenzije prije trudnoće odnosno kod genetske predispozicije za hipertenziju u trudnoći. Invazijom citotrofoblasta smanjuje se endotel kao i glatka muskulatura spiralnih arterija. Ta fiziološka prilagođenost spiralnih arterija u trudnoći omogućava da one postaju krvni sudovi sa smanjenim otporom krvi. Taj proces je „manjkav“ kod trudnoća kompromitovanih hipertenzijom (247).

Snažni stimulišući efekat endotelina 1 na proliferaciju i invaziju trofoblasta u urednim trudnoćama smanjuje periferni otpor. Pretpostavlja se da smanjeno lučenje endotelina 1 predstavlja glavni uzrok u nastanku gestoze (248). U tim slučajevima nastaje povećan periferni otpor sa smanjenom perfuzijom posteljice u interviloznim prostorima i razvojem početne hipertenzije u trudnoći. Placentna hipoksija u ranoj trudnoći dokazana je in vitro, gdje je uočena poremećena diferencijacija citotrofoblasta i povećano lučenje β -hCG (249).

Za vrijeme uredne trudnoće postepeno se mijenja odnos prostaciklina (vazoaktivna svojstva), tromboksana, vitamina E (antioksidativna aktivnost) i lipidnih peroksidaza. Višak tromboksana A_2 dovodi do vazospazma i destrukcije trombocita, a lipidna peroksidaza uzrokuje oštećenje endotela što sve pogoduje razvoju hipertenzije (250).

U literaturi se kao faktori rizika najčešće ističu gestoza u prethodnoj trudnoći/ili u porodici, pripadnost crnoj rasi, nuliparitet i niže starosna doba trudnice (251-254). Kod nulipara je rizik čak šest puta veći nego u multipara, a za „vrlo“ mlade trudnice rizik je do pet puta viši (160).

Danas se smatra da je sklonost nastanku hipertenzije u trudnoći nasledna, dok bi se odgovorni gen mogao nalaziti na hromozomu 1, 3, 9, 18 ili bi on mogao biti gen za angiotenzin(255, 256). Današnja ispitivanja gestoza na genetičkoj osnovi uglavnom ukazuju na mogućnost da su gestoze posledica interakcije majčinog i fetalnog genotipa kao što je to slučaj kod bolesti Rhesus faktora (257). Liu i saradnici kod povišenih serumskih vrijednosti hCG češće nalaze gestoze (hipertenziju), zastoj fetalnog rasta i pojavu prevremenih porođaja (258). Kod tih trudnoća nađeni su poremećaji implantacije trofoblasta kao i hronična uteroposteljična upala (259).

Jaakkola i sar. (260) u trudnoćama s $hCG \geq 2,5$ MoM-a češće uočavaju hipertenziju što je bio kontroverzan literaturni podatak (261-264). Spencer i saradnici zaključuju da se u slučajevima povećanja srednje vrijednosti slobodnog β -hCG $\geq 2,0$ MoM-a mogu očekivati komplikacije kao što su prevremeni porođaj i niža porođajna težina (83), što je u saglasnosti i sa drugim radovima (264-275).

Zaključno se može reći da ovo istraživanje u vezi moguće kliničke primjene biohemijskog testa rizika za Daunov sindrom govori u prilog povećane specifične perinatalne ugroženosti u trudnoćama sa intrauterinom retardacijom rasta, trudnoćom izazvanom hipertenzijom, gestacijskim dijabetesom, kao i prevremenim porođajima i malom porođajnom težinom. To, naravno, ne znači da će obavezno doći do ranije navedenih komplikacija, ali je mogućnost veća pa zahtijeva pornije praćenje trudnoće. Izolovani nalaz povišenog nivoa slobodnog β -hCG ($\geq 2,0$ MoM) ne ukazuje na značajniju perinatalnu ugroženost, ali ne i obavezno. Može se,

međutim, očekivati veća učestalost hipertenzije, a treba naglasiti da se u većini slučajeva radi o mladim trudnicama, prvorotkama (160, 258). Ovaj, svakako interesantan podatak, zahtijeva dalju analizu na većem broju slučajeva, kako bi se utvrdila prediktivna vrijednost visokokog nivoa slobodnog β -hCG u serumu, kao i niskog nivoa PAPP-A. I u ovom radu je uočeno da su srenje vrijednosti PAPP-A niže u grupi trudnica sa hipertenzijom koja je posledica trudnoće nego u grupi fiziološki zdravih trudnic, što je bio slučaj i sa vrijednostima slobodnog hCG-a. Analiza intervala povjerenja za vrijednosti PAPP-A kod trudnica sa hipertenzijom pokazala je znatno širi opseg datih vrijednosti u odnosu na kontrolnu grupu.

Prije nego prihvatimo jedan ili više hormonskih pokazatelja da se predvidi rizik od gestacijskih bolesti, moramo biti svjesni moći i ograničenja ovih testova kako bi se izdvojile najbolje informacije koje nam mogu ponuditi. Treba misliti i na to da osim toga što test mora biti tačan i davati značajnije više pravih od lažnih rezultata, i vjerovatnoća postojanja ili nastanka bolesti (odnosno nepostojanja) posle pozitivnog ili negativnog testa se mora materijalno razlikovati od očekivane zastupljenosti bolesti u populaciji; inače, test bi bio beskoristan. Procjena koji je test koristan, a koji nije se može razlikovati zavisno od toga da li ćemo test koristiti na izabranim individuama ili na testiranje cijele populacije.

Hormonski testovi sa ciljem procjene rizika i predviđanja ishoda gestacijskih bolesti mogu dati relevantne informacije ljekaru, ako se interpretiraju pažljivo.

Za složene, multifaktorijske bolesti može biti potrebno više od jednog pokazatelja da bi se one predvidjele i dijagnozirale. Dakle, nije iznenađujuće da kombinovani hormonski testovi ili kombinacija hormonskih testova sa ultrazvukom mogu dati bolju osjetljivost od bilo kog pojedinačnog pokazatelja u predviđanju gestacijskih bolesti. Bilo bi ideano da programi testiranja uključuju što je manje jadinica moguće, kako bi se dobila maksimalna efikasnost testova i niži troškovi. U svakom slučaju, ovi podaci ukazuju na veliko buduće polje razvoja za kliničke implikacije placentalnih hormona i signalnih faktora koji daju informaciju o fetusu i majci i naročito odražavaju genetske, vaskularne, infektivne ili metaboličke poremećaje koji se mogu javiti u toku trudnoće.

U bliskoj budućnosti, upotreba microarray tehnologije će ponuditi izvanrednu mogućnost za određivanje grupe gena koja se može regulisati silazno i uzlazno (upregulate / downregulate) u majčnim i fetalnim organima koji su zahvaćeni nekom bolešću (276), a ovo će omogućiti otkrivanje novih markera.

6. ZAKLJUČCI

1. Neinvazivna metoda određivanja biohemijskih parametara u cilju isključenja Daunovog sindroma i defekata neuralne tube pokazala se korisnim i vrijednim testom i u kliničkoj procjeni toka i ishoda trudnoće.
2. U trudnoćama s negativnim rizikom za Daunov sindrom ($>1:380$) izolovan nalaz visokog nivoa slobodnog β -hCG ($\geq 2,0$ MoM) prisutan je češće kod mlađih trudnica, većinom nulipara kao i u slučajevima IUGR.
3. U trudnoćama s negativnim rizikom za Daunovog sindrom ($>1:380$) i nalaza gestacijskog dijabetesa utvrđene su statistički značajno niže vrijednosti slobodnog β -hCG, kao i niže vrijednosti PAPP-A u odnosu na kontrolnu grupu.
4. U trudnoćama s negativnom rizikom za Daunov sindrom ($> 1:380$) i izolovanih nalaza niskog nivoa PAPP-A (manje od 1,0 MoM) utvrđeno je statistički značajno češće prisustvo prevremenih porođaja i intrauterine retardacije rasta.
5. Postoji pozitivna korelacija između vrijednosti PAPP-A i porođajnih težina. Takođe se može zaključiti da postoji trend pada vrijednosti slobodnog β -hCG sa porastom tjelesne težine na rođenju.
6. Niže vrijednosti PAPP-A utvrđene su u grupi trudnica sa hipertenzijom koja je izazvana trudnoćom u odnosu na fiziološki zdrave trudnice.

7. Analiza rezultata starosne dobi trudnica pokazala je statističku značajnost u odnosu na prevremeni porođaj koja ukazuje na činjenicu da trudnice mlađe od 25 godina nisu imale prevremene porođaje kao ni novorođenčad porođajne težine manje od 2500 grama za razliku od trudnica starije dobi.
8. Komplikacije poput PIH i IUGR ne zavise od starosne dobi, za razliku od gestacijskog dijabetesa koji se statistički značajno češće javlja u starosnoj dobi iznad 25 godina.
9. Niske vrijednosti PAPP-A MoM (< 1.0) koreliraju sa malom porođajnom težinom ($< 2500\text{g}$) i ova korelacija pokazuje statističku značajnost.
10. Mala porođajna težina ($< 2500\text{g}$) korelira sa prevremenim porođajem, dok su porođajne težine preko 4000g podjednako zastupljene i u prevremenim i u terminskim porođajima.
11. Trudnoćom izazvana hipertenzija uzrokuje malu porođajnu težinu.
12. Između parametara intrauterine retardacije rasta i hipertenzije izazvane trudnoćom postoji visoka statistička značajnost ($p < 0,001$).
13. Procentualno prisustvo porođajnih težina većih od 4000 grama bilo je približno jednako u kontrolnoj (fiziološki zdrave trudnice) i u ispitivanim grupama, osim u grupi sa gestacijskim dijabetesom što je u skladu sa očekivanim rezultatima.
14. Prvorotke su statistički značajno bile zastupljenije u ispitivanim nego u kontrolnoj grupi.
15. Svako ispitivanje koje za cilj ima procjenu toka i ishoda trudnoće u odnosu na bilo koji parametar u okviru biohemijskog izbora za Daunov sindrom i defekte neuralne tube, treba da se temelji na dobro odabranoj grupi ispitanica usklađenih prema starosnoj dobi i uz uvažavanje ograničavajućih faktora kao što su paritet, broj prethodnih abortusa kao i hronične bolesti.

7. LITERATURA

1. Kurjak A, Kupesic S, Ivancic-Kosuta M. Three-dimensional transvaginal ultrasound improves measurement of nuchal translucency. *J. Perinat. Med.* 1999; 27:97-102.
2. Taylor RN, Martin MC. The endocrinology of pregnancy. In: Greenspan FS, Strewler GJ, eds. *Basic and Clinical Endocrinology*. Stamford, CT: Appleton & Lange; 1997:548-574.
3. Petraglia F, Florio P, Nappi C, Genazzani AR. Peptide signaling in human placenta and membranes: autocrine, paracrine, and endocrine mechanism. *Endocr. Rev.* 1996 17: 156-186: 623-630
4. Zhang J, Merialdi M, Platt LD, et al. Defining normal and abnormal fetal growth: promises and challenges. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2010; 202(6): 522–528.
5. Gardosi J, Francis A. Adverse pregnancy outcome and association with small for gestational age birthweight by customized and population-based percentiles. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2009; 201(1): 28.e1–28.e8.
6. Groom KM, Poppe KK, North RA, et al. Small-for-gestationalage infants classified by customized or population birthweight centiles: impact of gestational age at delivery. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2007; 197(3): 239.e1–239.e5.
7. Hutcheon JA, Zhang X, Cnattingius S, et al. Customised birthweight percentiles: does adjusting for maternal characteristics matter? *BJOG.* 2008; 115(11): 1397–1404.
8. Bukowski R, Gahn D, Denning J, et al. Impairment of growth in fetuses destined to deliver preterm. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2001; 185(2): 463–467.
9. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359:61–73. [PubMed: 18596274]
10. Gardosi JO. Prematurity and fetal growth restriction. *Early Hum. Dev.* 2005; 81: 43–49. [PubMed:15707714]

11. Morken NH, Kallen K, Jacobsson B. Fetal growth and onset of delivery: a nationwide populationbased study of preterm infants. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2006; 195: 154–161. [PubMed: 16813752]
12. Hutcheon JA, Zhang X, Cnattingius S, Kramer MS, Platt RW. Customized birthweight percentiles: does adjusting for maternal characteristics matter? *BJOG* 2008; 115: 1397–1404. [PubMed:18823489]
13. Cooke RWI. Conventional birth weight standards obscure fetal growth restriction in preterm infants. *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal. Ed.* 2007; 92: F189–F192. [PubMed: 16547077]
14. Zhang X, Platt RW, Cnattingius S, Joseph KS, Kramer MS. The use of customized versus populationbased birthweight standards in predicting perinatal mortality. *BJOG* 2007; 114: 474–477. [PubMed:17378820]
15. Merialdi M, Caulfield LE, Zavaleta N, Figueroa A, Costigan KA, Dominici F, Dipietro JA. Fetal growth in Peru: comparisons with international fetal size charts and implications for fetal growth assessment. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2005; 26: 123–128. [PubMed: 16041678]
16. Pedersen NG, Figueras F, Wojdemann KR, Tabor A, Gardosi J. Early fetal size and growth as predictors of adverse outcome. *Obstet. Gynecol.* 2008; 112: 765–771. [PubMed: 18827118]
17. Lyon V, Howatson A, Khan KS, Owen P. Unadjusted and customized weight centiles in the identification of growth restriction among stillborn infants. *BJOG* 2004; 111:1460–1463. [PubMed:15663137]
18. Turan S, Miller J, Baschat AA. Integrated testing and management in fetal growth restriction. *Semin Perinatol* 2008;32:194–200. [PubMed: 18482621]
19. Maulik D, Frances Evans J, Ragolia L. Fetal growth restriction: pathogenic mechanisms. *Clin Obstet Gynecol* 2006;49:219–227. [PubMed: 16721102]
20. Gagnon A, Wilson RD, Audibert F, et al. Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. *J Obstet Gynaecol Can* 2008;30:918–932. [PubMed: 19038077]

21. Crispi F, Dominguez C, Llurba E, Martin-Gallan P, Cabero L, Gratacos E. Placental angiogenic growth factors and uterine artery Doppler findings for characterization of different subsets in preeclampsia and in isolated intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:201–207. [PubMed: 16545329]
22. Romero R, Nien JK, Espinoza J, et al. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *J Maternal-fetal Neonatal Med* 2008;21:9–23.
23. Chaiworapongsa T, Espinoza J, Gotsch F, et al. The maternal plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 concentration is elevated in SGA and the magnitude of the increase relates to Doppler abnormalities in the maternal and fetal circulation. *J Maternal-fetal Neonatal Med* 2008;21:25–40.
24. Papageorghiou AT, Leslie K. Uterine artery Doppler in the prediction of adverse pregnancy outcome. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2007;19:103–109.
25. Espinoza J, Romero R, Nien JK, et al. Identification of patients at risk for early onset and/or severe preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and placental growth factor. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:326.e1–326.e13. [PubMed: 17403407]
26. Bersinger NA, Øpdegård RA. Second- and third-trimester serum levels of placental proteins in preeclampsia and small-for-gestational age pregnancies. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004;83:37–45. [PubMed: 14678084]
27. Peck JD, Hulka BS, Savitz DA, Baird D, Poole C, Richardson BE. Accuracy of fetal growth indicators as surrogate measures of steroid hormone levels during pregnancy. *Am J Epidemiol* 2003;157:258–266. [PubMed: 12543626]
28. Dunger DB, Petry CJ, Ong KK. Genetic variations and normal fetal growth. 1: *Horm Res* 2006;65:34–40.
29. Kaku K, Osada H, Seki K, Sekiya S. Insulin-like growth factor 2 (IGF2) and IGF2 receptor gene variants are associated with fetal growth. *Acta Paediatr* 2007;96:363–367. [PubMed: 17407457]

30. Osada H, Seki K, Sekiya S. Genetic variations within the insulin gene region are associated with fetal growth. *Tohoku J Exp Med* 2007;212:27–34. [PubMed: 17464100]
31. Combs CA, Rosenn B, Miodovnik M, Siddiqi TA. Sonographic EFW and macrosomia: is there an optimum formula to predict diabetic fetal macrosomia? *J Matern-Fetal Med* 2000;9:55–61. [PubMed: 10757437]
32. Anderson NG, Jolley IJ, Wells JE. Sonographic estimation of fetal weight: comparison of bias, precision and consistency using 12 different formula. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;30:173–179. [PubMed: 17557378]
33. Scioscia M, Vimercati A, Ceci O, Vicino M, Selvaggi LE. Estimation of birth weight by twodimensional ultrasonography. *Obstet Gynecol* 2008;111:57–65. [PubMed: 18165393]
34. O'Reilly-Green C, Divon M. Sonographic and clinical methods in the diagnosis of macrosomia. *Clin Obstet Gynecol* 2000;43:309–320. [PubMed: 10863628]
35. Larciprete G, Di Pierro G, Barbati G, et al. Could birthweight prediction models be improved by adding fetal subcutaneous tissue thickness? *J Obstet Gynecol Res* 2008;34:18–26. [PubMed:18226124]
36. Allegrucci C, Thurston A, Lucas E, Young L. Epigenetics and the germline. *Reproduction*. 2005;129:137–149. [PubMed: 15695608]
37. Banwell KM, Lane M, Russell DL, Kind KL, Thompson JG. Oxygen concentration during mouse oocyte in vitro maturation affects embryo and fetal development. *Human Reprod*. 2007; 22:2768–2775.
38. Barros FC, del Pilar Velez M. Temporal trends of preterm birth subtypes and neonatal outcomes. *Obstet Gynecol*. 2006; 107:1035–1041. [PubMed: 16648408]
39. Behrman, RE.; Stith Butler, A., editors. *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention*. National Academies Press; Washington D.C: 2007.
40. Bloomfield FH, Oliver MH, Hawkins P, Campbell M, Phillips DJ, Gluckman PD, Challis JRG, Harding JE. A periconceptual nutritional origin for noninfectious preterm birth. *Science*. 2003;300:606. [PubMed: 12714735]

41. Dietz PM, England LJ, Callaghan WM, Pearl M, Wier ML, Kharrazi M. A comparison of LMP-based and ultrasound-based estimates of gestational age using linked California livebirth and prenatal screening records. *Paed Perinatal Epidemiol.* 2007; 21(Suppl 2):62–71.
42. Doubilet PM, Benson CB, Wilkins-Haug L, Ringer S. Fetuses subsequently born premature are smaller than gestational age-matched fetuses not born premature. *J Ultrasound Med.* 2003; 22:359–363. [PubMed: 12693619]
43. Duranthon V, Watson AJ, Lonergan P. Preimplantation embryo programming: transcription, epigenetics, and culture environment. *Reproduction.* 2008; 135:141–150. [PubMed: 18239045]
44. Ehrenkranz RA. Estimated fetal weights versus birth weights: should the reference intrauterine growth curves based on birth weights be retired? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2007; 92:F161–2. [PubMed: 17449851]
45. Engle WA, Tomashek KM, Wallman C. the Committee on Fetus and Newborn. “Late-preterm” infants: A population at risk. *Peds.* 2007; 120:1390–1401.
46. González R, Gomez R, Castro R, Nien JK, Merino P, Etchegaray A, Carstens M, Medina L, Viviana P, Rojas I. Curva nacional de distribution de peso al nacer segun edad gestacional. Chile, 1993a 2000. *Rev Med Chile.* 2004; 132:1155–1165. [PubMed: 15631202]
47. Grisaru-Granovsky S, Halevy T, Planer D, Elstein D, Eidelman A, Samueloff A. PAPP-A levels as an early marker of idiopathic preterm birth: a pilot study. *J of Perinatol.* 2007; 27:681–686. [PubMed:17703186]
48. Knight B, Shields BM, Turner M, Powell RJ, Yajnik CS, Hattersley AT. Evidence of genetic regulation of fetal longitudinal growth. *Early Hum Dev.* 2005; 81:823–831. [PubMed: 16085375]
49. Knox K, Baker JC. Genomic evolution of the placenta using co-option and duplication and divergence. *Genome Research.* 2008; 18:695–705. [PubMed: 18340042]
50. Koo D-B, Kang Y-K, Choi Y-H, Park JS, Kim H-N, Oh KB, Son D-S, Park H, Lee K-K, Han Y-M. Aberrant allocations of inner cell mass and trophoblast cells in bovine nuclear transfer blastocysts. *Biol Reprod.* 2001; 67:487–492. [PubMed: 12135886]

51. Lampl M, Jeanty P. Exposure to maternal diabetes is associated with altered fetal growth patterns: A hypothesis regarding metabolic allocation to growth under hyperglycemic-hypoxemic conditions. *Am J Hum Biol.* 2004; 16:237–263. [PubMed: 15101051]
52. Lee SE, Romero R, Park IS, Seong HS, Park CW, Yoon BH. Amniotic fluid prostaglandin concentrations increase before the onset of spontaneous labor at term. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2008; 21:89–94. [PubMed: 18240075]
53. Lawrence JB, Oxvig C, Overgaard MT, Sottrup-Jensen L, Gleich GJ, Hays LG, Yates 3rd JR, Conover CA. The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy-associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 3149–3153.
54. Leung TY, Chan LW, Leung TN, Fung TY, Sahota S, Lau TK. First-trimester maternal serum levels of placental hormones are independent predictors of second-trimester fetal growth parameters. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006; 27:156–161. [PubMed: 16435317]
55. Lie RT, Wilcox AJ, Skjoerven R. Maternal and paternal influences on length of pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2006; 107:880–5. [PubMed: 16582127]
56. Lampl et al. Page 12 *Am J Hum Biol.* Author manuscript; available in PMC 2011 September
57. Luke B, Brown MB, Misiunas RB, Gonzalez-Quintero VH, Nugent C, van de Ben C, Witter FR, Newman RB, D’Alton M, Hankins GDV, Grainger DA, Macones GA. The Hispanic Paradox in twin pregnancies. *Twin Research and Human Genetics.* 2005; 8:532–537. [PubMed: 16212843]
58. Mathews, TJ.; MacDorman, MF. Infant mortality statistics from the 2004 period linked birth/infant death data set. *National vital statistics reports.* Vol. 55. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics; 2007.
59. Mayhew TM. Allometric studies on growth and development of the human placenta: growth of tissue compartments and diffusive conductances in relation to placental volume and fetal mass. *J Anat.* 2006; 208:785–794. [PubMed: 16761978]

60. McGrath S, McLean M, Smith D, Bisitis A, Giles W, Smith R. Maternal plasma corticotropin-releasing hormone trajectories vary depending on the cause of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 186:257–260. [PubMed: 11854646]
61. Salafia CM, Zhang J, Miller RK, Charles AD, Shrout P, Sun W. Placental growth patterns affect birth weight for given placental weight. *Birth Defects Research (Part A).* 2007; 79:281–288.
62. Thame M, Osmond C, Bennett F, Wilks R, Forrester T. Fetal growth is directly related to maternal anthropometry and placental volume. *Eur J Clin Nutr.* 2004; 58:894–900. [PubMed: 15164110]
63. Watkins AJ, Ursell E, Panton R, Papenbrock T, Hollis L, Cunningham C, Wilkins A, Hugh Perry V, Sheth B, Kwong WY, Eckert JJ, Wild AE, Hanson MA, Osmond C, Fleming TP. Adaptive responses by mouse early embryos to maternal diet protect fetal growth but predispose to adult onset disease. *Biol Reprod.* 2008; 78:299–306. [PubMed: 17989357]
64. Zhang J, Sundaram R, Sun W, Troendle J. Fetal growth and timing of parturition in humans: A prospective study. *Am J Obstet Gynecol.* 2007; 197:S201.
65. Christiansen M, Spencer K, Laigaard J, Cowans NJ, Larsen SO, Wewer UM. 2007. ADAM12 as a second trimester maternal serum markers in screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* **27**: 611–615.
66. Cowans NJ, Spencer K. 2007. First trimester ADAM12 and PAPP-A as markers for intrauterine fetal growth restriction through their roles in the insulin-like growth factor system. *Prenat Diagn* **27**: 264–271.
67. Gilpin BJ, Loechel F, Mattei MG, Engvall E, Albrechtsen R, Wewer UM. 1998. A novel, secreted form of human ADAM 12 (meltrin alpha) provokes myogenesis in vivo. *J Biol Chem* **273**: 157–166.
68. Gyselaers W, Vereecken A, Van Herck E, *et al.* 2005. Population screening for fetal trisomy 21: easy access to screening should be balanced against a uniform ultrasound protocol. *Prenat Diagn* **25**: 984–990.
69. Laigaard J, Sorensen T, Frohlich C, *et al.* 2003. ADAM12: a novel first-trimester maternal serum marker for Down syndrome. *Prenat Diagn* **23**: 1086–1091.

70. Laigaard J, Spencer K, Christiansen M, *et al.* 2006b. ADAM 12 as a first trimester maternal serum marker in screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* **26**: 973–979.
71. Loechel F, Fox JW, Murphy G, Albrechtsen R, Wewer UM. 2000. ADAM 12 cleaves IGFBP-3 and IGFBP-5 and is inhibited by TIMP-3. *Biochem Biophys Res Commun* **278**: 511–515.
72. Shi Z, Xu W, Loechel F, Wewer UM, Murphy LJ. 2000. ADAM 12, a disintegrin metalloprotease, interacts with insulin-like growth factor-binding protein-3. *J Biol Chem* **275**: 18574–18580.
73. Spencer K, Cowans NJ. 2007. ADAM12 as a marker of trisomy 18 in the first and second trimester of pregnancy. *J Matern Fetal Neonat Med* **20**: 645–650.
74. Spencer K, Cowans NJ, Stamatopoulou A. 2007. Maternal serum ADAM12s as a marker of rare aneuploidies in the first or second trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* **27**: 1233–1237.
75. Spencer K, Cowans NJ, Stamatopoulou A. 2008. Maternal serum ADAM12s in the late first trimester of pregnancies with Trisomy21. *Prenat Diagn*. **29**: 1420-1427.
76. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10–14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free β -human chorionic gonadotropin and pregnancy associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; **13**: 231–237.
77. Tul N, Spencer K, Noble P, Chan C, Nicolaides KH. Screening for trisomy 18 by fetal nuchal translucency thickness and maternal serum free β -hCG and pregnancy associated plasma protein-A at 10–14 weeks of gestation. *Prenat Diagn* 1999; **19**: 1035–1042.
78. Spencer K, Ong C, Skentou H, Liao AW, Nicolaides KH. Screening for trisomy 13 by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta-hCG and pregnancy associated plasma protein A at 10–14 weeks of gestation. *Prenat Diagn* 2000; **20**: 411–416.
79. Spencer K, Liao AW, Skentou H, Cicero S, Nicolaides KH. Screening for triploidy by fetal nuchal translucency and maternal serum free β -human chorionic gonadotropin and pregnancy associated plasma protein-A at 10–14 weeks of gestation. *Prenat Diagn* 2000; **20**: 495–499.

80. Spencer K, Spencer CE, Power M, Dawson C, Nicolaides KH. Screening for chromosomal abnormalities in the first trimester using ultrasound and maternal serum biochemistry in a onestop clinic: a review of three years prospective experience. *BJOG* 2003; **110**: 281–286.
81. Avgidou K, Papageorghiou A, Bindra R, Spencer K, Nicolaides KH. Prospective first-trimester screening for trisomy 21 in 30,564 pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2005; **192**: 1761–1767.
82. Nicolaides KH, Spencer K, Avgidou K, Faiola S, Falcon O. Mutlitcenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005; **25**: 221–226.
83. Spencer K, Bindra R, Nix ABJ, Heath V, Nicolaides KH. Delta- NT or NT MoM: which is the most appropriate method for calculating accurate patient-specific risks for trisomy 21 in the first trimester? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; **22**: 142–148.
84. Snijders RJM, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KH. Maternal age- and gestation-specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; **13**: 167–170.
85. Spencer K, Ong CYT, Liao AWK, Nicolaides KH. The influence of ethnic origin on first trimester biochemical markers of chromosomal abnormalities. *Prenat Diagn* 2000; **20**: 491–494.
86. Spencer K, Bindra R, Nicolaides KH. Maternal weight correction of maternal serum PAPP-A and free β -hCG when screening for trisomy 21 in the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 2003; **23**: 851–855.
87. Spencer K, Ong CYT, Liao AWJ, Papademetriou D, Nicolaides KH. First trimester markers of trisomy 21 and the influence of maternal cigarette smoking status. *Prenat Diagn* 2000; **20**: 852–853.
88. Spencer K, Bindra R, Cacho AM, Nicolaides KH. The impact of smoking status when screening for chromosomal anomalies using maternal serum biochemistry and fetal nuchal translucency thickness in the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 2004; **24**: 169–173.

89. Spencer K, Heath V, El-Sheikhah A, Ong CYT, Nicolaides KH. Ethnicity and the need for correction of biochemical and ultrasound markers of chromosomal anomalies in the first trimester: a study of Oriental, Asian and Afro-Caribbean populations. *Prenat Diagn* 2005; **25**: 365–369.
90. Cowans NJ, Spencer K. First trimester ADAM12 and PAPP-A as markers for intrauterine fetal growth restriction through their roles in the insulin-like growth factor system. *Prenat Diagn* 2007; **27**: 264–271.
91. Smith GCS, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early pregnancy origins of low birth weight. *Nature* 2002; **417**: 916.
92. Leung TY, Chan LW, Leung TN, Fung TY, Sahota DS, Lau TK. First-trimester maternal serum levels of placental hormones are independent predictors of second-trimester fetal growth parameters. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; **27**: 156–161.
93. Smith GCS, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein-A and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia and stillbirth. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **87**: 1762–1767.
94. Lindqvist PG, Molin J. Does antenatal identification of small-for-gestational age fetuses significantly improve their outcome? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005; **25**: 258–264.
95. Yaron Y, Heifetz S, Ochshorn Y, Lehavi O, Orr-Urtreger A. Decreased first trimester PAPP-A is a predictor of adverse pregnancy outcome. *Prenat Diagn* 2002; **22**: 778–782.
96. De Leon J, Sifuentes G, Hopkins C, Noble V, Gimpel T, Myles T, Santolaya-Forgas J. Maternal serum free β -hCG levels in uncomplicated pregnancies at the 10th–15th week of gestation and the development of obstetric complications. *J Reprod Med* 2004; **48**: 89–92.
97. Morssink LP, Kornman LH, Hallahan TW, Kloosterman MD, Beekhuis JR, de Wolf BTHM, Mantingh A. Maternal serum levels of free β -hCG and PAPP-A in the first trimester of pregnancy are not associated with subsequent fetal growth retardation or preterm delivery. *Prenat Diagn* 1998; **18**: 147–152.

98. Tul N, Pusenjak S, Osredkar J, Spencer K, Novak-Antolic Z. Predicting complications of pregnancy with first-trimester maternal serum free β -hCG, PAPP-A and inhibin-A. *Prenat Diagn* 2003; **23**: 990–996.
99. Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet* 2001 Jan 6; 357(9249):53-6.
100. Stevens JM. Gynaecology from ancient Egypt: The Papyrus Kahun: a translation of the oldest treatise on gynaecology that has survived from the ancient world. *Med J Aust* 1975 Dec 20e27; 2(25e26):949-52.
101. Roberts JM, Hubel CA. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta* 2009 Mar; 30(Suppl. A):S32-7.
102. Brosens JJ, Pijnenborg R, Brosens IA. The myometrial junctional zone spiral arteries in normal and abnormal pregnancies: a review of the literature. *Am J Obstet Gynecol* 2002 Nov; 187(5):1416e23.
103. Roberts JM, Hubel CA. Is oxidative stress the link in the two-stage model of pre-eclampsia? *Lancet* 1999 Sep 4; 354(9181):788-9.
104. Shennan AH, Poston L, Chappell LC, Seed PT. Prevention of pre-eclampsia. *Lancet* 2001 May 12; 357(9267):1534.
105. Hung TH, Skepper JN, Charnock-Jones DS, Burton GJ. Hypoxia-reoxygenation: a potent inducer of apoptotic changes in the human placenta and possible etiological factor in preeclampsia. *Circ Res* 2002 Jun 28; 90(12):1274-81.
106. Anderson UD, Olsson MG, Rutardottir S, Centlow M, Kristensen KH, Isberg PE, et al. Fetal hemoglobin and alpha(1)-microglobulin as first- and early secondtrimester predictive biomarkers for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2011 Jun; 204(6)(520):1-5.
107. May K, Rosenlof L, Olsson MG, Centlow M, Morgelin M, Larsson I, et al. Perfusion of human placenta with hemoglobin introduces preeclampsia-like injuries that are prevented by alpha1-microglobulin. *Placenta* 2011 Apr; 32(4):323-32.
108. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011 Jun; 25(3):287-99.

109. Lipstein H, Lee CC, Crupi RS. A current concept of eclampsia. *Am J Emerg Med* 2003 May; 21(3):223-6.
110. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy* 2001; 20(1):IX-XIV.
111. Schroeder BM. ACOG practice bulletin on diagnosing and managing preeclampsia and eclampsia. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Am Fam Physician* 2002 Jul 15; 66(2):330-1.
112. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science* 2005 Jun 10; 308(5728):1592-4.
113. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ* 2005 Mar 12; 330(7491):565.
114. Akolekar R, Syngelaki A, Sarquis R, Zvanca M, Nicolaides KH. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. *Prenat Diagn* 2011 Jan; 31(1): 66-74.
115. Kagan KO, Wright D, Valencia C, Maiz N, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free beta-hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. *Hum Reprod* 2008 Sep; 23(9):1968e75.
116. Ranta JK, Raatikainen K, Romppanen J, Pulkki K, Heinonen S. Decreased PAPP-A is associated with preeclampsia, premature delivery and small for gestational age infants but not with placental abruption. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011 Jul; 157(1):48e52.
117. Smith GC, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein a and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 Apr; 87(4):1762e7.
118. Goetzinger KR, Singla A, Gerkowicz S, Dicke JM, Gray DL, Odibo AO. Predicting the risk of pre-eclampsia between 11 and 13 weeks' gestation by combining maternal

characteristics and serum analytes, PAPP-A and free beta-hCG. *Prenat Diagn* 2010 Dec; 30(12e13):1138-42.

119. Poon LC, Maiz N, Valencia C, Plasencia W, Nicolaides KH. First-trimester maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A and pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009 Jan; 33(1):23-33.

120. Spencer K, Cowans NJ, Nicolaides KH. Low levels of maternal serum PAPP-A in the first trimester and the risk of pre-eclampsia. *Prenat Diagn* 2008 Jan; 28(1):7-10.

121. Atis A, Tandogan T, Aydin Y, Sen C, Turgay F, Eren N, et al. Late pregnancy associated plasma protein A levels decrease in preterm labor. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011 Jul; 24(7):923-7.

122. Centlow M, Carninci P, Nemeth K, Mezey E, Brownstein M, Hansson SR. Placental expression profiling in preeclampsia: local overproduction of hemoglobin may drive pathological changes. *Fertil Steril* 2008 Nov; 90(5): 1834-43.

123. Tsemakhovich VA, Bamm VV, Shaklai M, Shaklai N. Vascular damage by unstable hemoglobins: the role of heme-depleted globin. *Arch Biochem Biophys* 2005 Apr 15; 436(2):307-15.

124. Kim-Shapiro DB, Schechter AN, Gladwin MT. Unraveling the reactions of nitric oxide, nitrite, and hemoglobin in physiology and therapeutics. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006 Apr; 26(4):697-705.

125. Kumar S, Bandyopadhyay U. Free heme toxicity and its detoxification systems in human. *Toxicol Lett* 2005 Jul 4; 157(3):175-88.

126. Allhorn M, Berggard T, Nordberg J, Olsson ML, Akerstrom B. Processing of the lipocalin alpha(1)-microglobulin by hemoglobin induces heme-binding and heme-degradation properties. *Blood* 2002 Mar 15; 99(6):1894-901.

127. Akerstrom B, Maghzal GJ, Winterbourn CC, Kettle AJ. The lipocalin alpha1-microglobulin has radical scavenging activity. *J Biol Chem* 2007 Oct 26; 282(43):31493-503.

128. Olsson MG, Centlow M, Rutardottir S, Stenfors I, Larsson J, Hosseini-Maaf B, et al. Increased levels of cell-free hemoglobin, oxidation markers, and the antioxidative heme

- scavenger alpha(1)-microglobulin in preeclampsia. *Free Radic Biol Med* 2010 Jan 15; 48(2):284-91.
129. Olsson MG, Olofsson T, Tapper H, Akerstrom B. The lipocalin alpha1-microglobulin protects erythroid K562 cells against oxidative damage induced by heme and reactive oxygen species. *Free Radic Res* 2008 Aug; 42(8):725-36.
130. Olsson MG, Allhorn M, Olofsson T, Akerstrom B. Up-regulation of alpha1-microglobulin by hemoglobin and reactive oxygen species in hepatoma and blood cell lines. *Free Radic Biol Med* 2007 Mar 15; 42(6):842-51.
131. Than NG, Pick E, Bellyei S, Szigeti A, Burger O, Berente Z, et al. Functional analyses of placental protein 13/galectin-13. *Eur J Biochem* 2004 Mar; 271(6):1065-78.
132. Visegrady B, Than NG, Kilar F, Sumegi B, Than GN, Bohn H. Homology modelling and molecular dynamics studies of human placental tissue protein 13 (galectin-13). *Protein Eng* 2001 Nov; 14(11):875-80.
133. Akolekar R, Syngelaki A, Beta J, Kocylowski R, Nicolaides KH. Maternal serum placental protein 13 at 11-13 weeks of gestation in preeclampsia. *Prenat Diagn* 2009 Dec; 29(12):1103-8.
134. Khalil A, Cowans NJ, Spencer K, Goichman S, Meiri H, Harrington K. Firsttrimester markers for the prediction of pre-eclampsia in women with a-priori high risk. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010 Jun; 35(6):671-9.
135. Romero R, Kusanovic JP, Than NG, Erez O, Gotsch F, Espinoza J, et al. Firsttrimester maternal serum PP13 in the risk assessment for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2008 Aug; 199(2):122e1e122-11.
136. Nicolaides KH, Bindra R, Turan OM, Chefetz I, Sammar M, Meiri H, et al. A novel approach to first-trimester screening for early pre-eclampsia combining serum PP-13 and Doppler ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006 Jan; 27(1):13-7.
137. Stamatopoulou A, Cowans NJ, Matwejew E, von Kaisenberg C, Spencer K. Placental Protein-13 and pregnancy-associated plasma Protein-A as first trimester screening markers for hypertensive disorders and small for gestational age outcomes. *Hypertens Pregnancy*; 2010 Aug 11.

138. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004 Feb 12; 350(7):672-83.
139. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006 Sep 7; 355(10):992e1005.
140. Maynard S, Epstein FH, Karumanchi SA. Preeclampsia and angiogenic imbalance. *Annu Rev Med* 2008; 59:61-78
- Reddy A, Suri S, Sargent IL, Redman CW, Muttukrishna S. Maternal circulating levels of activin A, inhibin A, sFlt-1 and endoglin at parturition in normal pregnancy and preeclampsia. *PLoS One* 2009; 4(2):44-53.
141. SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003 Mar; 111(5):649-58.
142. Wikstrom AK, Larsson A, Eriksson UJ, Nash P, Norden-Lindeberg S, Olovsson M. Placental growth factor and soluble FMS-like tyrosine kinase-1 in early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2007 Jun; 109(6):1368-74.
143. Li Z, Zhang Y, Ying Ma J, Kapoun AM, Shao Q, Kerr I, et al. Recombinant vascular endothelial growth factor 121 attenuates hypertension and improves kidney damage in a rat model of preeclampsia. *Hypertension* 2007 Oct; 50(4):686-92.
144. Erez O, Romero R, Espinoza J, Fu W, Todem D, Kusanovic JP, et al. The change in concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in maternal plasma between the first and second trimesters in risk assessment for the subsequent development of preeclampsia and smallfor-gestational age. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2008 May; 21(5): 279-87.
145. Foidart JM, Munaut C, Chantraine F, Akolekar R, Nicolaides KH. Maternal plasma soluble endoglin at 11-13 weeks' gestation in pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010 Jun; 35(6):680-7.

146. Akolekar R, de Cruz J, Foidart JM, Munaut C, Nicolaides KH. Maternal plasma soluble fms-like tyrosine kinase-1 and free vascular endothelial growth factor at 11 to 13 weeks of gestation in preeclampsia. *Prenat Diagn* 2010 Mar; 30(3):191-7.
147. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, et al. An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2010 Feb; 202(2): 161-169.
148. De Vivo A, Baviera G, Giordano D, Todarello G, Corrado F, D'Anna R. Endoglin, PIGF and sFlt-1 as markers for predicting pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; 87(8):837-42.
149. Kenny LC, Broadhurst DI, Dunn W, Brown M, North RA, McCowan L, et al. Robust early pregnancy prediction of later preeclampsia using metabolomic biomarkers. *Hypertension* 2010 Oct; 56(4):741-9.
150. Kristensen K, Wide-Svensson D, Schmidt C, Blirup-Jensen S, Lindstrom V, Strevens H, et al. Cystatin C, beta-2-microglobulin and beta-trace protein in pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2007; 86(8):921-6.
151. Strevens H, Wide-Svensson D, Grubb A. Serum cystatin C is a better marker for preeclampsia than serum creatinine or serum urate. *Scand J Clin Lab Invest* 2001; 61(7):575-80.
152. Kristensen K, Lindstrom V, Schmidt C, Blirup-Jensen S, Grubb A, Wide-Svensson D, et al. Temporal changes of the plasma levels of cystatin C, betatrace protein, beta2-microglobulin, urate and creatinine during pregnancy indicate continuous alterations in the renal filtration process. *Scand. J. Clin. Lab. Invest* 2007; 67(6):612-8.
153. Thilaganathan B, Ralph E, Papageorghiou AT, Melchiorre K, Sheldon J. Raised maternal serum cystatin C: an early pregnancy marker for preeclampsia. *Reprod. Sci.* 2009 Aug; 16(8):788-93.
154. Thilaganathan B, Wormald B, Zanardini C, Sheldon J, Ralph E, Papageorghiou AT. Early-pregnancy multiple serum markers and secondtrimester uterine artery Doppler in predicting preeclampsia. *Obstet. Gynecol.* 2010 Jun; 115(6):1233-8.

155. Farina A, Zucchini C, Sekizawa A, Purwosunu Y, de Sanctis P, Santarsiero G, et al. Performance of messenger RNAs circulating in maternal blood in the prediction of preeclampsia at 10-14 weeks. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2010 Dec; 203(6):575-1-7.
156. Mouillet JF, Chu T, Sadovsky Y. Expression patterns of placental microRNAs. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 2011 Aug; 91(8):737-43.
157. Wortelboer EJ, Koster MP, Cuckle HS, Stoutenbeek PH, Schielen PC, Visser GH. First-trimester placental protein 13 and placental growth factor: markers for identification of women destined to develop early-onset pre-eclampsia. *BJOG* 2010 Oct; 117(11):1384-9.
158. Audibert F, Boucoiran I, An N, Aleksandrov N, Delvin E, Bujold E, et al. Screening for preeclampsia using first-trimester serum markers and uterine artery Doppler in nulliparous women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2010 Oct; 203(4)(383):-1-8.
159. Bačić J. Biohemijska analiza seruma trudnica. Sveučilište u Rijeci Medicinski fakultet, 2004
160. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Recommendations arising from tje 32nd Study Group: screening for Down's syndrome in the first trimester. In: Grudzinskas JG, Ward RHT (eds). *Screening for Down's syndrome in the first trimester.* London: Royal College of Obstetricians and Gynaecologists 1997; 353-56.
161. Odibo AO, Zhong Y, Goetzinger KR, Odibo L, Bick JL, Bower CR, et al. Firsttrimester placental protein 13, PAPP-A, uterine artery Doppler and maternal characteristics in the prediction of pre-eclampsia. *Placenta* 2011 Aug; 32(8):598-602.
162. Chapman SJ, Brumfield OG, Wenstrom KD, DuBard MB. Pregnancy outcomes following false positive multiple marker screening tests. *Am. J. Perinatol.* 1997; 475-78.
163. Dungan JS, Shulman LP, Phillips OP, Simpson JL, Meyer NL. Positive serum screening for fetal Down syndrome does not predict adverse pregnancy outcome in absence of fetal aneuploidy. *J. Soc. Gynaecol. Invest* 1994: 1;55-8.
164. Lin CC, Santolaya-Forgas J. Current concepts of fetal growth restriction. I. Causes, classification, and pathophysiology. *Obstet. Gynecol.* 1998; 92:1044–1055
165. Lin CC, Santolaya-Forgas J. Current concepts of fetal growth restriction. II. Diagnosis and management. *Obstet. Gynecol.* 1999; 93:140–146

166. Ostlund E, Bang P, Hagenas L, Fried G. Insulin-like growth factor I in fetal serum obtained by cordocentesis is correlated with intrauterine growth retardation. *Hum. Reprod.* 1997; 12:840–844
167. Muller F, Savey L, Le Fiblec B, Bussieres L, Ndayizamba G, Colau JC, Giraudet P. Maternal serum human chorionic gonadotropin level at fifteen weeks is a predictor for preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1996; 175:37–40
- 168.** Luckas MJ, Sandland R, Hawe J, Neilson JP, McFadyen IR, Meekins JW. Fetal growth retardation and second trimester maternal serum human chorionic gonadotrophin levels. *Placenta* 1998; 19:143–147
169. Berry E, Aitken DA, Crossley JA, Macri JN, Connor JM. Screening for Down's syndrome: changes in marker levels and detection rates between first and second trimesters. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1997; 104:811–817
170. M Kady S, Gardosi J. Perinatal mortality and fetal growth restriction. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2004; 18: 397–410.
171. Smith GC. First trimester origins of fetal growth impairment. *Semin Perinatol* 2004; 28: 41–50.
172. Smith GC, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein A and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002; 87: 1762–1767.
173. Krantz D, Goetzl L, Simpson JL, Thom E, Zachary J, Hallahan TW, Silver R, Pergament E, Platt LD, Filkins K, Johnson A, Mahoney M, Hogge WA, Wilson RD, Mohide P, Hershey D, Wapner R. First Trimester Maternal Serum Biochemistry and Fetal Nuchal Translucency Screening (BUN) Study Group. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2004; 191: 1452–1458.
174. Smith GCS, Smith MFS, McNay MB, Fleming JEE. First-trimester growth and the risk of low birth weight. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339: 1817–1822.
175. Mazerbourg S, Callebaut I, Zapf J, Mohan S, Overgaard M, Monget P. Update on IGFBP-4: regulation of IGFBP-4 levels and functions, in vitro and in vivo. *Growth Horm IGF Res* 2004; 14: 71–84.

176. Han VK, Matsell DG, Delhanty PJ, Hill DJ, Shimasaki S, Nygard K. IGF-binding protein mRNAs in the human fetus: tissue and cellular distribution of developmental expression. *Horm. Res.* 1996; 45: 160–166.
177. Monget P, Mazerbourg S, Delpuech T, Maurel MC, Maniere S, Zapf J, Lalmanach G, Oxvig C, Overgaard MT. Pregnancy-associated plasma protein-A is involved in insulin-like growth factor binding protein-2 (IGFBP-2) proteolytic degradation in bovine and porcine preovulatory follicles: identification of cleavage site and characterization of IGFBP-2 degradation. *Biol. Reprod.* 2003; 68: 77–86.
178. Laursen LS, Overgaard MT, Soe R, Boldt HB, Sottrup-Jensen L, Giudice LC, Conover CA, Oxvig C. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) cleaves insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-5 independent of IGF: implications for the mechanism of IGFBP-4 proteolysis by PAPP-A. *FEBS Lett* 2001; 504: 36–40.
179. Clemmons DR. Role of insulin-like growth factor binding proteins in controlling IGF actions. *Mol. Cell Endocrinol* 1998; 140: 19–24.
180. Ortiz CO, Chen BK, Bale LK, Overgaard MT, Oxvig C, Conover CA. Transforming growth factor-beta regulation of the insulin-like growth factor binding protein-4 protease system in cultured human osteoblasts. *J. Bone Miner. Res.* 2003; 18: 1066–1072.
181. Zaren B, Lindmark G, Bakketeig L. Maternal smoking affects fetal growth more in the male fetus. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* 2000; 14:118–126
182. Henriksen T. Foetal nutrition, foetal growth restriction and health later in life. *Acta Paediatr. Suppl.* 1999; 88:4–8
183. Isaksen CV, Laurini RN, Jacobsen G. Pre-pregnancy risk factors of small-for-gestational-age births and perinatal mortality. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 1997; Suppl 165:44–49
184. Lyall F, Young A, Boswell F, Kingdom JC, Greer IA. Placental expression of vascular endothelial growth factor in placentae from pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction does not support placental hypoxia at delivery. *Placenta* 1997; 18:269–276

185. Ahmed A, Dunk C, Ahmad S, Khaliq A. Regulation of placental endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PIGF) and soluble Flt-1 by oxygen—a review. *Placenta* 2000; 21(Suppl A):S16–S24
186. Long PA, Abell DA, Beischer NA. Fetal growth retardation and pre-eclampsia. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1980; 87:13–18
187. Lin CC, Lindheimer MD, River P, Moawad AH. Fetal outcome in hypertensive disorders of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1982; 142:255–260
188. Schjetlein R, Haugen G, Wisloff F. Markers of intravascular coagulation and fibrinolysis in preeclampsia: association with intrauterine growth retardation. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* 1997; 76:541–546
189. Schjetlein R, Abdelnoor M, Haugen G, Husby H, Sandset PM, Wisloff F. Hemostatic variables as independent predictors for fetal growth retardation in preeclampsia. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* 1999; 78:191–197
190. Morssink LP, Kornman LH, Hallahan TW, Kloosterman MD, Beekhuis JR, de Wolf BT, Mantingh A. Maternal serum levels of free beta-hCG and PAPP-A in the first trimester of pregnancy are not associated with subsequent fetal growth retardation or preterm delivery. *Prenat. Diagn.* 1998; 18: 147–152.
191. Ong CY, Liao AW, Spencer K, Munim S, Nicolaides KH. First trimester maternal serum free beta human chorionic gonadotrophin and pregnancy associated plasma protein A as predictors of pregnancy complications. *BJOG* 2000; 107: 1265–1270.
192. Owens JA. Endocrine and substrate control of fetal growth: and maternal influences and insulin-like growth factors. *Reprod. Fertil. Dev.* 1991; 3:501–517
193. Hills FA, English J, Chard T. Circulating levels of IGF-I and IGF-binding protein-1 throughout pregnancy: relation to birthweight maternal weight. *J. Endocrinol.* 1996; 148: 303–309
- 194.** Montanari L, Alfei A, Albonico G, Moratti R, Arossa A, Beneventi F, Spinillo A. The impact of first-trimester serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A on the diagnosis of fetal growth restriction and small for gestational age infant. *Fetal Diagn. Ther.* 2009; 25(1): 130-5

195. Cowans NJ, Spencer K. First-trimester ADAM12 and PAPP-A as markers for intrauterine fetal growth restriction through their roles in the insulin-like growth factor system *Prenat. Diagn.* 2007; 27(3): 264-71.
196. Fox NS, Chasen ST. First trimester pregnancy associated plasma protein-A as a marker for poor pregnancy outcome in patients with early-onset fetal growth restriction. *Prenat. Diagn.* 2009; 29(13):1244-8.
197. Hadker N, Garg S, Costanzo C, Miller JD, Foster T, van der Helm W, et al. Financial impact of a novel pre-eclampsia diagnostic test versus standard practice: a decision-analytic modeling analysis from a UK healthcare payer perspective. *J. Med. Econ.* 2010; 13(4): 728-37.
198. Cuckle HS. Screening for pre-eclampsia lessons from aneuploidy screening. *Placenta* 2011 Feb; 32(Suppl): S42-8.
199. Brizot ML, Hyett JA, Mckie AT, Bersinger NA, Farzaneh F, Nicolaides KH. Gene expression of human pregnancy-associated plasma protein-A in placenta from trisomic pregnancies. *Placenta* 1996; 17: 33–36.
200. Taylor RN, Martin MC. The endocrinology of pregnancy. In: Greenspan FS, Strewler GJ, eds. *Basic and Clinical Endocrinology*. Stamford, CT: Appleton & Lange; 1997: 548-574.
201. Gagnon A, Wilson RD, Audibert F, Allen VM, Blight C, Brock JA, Désilets VA, Johnson JA, Langlois S, Summers A, Wyatt P; Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada Genetics Committee. Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* 2008 Oct; 30(10): 918-49
202. Fialova L, Malbohan IM. Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A): theoretical and clinical aspects. *Bratisl Lek Listy.* 2002; 103(6): 194-205.
203. Karagiannis G, Akolekar R, Sarquis R, Wright D, Nicolaides KH. Prediction of Small-for-Gestation Neonates from Biophysical and Biochemical Markers at 11-13 Weeks. *Fetal Diagn. Therapy* 2011; 29(2): 148-54
204. Mahmud M, Mazza D. Preconception care of women with diabetes: a review of current guideline recommendations. *BMC Womens Health.* 2010 Jan 31; 10:5. Review

205. Berghella V, Buchanan E, Pereira L, Baxter JK. Preconception care. *Obstet. Gynecol. Surv.* 2010 Feb; 65(2): 119-31. Review.
206. Grammatopoulos DK, Hillhouse EW 1999 Role of corticotrophin-releasing hormone in onset of labour. *Lancet* 354:1546-1549
207. Odibo AO, Zhong Y, Longtine M, Tuuli M, Odibo L, Cahill AG, Macones GA, Nelson DM. First-trimester serum analytes, biophysical tests and the association with pathological morphometry in the placenta of pregnancies with preeclampsia and fetal growth restriction. *Placenta.* 2011 Apr; 32(4): 333-8
208. Urdzík P, Dankovčík R, Ostró A, Lazár I. Prediction of intrauterine growth retardation using the integrated test markers. *Ceska Gynekol.* 2007 Aug; 72(4): 268-79.
209. Nasrin B, Fatema N, Jebunnessa F, Shamim S, Chowdhury SB, Ali L. Early pregnancy maternal serum PAPP-A and urinary protein-creatinine ratio as predictive markers of pregnancy induced hypertension. *Mymensingh Med. J.* 2010 Apr; 19(2): 267-74.
210. Huang T, Hoffman B, Meschino W, Kingdom J, Okun N. Prediction of adverse pregnancy outcomes by combinations of first and second trimester biochemistry markers used in the routine prenatal screening of Down syndrome. *Prenat. Diagn.* 2010 May; 30(5): 471-7.
211. Bačić J. Biohemijska analiza seruma trudnica. Sveučilište u Rijeci Medicinski fakultet, 2004
212. Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, Porter TF, Luthy D, Comstock CH, Hankins G, Berkowitz RL, Merkatz I, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, Vidaver J, D'Alton ME. First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: a population-based screening study (the FASTER Trial). *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2004 Oct; 191(4): 1446-51
213. Reis MF, D'Antona D, Petraglia F 2002 Predictive Value of Hormone Measurements in Maternal and fetal Complications of Pregnancy. *Endocrine Reviews* 23(2): 230-257

214. Challis JRG, Matthews SG, Gibb W, Lye SJ 2000 Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocr. Rev.* 21: 514-550
215. Knight M, Duley I, Henderson-Smart DJ, King JF 2000 Antiplatelet agents for preventing and treating pre-eclampsia. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD000492
216. Kirkegaard I, Uldbjerg N, Oxvig C. Biology of pregnancy-associated plasma protein-A in relation to prenatal diagnostics: an overview. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2010 Sep; 89(9): 1118-25
217. D'Anna R, Baviera G, Giordano D, Russo S, Santamaria A, Granese R, Corrado F. ADAM 12 and PAPP-A at 14-17 weeks' gestation as biomarkers of pre-eclampsia. *Prenat. Diagn.* 2011 Mar 17. doi: 10.1002/pd.2737.
218. Singh HJ, Rahman A, Larmie ET, Nila A 2001 Endothelin-1 in feto-placental tissue from normotensive pregnant women and women with pre-eclampsia. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 80: 99-103.
219. Ranta JK, Raatikainen K, Romppanen J, Pulkki K, Heinonen S. Decreased PAPP-A is associated with preeclampsia, premature delivery and small for gestational age infants but not with placental abruption. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2011 Apr 7
220. Spencer CA, Allen VM, Flowerdew G, Dooley K, Dodds L. Low levels of maternal serum PAPP-A in early pregnancy and the risk of adverse outcomes. *Prenat. Diagn.* 2008 Nov; 28(11): 1029-36.
221. Stoikova V, Ivanov S. Prediction of adverse pregnancy outcome by first-trimester maternal serum PAPP-A. *Akush. Ginekol. (Sofia)*. 2010; 49(1): 40-3. Review. Bulgarian.
222. Laml T, Hartmann BW, Ruecklinger E, Preyer O, Soeregi G, Wagenbichler P. Maternal serum leptin concentration do not correlate with cord blood leptin concentration in normal pregnancy. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 2001; 8: 43-47
223. Spencer K, Yu CK, Cowans NJ, Otigbah C, Nicolaidis KH. Prediction of pregnancy complications by first-trimester maternal serum PAPP-A and free beta-hCG and with second-trimester uterine artery Doppler. *Prenat. Diagn.* 2005 Oct; 25(10): 949-53
224. Canini S, Prefumo F, Pastorino D, Crocetti L, Afflitto CG, Venturini PL, De Biasio P. Association between birth weight and first-trimester free beta-human chorionic

- gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A. *Fertil. Steril.* 2008 Jan; 89(1): 174-8. Epub 2007 May 16.
225. Poon LC, Karagiannis G, Staboulidou I, Shafiei A, Nicolaides KH. Reference range of birth weight with gestation and first-trimester prediction of small-for-gestation neonates. *Prenat. Diagn.* 2011 Jan; 31(1):58-65.
226. Newby D, Aitken DA, Howatson AG, Connor JM. Placental synthesis of oestriol in Down's syndrome pregnancies. *Placenta.* 2000; 21: 263–267
227. Canick JA, Kellner LH. First trimester screening for aneuploidy: serum biochemical markers. *Semin. Perinatol.* 1999; 5: 359–368
228. Malone FD, Berkowitz RL, Canick JA, D'Alton ME. Firsttrimester screening for aneuploidy: research or standard of care? *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000; 182: 490–496
- 229.** Allaire AD, Ballenger KA, Wells SR, McMahan MJ, Lessey BA. Placental apoptosis in preeclampsia. *Obstet. Gynecol.* 2000; 96:2 71–276
- 230.** Severi FM, Rizzo G, Bocchi C, D'Antona D, Verzuri MS, Arduini D. Intrauterine growth retardation and fetal cardiac function. *Fetal Diagn. Ther.* 2000; 15: 8–19
231. Bernstein IM, Horbar JD, Badger GJ, Ohlsson A, Golan A. Morbidity and mortality among very-low-birth-weight neonates with intrauterine growth restriction. The Vermont Oxford Network. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000; 182: 198–206
232. Bahado-Singh R, Oz U, Flores D, Hsu C, Mari G, Cole L. Maternal urine-betacore hCG fragment level and small for gestational age neonates. *Obstet. Gynecol.* 2000; 95: 662–666
- 233.** McIntyre HD, Serek R, Crane DI, Veveris-Lowe T, Parry A, Johnson S, Leung KC, Ho KK, Bougoussa M, Hennen G, Igout A, Chan FY, Cowley D, Cotterill A, Barnard R. Placental growth hormone (GH), GH-binding protein, and insulin-like growth factor axis in normal, growth-retarded, and diabetic pregnancies: correlations with fetal growth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000; 85: 1143–1150
234. Hietala R, Pohja-Nylander P, Rutanen EM, Laatikainen T. Serum insulin-like growth factor binding protein-1 at 16 weeks and subsequent preeclampsia. *Obstet. Gynecol.* 2000; 95: 185–189

- 235.** Lewandowski K, Horn R, O'Callaghan CJ, Dunlop D, Medley GF, O'Hare P, Brabant G. Free leptin, bound leptin, and soluble leptin receptor in normal and diabetic pregnancies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999; 84:300–306
- 236.** Linnemann K, Malek A, Sager R, Blum WF, Schneider H, Fusch C. Leptin production and release in the dually *in vitro* perfused human placenta. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000; 85: 4298–4301
- 237.** Laml T, Hartmann BW, Ruecklinger E, Preyer O, Soeregi G, Wagenbichler P. Maternal serum leptin concentrations do not correlate with cord blood leptin concentrations in normal pregnancy. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 2001; 8:43–47
- 238.** Cetin I, Morpurgo PS, Radaelli T, Taricco E, Cortelazzi D, Bellotti M, Pardi G, Beck-Peccoz P. Fetal plasma leptin concentrations: relationship with different intrauterine growth patterns from 19 weeks to term. *Pediatr. Res.* 2000; 48:646–651
- 239.** Papadopoulou FG, Mamopoulos AM, Triantos A, Constantinidis TC, Papadimas J, Assimakopoulos EA, Koliakos G, Mamopoulos M. Leptin levels in maternal and cord serum: relationship with fetal development and placental weight. *J. Matern. Fetal. Med.* 2000; 9:298–302
240. Kliman HJ. Uteroplacental blood flow. The story of decidualization, menstruation, and trophoblast invasion. *Am. J. Pathol.* 2000; 157:1759–1768
241. Atallah AN, Hofmeyr GJ, Duley L. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems (Cochrane review). *Cochrane Database Syst. Rev.* 2000; CD001059
242. Knight M, Duley L, Henderson-Smart DJ, King JF. Antiplatelet agents for preventing and treating pre-eclampsia. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2000; CD000492
243. Olsen SF, Secher NJ, Tabor A, Weber T, Walker JJ, Gluud C. Randomised clinical trials of fish oil supplementation in high risk pregnancies. Fish Oil Trials In Pregnancy (FOTIP) Team. *Br. J. Obstet. Gynaeco.* 2000; 107:382–395
244. Albaiges G, Missfelder-Lobos H, Lees C, Parra M, Nicolaides KH. One-stage screening for pregnancy complications by color Doppler assessment of the uterine arteries at 23 weeks' gestation. *Obstet. Gynecol.* 2000; 96: 559–564

245. Chien PF, Arnott N, Gordon A, Owen P, Khan KS. How useful is uterine artery Doppler flow velocimetry in the prediction of pre-eclampsia, intrauterine growth retardation and perinatal death? An overview. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 2000; 107:196–208
246. Caniggia I, Winter J, Lye SJ, Post M. Oxygen and placental development during the first trimester: implications for the pathophysiology of pre-eclampsia. *Placenta* 2000; 21 (Suppl A):S25–S30
- 247.** Lambert-Messerlian GM, Silver HM, Petraglia F, Luisi S, Pezzani I, Maybruck WM, Hogge WA, Hanley-Yanez K, Roberts JM, Neveux LM, Canick JA. Second-trimester levels of maternal serum human chorionic gonadotropin and inhibin A as predictors of preeclampsia in the third trimester of pregnancy. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 2000; 7:170–174
- 248.** Muttukrishna S, North RA, Morris J, Schellenberg JC, Taylor RS, Asselin J, Ledger W, Groome N, Redman CW. Serum inhibin A and activin A are elevated prior to the onset of pre-eclampsia. *Hum. Reprod.* 2000; 15:1640–1645
249. Jackson N, Biddolph SC, Ledger W, Groome NP, Manek S. Inhibin expression in normal and pre-eclamptic placental tissue. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2000; 19:219–224
250. Grobman WA, Wang EY. Serum levels of activin A and inhibin A and the subsequent development of preeclampsia. *Obstet. Gynecol.* 2000; 96:390–394
251. Sebire NJ, Roberts L, Noble P, Wallace E, Nicolaides KH. Raised maternal serum inhibin A concentration at 10 to 14 weeks of gestation is associated with pre-eclampsia. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 2000; 107:795–797
252. Aquilina J, Maplethorpe R, Ellis P, Harrington K. Correlation between second trimester maternal serum inhibin-A and human chorionic gonadotrophin for the prediction of pre-eclampsia. *Placenta.* 2000; 21:487–492
- 253.** Gude NM, Stebbing PN, Wang L, Xue J, Brennecke SP, Lim AT. Relative abundance of placental pro-atrial natriuretic factor mRNA in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Gynecol. Obstet.* 2000; 49:114–118
254. Singh HJ, Rahman A, Larmie ET, Nila A. Endothelin-1 in feto-placental tissues from normotensive pregnant women and women with pre-eclampsia. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2001; 80:99–103

- 255.** Napolitano M, Miceli F, Calce A, Vacca A, Gulino A, Apa R, Lanzone A. Expression and relationship between endothelin-1 messenger ribonucleic acid (mRNA) and inducible/endothelial nitric oxide synthase mRNA isoforms from normal and preeclamptic placentas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000; 85:2318–2323
256. Shaarawy M, Abdel-Magid AM. Plasma endothelin-1 and mean arterial pressure in the prediction of pre-eclampsia. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2000; 68:105–111
- 257.** Luisi S, Petraglia F, Benedetto C, Nappi RE, Bernardi F, Fadalti M, Reis FM, Luisi M, Genazzani AR. Serum allopregnanolone levels in pregnant women: changes during pregnancy, at delivery, and in hypertensive patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000; 85: 2429–2433
- 258.** Phocas I, Rizos D, Papoulias J, Xyni K, Sarandakou A, Salamalekis E. A comparative study of serum soluble vascular cell adhesion molecule-1 and soluble intercellular adhesion molecule-1 in preeclampsia. *J. Perinatol.* 2000; 20:114–119
259. Jaakkola K, Jokimaa V, Kallajoki M, Jalkanen S, Ekholm E. Pre-eclampsia does not change the adhesion molecule status in the placental bed. *Placenta.* 2000; 21:133–141
- 260.** Vitoratos N, Chrystodoulacos G, Kouskouni E, Salamalekis E, Creatsas G. Alterations of maternal and fetal leptin concentrations in hypertensive disorders of pregnancy. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2001; 96:59–62
261. Anim-Nyame N, Sooranna SR, Steer PJ, Johnson MR. Longitudinal analysis of maternal plasma leptin concentrations during normal pregnancy and pre-eclampsia. *Hum. Reprod.* 2000; 15:2033–2036
262. Teppa RJ, Ness RB, Crombleholme WR, Roberts JM. Free leptin is increased in normal pregnancy and further increased in preeclampsia. *Metabolism* 2000; 49:1043–1048
- 263.** Laml T, Preyer O, Hartmann BW, Ruecklinger E, Soeregi G, Wagenbichler P. Decreased maternal serum leptin in pregnancies complicated by preeclampsia. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 2001; 8:89–93
- 264.** Kulmala T, Vaahtera M, Ndekha M, Koivisto AM, Cullinan T, Salin ML, Ashorn P. The importance of preterm births for periand neonatal mortality in rural Malawi. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* 2000; 14:219–226

265. Mathews TJ, Curtin SC, MacDorman MF. Infant mortality statistics from the 1998 period linked birth/infant death data set. *Natl. Vital. Stat. Rep.* 2000; 48:1–25
266. Kramer MS, Demissie K, Yang H, Platt RW, Sauve R, Liston R. The contribution of mild and moderate preterm birth to infant mortality. Fetal and Infant Health Study Group of the Canadian Perinatal Surveillance System. *JAMA* 2000; 284:843–849
267. Barros FC, Victora CG, Vaughan JP, Tomasi E, Horta BL, Cesar JA, Menezes MB, Halpern R, Post CL, del Mar GM. The epidemiological transition in maternal and child health in a Brazilian city, 1982–93: a comparison of two population-based cohorts. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* 2001; 15:4–11
268. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342:1500–1507
269. Challis JRG, Matthews SG, Gibb W, Lye SJ. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocr. Rev.* 2000; 21:514–550
270. Goldenberg RL, Andrews WW, Mercer BM, Moawad AH, Meis PJ, Iams JD, Das A, Caritis SN, Roberts JM, Miodovnik M, Menard K, Thurnau G, Dombrowski MP, McNellis D. The preterm prediction study: granulocyte colony-stimulating factor and spontaneous preterm birth. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000; 182:625–630
271. Jenkin G, Ward J, Hooper S, O'Connor A, de Kretser D, Wallace E. Feto-placental hypoxemia regulates the release of fetal activin A and prostaglandin E2. *Endocrinology* 2001; 142:963–966
272. Coleman MA, France JT, Schellenberg JC, Ananiev V, Townend K, Keelan JA, Groome NP, McCowan LM. Corticotropin-releasing hormone, corticotropin-releasing hormone-binding protein, and activin A in maternal serum: prediction of preterm delivery and response to glucocorticoids in women with symptoms of preterm labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000; 183:643–648
273. Heine RP, McGregor JA, Goodwin TM, Artal R, Hayashi RH, Robertson PA, Varner MW. Serial salivary estriol to detect an increased risk of preterm birth. *Obstet. Gynecol.* 2000; 96:490–497

274. Bernstein PS, Kovacs P, Jovanovic K. Is cervicovaginal beta-human chorionic gonadotropin a predictor of successful induction of labor at term? *Obstet. Gynecol.* 2000; 95(Suppl): S10–S11
275. Popovici RM, Kao LC, Giudice LC. Discovery of new inducible genes in *in vitro* decidualized human endometrial stromal cells using microarray technology. *Endocrinology.* 2000; 141:3510–3513.

8. SPISAK SKRAĆENICA

freeβhCG	<i>Slobodni beta humani horionski gonadotropin</i>
PAPP-A	<i>Za trudnoću vezan plazma protein A</i>
AFP	<i>Alfa feto protein</i>
LH	<i>Lutenizirajući hormone</i>
FSH	<i>Folikulostimulirajući hormon</i>
TSH	<i>Tireostimulirajući hormon</i>
mRNK	<i>Informaciona ribonukleinska kiselina</i>
HPL	<i>Humani placentalni laktogen</i>
kDa	<i>Kilodalton</i>
cDNK	<i>Komplementarni lanac dezoksinukleinske kiseline</i>
Ser	<i>Serin</i>
MMP	<i>Metaloproteinaze matriksa</i>
SCR	<i>Kratki konsenzus ponovci</i>
IGF	<i>Insulinski factor rasta</i>
IGFBP	<i>Protein vezan za insulinski faktor rasta</i>
FGR	<i>Ograničenje u rastu fetusa</i>
DHEA	<i>Dehidroepiandrosteron</i>
IUGR	<i>Intrauterina retardacija rasta</i>
GH	<i>Hormon rasta</i>
GHBP	<i>Protein vezan za hormone rasta</i>
IGF	<i>Insulin slični faktori rasta</i>
TGF	<i>Transformišući faktori rasta</i>
GCT	<i>Glukoza challenge test</i>
hPL	<i>Humani placentalni laktogen</i>
CRH	<i>Kortikotropni-rilizing hormon</i>
PIH	<i>Trudnoćom izazvana hipertenzija</i>
NT	<i>Nuhalna translucenca</i>
OGTT	<i>Oralni test opterećenja glukozom</i>
WHO	<i>Svjetska zdravstvena organizacija</i>
CVS	<i>Vilocenteza</i>
MoM-	<i>Multipla medijana</i>

9. BIOGRAFIJA

Vujović Slavica rođena je 18.10.1973. godine u Podgorici. Prirodno-matematički fakultet, Odsjek za biologiju upisala je 1992. godine, a diplomirala 1997. godine sa srednjom ocjenom 9,50. Poslediplomske studije na Katedri za Molekularnu biologiju i biohemiju na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je 1998. godine. Magistarsku tezu pod nazivom “Analiza biohemijskih parametara kod pacijenata na hemodijalizi” odbranila je 2002. godine. Od 1998. zaposlena je kao asistent na Prirodno-matematičkom fakultetu Univerziteta Crne Gore u Podgorici gdje učestvuje u izvođenju nastave na predmetima Biohemija (Studijski program biologija). Opšta biohemija (Farmaceutski fakultet) i Humana genetika i tehnike u perinatalnoj dijagnostici (Specijalističke studije Ekperimentalna biologija i biotehnologija). U periodu od 2005. do 2007. boravila je na studijskom usavršavanju na Klinici za ginekologiju, perinatologiju i obstetrik u Poliklinike Umerto I Univerziteta “La Sapienza” u Rimu. Učesnik je međunarodnih projekata INTERREG TIORKAS u okviru kojih je završila kurseve “*Biochemistry and Molecular Biology in Human Medicine*”, “*Molecular Genetic Techniques For The Analysis Of Pathogenic Mutations Of Disease-Genes*”, i “*Molecular Basis Of Cancer*” u saradnji sa “Universita Degli Study Del Molise” Campobasso. U okviru svog poslediplomskog usavršavanja završila je i kurseve “*Osnovi genetičkog inženjerstava: izolovanje, obrada i elektroforetska analiza DNA*” i “*Elektroforetska analiza proteina*” na Institutu za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo u Beogradu. Takođe je u okviru projekta Applied Biosystems završila kurs “*Applied Biosystems Real-Time PCR System 7300*”. Autor je i koautor više stručnih radova i publikacija od kojih su tri objavljene u časopisima indeksiranim u CC/SCI bazi podataka.

PRILOG 1.

IZJAVA O AUTORSTVU

Potpisani Slavica Vujović

broj upisa _____

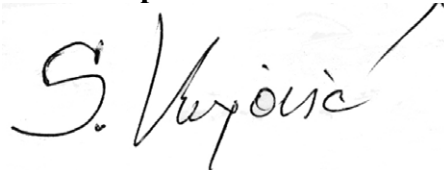
Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom „**PREDIKTIVNI ZNAČAJ PLAZMA PROTEINA A VEZANOG ZA TRUDNOĆU I SLOBODNOG HUMANOG HORIONSKOG GONADOTROPINA ZA TOK I ISHOD TRUDNOĆE**“

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

U Beogradu, 5.05.2014.

Potpis doktoranda



PRILOG 2.

**IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE
I ELEKTRONSKE VERZIJE DOKTORSKOG RADA**

Ime i prezime autora: Slavica Vujović

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada: „**PREDIKTIVNI ZNAČAJ PLAZMA PROTEINA A VEZANOG
ZA TRUDNOĆU I SLOBODNOG HUMANOG HORIONSKOG
GONADOTROPINA ZA TOK I ISHOD TRUDNOĆE**“

Mentor: Prof. Dr Milan Terzić

Potpisani Slavica Vujović

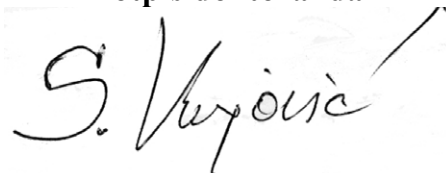
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predala za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.**

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

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

U Beogradu, 5.05.2014.

Potpis doktoranda



PRILOG 3.

IZJAVA O KORIŠĆENJU

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

„PREDIKTIVNI ZNAČAJ PLAZMA PROTEINA A VEZANOG ZA TRUDNOĆU I SLOBODNOG HUMANOG HORIONSKOG GONADOTROPINA ZA TOK I ISHOD TRUDNOĆE“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

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

1. Autorstvo

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

U Beogradu, 5.05.2014.

Potpis doktoranda

