



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
MEDICINSKI FAKULTET  
STUDIJE KLINIČKE MEDICINE

PROGNOSTIČKI ZNAČAJ LABORATORIJSKIH  
POKAZATELJA UTEROPLACENTALNE CIRKULACIJE KOD  
TRUDNICA SA HIPERTENZIJOM I PREEKLAMPSIJOM  
DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentori:

Prof. dr Gorana Mitić i Prof. dr Mirjana Bogavac

Kandidat:

dr Ana Jakovljević

Novi Sad, 2016 godine

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ-MEDICINSKI FAKULTET**  
**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani material
Vrsta rada VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Ana Jakovljević
Mentori: MN	dr Gorana Mitić, vanredni profesor, Medicinski fakultet Novi Sad  dr Mirjana Bogavac, redovni profesor, Medicinski fakultet Novi Sad
Naslov rada: NR	Prognostički značaj laboratorijskih pokazatelja uteroplacentalne cirkulacije kod trudnica sa hipertenzijom i preeklampsijom
Jezik publikacije: JP	Srpski jezik (latinica)
Jezik izvoda: JI	Srpski/Engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija

Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2016. godina
Izdavač: IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Novi Sad
Fizički opis rada: FO	6 poglavlja, 235 strana, 4 slike, 38 grafikona, 47 tabela i 342 navedene reference.
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Patološka fiziologija
Predmetna odrednica: ključne reči	pre-eklampsija; proteini angiogeneze; prediktivna vrednost testova; placentalna cirkulacija; trudnoćom indukovana hipertenzija; vaskularni endotelijalni faktor rasta A; proteini u trudnoći
UDK	616.36-06:616.12-008.331.1]-092
Čuva se: ČU	Biblioteka Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Srbija
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	UVOD: Hipertenzivna oboljenja u trudnoći predstavljaju heterogenu grupu bolesti koja se javljaju kod 3-8% trudnica opšte populacije. Najteže forme ovih oboljenja preeklampsija, eklampsija i HELLP sindrom su vodeći uzročnici morbiditeta i mortaliteta majke i ploda u odnosu na sve druge komplikacije u trudnoći. Etiopatogeneza ovih oboljenja je još uvek nedovoljno razjašnjena ali se smatra da placenta ima ključnu ulogu u

nastanku ovih komplikacija, odnosno da placentalna insuficijencija, koja nastaje kao posledica nedovoljne adaptacije decidualnih i intramiometrijalnih delova spiralnih arterija već u prvih nekoliko nedelja trudnoće, dovodi do redukcije utero-placentalne cirkulacije i lokalne placentalne hipoksije, što se nepovoljno održava i na majku i na plod. U cilju razjašnjenja patofizioloških mehanizama nastanka hipertenzivnih oboljenja u trudnoći i pronalaska dovoljno senzitivnih markera koji bi pomogli u ranom predviđanju nastanka najtežih formi ovih oboljenja, do sada su ispitivani brojni proteini koji učestvuju u procesima stvaranja i razvoja placentalne vaskularne mreže kao što su vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF-A), placentalni faktor rasta (PIGF) i solubilni receptor fms-like tirozin kinaza receptor (sFlt-1).

**CILJ:** Uporediti serumske koncentracije (sFlt-1, PIGF, VEGF-A, PAPP-a, freeβhCG, glukoze, ukupnog holesterola, HDL holesterola, LDL holesterola, triglicerida, apo-AI, apoB, AST, ALT, GGT, kreatinina, ureje, mokraćne kiseline, hsCRP, Na, K, Cl, P, Mg i Ca između grupe trudnica sa preeklampsijom, hroničnom i gestacijskom hipertenzijom i kontrolne grupe trudnica u prvom trimestru trudnoće između 11 i 14. nedelje gestacije. Ispitati da li se vrednosti odabranih laboratorijskih parametara (sFlt-1, VEGF-A i PLGF) kod ispitivanih trudnica statistički značajno razlikuju u odnosu na gestacijsku nedelju u trenutku porođaja, težinu i dužinu i APGAR skor bodovanja novorođenčeta. Ispitati da li se vrednosti angiogenih proteina: sFlt-1, VEGF-A, PIGF značajno razlikuju kod ispitivanih trudnica u odnosu na broj prethodnih trudnoća i starosti trudnica.

**MATERIJAL I METODE:** Istraživanje je sprovedeno kao prospektivno analitička studija u Kliničkom centru Vojvodine, u periodu od juna 2012. do februara 2015. godine. U istraživanje je uključeno ukupno 143 trudnice starosti od 18 – 43 godine. Sve trudnice uključene u istraživanje podeljene su na dve ispitivane i jednu kontrolnu grupu. Prvu ispitivanu grupu činilo je 43 trudnice koje su po definisanim kriterijuma razvile preeklampsiju u aktuelnoj trudnoći. Drugu ispitivanu grupu činilo je 46 trudnica kojima je dijagnostikovana ili potvrđena hronična ili gestacijska hipertenzija u aktuelnoj trudnoći. Kontrolnu grupu činilo je 54 zdravih trudnica sa verifikovanim fiziološkim ishodom trudnoće u terminu, bez maternalnih i fetalnih komplikacija. Prilikom regrutovanja trudnica (između 11+0 i 13+6 nedelja gestacije) za učešće u istraživanju, uzeti su anamnestički podaci o faktorima rizika za pojavu hipertenzivnih oboljenja u trudnoći, i u okviru kliničkog i akušerskog pregleda

urađena su antropometrijska merenja, merenje krvnog pritiska, i specijalizovani ultrazvučni pregled ploda radi utvrđivanja gestacijske starosti ploda i određivanja rizika za pojavu hromozomskih anomalija ploda. Trudnicama je nakon uzimanja anamnestičkih podataka i kliničkog i akušerskog pregleda i potpisanog pisanog pristanka pacijenta o dobrovoljnom učestvovanju u istraživanju izvađena krv radi određivanja odabranih laboratorijskih parametara. Serumske koncentracije sFlt1, VEGF-A i PIGF određivane su kvantitativnom ELISA tehnikom (R&D Systems Europe Ltd. Abingdon, UK), dok su: glukoza, ukupni holesterol, HDL holesterol, LDL holesterol, trigliceridi, apo-AI I apoB, AST, ALT, GGT, kreatinin, ureja, mokraćna kiselina, hsCRP, Na, K, Cl, Mg, P, Ca određivani na automatizovanim analizatorskim sistemima. Sve trudnice su kategorisane u 2 ispitivane i kontrolnu grupu na osnovu pojave ili isključenja hipertenzivnih oboljenja u aktuelnoj trudnoći. Statistička obrada podataka urađena je u statističkom programu STATISTICA 12 (StatSoft Inc.,Tulsa, OK, USA). Podaci su predstavljeni tabelarno i grafički, nivo statističke značajnosti p, je tumačen statistički značajnim ukoliko su vrednosti  $p < 0,05$ .

**REZULTATI:** Vrednosti serumskih koncentracija sFlt-1 se statistički značajno razlikuju u sve tri grupe ispitanica i značajno su više u grupama sa hipertenzivnim oboljenjima u odnosu na zdravu grupu ispitanica,  $p < 0,001$ . Serumske koncentracije VEGF-A su značajno niže u grupi trudnica sa preeklampsijom u odnosu na zdrave trudnice kontrolne grupe ( $p < 0,001$ ), dok se nivoi serumskih koncentracija PIGF statistički značajno razlikuju između sve tri grupe trudnica tako da su najniže vrednosti uočene u grupi sa preeklampsijom ( $p < 0,001$ ) u odnosu na preostale dve grupe ispitanica. Nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u nivoima PAPP-A, biohemijskih parametara (glukoze, AST, ALT, GGT kreatinina, ureje, mokraćne kiseline), lipidskih parametara (uk. holesterol, LDL, apo A-I, apo B), parametara inflamatornog (kompletna krvna slika, fibrinogen), hemostaznog (D-dimer, vWF-antigen) i elektrolitskog statusa (Na, K, Cl, P, Mg),  $p > 0,05$ . Nivoi free  $\beta$ hCG i HDL holesterola su značajno niže, dok su vrednosti hsCRP i triglicerida značajno više u grupi trudnica sa preeklampsijom u odnosu na grupu bez hipertenzivnih poremećaja u trudnoći. Serumske koncentracije sFlt-1 preko 865 pg/ml imaju senzitivnost od 93% i specifičnost od 81,5% u predviđanju nastanka preeklampsije, dok serumske koncentracije PIGF ispod 60 pg/ml senzitivnost od 88,4% i specifičnost od 79,6% u predviđanju pojave preeklampsije. Serumske koncentracije sFlt-1, VEGF-A i PIGF ne pokazuju statistički značajnu razliku u odnosu na godine života trudnice i

broja prethodnih trudnoća  $p > 0,05$ . Serumske koncentracije sFlt-1 i PlGF se značajno razlikuju u odnosu na telesnu težinu novorođenčeta, tako da su niže vrednosti oba proteina detektovane u grupi novorođenčadi sa porođajnom težinom ispod 1500 gr. u odnosu na telesnu masu između 2800-3300 gr,  $p < 0,001$ . Takođe su nađene niže vrednosti sFlt-1 i PlGF u grupi trudnica koje su se porodile pre 33. nedelje gestacije u odnosu na nedelju gestacije u trenutku porođaja preko 37 nedelje gestacije,  $p < 0,001$ . Serumske koncentracije sFlt-1 i PlGF se značajno razlikuju u odnosu na indeks telesne mase majke tako da su više vrednosti sFlt-1 i niže vrednosti PlGF nađene u grupi trudnica sa indeksom telesne mase ispod 25 u odnosu na grupu trudnica sa indeksom telesne mase preko 30  $\text{kg/m}^2$ ,  $p < 0,001$ . Serumske koncentracije sFlt-1 u prvom trimestru trudnoće su značajno povezane sa parametrima inflamacije (hsCRP), vrednostima dijastolnog krvnog pritiska i nivoima free  $\beta\text{hCG}$ . Takođe se uočava značajna povezanost koncentracije PlGF sa indeksom telesne mase, vrednostima sistolnog krvnog pritiska i koncentracijom hsCRP u prvom trimestru trudnoće.

**ZAKLJUČAK:** Nivoi antiangiogenog proteina sFlt-1 su više u grupi trudnica sa preeklampsijom u odnosu na grupu sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom i grupu trudnica bez hipertenzivnih poremećaja trudnoći. Nivoi proangiogenog proteina VEGF-A su značajno niže u grupi trudnica sa preeklampsijom i hroničnom i gestacijskom hipertenzijom u odnosu na grupu trudnica bez hipertenzivnih poremećaja u trudnoći. Serumske koncentracije proangiogenog proteina PlGF su niže u grupi trudnica sa preeklampsijom u odnosu na grupu sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom i grupu trudnica bez hipertenzivnih poremećaja trudnoći. Serumske koncentracije placentalnog proteina free  $\beta\text{hCG}$  i HDL holesterola su značajno niže, dok su vrednosti hsCRP i triglicerida značajno više u grupi trudnica sa preeklampsijom u odnosu na grupu bez hipertenzivnih poremećaja u trudnoći. Između trudnica sa hipertenzivnim poremećajima u trudnoći i zdravih trudnica nije uočeno postojanje značajne razlike u vrednostima placentalnog proteina PAPP-A, biohemijskih parametara (glukoze, AST, ALT, GGT kreatinina, ureje, mokraćne kiseline), lipidskih parametara (uk. holesterol, LDL, apo A-I, apo B), parametara inflamatornog (kompletna krvna slika, fibrinogen), hemostaznog (D-dimer, vWF-antigen) i elektrolitskog statusa (Na, K, Cl, P, Mg). Serumske koncentracije sFlt-1 i PlGF se značajno razlikuju u odnosu na gestacijsku starost na porođaju i telesnu masu novorođenčeta i niže su kod trudnica koje su se prevremeno porodile kao i kod novorođenčadi sa manjom porođajnom težinom. Serumske koncentracije sFlt-1 se značajno razlikuju u

	odnosu telesnu dužinu i APGAR skor novorođenčeta, tako da su više vrednosti sFlt-1 udružene sa većom telesnom dužinom novorođenčeta i boljim APGAR skorom. Serumske koncentracije sFlt-1, VEGF-A i PlGF se ne razlikuju značajno u odnosu na godine života trudnice i broja prethodnih trudnoća. Nivoi proteina angiogeneze sFlt-1 i PlGF predstavljaju dobre prediktore u predviđanju nastanka preeklampsije u prvom trimestru trudnoće.
Datum prihvatanja teme od strane Senata:  DP	24.03.2016.
Datum odbrane:  DO	
Članovi komisije:  (ime i prezime, titula, zvanje, naziv organizacije, status)  KO	Predsednik:  Član:  Član:  Član:  Član:

# UNIVERSITY OF NOVI SAD-FACULTY OF MEDICINE

## KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Ana Jakovljević
Mentor: MN	Gorana Mitić MD, PhD Mirjana Bogavac MD, PhD
Title: TI	Prognostic values of laboratory markers of uteroplacental circulation in pregnancies with hypertension and preeclampsia
Language of text: LT	Serbian/Latin
Language of abstract: LA	Serbian/English
Country of publication: CP	Republic of Serbia



Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2016
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Novi Sad, Hajduk Veljkova 3
Physical description: PD	Chapters 6, pages 235, pictures 4, graphs 38, tables 47, 342 references
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Pathophysiology
Subject, Key words SKW	Pre-Eclampsia; Angiogenic Proteins; Predictive Value of Tests; Placental Circulation; Hypertension, Pregnancy-Induced; Vascular Endothelial Growth Factor A; Pregnancy Proteins
UC	616.36-06:616.12-008.331.1]-092
Holding data: HD	Library of Medical Faculty Novi Sad, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Serbia
Note: N	

<p>Abstract:</p> <p>AB</p>	<p><b>INTRODUCTION:</b> Hypertensive disorders in pregnancy are a heterogeneous group of diseases that occur in 3-8% of all pregnancies. The most difficult forms of these diseases: preeclampsia, eclampsia and HELLP syndrome are the leading causes of maternal and fetal morbidity and mortality in relation to all other pregnancy complications. Etiopathogenesis of these diseases is still insufficiently understood but it is thought that the placenta plays a key role in the development of these complications, and that placental insufficiency, which occurs as a result of insufficient adaptation of decidual intramietrial and parts of the spiral arteries in the first few weeks of pregnancy, leading to a reduction of utero- placental circulation and local placental hypoxia, which adversely affects the mother and the fetus. In order to elucidate the pathophysiological mechanisms of hypertensive disorders in pregnancy and to find sufficiently sensitive makers for early prediction of the most severe forms of these diseases, so far have been investigated a number of proteins involved in the processes of creation and development of placental vascular network such as vascular endothelial growth factor (VEGF-A), placental growth factor (PIGF) and soluble fms-like receptor tyrosine kinase receptor (sFlt-1).</p> <p><b>OBJECTIVE:</b> The aim of the study was to compare serum concentration of sFlt-1, PIGF, VEGF-A, PAPP-A, freeβhCG, glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, apo-AI, apo B, AST, ALT, GGT, creatinine, urea, uric acid, hsCRP, Na, K, Cl, P, Mg and Ca between the group of pregnant women with preeclampsia, chronic and gestational hypertension and the control group of pregnant women in the first trimester of pregnancy between 11 and 14 weeks gestation. Also the aim was to examine whether the value of selected laboratory parameters (sFlt-1, VEGF-A and PIGF) differ in relation to gestational week at the time of birth, weight, length and APGAR scoring system of newborns. The aim was to examine whether the value of angiogenic proteins: sFlt-1, VEGF-A and PIGF differ significantly in relation to the number of previous pregnancies and age of the pregnant woman.</p> <p><b>MATERIALS AND METHODS:</b> The study was conducted as a prospective analytical study in the Clinical Center of Vojvodina, in the period from June 2012 to February 2015. The study included a total of 143 pregnant women aged 18 - 43 years. All pregnant women included in the study were divided into two study and one control group. The first study</p>
----------------------------	---

group consisted of 43 pregnant women who developed preeclampsia during the current pregnancy. The second study group consisted of 46 pregnant women who are newly diagnosed or confirmed chronic or gestational hypertension during the current pregnancy. The control group consisted of 54 healthy pregnant women with verified physiological outcome of pregnancy at term without maternal and fetal complications. Patients were included in the study between 11 + 0 and 13 + 6 weeks of gestation. All patients had data about risk factors for developing hypertensive disorders in pregnancy. After clinical and obstetric examination all patients underwent anthropometric measurements, measurement of blood pressure, and specialized ultrasound examination to determine precise gestational age of the fetus and to determine the risk for fetal chromosomal abnormalities. All patients signed a written consent of the patient's voluntary participation in the study. Serum levels of sFlt1, VEGF-A and PlGF were determined by quantitative ELISA (R & D Systems Europe Ltd., Abingdon, UK), while glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, apo-AI, apo B, AST, ALT, GGT, creatinine, urea, uric acid, hsCRP, Na, K, Cl, P, Mg, Ca were determined on automated analyzer systems. All pregnant women were categorized into 2 study and a control group on the basis of presence of hypertensive disorders in the current pregnancy. Statistical analysis was performed in 12 statistical program STATISTICA (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). The data are presented in tables and graphs, the level of significance p is interpreted statistically significant if the p value was less than <0.05.

**RESULTS:** Serum concentrations of sFlt-1 are statistically significantly different in all study groups and significantly higher in the groups with hypertensive disorders compared to healthy subjects  $p < 0.001$ . Serum levels of VEGF-A are significantly lower in the preeclampsia group compared to healthy control group ( $p < 0.001$ ), while the levels of serum concentration of PlGF statistically significantly different between all groups so that the lowest values are observed in the preeclampsia group ( $p < 0.001$ ) compared to the other two study groups. There is no statistically significant differences in the levels of PAPP-A, biochemical parameters (glucose, AST, ALT, GGT creatinine, urea, uric acid), lipid parameters (total cholesterol, LDL, apo AI, apo B), inflammatory parameters (complete blood count, fibrinogen), hemostatic (D-dimer, vWF-antigen) and electrolyte status (Na, K, Cl, P, Mg, Ca),  $p > 0.05$ . Levels of free  $\beta$ hCG and HDL cholesterol

levels are significantly lower, while the value of hsCRP and triglycerides significantly higher in the group of women with preeclampsia compared to the healthy control group. Serum concentrations of sFlt-1 over 865 pg/ml have a sensitivity of 93% and specificity of 81.5% in predicting preeclampsia, while serum PIGF concentration below 60 pg/ml, a sensitivity of 88.4% and a specificity of 79.6% in predicting preeclampsia. Serum concentrations of sFlt-1, VEGF-A and PIGF do not show a statistically significant difference compared to the age of pregnant women and the number of previous pregnancies  $p > 0.05$ . Serum concentrations of sFlt-1 and PIGF are significantly different in relation to the weight of the newborn, so that the lower values of both proteins are in the group of infants with birth weight below 1500 gr. in relation to the body weight between 2800-3300 gr.,  $p < 0.001$ . There is also lower concentrations of sFlt-1 and PIGF in a group with deliveries before 33 weeks of gestation compared to the deliveries after 37 week of gestation,  $p < 0.001$ . Serum concentrations of sFlt-1 and PIGF are significantly different in relation to the mother's body mass index so that the lower values of sFlt-1 and PIGF are in the group of women with a body mass index below 25 in relation to a group with a body mass index over 30  $\text{kg/m}^2$ ,  $p < 0.001$ . Serum concentrations of sFlt-1 in the first trimester of pregnancy were significantly associated with the parameters of inflammation (hsCRP), diastolic blood pressure and levels of free  $\beta\text{hCG}$ . It is also observed a significant correlation between PIGF with a body mass index, systolic blood pressure and hsCRP concentration in the first trimester of pregnancy.

**CONCLUSION:** The levels of anti-angiogenic protein sFlt-1 are higher in the group of pregnant women with preeclampsia than in the group with chronic and gestational hypertension and the control healthy group. Levels of proangiogenic VEGF-A protein are significantly lower in the preeclampsia group and group with gestational and chronic hypertension compared to the control group. Serum levels of proangiogenic PIGF protein are significantly lower in the preeclampsia group than in the group with chronic and gestational hypertension and the control group. Serum concentrations of placental protein free  $\beta\text{hCG}$  and HDL cholesterol are significantly lower, while the value of hsCRP and triglycerides significantly higher in the preeclampsia group compared to the control group. Among pregnant women with hypertensive disorders in pregnancy and healthy pregnant women there are no significant differences

	<p>in the values of placental PAPP-A protein, biochemical parameters (glucose, AST, ALT, GGT creatinine, urea, uric acid), lipid parameters (total cholesterol, LDL, apo AI, apo B), inflammatory parameters (complete blood count, fibrinogen), hemostatic (D-dimer, vWF-antigen) and electrolyte status (Na, K, Cl, P, Mg, Ca). Serum concentrations of sFlt-1 and PlGF are significantly different in relation to gestational age at delivery and newborn body weight and are lower in group with preterm delivery and newborns with lower birth weight. Serum concentrations of sFlt-1 are significantly different compared to body length and Apgar score, so that the higher values of sFlt-1 are associated with better outcome of newborns (greater body length and better APGAR score). Serum concentrations of sFlt-1, VEGF-A and PlGF are not different significantly with respect to age of pregnancy and the number of previous pregnancies. The levels of sFlt-1 and PlGF represents helpful markers in prediction of preeclampsia in the first trimester of pregnancy.</p>
<p>Accepted on Senate on: AS</p>	<p>24.03.2016.</p>
<p>Defended: DE</p>	
<p>Thesis Defend Board:  DB</p>	<p>President:  Member:  Member:  Member:  Member:</p>

## LISTA SKRAĆENICA

VEGF -Vaskularni endotelni faktor rasta

sFlt-1 (VEGFR-1)– solubilna forma *fms like* tirozin kinaza receptor 1 za vaskularni endotelni faktor rasta

VEGFR-2 (KDR)-kinaza *insert domain* receptor za vaskularni endotelni faktor rasta

PlGF-placentalni faktor rasta

MMP-matriks metaloproteinaza

TGF- $\beta$ -transformišući faktor rasta  $\beta$

NOS-sintetaza azotnog oksida

PGI<sub>2</sub>-prostaciklin, prostaglandin I<sub>2</sub>

HLA-humani leukocitni antigeni

MHC-glavni kompleks tkivne podudarnosti

PAI-1 inhibitor aktivatora plazminogena 1

Th ćelije-T pomoćne ćelije

ICAM-1-intercelularni adhezivni molekul 1

VCAM-adhezivni molekul vaskularnih ćelija

vWF-Fon Vilebrandov faktor

IL-interleukin

IFN- $\gamma$ -interferon gama

TNF-alfa- faktor tumorske nekroze alfa

NK ćelije-ćelije prirodne ubice

AST-aspartat aminottransferaza

ALT-alanin aminottransferaza

GM-CSF-granulocitno-monocitni faktor rasta

G-CSF-granulocitni faktor rasta

NADPH-redukovani nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

AT1R-angiotenzin 2 receptor tip 1

TIMP2-tkivni inhibitor metaloproteinaza 2

LDL-lipoproteini niske gustine

VLDL-lipoproteini veoma niske gustine

HDL-lipoproteini visoke gustine

IDL- lipoproteini srednje gustine

CRP-C-reaktvi protein

cAMP-ciklični adenzin monofosfat

ADP-adenozin difosfat

HCG-humani horionski gonadotropin

cGMP- ciklični gvanozin monofosfat

CO-ugljen monoksid

CO<sub>2</sub>-ugljen dioksid

ILGF-insulinu sličan faktor rasta

PAPP-A-plazmatski protein udružen sa trudnoćom

ACE-angiotenzin-konvertujući enzim

# SADRŽAJ

1 UVOD	19
1.1 EPIDEMIOLOGIJA HIPERTENZIVNIH OBOLJENJA U TRUDNOĆI	25
1.2 ETIOPATOGENEZA PREEKLAMPSIJE I DRUGIH HIPERTENZIVNIH OBOLJENJA U TRUDNOĆI.....	28
1.2.1 Uloga placentе u fetomaternalnoj interakciji .....	29
1.2.2 Placentalna disfunkcija.....	30
1.2.3 Angiogeneza i vaskulogeneza .....	34
1.2.4 Patološka angiogeneza i hipertenzivna oboljenja u trudnoći .....	39
1.2.5 Imunološki mehanizmi u razvoju hipertenzivnih oboljenja u trudnoći.....	42
1.2.6 Uloga genetskih faktora u hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći.....	46
1.2.7 Vaskularni endotel u patogenezi hipertenzivnih oboljenja u trudnoći.....	49
1.2.8 Hemostazni mehanizam u hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći.....	61
1.2.9 Disfunkcija hepatocita u preeklampsiji .....	66
1.3 PREDIKTIVNI TESTOVI U PREEKLAMPSIJI .....	67
1.4 TERAPIJSKE SMERNICE U KONTROLI HIPERTENZIVNIH OBOLJENJA U TRUDNOĆI.....	71
1.5 HIPERTENZIVNA OBOLJENJA U TRUDNOĆI – UVOD U KARDIOVASKULARNE BOLESTI I METABOLIČKI SINDROM.....	75
2 RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	76
3 MATERIJAL I METODE .....	78
3.1 KRITERIJUMI ZA UKLJUČIVANJE U ISTRAŽIVANJE.....	79
3.2 PODELA TRUDNICA PO ISPITIVANIM GRUPAMA.....	79
3.3 KRITERIJUMI ZA ISKLJUČIVANJE IZ ISTRAŽIVANJA.....	81
3.4 PROTOKOL ISPITIVANJA .....	82
3.5 METODE ISPITIVANJA.....	83
3.5.1 Laboratorijske analize .....	84
3.5.2 Ultrazvučno određivanje starosti fetusa: .....	87
3.6 METODE STATISTIČKE OBRADJE PODATAKA .....	88
4. REZULTATI.....	90
4.1 OPŠTE KARAKTERISTIKE TRUDNICA U ISPITIVANIM I KONTROLNOJ GRUPI	90
4.1.1 Demografski podaci u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica.....	90
4.1.2 Karakteristike prethodnih trudnoća u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica.....	93



4.1.3	Nasledni, imunološki parametri i prisustvo pridruženih bolesti u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica .....	96
4.2	ANTROPOMETRIJSKI I KLINIČKI PARAMETRI U ISPITIVANIM I KONTROLNOJ GRUPI TRUDNICA.....	98
4.3	LABORATORIJSKI PARAMETRI U ISPITIVANOJ I KONTROLNOJ GRUPI TRUDNICA.....	102
4.3.1	Parametri inflamacije i hemostazni pokazatelji u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica.....	102
4.3.2	Hematološki i biohemijski parametri u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica ....	104
4.3.3	Parametri elektrolitskog statusa u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica.....	108
4.3.4	Parametri metabolizma lipida i lipoproteina u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica.....	110
4.3.5	Serumski proteini angiogeneze u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica.....	113
4.4	POREĐENJA KONCENTRACIJE PROTEINA ANGIOGENEZE U ODNOSU NA BROJ PRETHODNIH TRUDNOĆA I GODINA ŽIVOTA MAJKE .....	122
4.5	ANALIZA ISPITIVANIH PARAMETARA U ODNOSU NA STEPEN UHRANJENOSTI TRUDNICA.....	124
4.6	ANALIZA ISPITIVANIH PARAMETARA UNUTAR PRVE ISPITIVANE GRUPE TRUDNICA.....	128
4.6.1	Poređenja analiziranih parametara unutar prve ispitivane grupe u odnosu na nedelju razvoja preeklampsije.....	128
4.6.2	Poređenje analiziranih parametara unutar prve ispitivane grupe u odnosu na prisustvo pridruženih bolesti ili naslednih parametara .....	132
4.7	KORELACIONA I REGRESIONA ANALIZA IZMEĐU PROTEINA ANGIOGENEZE I ANALIZIRANIH PARAMETARA .....	135
4.7.1	Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (sFlt-1 i VEGF-A) i parametara prethodnih trudnoća, naslednih i imunoloških parametara i godina života trudnica	135
4.7.2	Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (sFlt-1 i VEGF-A) i antropometrijskih, kliničkih, inflamatornih i hemostaznih parametara .....	137
4.7.3	Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (sFlt-1 i VEGF-A) i biohemijskih parametara.....	138
4.7.4	Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (sFlt-1 i VEGF-A) i parametara lipidskog i lipoproteinskog statusa.....	139
4.7.5	Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (PlGF) i parametara prethodnih trudnoća, naslednih i imunoloških parametara i godina života trudnica .....	140
4.7.6	Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (PlGF) i antropometrijskih, kliničkih, inflamatornih i hemostaznih parametara .....	141
4.7.7	Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (PlGF) i biohemijskih parametara.....	142

4.7.8	Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (PlGF) i parametara lipidskog i lipoproteinskog statusa.....	143
4.7.9	Korelaciona analiza između proteina angiogeneze i placentalnih proteina	144
4.7.10	Regresiona analiza između koncentracije sFlt-1 i ispitivanih parametara ..	145
4.7.11	Regresiona analiza između koncentracije PlGF i ispitivanih parametara ...	145
4.8 ANALIZA PARAMETARA ISHODA TRUDNOĆE KOD ISPITIVANIH TRUDNICA.....		146
4.8.1	Poređenja ispitivanih grupa trudnica na osnovu parametara ishoda trudnoće.....	146
4.8.2	Poređenja koncentracija proteina angiogeneze u odnosu na nedelju porođaja.....	149
4.8.3	Poređenja koncentracija proteina angiogeneze u odnosu na porođajnu težinu.....	152
4.8.4	Poređenja koncentracija proteina angiogeneze u odnosu na porođajnu dužinu.....	154
4.8.5	Poređenja koncentracija proteina angiogeneze u odnosu na APGAR skor	155
4.9 KOREACIONA ANALIZA ODABRANIH LABORATORIJSKIH PARAMETARA I PARAMETARA ISHODA TRUDNOĆE .....		155
4.9.1	Korelaciona analiza proteina angiogeneze i parametara ishoda trudnoće...	155
4.9.2	Korelaciona analiza placentalnih proteina i parametara ishoda trudnoće ...	157
4.9.3	Korelaciona analiza između hsCRP, mokraćne kiseline i parametara ishoda trudnoće.....	158
4.10 PROGNOСТИČKI ZNAČAJ LABORATORIJSKIH PARAMETARA U CILJU PREDVIĐANJA RAZVOJA PREEKLAMPSIJE .....		159
4.10.1	Prognostički značaj proteina angiogeneze u cilju predviđanja razvoja preeklampsije.....	159
4.10.2	Prognostički značaj placentalnih proteina u cilju predviđanja razvoja preeklampsije.....	163
4.10.3	Prognostički značaj hsCRP i mokraćne kiseline u cilju predviđanja razvoja preeklampsije.....	166
5. DISKUSIJA .....		170
5.1	Faktori rizika za pojavu hipertenzivnih oboljenja u trudnoći .....	171
5.2	Dijagnostički značaj laboratorijskih parametara prvog trimestra u hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći.....	179
5.3	Laboratorijski parametri prvog trimestra u predviđanju preeklampsije .....	201
6. ZAKLJUČCI:.....		204
LITERATURA: .....		207

# 1 UVOD

Hipertenzivni poremećaji predstavljaju čestu komplikaciju trudnoće, a mogu se pojaviti „de novo“ ili se nadovezati na hronično stanje preegzistirajuće hipertenzije. Ova grupa poremećaja obuhvata široku lepezu etiopatogenetski, patofiziološki i klinički različitih entiteta sa heterogenošću u pogledu težine oboljenja, koja varira od hronične ili gestacijske hipertenzije pa sve do njenih najtežih formi koje mogu biti opasne po život majke i fetusa, a to su teži oblici preeklampsije i eklampsija.

U poslednjih nekoliko decenija, žiža interesovanja mnogobrojnih multicentričnih i multidisciplinarnih studija predstavlja proučavanje hipertenzivnih poremećaja u trudnoći. Razlog za velikim interesovanjem naučnika i kliničara širom sveta delimično leži u činjenici što su hipertenzivni poremećaji specifični za trudnoću poznati još od davnina, ali i pored značajnog i ubrzanog razvoja medicine u poslednjih nekoliko decenija, i uprkos poboljšanom nadzoru nad zdravljem trudnica i fetusa/novorodjenčeta zahvaljujući unapređenju perinataloškog nadzora i primeni savremenih medicinskih tehnologija u tom praćenju, ovi poremećaji i dalje predstavljaju oboljenja sa najvećom stopom maternalnog i neonatalnog mortaliteta u odnosu na sva druga oboljenja u trudnoći.

Razlozi, zbog kojih i dalje ne postoji adekvatna prevencija i kauzalna terapija, delimično leži u činjenicama da hipertenzivni poremećaji u trudnoći predstavljaju izuzetno heterogenu grupu oboljenja, u kojoj se kliničke manifestacije i nalazi laboratorijskih testova prepliću, a da se pri tome etiopatogenetski i patofiziološki radi o potpuno različitim sindromima. Kao posledica toga, još uvek ne postoje usaglašeni stavovi u svetu u pogledu klasifikacije hipertenzivnih oboljenja u trudnoći, niti ujedinjeni kriterijumi vezani za primenu dijagnostičkog algoritma u njihovom

prepoznavanju. U cilju prevazilaženja razlika u pogledu klasifikacija i primene dijagnostičkih testova, a što je još bitnije u cilju razjašnjenja patofizioloških mehanizama njihovog nastanka i iznalaženju novih senzitivnih metoda detekcije i što uspešnijeg lečenja, uložen je veliki napor mnogobrojnih stručnjaka iz različitih oblasti interesovanja. Sa ciljem istraživanja i pronalaženja uzroka nastanka hipertenzivnih oboljenja specifičnih za trudnoću i razumevanja nastanka i razvoja bolesti, kako bi se kod trudnica lečila osnovna bolest a ne njena kasna posledica, koja se u vidu kliničkih simptoma i znakova uočava mnogo kasnije u odnosu na inicijalni patogenetski događaj. Cilj ovakvog pristupa jeste pronalaženje dovoljno senzitivnih i specifičnih dijagnostičkih testova za prepoznavanje trudnica kod kojih postoji visok rizik za razvoj ovih komplikacija, kako bi se na vreme mogle aktivirati mere prevencije i rane terapije a sve u cilju ili lečenja osnovne bolesti ili smanjenja težine komplikacija koje mogu da ugrožavaju majku i plod.

Sa stanovišta patofiziološkog izučavanja hipertenzivnih oboljenja u trudnoći, veliki doprinos u razumevanju njihovog nastanka daju mnogobrojne studije koje pažnju posvećuju međusobnoj i složenoj fetomaternalnoj interakciji sa naglaskom na otkrivanje onih patofizioloških procesa koji razlikuju normalne mehanizme te interakcije u odnosu na patološke puteve, kao i razlikovanje mehanizama koji mogu biti posledica, od mehanizama koji mogu biti uzrok bolesti.

## DEFINICIJE I KLASIFIKACIJA HIPERTENZIVNIH OBOLJENJA U TRUDNOĆI

Prvi pisani podaci o hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći datiraju još iz 2200 p.n.e (Kahun-ov papirus) kao i sa raznih područja antičkog sveta Grčke, Egipta, Kine i Indije. U ovim zapisima se nalaze uglavnom podaci o eklampsiji, odnosno u tadašnje vreme su ova stanja opisivana kao „konvulzije koje se kod žena javljaju za vreme porođaja“ (1). U zapisu „Coacae Praenotiones“ koji datira pre vremena Hipokrata, Grci su prepoznali preeklampsiju kao stanje u kome istovremeno dolazi do pojave glavobolje, vrtoglavice i konvulzija (2). Hipokrat je u četvrtom veku p.n.e u svojim „Aphorisms“ opisao da za trudnicu bilo koje akutno oboljenje može biti fatalno, dok je Galen u drugom veku n.e opisao konvulzije, epilepsiju, apopleksiju i tetanus kao izuzetno letalna stanja, pri čemu je Galen ovde prvi put posebno opisao konvulzione poremećaje u trudnoći, koji još 1600 godina posle njega, nisu bili prepoznati kao posebna obolenja u trudnoći i nisu se razlikovali od epilepsije (2, 3). Celsus je u prvom veku n.e opisao stanje u kome su fatalne konvulzije javljaju za vreme rađanja mrtvog fetusa. Gaebelkhouern je u svojim zapisima iz 16 veka opisao da postoje četiri različite vrste epilepsije u zavisnosti gde se nalazi izvor problema, koje je on lokalizovao u glavi, stomaku, trudnoj materici i ekstremitetima kod dece, pri čemu je precizirao da samo trudna materica može izazvati konvulzije, posebno ako nosi fetus sa malformacijama (2). Iako je eklampsija u 15. i 16. veku predstavljala opasno stanje za trudnicu, vrlo malo podataka o tome postoji u literaturnim navodima, koja su inače pokrivala različita polja medicine, što može biti posledica toga što je akušerstvo toga doba bilo u rukama babica a ne lekara. Krajem 17. i početkom 18. veka francuski lekari Viardel, Portal, Peu i de la Motte napisali su posebne knjige za praktične svrhe o konvulzijama u trudnoći (2, 4). Tek je francuski lekar Francois Boissier de Sauvages de Lacroix 1739. godine prvi put pomenuo termin eklampsija, opisujući ga kao akutni oblik konvulzija u trudnoći koji se razlikuje od hroničnih konvulzivnih stanja kao što

su epilepsija, dok je 1894. godine prvi put opisano stanje u kome se povišeni krvni pritisak i proteinurija kod trudnica mogu javiti i bez eklamptičnih napada i tada je prvi put uveden pojam preeklampsija (1).

Klasifikacije i definisanje hipertenzivnih oboljenja u trudnoći datiraju od skora (5). 1940 godine američki komitet za zaštitu zdravlja trudnica je predložio podelu oboljenja na ona koja su specifična za trudnoću (preeklampsija i eklampsija sa ili bez konvulzija), nespecifična oboljenja u trudnoći (bubrežna, kardiovaskularna i maligna oboljenja), povraćanje u trudnoći i neklasifikovane toksemije (6, 7).

1969 godine Rippman je prvi put pomenuo da je jedan od glavnih razloga zašto hipertenzija u trudnoći i dalje ostaje nerazjašnjen fenomen, jeste vrlo komplikovana i nedovoljno jasna terminologija. Za iste poremećaje stručnjaci koriste različite termine kao što su: toksemija, trudnoćom indukovana hipertenzija, hipertenzija povezana sa trudnoćom, EPH gestoze, preeklampsija, preeklamptična toksemija i dr, što još više zbunjuje kada autori iste termine definišu na različite načine (8). Veliki problem je predstavljalo i kako definisati povišeni krvni pritisak, odnosno da li uzeti apsolutne vrednosti krvnog pritiska koje bi trebalo da budu granica za dijagnostikovanje hipertenzije u trudnoći ili je pak stepen povišenja krvnog pritiska mnogo značajniji termin i da li u definiciju treba uključiti proteinuriju ili ne (9). U svakom slučaju svi su se složili da je dobra klasifikacija samo ona u kojoj se jasno razlikuju ona stanja u trudnoći, koja mogu da budu povezana sa visokim maternalnim i fetalnim rizikom u odnosu na ona stanja koja su „benigna“, u koja se ubrajaju hronična i gestacijska hipertenzija (10, 11).

Nacionalna radna grupa za proučavanje visokog krvnog pritiska je 2000. godine klasifikovala hipertenzivna oboljenja u trudnoći u četiri kategorije: hronična hipertenzija,

preeklampsija-eklampsija, preeklampsija superponirana na hroničnu hipertenziju i prolazna hipertenzija. Iz klasifikacije su bila izbačena stanja u kojima postoji edem sa hipertenzijom ali bez proteinurije i povišenje sistolnog za  $\geq 30$  ili dijastolnog  $\geq 15$  mmHg, a koje ne dosežu vrednost 140/90 mmHg (9, 12).

I danas ne postoje usaglašeni stavovi u pogledu dijagnostičkih kriterijuma i klasifikacije hipertenzivnih oboljenja u trudnoći. Smatra se da različiti centri imaju drugačije statističke podatke o fetalnim i maternalnim komplikacijama, posebno vezanim za preeklampsiju, i da razlike u načinu dokumentovanja, dijagnostikovanja i primeni terapije, komplikuju jedinstvenu podelu i definisanje oboljenja. Ono što dodatno otežava jedinstvenu klasifikaciju jeste da se u merenju krvnog pritiska sve više sa živinog sfingomanometra prelazi na upotrebu automatizovanih aparata koji nisu svi provereni i odobreni za upotrebu u trudnoći, posebno u preeklampsiji (13). Problem postoji i u klasifikaciji „de novo“ hipertenzija koja su praćena teškim maternalnim komplikacijama a da se pri tome ne detektuje proteinurija. Javljaju se takođe problemi sa tačnom kvantifikacijom proteinurije, klasifikacijom hipertenzije „belog mantila“ koja se nekad teško razlikuje od hronične hipertenzije, i najzad što su istraživanja poslednjih nekoliko godina ukazala da koren ovih problema leži u placenti, što nameće potrebu da se pored tradicionalnih kliničkih dijagnostičkih kriterijuma u definicije moraju uvrstiti senzitivni i specifični biomarkeri posebno markeri angiogeneze, koji ukazuju na prisustvo placentalnih poremećaja (14).

U nekim klasifikacijama postoji podela na proteinurijsku i neproteinurijsku preeklampsiju, pri čemu prva grupa ima lošiju prognozu. Druge klasifikacije dele preeklampsiju u zavisnosti od nedelje porođaja na „early onset“ (gde je završetak trudnoće pre 34. nedelje gestacije) i „late onset“ (završetak trudnoće posle 34. nedelje gestacije). S obzirom na savremena saznanja o patofiziološkim mehanizmima u razvoju ovog oboljenja, većina autora „early onset“

preeklampsiju naziva placentnom preeklampsijom, dok „late onset“ preeklampsiju naziva maternalnom preeklampsijom (15).

Internacionalno udruženje za proučavanje hipertenzije u trudnoći (2014) predlaže podelu hipertenzivnih oboljenja u trudnoći na hroničnu hipertenziju, gestacijsku hipertenziju, preeklampsiju (ili de novo ili superponiranu na hroničnu hipertenziju) i hipertenziju „belog mantila“ (14).

Iako postoje razlike u definicijama i klasifikaciji hipertenzivnih oboljenja u trudnoći, većina udruženja i istraživačkih centara definiše hroničnu hipertenziju pojavom povišenog krvnog pritiska  $\geq 140$  i/ili  $\geq 90$  mmHg pre 20 nedelje gestacije. Hipertenzija koja se prvi put dijagnostikuje posle 20. nedelje gestacije bez proteinurije pripada grupi gestacijskih hipertenzija. Preeklampsija se definiše pojavom povišenog krvnog pritiska ( $\geq 140$  i/ili  $\geq 90$  mmHg ) koja se prvi put registruje posle 20. nedelje trudnoće, mereno minimalno dva puta u razmaku od 4 ili 6h, uz prisustvo proteinurije preko 300mg u 24h urinu (13, 14, 16).



## 1.1 EPIDEMIOLOGIJA HIPERTENZIVNIH OBOLJENJA U TRUDNOĆI

Hipertenzivna oboljenja u trudnoći predstavljaju ozbiljan društveni, epidemiološki i socioekonomski problem, s obzirom da podaci svetske zdravstvene organizacije (SZO) ukazuju da se broj trudnoća sa preegzistirajućom hroničnom hipertenzijom kao i gestacijskom hipertenzijom uvećao za 50% od 1998. do 2004. godine, pri čemu je hipertenzija proglašena nezavisnim i vodećim uzrokom maternalnog mortaliteta u industrijski razvijenim zemljama i uzrokuje 16% smrtnih ishoda u trudnoći (17-19). Hipertenzivna oboljenja opterećuju između 7-10% trudnoća širom sveta, od toga 70% pripada grupi sa gestacijskom hipertenzijom i preeklampsijom, dok 30% pripada hroničnoj hipertenziji. Procenjuje se da su u Africi i Aziji hipertenzivna oboljenja odgovorna za 9%, dok su u Latinskoj Americi i na Karibima odgovorna za čak 25% smrti majki (20, 21).

Prema podacima Udruženja za kontrolu i nadgledanje nacionalnog zdravlja i nutritivnog statusa u Sjedinjenim američkim državama (SAD), učestalost hronične hipertenzije se povećava sa starošću žena reproduktivnog perioda, tako da za žene starosti između 18-29 godina iznosi 0,6-2%, dok za žene između 30-39 godina iznosi 4,6-22,3% (19). Učestalost hronične hipertenzije je znatno veća među trudnicama afroameričkog porekla u odnosu na ostale rasne grupe (22). S obzirom da je sve veći porast trudnica u kasnom reproduktivnom periodu, pretpostavlja se da će se incidencija hronične hipertenzije sve više povećavati (23). Prema podacima američkog udruženja ginekologa i opstetričara, pretpostavlja se da će u narednim godinama 5% trudnica imati problem sa hroničnom hipertenzijom širom sveta, dok se predviđa da će minimalno 200 000 trudnica (5% od 4 miliona trudnica) svake godine u SAD imati hroničnu hipertenziju (24, 25).

Vrlo je teško proceniti pravu stopu incidencije preeklampsije, s obzirom na nedostatak standardizacije dijagnostičkih kriterijuma u populacionim studijama, ali se smatra da se javlja kod

3-8% trudnica širom sveta (26, 27). Pojava preeklampsije pre 34. nedelje gestacije se javlja u 10-20% slučajeva i prema podacima američkog udruženja obstetričara-ginekologa preeklampsija je uzrok maternalne smrtnosti kod 18% trudnica u SAD (28).

Američke studije ukazuju da se incidencija preeklampsije (korigovane za godine života majke), iz godine u godinu konstantno povećava, tako da je od 2,4% za period 1987-1988. povećana na 2,9% za period 2003-2004. godine. Postoje regionalne i klimatske varijacije u pogledu stepena učestalosti preeklampsije (29). U severnim regionima zemljine polulopte veća je učestalost preeklampsije u zimskim mesecima. U Finskoj je veća učestalost preeklampsije u severnim u odnosu na južne regione zemlje (30, 31). Poseban problem predstavlja superponirana preeklampsija na već postojeću hroničnu hipertenziju, s obzirom da istraživanja pokazuju da čak 25-30% preeklampsija nastaje na podlozi hronične hipertenzije, pri čemu na ovu učestalost ne utiču godine života majke, rasa ili prisustvo proteinurije u ranoj trudnoći (32). Uočeno je da se superponirna preeklampsija javlja znatno češće kod trudnica koje su bolovale od hipertenzije minimalno 4 godine pre aktuelne trudnoće (31% vs 22%), koje su imale preeklampsiju u prethodnoj trudnoći (32% vs 23%) i kod kojih je vrednost dijastolnog krvnog pritiska bila preko 100-110mmHg u odnosu na trudnice kod kojih je vrednost ovog pritiska bila ispod 100 mmHg (42% vs 24%) (33).

Smatra se da je za ovakav nepovoljan epidemiološki trend, delimično odgovorna promena konstitucionalnih karakteristika majke: godine života majke, higijensko-dijeteski režim, preegzistirajuća oboljenja majke - pogotovo vezana za metabolički sindrom, sedenteran način života, problemi industrijalizacije i boravka u zagađenim sredinama, veća izloženost stresogenim faktorima usled veće stope zaposlenosti žena reproduktivnog perioda i dr. (17). S obzirom da SZO procenjuje da je u toku 2015 god. oko 700 miliona ljudi bilo suočeno sa problemom gojaznosti,

znatan udeo je pripao i ženama reproduktivnog perioda. Sa druge strane, uočava se sniženje incidence eklampsije što se povezuje sa efikasnijim antenatalnim nadzorom, boljom dostupnošću medicinskih ustanova i primenom profilakse (19, 34).

Hipertenzivna oboljenja u trudnoći udružena su sa nepovoljnim perinatalnim ishodom i brojnim maternalnim i fetalnim komplikacijama u toku trudnoće i na porođaju (35). Najčešće komplikacije su intrauterini zastoj u razvoj u ploda, bronhopulmonalna displazija, prevremeno rođenje, odlublivanje posteljice, smanjena količina plodove vode, perinatalna smrt i jatrogeni prematuritet (36). Prevremeni porođaj je u 15-20% slučajeva uzrokovan preeklampsijom, dok su HELLP sindrom i eklampsija odgovorni za 50 000 maternalnih smrti svake godine (37).

Smatra se da se odlublivanje posteljice javlja u 1,5% slučajeva hronične hipertenzije što je duplo veća učestalost u odnosu na normotenzivne trudnice (38). Odlublivanje posteljice se znatno češće javlja kod superponirane preeklampsije u odnosu na grupu trudnica bez ove komplikacije, pri čemu ova učestalost nije zavisna od godina života majke, rase ili dužine trajanja hipertenzije (39). Učestalost fetalnih i neonatalnih komplikacija (prevremeno rođeni, neonatus mali za gestaciju nedelju porođaja) je za 3-4 puta veća kod trudnica sa hroničnom hipertenzijom u odnosu na zdrave trudnice (40).

## 1.2 ETIOPATOGENEZA PREEKLAMPSIJE I DRUGIH HIPERTENZIVNIH OBOLJENJA U TRUDNOĆI

Uprkos naporima nauke i stručnjaka različitih oblasti, etiopatogeneza preeklampsije i drugih hipertenzivnih oboljenja u trudnoći nije do kraja razjašnjenja. Međutim, pregledom naučne literature u poslednjih 20 godina uočavaju se veliki pomaci u rešavanju ovog problema, putem povezivanja naučnih rezultata dobijenih u eksperimentalnim in vitro studijama sa kliničkim, epidemiološkim i populacionim istraživanjima (41).

S obzirom da se preeklampsija javlja samo u trudnoći, i da može da se razvije i bez prisustva vijabilnog ploda (molarna trudnoća), i bez materice (abdominalna trudnoća) i da se svi simptomi i znaci povlače nakon izbacivanja placente, došlo se do zaključka da placenta predstavlja ključni organ za nastanak ovog složenog oboljenja (42). Međutim, pored poremećaja u placentaciji kao uzroku nastanka ovog oboljenja, studije su pokazale da postoje određeni predisponirajući faktori za njenu pojavu (Tabela 1).

Tabela 1. Faktori rizika za razvoj preeklampsije.

-starost trudnica preko 40 god.	-hronična hipertenzija
-nuliparitet	-pregestacijski dijabetes
-težina trudnice na njenom rođenju	-preeklampsija u prethodnoj trudnoći
-indeks telesne mase preko 30	-prisustvo preeklampsije u bližoj porodici
-blizanačka trudnoća	-dijastolni krvni pritisak $\geq 80$ mmHg
-kratak kontakt sa semenom tečnošću	-in vitro fertilizacija

Ovakvi podaci kao i činjenica da je preeklampsija multisistemski i multiorganski poremećaj sa širokom lepezom kliničkih simptoma i znakova, ukazuje na to da ne postoji jedan uzrok nastanka ovog problema, već da se radi o sadejstvu više njih istovremeno, koji deluju ili

sinergistički pojačavajući efekte jedan drugog, ili se radi o kaskadnim reakcijama u kojima aktivacija jednog činioca dovodi do aktivacije drugog, stvarajući *circulus vitiosus* (43). Činjenica je da se simptomi i klinički znaci pojedinih formi hipertenzivnih oboljenja u trudnoći preklapaju, što i otežava njihovu klasifikaciju, sa mogućnošću da u svim ovim oboljenjima leži ista patofiziološka osnova, a da forma u kojoj će se bolest ispoljiti zavisi od sposobnosti maternalnih odbrambenih mehanizama da se sa tim promenama suoči. Iz tog razloga etiopatogenetsko proučavanje hipertenzivnih oboljenja u trudnoći podrazumeva istovremeno sagledavanje placentalnih, genetskih, imunoloških i maternalnih konstitucionalnih faktora (44).

### **1.2.1 Uloga placente u fetomaternalnoj interakciji**

Placenta predstavlja složen fetomaternalni organ preko koga se ostvaruju sve metaboličke, endokrinološke, imunološke i nutritivne funkcije čiji je krajnji cilj omogućavanje normalnog rasta i razvoja fetusa. Razvoj placente započinje implantacijom blastociste u maternalni endometrijum. Citotrofoblastne ćelije imaju ključnu ulogu u pravilnom povezivanju začetka sa zidom materice, kako bi se omogućilo adekvatno snabdevanje fetusa neophodnim nutritivnim i omogućila razmena materija (45). Citotrofoblastne ćelije su mononuklearne epitelne ćelije ektodermalnog porekla i pripadaju unutrašnjem sloju trofoblasta. Od diferencijacije ovih ćelija zavisi funkcija horionskih resica koje predstavljaju glavne funkcionalne jedinice placente (46). U horionskim resicama, koje slobodno plutaju u interviloznim prostorima, citotrofoblastne ćelije procesom diferencijacije i fuzije formiraju spoljašnji trofoblastni sloj polimorfonuklearnih sinciotrofoblastnih ćelija, čija je glavna funkcija transport materija i lučenje hormona humanog horionskog gonadotropina (HCG). Funkcija HCG je održavanje lučenja progesterona i opstanak žutog tela endometrijalne sluznice (decidue). U pričvršćenim horionskim resicama, koje obezbeđuju mehaničku interakciju začetka sa zidom materice, većina citotrofoblastnih ćelija

fuzioniše ali veliki broj ostane u formi pojedinačnih ćelija koje imaju tendenciju da formiraju ćelijske kolone (47). Citotrofoblastne ćelije koje se nalaze na distalnim krajevima ovih kolona se pričvršćuju i duboko invadiraju matericu i njene arteriole. U procesu endovaskularne invazije, citotrofoblastne ćelije zamenjuju endotelne ćelije i mišićni sloj materičnih arteriola, tako da su do kraja drugog trimestra krvni sudovi isključivo obavijeni citotrofoblastnim ćelijama (48).

Glavni cilj endovaskularne invazije je da decidualne spiralne arterije postanu šireg kalibra, manje izvijane kako bi se smanjio otpor proticanju krvi i omogućio adekvatan protok majčine krvi u posteljicu i da spiralne arterije ne budu pod kontrolom regulatornih mehanizama krvnog pritiska majke pre svega adrenergičko-noradrenergičnog sistema (42, 48).

Smatra se da preeklampsija predstavlja oboljenje sa dva različita vremenska i lokalizaciona momenta. Prvi momenat jeste placentalna disfunkcija koja se odvija u ranoj trudnoći i drugi momenat nastaje posle 20. nedelje gestacije kada dolazi do opsežne reakcije maternalnog vaskularnog endotela na abnormalnu placentaciju, sa posledičnom multisistemskom i multiorganskom disfunkcijom (49).

### **1.2.2 Placentalna disfunkcija**

Pregledom placenti kod trudnica sa preeklampsijom i drugim hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći, uočeno je da ona predstavlja centralni organ u kome započinje inicijacija i kaskadni razvoj patofizioloških procesa, koji na kraju dovodi do razvoja kliničke slike ovih sindroma. Uočeni su poremećaji u procesima endovaskularne invazije decidualnih spiralnih arterija, tako da većina citotrofoblastnih ćelija ne obavija arteriole već slobodno pluta na određenoj udaljenosti od njih (50). U slučaju da se nađu u njihovom lumenu, nisu sposobne da obrazuju međusobne agregate niti da se čvrsto prikače za zid krvnog suda, tako da ostaju kao individualne okrugle ćelije. Rezultat

ovoga je vrlo plitka endovaskularna invazija spiralnih arteriola koja zahvata samo površinski sloj decidue i izmenjena morfološka interakcija citotrofoblastnih ćelija sa maternalnim arteriolama. S obzirom da ne gube endotelni sloj ćelija i mišićno-elastično tkivo ispod njega, spiralne arterije ostaju izuvijane i uske, toliko da je njihov promer čak duplo manji u odnosu na dijametar krvnih sudova u fiziološkim trudnoćama (48, 51).

U normalnim uslovima, proces endovaskularne invazije je u prvih nekoliko nedelja trudnoće vrlo spor, protok maternalne krvi do posteljica minimalan i pritisak  $O_2$  u interviloznim prostorima iznosi svega 18-40mmHg. Već posle 10. nedelje gestacije, proces invazije se ubrzava toliko da citotrofoblastne ćelije dolaze u direktan kontakt sa maternalnim spiralnim arteriolama u kojima je pritisak  $O_2$  90-100 mmHg (52). Smatra se da pozitivan gradijent pritiska  $O_2$  sa kojima se citotrofoblastne ćelije susreću u prvoj polovini trudnoće kao i stanje hipoksije koje vlada u prvih nekoliko nedelja, direktno pospešuje procese proliferacije i diferencijacije ovih ćelija. Ukoliko citotrofoblastne ćelije ne uspeju da izvrše ranu invaziju spiralnih arteriola i ne dođu u kontakt sa visokim pritiskom  $O_2$ , njihova sposobnost za diferenciranjem u prave invazivne ćelije je oštećena. U hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći citotrofoblastne ćelije pored toga što gube sposobnost diferencijacije, takođe gube vrlo važnu osobinu a to je da imitiraju funkcije vaskularnih endotelnih ćelija (53).

Istovremeno sa invazijom maternalnih krvnih sudova, citotrofoblastne ćelije se menjaju, prolaze kroz procese pseudovaskulogeneze ili vaskularne mimikrije, tako da poprimaju fenotipske osobine endotelnih ćelija koje zamenjuju. Cilj ovih promena jeste unapređenje njihove pokretljivosti i invazivnosti, kako bi se omogućilo što bolje povezivanje i usađivanje citotrofoblastnih ćelija u spiralne arteriole. In vitro istraživanja ukazuju da ove ćelije dobijaju sposobnost lučenja adhezivnih molekula što je inače osobina vaskularnih endotelnih ćelija i

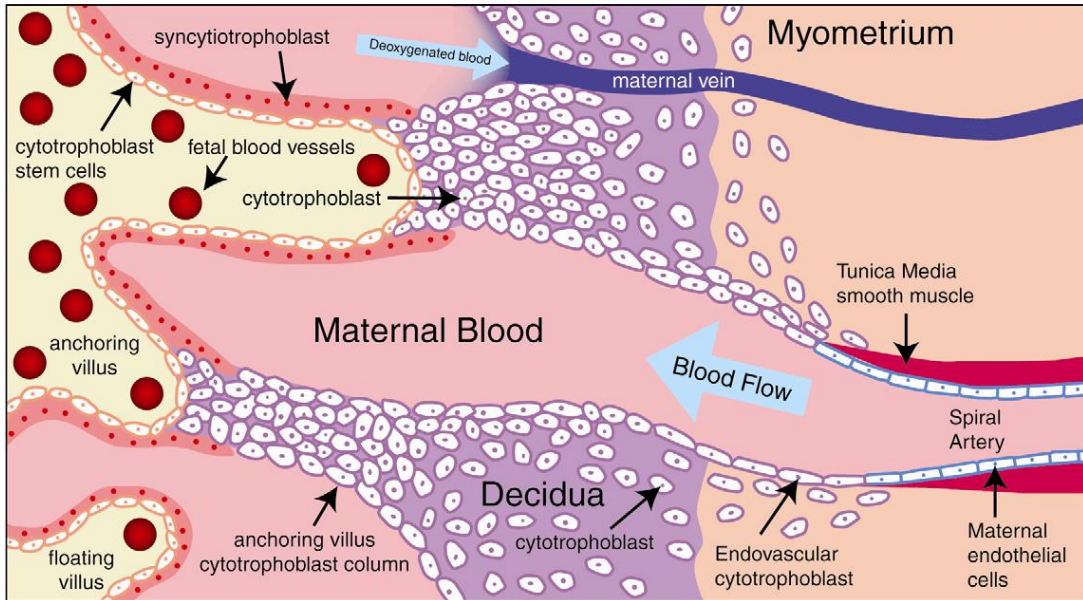
leukocita. Ekspresija ovih receptora je izuzetno bitna u procesima angiogeneze. Citotrofoblastne stem ćelije gube svoje epitelne markere (E-cadherin i  $\alpha6\beta3$  integrin) i dobijaju endotelne markere kao što su endotelni cadherin (VE-cadherin) i  $\alpha V\beta3$  integrin. Grupa  $\alpha V$  integrina posebno je bitna jer obezbeđuje širenje ćelija u matriksu, koji sadrži vitronektin i fibrinogen, obezbeđujući na taj način ćelijsko preživljavanje. In vitro blokiranje  $\alpha V$  integrina, antagonistima visokog afiniteta, dolazi do inhibicije neovaskularizacije (48, 50, 54).

U preeklampsiji i drugim hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći, citotrofoblastne ćelije nemaju sposobnost diferencijacije i ekspresije adhezionih molekula kao u normalnoj trudnoći, što onemogućava njihovo pravilno povezivanje sa maternalnim krvnim sudovima. Postavlja se pitanje da li ovako funkcionalno oštećene ćelije mogu da utiču na funkcionalne promene maternalnog endotela u dubljim slojevima ovih krvnih sudova, što bi moglo objasniti multisistemske promene kod majke (55).



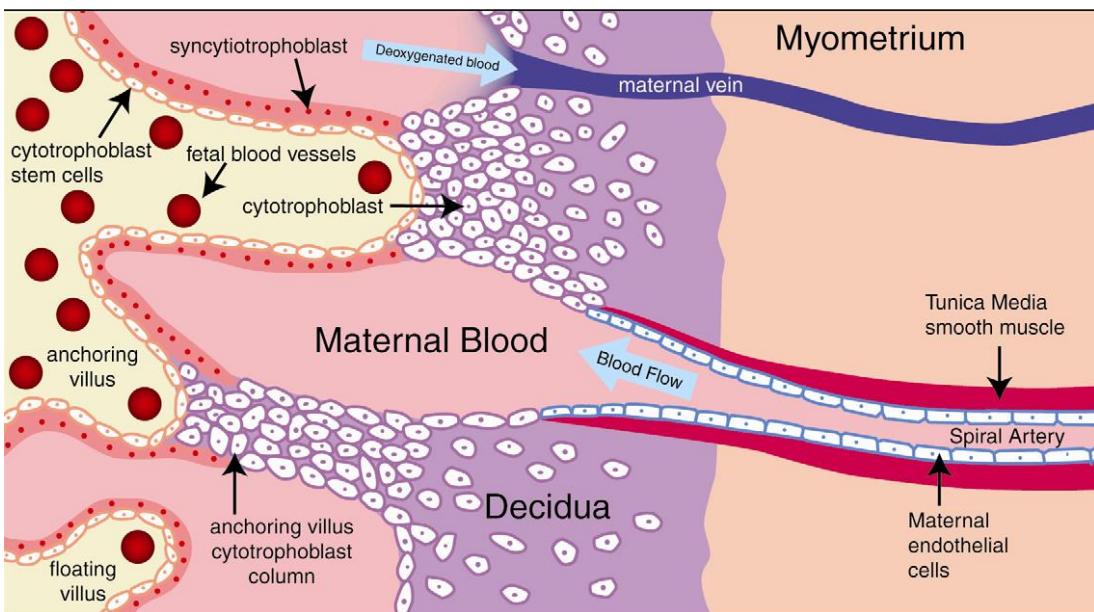
Slika 1. Placentalno vaskularno remodelovanje u zdravim trudnoćama. Preuzeto iz Lam C

et al. (56).



Slika 2. Neuspešno vaskularno remodelovanje u preeklampsiji. Preuzeto iz Lam C et

al.(56)



### 1.2.3 Angiogeneza i vaskulogeneza

S obzirom da u gravidnom uterusu postoji povećana potreba za snabdevanjem nutritijentima i kiseonikom, njegov vaskularni sistem prolazi kroz tri glavna procesa vaskularne adaptacije: vazodilatacija, povećana permeabilnost i rast i razvoj novih krvnih sudova. Placenta je izuzetno dobro vaskularizovan organ koji sadrži embrionalne i maternalne krvne sudove. Za uspešan razvoj placente neophodna je trofoblastna invazija decidue, vaskularizacija trofoblasta kako bi se uspostavila fetoplacentalna mreža krvnih sudova i remodelovanje maternalnih spiralnih arterija kako bi se omogućilo uspostavljanje uteroplacentalne cirkulacije. Placentalna vaskularna mreža se razvija putem složenih procesa angiogeneze i vaskulogeneze, koji imaju ključnu ulogu u ostvarivanju ovih koraka (57). Vaskulogeneza predstavlja generisanje krvnih sudova iz endotelnih progenitorskih ćelija angioblasta i sastoji se iz nekoliko koraka: indukcije hemangioblasta i angioblasta pomoću fibroblastnog faktora rasta (FGF), generisanje primarnih krvnih sudova pomoću familije vaskularnih endotelih faktora rasta (VEGF) i njihovih receptora i prelazak sa vaskulogeneze na procese angiogeneze. Angiogeneza predstavlja proces stvaranja novih krvnih sudova iz već postojećih, i izuzetno je bitna za embrionalnu implantaciju i razvoj placente ali i za mnogobrojne druge procese: zarastanja rana i preloma, formiranja žutog tela i rasta endotemtrijuma. Patološki procesi angiogeneze predstavljaju patofiziološku osnovu pojave tumora i njihovih metastaza, reumatoidnog artritisa, hroničnih zapaljenskih procesa, psorijaze i dr. (58).

Na značaj ovih procesa u trudnoći ukazuje i to što se prvi znaci placentalne vaskulogeneze mogu uočiti već 21. dana od začeća, kada se ekstraembrionalne mezenhimalne ćelije diferenciraju u endotelne ćelije i formiraju prve kapilarne strukture fetalne placentalne vaskularne mreže (59).

### 1.2.3.1 Regulatorni faktori angiogeneze

Na inicijaciju i regulaciju angiogeneze utiče široki spektar faktora i medijatora. Zadatak ovih molekula je da obezbede adekvatnu permeabilnost krvnih sudova, stimulišu proteolitičku razgradnju ekstracelularnog matriksa (bazalne i retikularne lamine) pomoću specifičnih proteaza (kolagenaza i aktivatora plazminogena) i stimulišu proliferaciju endotelnih ćelija. Proces angiogeneze prolazi kroz nekoliko faza: migracija endotelnih ćelija izazvana hemotaksičnim faktorima, invazija ekstracelularnog matriksa, formiranja lumena krvnog suda i funkcionalna maturacija endotelnih ćelija putem regrutovanja pericita i glatko mišićnih ćelija (58, 60).

Najznačajniji medijatori angiogeneze su: citokini, hormoni, faktori rasta, hipoglikemija, hipoksija, komponente ekstracelularnog matriksa (laminin, fibronektin) i njihovi receptori ( $\alpha$ V integrini), matriksne metaloproteinaze (MMP) i njihovi tkivni inhibitori, proteaze (urokinaza, tkivni plazminogen aktivator), fibrin, inflamatorne ćelije, periciti i dr (46).

Tabela 2. Najznačajniji regulatorni faktori angiogeneze

Stimulatorni faktori angiogeneze	Angiostatični faktori (prirodni)
Angiopoietini	Angiostatin
aFGF, bFGF	Trombospondin
VEGF-A,-B,-C,-D	Endostatin
PlGF	TNF $\alpha$
PDGF	Prolaktin
GM-CSF	TXA <sub>2</sub>
Leptin	
IL-8	
Proliferin	
IGF-I	
TGF $\alpha$ , TGF $\beta$	
Hcg	
Estrogeni	
PGE <sub>1</sub> , PGE <sub>2</sub>	
TNF $\alpha$	

### 1.2.3.2 Familija vaskularnih endotelnih faktora rasta (VEGF)

Vaskularni endotelni faktori rasta predstavljaju familiju koja je do sada najviše izučavana u pogledu razjašnjenja patofizioloških osnova mnogobrojnih oboljenja uključujući i hipertenzivna oboljenja specifična za trudnoću, s obzirom da su ovi važni signalni proteini uključeni i u procese vaskulogeneze i angiogeneze. Sastoje se iz nekoliko članova: VEGF-A koji ima pet različitih izoformi (VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>145</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>189</sub> i VEGF<sub>206</sub>), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D i placentalni faktor rasta (PlGF). Sam naziv ove familije ukazuje da je njihova delovanje prvenstveno ograničeno na vaskularni endotel, iako mogu da imaju i delimičnog uticaja na

stimulaciju migracije monocitno/makrofagnih ćelija. Osnovna njihova funkcija je stimulacija endotelne ćelijske proliferacije i indukcija vaskularne permeabilnosti i propustljivosti. VEGF sve svoje funkcije ostvaruju vezivanjem za receptore vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGFRs), koji se nalaze na površini endotelnih ćelija, aktivirajući ih procesima dimerizacije i transfosforilacije nakon čega pokreću složene mehanizme ćelijske signalne transdukcije (61). Receptori imaju tri regiona: ekstracelularni vezujući segment, intarcelularni-citoplazmatski segment koji pokazuje tirozin kinaznu aktivnost i transmembransku prenosnicu koja povezuje ova dva segmenta. VEGF-A može da se veže za *fms-like* tirozin kinaza receptor 1 (VEGFR-1 ili Flt-1) i kinaza *insert domain* receptor (VEGFR-2 ili KDR), koji su postavljeni na endotelnim ćelijama. VEGFR-1 (Flt-1) se može naći u solubilnim formama u maternalnom serumu za vreme trudnoće. Smatra se da preko VEGFR-2, VEGF-A ostvaruje praktično sve svoje funkcije (mitogenu, antiapoptotičku, proliferativnu, vazodilatatornu kao i kontrolu i stimulaciju endotelne hemotaksične aktivnosti i indukciju sinteze kolagenaza i proteaza) (62). Tačna uloga VEGFR-1/Flt-1 još uvek nije dovoljno ispitana, iako rezultati pojedinih studija ukazuju da ovaj receptor kontroliše i modulira aktivnost VEGF-A preko VEGFR-2 receptora. Smatra se da Flt-1 receptor negativno deluje na funkcije VEGF-A, tako što ili deluje kao receptor mamac, ili suprimira signalizaciju preko VEGFR-2 receptora. Receptor mamac je solubilna forma Flt-1 receptora (sFlt-1), kome nedostaju citoplazmatski i transmembranski domen, ali ono što je najbitnije zadržava ligand vezujući domen. Kao slobodan endogeno izlučeni protein ima sposobnost da hvata VEGF-A u cirkulaciji, sprečavajući njegovo vezivanje za funkcijski aktivan receptor. VEGF-C i VEGF-D se vezuju za treću grupu VEGF receptora (VEGFR-3) preko koga kontrolišu procese limfangiogeneze (49, 63).

Endometrijum, decidua i placenta predstavljaju bogat izvor angiogenih supstanci, s obzirom da oni učestvuju u regulaciji formiranja krvnih sudova kao i maternalnoj vaskularnoj adaptaciji na povećane potrebe u trudnoći. VEGF i njihovi receptori se mogu detektovati dosta rano, već prilikom invazije trofoblastnih ćelija u maternalno tkivo, prvenstveno indukujući razvoj vaskularne mreže. Nalaze se u maternalnim decidualnim ćelijama i citotrofoblastu, dok se od VEGF receptora jedino Flt-1 lokalizuje u ekstraviloznom trofoblastu (64). Ovakva lokalizacija može ukazivati da VEGF/Flt-1 osovina ima uticaja na ranu trofoblastnu diferencijaciju, migraciju i invaziju. Studije pokazuju da se sFlt-1 prvenstveno lokalizuje na sinciciotrofoblastu, i da lučenjem u maternalnu cirkulaciju reguliše sistemsku vaskularnu homeostazu. VEGFR-2 receptori su isključivo lokalizovani na endotelnim ili mezenhimalnim ćelijama iz kojih endotelne ćelije nastaju, što ukazuje da je VEGF/VEGFR-2 osovina neophodna za razvoj primarne vaskularne mreže. VEGF-A i PlGF se proizvode u velikim količinama u placenti i njihove koncentracije ostaju visoke tokom čitave trudnoće. VEGF-A se proizvode i u glomerularnim podocitima, verovatno stimulišući fenestraciju glomerularnog endotela (65).

Tokom trudnoće vrednosti sFlt-1 su konstantne do 20-24. nedelje gestacije, da bi posle toga progresivno rasle do kraja trudnoće. Vrednosti PlGF imaju obrnuti trend, progresivno rastu u prvom i drugom trimestru, da bi nakon toga došlo postepenog pada do kraja trudnoće (66, 67).

Tabela 3. Funkcije pojedinih članova porodice vaskularnih endotelih faktora rasta

VEGF-A	VEGF-B	VEGF-C	VEGF-D	PlGF
-Migracija endotelih ćelija	Embrionalna angiogeneza	Limfangiogeneza	Razvoj limfatičnog sistema oko bronhiola	Vaskulogeneza i angiogeneza
-Mitoza endotelih ćelija				
-Aktivnost matriksnih metaloproteinaza				
-Aktivnost $\alpha V\beta 3$ integrina				
-Formiranje lumena krvnog suda				
-Formiranje fenestri				
-Hemotaksa za monocito-makrofagne ćelije				
-Vazodilatacija (preko NO)				

#### 1.2.4 Patološka angiogeneza i hipertenzivna oboljenja u trudnoći

Faktori koji ometaju razvoj placentalne i adaptaciju materične vaskularne mreže na novonastale i rastuće potrebe, direktno ugrožavaju rast i razvoj ploda. Ovakvi poremećaji udruženi su sa većom stopom perinatalnog morbiditeta i mortaliteta u sklopu prevremenog porođaja, preeklampsije, intrauterinog zastoja u razvoju i smrti ploda. Upoređivanjem placenti kod intrauterine smrti ploda u odnosu na arteficialne abortuse, uočeno je da su horionske resice u prvom slučaju daleko slabije prokrvljene, sa znacima fibroze i degeneracije. Pregledom placenti u

intrauterinom zastoju u razvoju ploda i preeklampsiji, uočeno je postojanje potpuno avaskularizovanih horionskih resica, sa znacima hroničnog zapaljenja i hemoragijskog endovaskulitisa (68). Povezano sa tim, ispitivanjem angiogenetskih faktora u patološkim trudnoćama, uočeno je postojanje deficita VEGF-A i PlGF u serumu majki kao i umbilikalnoj veni, i snižene vrednosti iRNK za VEGF-A i njegov receptor Flt-1 u bioplatima preeklamptičnih placenti. Mnogobrojne studije ukazuju na visoke nivoe cirkulatornog sFlt-1 i niske vrednosti slobodnog VEGF-A i PlGF, kod pacijentkinja sa preeklampsijom, neposredno pre porođaja, pri čemu se te vrednosti normalizuju 48-72 sata nakon porođaja. Takođe, koncentracije sFlt-1 su 4-5 puta veće u materičnoj veni u odnosu na perifernu krv, što ukazuje da je glavni izvor lučenja ovog proteina placenta (56, 69).

Rezultati ovih studija ukazuju da prekomerna produkcija sFlt-1, koji deluje kao antiangiogeni faktor, putem zarobljavanja slobodnih VEGF-A i PlGF molekula, onemogućava ispoljavanje njihove pune biološke funkcije. Na taj način VEGF-A ne može da ostvari svoju funkciju u regulaciji vaskularnog tonusa i krvnog pritiska, putem indukcije sinteze azot monoksida (NO) i prostaciklina u endotelnim ćelijama, kao i ulogu u održavanju integriteta glomerularne membrane, što sve dovodi do nastanka simptoma karakterističnih za preeklampsiju a to su hipertenzija i proteinurija (62, 70).

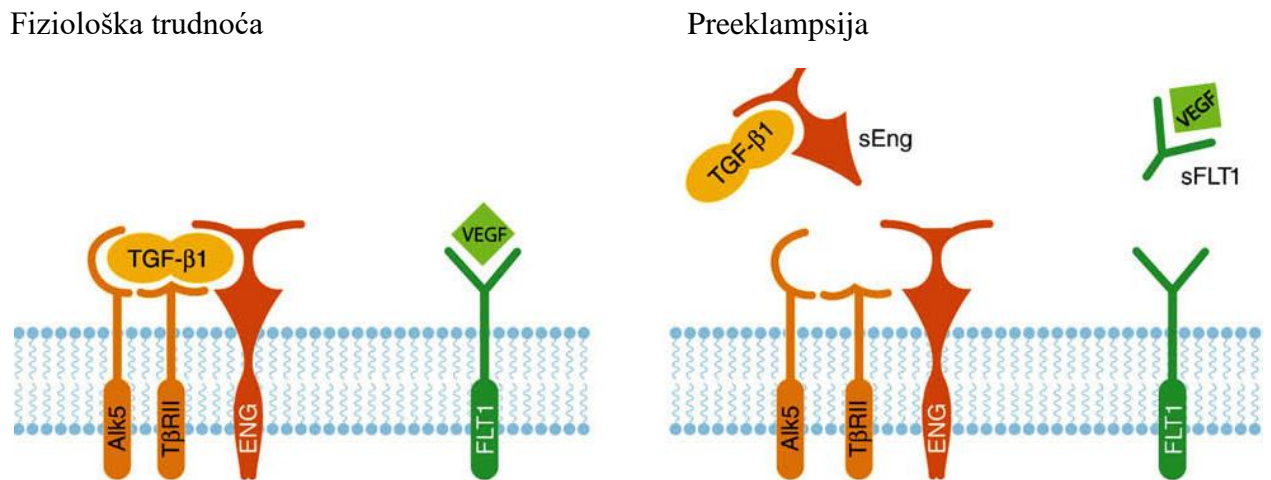
Promene u koncentracijama VEGF-A i sFlt-1 su daleko veće kod rane preeklampsije i njene udruženosti sa malim plodom za gestacijsku nedelju porođaja, nego u ostalim slučajevima preeklampsije (71).

Pored sFlt-1, pronađeni su i drugi solubilni antiangiogeni proteini koji se produkuju u placenti. Jedan od njih je solubilni endoglin. Endoglin je angiogeni receptor koji se nalazi na



površini endotelnih ćelija i placentalnog sinciciotrofoblasta. Deluje kao ko-receptor za transformišući faktor rasta  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), koji je moćan proangiogeni molekul na endotelnim ćelijama. TGF- $\beta$  kao i VEGF-A ima stimulatívno dejstvo na aktivaciju sintetaze azotnog oksida (NOS) i promoviše relaksaciju tonusa krvnih sudova. Solubilna forma endoglina (sEndoglin) je antiangiogeni faktor kao i sFlt-1, tako što inhibiše funkcije TGF- $\beta$  u vaskularnoj mreži (72). Pored toga, studije na miševima su pokazale da on ima dodatnu sposobnost da pojačava negativno dejstvo sFlt-1, pogoršavajući kliničke manifestacije bolesti. Klinička ispitivanja su pokazala da VEGF-A i TGF- $\beta$ 1 stimulišu produkciju prostaciklina (PGI<sub>2</sub>). Kao posledica sinergističnog dejstva sFlt-1 i sEndoglina dolazi do znatnog smanjenja endotelne produkcije prostaciklina koji obezbeđuje vazodilataciju i sprečava aktivaciju trombocita (73).

Slika 3. Uloga solubilnih formi mamac receptora (sFlt-1 i sEndoglin) u sprečavanju interakcije sa punim formama ovih receptora u preeklampsiji. Preuzeto iz Karumanchi SA et al. (74)



S obzirom da u preeklampsiji, intrauterinom zastoju u razvoju ploda, odlubljivanju posteljice i idiopatskoj intrauterinoj smrti ploda postoji nedovoljna trofoblasna invazija, nepotpuno remodelovanje spiralnih arterija i uteroplacentalna hipoperfuzija, postavlja se pitanje da li ova

ishemija predstavlja okidač za nastanak disbalansa u procesima angiogeneze i sledstvene ekscesivne produkcije antangiogenih faktora (75).

Koncentracije sFlt-1 su povišene u većini slučajeva preeklampsije ali u 50% blagih formi, vrednosti sFlt-1 ostaju niske. Ovakvi podaci nameću pitanje da li, pored placentalne ishemije i ekscesivne produkcije antiangiogenih faktora, postoje još neki dodatni faktori koji mogu da predstavljaju okidače za nastanak bolesti. Pretpostavlja se da postoji granični nivo koncentracije sFlt-1 koji ako se pređe dovodi do razvoja bolesti (76). Međutim, ako uz normalne vrednosti sFlt-1 dodamo još neki predisponirajući faktor, bolest će se ispoljiti i pri nižim vrednostima sFlt-1. Smatra se da određeni predisponirajući faktori mogu da povećaju senzitivnost maternalnog endotela na njihovo prisustvo i na taj način uzrokuju nastanak ovih oboljenja. Najznačajniji predisponirajući faktori su gojaznost, hronična hipertenzija, bubrežna oboljenja, diabetes, vaskulitisi i dr (75).

### **1.2.5 Imunološki mehanizmi u razvoju hipertenzivnih oboljenja u trudnoći**

Uočeno je da se preeklampsija češće javlja u prvoj trudnoći, u trudnoći nakon promene partnera, kod kraćeg kontakta sa semenom tečnošću pre trudnoće, ukoliko je vremenski razmak između trudnoća bio suviše dugačak ili kratak, ukoliko su se koristila mehanička kontraceptivna sredstva (smanjen kontakt sa semenom tečnošću), intracitoplazmatskim unošenjem sperme u postupcima *in vitro* fertilizacije i inseminacijom sa spermom donora. Ovakvi podaci ukazuju da je za neometani rast i razvoj ploda, pored adekvatne implantacije začetka i razvoja placente, neophodno i imunološko prilagođavanje majke na fetoplacentalno tkivo (77, 78).

Fetus je genetski strano tkivo i predstavlja pravi imunološki izazov i opterećenje za majku. U normalnoj trudnoći postoji imunološki specifičan i strogo kontrolisan inflamatorni odgovor na

antigenske stimulse fetoplacentalnog semialografta, tako što maternalne imunokompetentne T ćelije ne dolaze u direktan kontakt sa fetusom, već komuniciraju sa viloznim trofoblastom (kome nedostaje ekspresija antigena glavnog kompleksa tkivne podudarnosti-MHC) i ekstraviloznim trofoblastom koji eksprimira samo određene humane leukocitne antigene-HLA (79).

Sa stanovišta proučavanja preeklampsije, smatra se da u ranoj trudnoći postoje dve ključne imunološke tačke sučeljavanja u placenti. Prvo sučeljavanje je između maternalnih imunih ćelija i ekstraviloznog trofoblasta u decidui, koje dominira tokom prve polovine trudnoće i koje se povezuje sa inhibicijom placentacije u preeklampsiji. Drugo sučeljavanje je na sinciciotrofoblastu, sa ćelijama koje se nalaze u maternalnoj cirkulaciji i koje postaje aktivno posle 10. nedelje gestacije kada se intervilozna cirkulacija u potpunosti uspostavi. Takva vrsta imunološke interakcije dominira u drugoj polovini trudnoće i povezuje se sa preteranim sistemskim inflamatornim odgovorom majke u preeklampsiji (80).

Imunološka interakcija između majke i placente zavisi isključivo od vrste MHC antigena koji su ekspimirani od strane trofoblasta. Decidualni (ekstravilozni trofoblast) na prvoj tački sučeljavanja ne eksprimira strogo polimorfne HLA-A, HLA-B (MHC tip 1a) i HLA-D (MHC tip2) antigene koji su glavni stimulatori T ćelijski zavisnog odbacivanja grafta, ali eksprimuje jedinstvenu kombinaciju HLA-C i neklasične MHC tip 1b antigene: HLA-E i HLA-G. HLA-C je jedini polimorfan što znači da samostalno može da eksprimira paternalne aloantigene, dok je HLA-E široko rasprostanjen i prepoznaju ga inhibitorni receptori specifičnih ćelija prirodnih ubica (NK). HLA-G je specifičan placentalni antigen ekstraviloznog trofoblasta. Na drugoj tački sučeljavanja, sinciciotrofoblast je HLA negativan i imunološki neutralan. Ključni momenat je taj što su paternalni aloantigeni ekspimirani samo na prvoj tački sučeljavanja koja dominira za vreme

rane i prve polovine trudnoće, kada može doći do poremećaja placentacije koja kasnije dovodi do pojave preeklampsije ili zastoja u razvoju ploda (81, 82).

Decidua je imunološki bogato tkivo, koje je za vreme lutealne faze menstrucionog ciklusa infiltrirano sa 75% NK ćelija i nešto malo makrofaga. NK ćelije materice (uNK) se razlikuju od ostalih NK ćelija, imaju mnogo veću aktivnost, manju citotoksičnost i povećani kapacitet za sekrecijom citokina i angiogenih faktora koji stimulišu trofoblastnu infiltraciju spiralnih arterija. uNK ćelije nose receptore koji mogu da reaguju sa jedinstvenim setom HLA antigena eksprimiranih od strane trofoblasta (HLA-C, HLA-E i HLA-G). HLA-C antigen koji je jedini polimorfan, predstavlja ligand za *killer immunoglobulin-like receptors* (KIR) koga eksprimiraju uNK ćelije. Postoji nekoliko haplotipova za KIR receptore, koji se mogu podeliti u dve grupe u zavisnosti od njihove funkcije: jednostavnija KIR A grupa koja kodira inhibitorne KIR receptore i znatno složenija KIR B grupa koja kodira stimulative KIR odnosno NK ćelije. Glavni receptori za HLA-G su inhibitorni *leukocyte immunoglobulin-like receptors* (LIR-1 i LIR-2) koje eksprimiraju monociti, NK ćelije, T ćelije i makrofagi. Ovakav repertoar trofoblastnih MHC antigena na prvoj tački sučeljavanja ukazuje na promovisanje imunološke inhibicije u ranoj trudnoći. U imunološkoj interakciji i prepoznavanju između majke i fetusa osnovnu ulogu imaju NK a ne T ćelije, s obzirom da trofoblast prilikom invazije prvenstveno dolazi u kontakt sa ovom vrstom maternalnim limfocita, tako što uNK ćelije eksprimiraju jedinstveni set KIR receptora koji prepoznaju tačnu kombinaciju HLA antigena, a što je najbitnije prepoznaju i vezuju polimorfni HLA-C antigen. Smatra se da imunološka kombinacija maternalnog HLA-C2 sa fetalnim KIR BB, promoviše adekvatnu placentaciju i deluje protektivno u odnosu na razvoj preeklampsije, dok je preeklampsija češća kod majki homozigota sa inhibitornim KIR haplotipom AA u kombinaciji sa fetalnim HLA-C2 haplotipom (83).

Smatra se da u normalnoj trudnoći postoji sklonost predominacije aktivnosti podgrupe 2 pomoćnih T limfocita (Th2) u odnosu na podgrupu 1 pomoćnih T limfocita 1 (Th1), što deluje protektivno na održavanje trudnoće. Th2 ćelije imaju sposobnost regulacije i kontrole inflamatornih procesa putem promovisanja humoralnog imuniteta i sinteze Th2 specifičnih citokina-interleukina (IL): IL-4, IL-5, IL-10 i IL-13. Th1 ćelije imaju sposobnost indukcije inflamatornih procesa tako što promovišu ćelijski posredovani imunitet putem produkcije Th1 specifičnih citokina: IL-2 i interferon gama (IFN- $\gamma$ ) koji su odgovorni za odbacivanje stranog tkiva (84). Međutim, prethodno izneta hipoteza je samo delimično tačna jer se i normalna trudnoća karakteriše niskim stepenom sistemske inflamacije. Utvrđeno je da stimulisani monociti u perifernoj krvi i u normalnoj trudnoći produkuju više Th1 citokina kao što je IL-12 nego van trudnoće, pri čemu je IL-12 potentni stimulator produkcije IFN- $\gamma$ . Ovo ukazuje na činjenicu da je inflamatorni sistem u trudnoći izuzetno osetljiv, i da svaki jak stimulus može lako dovesti do predominacije lučenja Th1 citokina (85, 86).

Smatra se da sistemska inflamacija predstavlja normalan odgovor organizma majke na novonastalu trudnoću i jednu vrstu fiziološke adaptacije. Na to ukazuju i povišene vrednosti reaktanata akutne faze kao što su C-reaktivni protein, ukupan broj leukocita, snižene vrednosti albumina kao i stimulacija aktivacije sistema komplementa, trombocita, faktora koagulacije i markera endotelne aktivacije. Takođe su u normalnoj trudnoći povišene vrednosti IL-6 i tumor nekrotišućeg faktora- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ).

U preeklampsiji postoji izražen imunološki i sistemski inflamatorni odgovor, sa promenama u funkciji monocita i NK ćelija, sa daleko intenzivnijom i većom produkcijom citokina, hemokina, adipokina, angiogenih, antiangiogenih faktora i aktivacijom proinflamatornog angiotenzin II podtipa 1 (AT1) receptora. Ovako aktivisani neutrofilni granulociti, monociti i NK

ćelije mogu da indukuju endotelnu aktivaciju. Pretpostavlja se da izvor lučenja velike količine proinflammatoryh citokina u preeklampsiji predstavlja sinciotrofoblast koji luči brojne proinflammatorye proteine: VEGF-A, sFlt-1, sEndoglin, Aktivin-A, Leptin i dr. (87) Inflammatory procesi koji dovode do pojave preeklampsije su sastavni deo i normalne trudnoće, tako da je preeklampsija samo deo kontinuuma u kome do oboljenja dolazi kada sistemska inflamacija nadvlada maternalne kompenzatorne mehanizme. Hronična hipertenzija, dijabetes i gojaznost su poznati faktori rizika za nastanak preeklampsije, i u njihovoj osnovi leži hronična inflamacija niskog intenziteta. Pretpostavka je da ovi metabolički poremećaji dovode do poremećaja odnosa proinflammatoryh i antiinflammatoryh faktora, tako da u trudnoći dolazi do ranijeg ispoljavanja sistemskih komplikacija kao posledica dekompenzacije maternalnih odbrambenih sistema. Iz svega navedenog može se zaključiti da preeklampsija može nastati „de novo“ kao posledica poremećaja placentacije (placentalna preeklampsija) ili nadovezati na prethodno postojeću hroničnu inflamaciju (maternalna preeklampsija) (88-90).

### **1.2.6 Uloga genetskih faktora u hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći**

Preeklampsija i druga hipertenzivna oboljenja u trudnoći predstavljaju složene etiopatogenetske poremećaje u kojima je neophodno sadejstvo više faktora da bi došlo do kliničkog ispoljavanja bolesti. Različiti patofiziološki mehanizmi (imunološki, inflammatory, koagulacioni, ishemijski) u kombinaciji sa neadekvatnom placentacijom ili trudnoćom indukovanom hipertenzijom dovode do nastanka oboljenja. Činjenica je, da bez obzira na to koji patofiziološki mehanizam leži u osnovi nastanka hipertenzivnih oboljenja u trudnoći, svaki njegov aspekt uključuje aktivaciju i delovanje nekog receptora, liganda ili kaskade inhibitornih ili stimulatornih modulatora, koji su svi produkti genske ekspresije i genotipa i pod kontrolom su ili majčinih ili fetalnih gena (91).

Uočeno je da se preeklampsija češće javlja unutar porodica u kojima je neko od bližih srodnika ima preeklampsiju (baka, majka ili sestra). Rizik za pojavu ovog oboljenja, ukoliko je majka imala preeklampsiju, kod ćerki iznosi čak 20-40%, dok je taj rizik između sestara 11-37%. Majke afro-američkog porekla imaju veću incidenciju preeklampsije u odnosu na ostale etničke grupe nezavisno od socioekonomskog statusa. Iz ovakvih činjenica jasno je da geni imaju određenu ulogu u nastanku specifičnih hipertenzivnih poremećaja u trudnoći (92).

Rezultati istraživanja o ulozi gena u nastanku preeklampsije, ukazuju da je ovo oboljenje multifaktorijalno, poligeno i etiološki heterogeno, što znači da geni ne mogu biti jedini odgovorni za nastanak ovog oboljenja, već određeni genotip može samo da poveća rizik da će do oboljenja doći. Takođe ne može uvek biti odgovorna jedna ista grupa gena za različite slučajeve preeklampsije. Smatra se da u preeklampsiji postoji sadejstvo više faktora od čijeg kumulativnog učinka zavisi da li će se preći odgovarajuća kritička tačka preko koje sigurno dolazi do ispoljavanja bolesti. Geni ovde predstavljaju samo deo slagalice, s obzirom da je kod jedne majke za nastanak preeklampsije pored prisustva određenih gena neophodno prisustvo provocirajućih faktora (blizanačka ili multipla trudnoća), dok je kod druge majke taj dodatno faktor dijabetes ili gojaznost (93).

Brojne studije, koje su se bavile izučavanjem pojave preeklampsije kod mono i dizigotnih blizanaca, uočile su nisku penetrantnost gena u preeklampsiji koja je bila manja od 50%, dok su segregacione studije u cilju razjašnjenja načina genetskog nasleđivanja, uočile da su majčinski geni bitniji od fetalnih za nastanak preeklampsije, jer se češće javlja kod ćerki i sestara nego kod očeva iz preeklamptičnih trudnoća. S obzirom da preeklampsija nije pronađena kod drugih primata, pretpostavka je da se gen za preeklampsiju održava dovoljno dugo kod ljudi, zahvaljujući ili čestim mutacijama ili pozitivnom selekcijom na nekoj drugoj osnovi. Najnovije studije usmerene su na

pronalaženja suspektnih alela i njihovih mutacija putem praćenja populacije žena koje imaju preeklampsiju (94). Pronađeno je da STOX1 gen, na kritičnim regionima 10q22, 2p12, 2p25,9p13 sadrži genetske mutacije, pri čemu se varijacija ovog gena -Y153H može povezati sa nastankom preeklampsije samo ako se mutacija nastala kod majke direktno prenese na decu rođenu iz preeklamptične trudnoće (95). U brojnim „linkage“ studijama objavljeni su rezultati o pronalaženju određenih lokusa na hromozomima povezanih sa nastankom preeklampsije (2p13, 10q, 22q, 2p25,11q23-24 i dr.) U opsežnim „asocijativnim studijama“, više od 70 gena je ispitivano u pogledu njihove povezanosti sa preeklampsijom, pri čemu je samo nekoliko gena, odnosno njihovih direktnih proteinskih produkata dovedeno u vezu sa nastankom ovog oboljenja (96).

Polimorfizam faktora V Leiden (F5) na lokusu 1q23, predstavlja najčešće proučavani polimorfizam, čija mutacija sprečava normalnu degradaciju aktivisanog faktora V. S obzirom da u ovom slučaju, faktor V zadržava svoju prokoagulantnu aktivnost, pacijenti sa ovim polimorfizmom su predisponirani za nastanak brojnih tromboembolijskih komplikacija u trudnoći. Smatra se da u takvom maternalnom hiperkoagulabilnom stanju sa usporenim tokom krvi u interviloznom prostoru i disfunkcijom trofoblata dolazi do povećanog placentalnog odlaganja fibrina , što rezultuje pojavom multiple infarkcije trofoblata i placente što je osnovna karakteristika preeklampsije (97, 98).

Polimorfizam C677T metilentetrahidrofolat reduktaze (MTHFR) na 1p36.3 lokusu hromozoma 1, je identifikovan kao faktor rizika za nastanak vaskularnih bolesti, međutim većina studija nije uspela da utvrdi njihovu povezanost sa preeklampsijom ukoliko ovaj polimorfizam nije bio udružen sa drugim (F2 ili F5) polimorfizmima (99).



Polimorfizam angiotenzinogena (AGT): T235 na 1q42-q43 je proučavan u nekoliko studija, s o bzirom da se ovakva molekularna varijacija dovodi u vezu sa poremećajima karakterističnim za preeklampsiju: poremećaj renin-angiotenzin-aldosteron sistema i oštećene kontrole ekstracelularnog volumena tečnosti.

Polimorfizam protrombina, Faktor II (F2): G20210A na 11p11-q12 lokusu najviše je proučavan u grupi sa drugim polimorfizmima, u grupi tzv. „trombofilija“ gena (100).

Proučavana je povezanost i drugih polimorfizama sa nastankom preeklampsije: endotelne sintetaze azotnog oksida (NOS3) na lokusu 7q36, humanog leukocitnog antigena (HLA) na lokusu 6p21,3, angiotenzin konvertujućeg enzima na lokusu 17q23 i dr (101).

Za ispitivanje preeklampsije sa stanovišta genetike, neophodno je istraživanje ne samo pojedinačnih gena već čitavog genoma kako bi se utvrdili novi geni, nekodirajuće sekvence i mehanizmi kojima geni regulišu i kodiraju proteinsku ekspresiju. Mnogobrojne studije usmerene su na ispitivanje pojedinačnih nukleotidnih polimorfizama i strukturnih varijacija DNK segmenata (delecije, duplikacije, insercije, translokacije i dr.) u cilju pronalaženja njihove biološke poveznosti sa nastankom ovako složenih oboljenja kao što je preeklampsija (102, 103).

### **1.2.7 Vaskularni endotel u patogenezi hipertenzivnih oboljenja u trudnoći**

Endotelne ćelije zauzimaju površinu od preko 1000m<sup>2</sup>. S obzirom na brojne funkcije koje ostvaruju, endotelne ćelije predstavljaju dinamičan vaskularni organ koji putem sekrecije molekula direktno u cirkulaciju, obezbeđuje kontakt sa praktično svim ćelijama u organizmu. Sa druge strane, endotelne ćelije predstavljaju ciljni organ za vezivanje brojnih molekula (citokina, lipoproteina, trombocita, leukocita, antitela i dr.) Najbitnija uloga vaskularnog endotela jeste

održavanje homeostaze kako bi se neometano mogle ostvarivati brojne fiziološke funkcije organizma (104).

Prvi podaci o preeklampsiji kao „bolesti endotela“ potiču još iz 1920. godine, kada je prvi put zabeleženo oštećenje endotela bubrega kod ovih trudnica, dok je 1960. godine pomoću elektronskog mikroskopa uočeno postojanje lezija u vidu glomerularne kapilarne endotelioze. U perifernoj krvi ovih trudnica pronađeni su i drugi znaci endotelne aktivacije i disfunkcije: povišene vrednosti vonWillebrandovog faktora (vWF), celularnog fibronektina, trombomodulina i drugih molekula. Sama klinička slika preeklampsije, sa znacima oštećenja mnogih organa kao što su cerebralna ishemija, konvulzije, pleuralna efuzija, hepatička disfunkcija, ascites, periferni edemi i renalna oštećenja sa proteinurijom, ukazuju na tesnu povezanost vaskularnog korita sa patofiziološkim dešavanjima u toku preeklampsije (105, 106).

#### **1.2.7.1 Aktivacija endotela u preeklampsiji**

Neadekvatna trofoblasna invazija, uteroplacentalna ishemija i drugi još uvek neprepoznati patološki procesi smatraju se inicijalnim događajima u preeklampsiji, koji putem stimulacije sekrecije angiogenih proteina, metaboličkih i inflamatornih medijatora, koji deluju kao vrsta cirkulatornih toksina, dovode do citokinske stimulacije i funkcionalne izmene endotelnih ćelija, odnosno endotelne disfunkcije (107). Aktivisani endotel dovodi do sinteze i sekrecije brojnih molekula kao što su prostanoide, endotelin-1, trombocitni faktor rasta, fibronektin, selektin i dr. čija je osnovna funkcija reparacija i otklanjanje uzroka koji je doveo do oštećenja endotela. Međutim, u hroničnim procesima kao što je preeklampsija, stalno podražavanje aktivacije endotela dovodi do suprotnih efekata, sa pojavom vazospazma, intravaskularne koagulacije, mikrotromboze i gubitka vaskularnog integriteta u nekoliko organskih sistema uključujući i

placentu, pri čemu ovi procesi perzistiraju sve dok se ne otklone inicijalni faktori koji su disfunkciju izazvali (108).

### **1.2.7.2 Medijatori inflamacije u endotelnoj disfunkciji**

Rezultati brojnih studija ukazuju da pojedini citokini predstavljaju potentne medijatore proinflamatornih procesa u preeklampsiji i drugim hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći. Jedan od najčešće izučavanih jeste TNF- $\alpha$ , koji ima sposobnost da putem aktivacije nikotinamid-adenindinukleotid-fosfat NAD(P)H oksidaze, produkcije superoksidnog anjona ( $O_2^-$ ) i skraćenjem poluživota informacione RNK (iRNK) za NOS, dovede do preovladavanja vazokonstriktornih u odnosu na vazodilatatorne supstance, i ošteti endotel zavisnu relaksaciji krvnih sudova. U mitohondrijama može da dovede do povećanja produkcije slobodnih kiseoničnih radikala. Takođe, TNF- $\alpha$  može direktno da indukuje stvaranje vazokonstriktora kao što su endotelin-1, čije su povišene vrednosti nađene u preeklampsiji (109). Smatra se odgovornim za povećanje ekspresije endotelnih adhezivnih molekula (intracelularni: ICAM-1 i vaskularni: VCAM-1 adhezivni molekuli) i tkivnih prokoagulantnih faktora, za inhibiciju trombomodulin-protein C aktivnosti i blokiranje razgradnje fibrina putem stimulacije inhibitora aktivatora plazminogena 1 (PAI-1). Svi ovi procesi dovode do proinflamatornih i prokoagulantnih stanja koja su karakteristična za preeklampsiju. Znatno povišene vrednosti TNF- $\alpha$  pronađene su u serumu preeklampsijskih trudnica, pri čemu su primarni izvori lučenja ovog citokina aktivisani limfociti i endotel, dok je u placenti pronađena povećana iRNK i proteinska ekspresija ovog citokina (110).

U preeklampsiji su pronađene povišene koncentracije i drugih citokina u maternalnoj plazmi i plodovoj vodi kao što su: IL-6, IL-8, granulocitno-monocitni faktor rasta (GM-CSF), granulocitni faktor rasta (G-CSF), antagonist IL-1receptora i dr. što ukazuje na značajnu ulogu citokina u endotelnoj disfunkciji u preeklampsiji (111).

VEGF-A pored toga što je snažan promoter angiogeneze, ima veliki uticaj na regulaciju vaskularnog tonusa putem indukcije stvaranja vazodilatatornih endotelnih molekula: NO i prostaciklina. Međutim, neke studije su objavile da VEGF-A u određenim slučajevima preeklampsije, ostvaruje sasvim suprotne efekte, odnosno deluje proinflamatorno povećavajući adheziju leukocita, permeabilnost krvnih sudova i ekspresiju ICAM-1 i VCAM-1 molekula. VEGF-A ima sposobnost da poveća otpuštanje matriksnih metaloproteinaza 2 (MMP-2) iz endotelnih ćelija, za koje se smatra da imaju snažno vazokonstriktorno dejstvo i promovišu agregaciju trombocita i aktivaciju leukocita (112).

Angiotenzin II poseduje vazokonstriktorna svojstva, međutim njegove vrednosti nisu nađene povišene u preeklampsiji, ali je nađena povećana ekspresija receptora za AngII (AT1R) u endotelnim ćelijama, koja dovodi do povećane produkcije citokina, aktivnosti ekstracelularnog matriksa i produkcije slobodnih radikala kiseonika putem direktne aktivacije NAD(P)H oksidaze. Povećana ekspresija AT1R u preeklampičnih trudnica, dovodi do stimulacije produkcije TNF- $\alpha$  u endotelnim ćelijama i sledstvenog povećanog stvaranja MMP-2 i sniženog oslobađanja njihovih tkivnih inhibitora TIMP-2 (113, 114).

Visoki nivoi laktoferina i elastaza kao specifičnih markera neutrofilne aktivacije in vivo, pronađene su kod preeklampičnih trudnica u serumu i decidualnoj placenti, kao i povećana antigenska ekspresija leukocita koja je znatno viša nego kod normotenzivnih trudnica (115).

Smatra se da citokini imaju kritičnu ulogu u nastanku endotelne disfunkcije u preeklampsiji, s obzirom da povećavaju koncentraciju vWF, smanjuju produkciju prostaciklina i dovode do neutrofilne aktivacije. Takođe mogu da povećaju ćelijsku ekspresiju adhezionih receptora i/ili liganda što dodatno, preko adhezionih molekula intenzivira neutrofilnu aktivaciju,

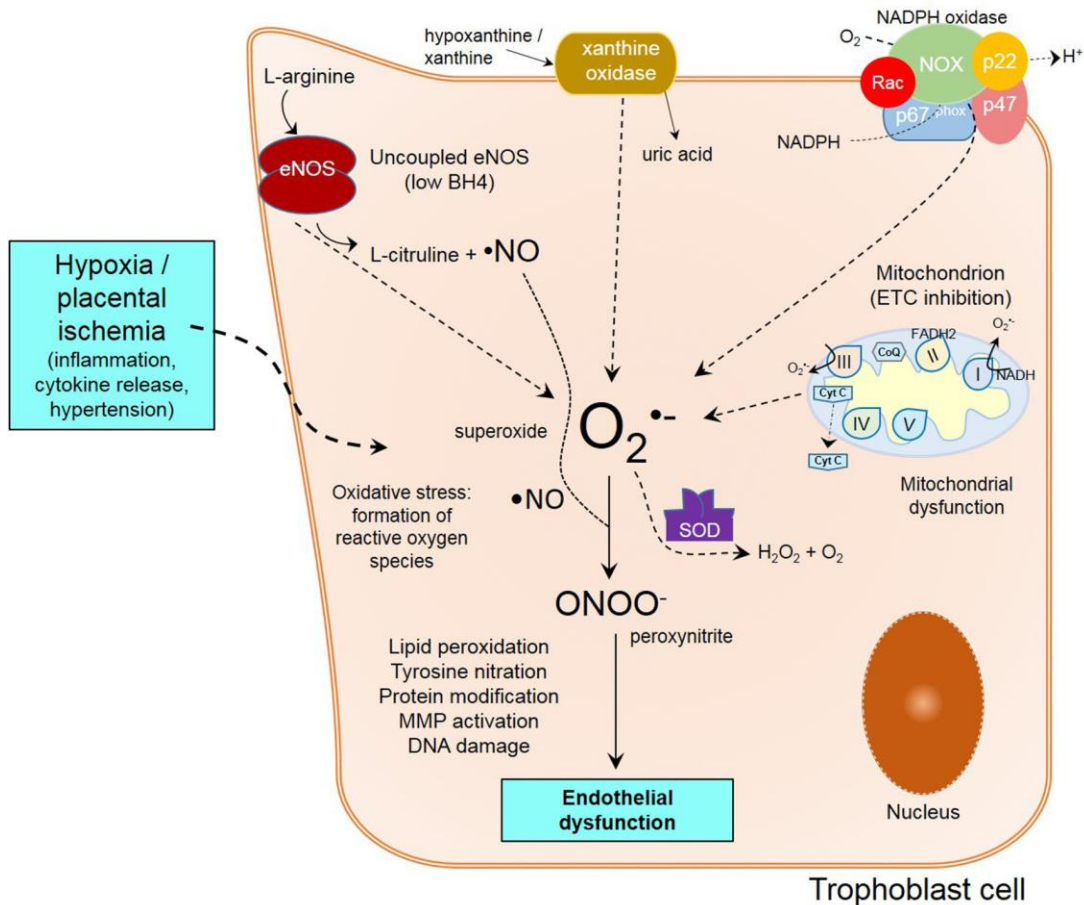
adheziju i ekstravazaciju. Istraživači na osnovu ovakvih podataka zaključuju da bi vaskularna inflamacija mogla imati primarnu ulogu u endotelnoj disfunkciji u preeklampsiji (114, 116).

### **1.2.7.3 Medijatori oksidativnog stresa i endotelna disfunkcija**

Oksidativni stres predstavlja disbalans između proizvodnje slobodnih radikala kiseonika i antioksidativnih kapaciteta organizma da te radikale neutrališe. Organizam se stalno nalazi u stanju borbe između ova dva procesa, pri čemu je taj stepen u trudnoći podignut na još viši nivo, zbog prilagođavanje organizma na novonastale metaboličke, imunološke, cirkulatorne i hormonske promene. Slobodni radikali dovode do lipidne peroksidacije membrana, oksidativne modifikacije lipoproteina, utiču na aktivnost NO kao potentnog vazodilatatornog faktora i mogu dovesti do mnogih strukturnih i funkcionalnih oštećenja proteina, ugljenih hidrata i DNK molekule (117). Izvori slobodnih radikala kiseonika se nalaze u brojnim ćelijskim strukturama: mitohondrijama, endoplazmatskom retikulumu, nuklearnim membranama gde nastaju autooksidacijom komponenata elektron transportnog lanca. Neutrofilni granulociti, ksantin oksidaza i citokini takođe proizvode slobodne radikale koji reaguju sa endotelnim ćelijama. Pronađeno je da TNF- $\alpha$  može izazvati oksidativni stres, direktnom stimulacijom produkcije oksidativnih radikala preko ksantin oksidaze, stimulacijom endotelne oksidacije lipoproteina niske gustine (LDL), produkcijom superoksid anjona ( $O_2^-$ ) iz aktivisanih neutrofila i što je najvažnije aktivacijom NAD(P)H oksidaze koji je najznačajniji izvor  $O_2^-$  u endotelnim ćelijama. Sa druge strane, u preeklampsiji su nađene snižene vrednosti vitamina C, E i drugih antioksidanasa, što ukazuje da problem nije samo u povećanoj produkciji kiseoničnih radikala što je karakteristika i fiziološke trudnoće, već i nesposobnost odbrambenih mehanizama da taj oksidativni stres kompenzuje (118, 119).

Slika 4. Mehanizmi endotelne disfunkcije u preeklampsiji. Preuzeto iz Sanchez-Aranguren

LC et al. (120)



Na osnovu iznetih činjenica pretpostavka je da faktori inicijacije (placentalna ishemija i produkcija citokina) u kombinaciji sa maternalnim konstitucionalnim faktorima (genski polimorfizam, kapacitet antioksidativnih rezervi, gojaznost, lipidski poremećaji), dovode do preovladavanja proinflamatornih procesa i nastanka oksidativnog stresa i endotelne disfunkcije u preeklampsiji. S obzirom da je pronađeno da novorođenčad iz preeklampsičnih trudnoća imaju manju učestalost perinatalne intraventrikularne hemoragije i cerebralne paralize u odnosu na normotenzivne trudnice, pretpostavka je da klinički sindrom preeklampsije predstavlja zaštitnu reakciju majke sa ciljem adaptacije fetusa na placentalnu hipoperfuziju (121-123).

#### **1.2.7.4 Promene u metabolizmu lipida i insulina tokom trudnoće**

Normalno napredovanje rasta i razvoja fetoplacentalne jedinice tokom trudnoće, zahteva intenzivna prilagođavanja metaboličkih procesa kod majke, kako bi ponuda nutritijenata bila adekvatna. U prva dva trimestra trudnoće, kada organogeneza predstavlja dominantan proces, preovladavaju anabolički procesi u cilju akumulacije i uskladištenja velike količine nutritijenata, što se i očituje nagomilavanjem maternalnog masnog tkiva. U odnosu na stanje van trudnoće, u ovom periodu glukozna tolerancija je očuvana ili blago povišena, a insulinska senzitivnost u perifernim tkivima kao i produkcija glukoze u jetri je normalna. Poslednji trimestar trudnoće karakteriše intezivan fetalni i placentalni rast, sa preovladavanjem kataboličkih procesa kako bi se obezbedila neophodna energija za rast ploda (124). S obzirom da je glukoza glavni energetski izvor, dolazi do pojave lakšeg stepena insulinske rezistencije kako bi se povećale koncentracije glukoze, lipida i aminokiselina koje difunduju kroz placentu. Humani placentalni laktogen, čije se vrednosti povećavaju kako trudnoća odmiče, deluje lipolitički na masno tkivo i oslobađa velike koncentracije slobodnih masnih kiselina u cirkulaciju. Smatra se da pored hormona placente, TNF- $\alpha$  i adipokin-leptin učestvuju u nastanku blage insulinske rezistencije u trudnoći(125).

Glicerol i slobodne masne kiseline se preuzimaju u jetri radi reesterifikacije i sinteze lipoproteina veoma niske gustine (VLDL), čestica koje su bogate trigliceridima. Visoke koncentracije estrogena i snižena hepatocitna beta oksidacija dodatno povećavaju produkciju VLDL čestica, toliko da su vrednosti ovih lipoproteina 50-300% veće u odnosu na stanje van trudnoće, pri čemu se više vrednosti triglicerida nalaze i u lipoproteinima srednje gustine (IDL), LDL i lipoproteinima visoke gustine (HDL). Lipoproteinska lipaza vrši hidrolizu lipoproteinskih triglicerida sa oslobađanjem slobodnih masnih kiselina i monoacil glicerola, kako bi se ovi produkti iskoristili u perifernim tkivima. Međutim u trudnoći, aktivnost lipoproteinske lipaze se

zbog insulinske rezistencije i dejstva hormona snižava, što dovodi do smanjenog klirensa lipoproteina bogatih trigliceridima iz cirkulacije (126).

Samo slobodne masne kiseline i glicerol mogu da prođu placentalni sinciotrofoblast do fetalne cirkulacije. Nakon reesterifikacije u trofoblastima oni postaju rezervoari energije, koji se nakon intarcelularne hidrolize otpuštaju u plazmu gde se vezuju za  $\alpha$ -fetoprotein i transportuju do fetalne jetre. U trofoblastnoj mikroviloznoj membrani pronađen je oblik lipoproteinske lipaze koji je neosetljiv na insulin i koji hidrolizom lipoproteinskih triglicerida obezbeđuje slobodne masne kiseline neophodne fetusu (127).

Vrednosti ukupnog holesterola rastu tokom trudnoće i veće su za čak 50% u odnosu na stanje pre trudnoće, pri čemu fetalno tkivo dobija sposobnost sinteze sopstvenog holesterola u kasnoj trudnoći. Takođe i vrednosti HDL holesterola rastu pod uticajem estrogena i visoke vrednosti se održavaju tokom čitave trudnoće (128).

#### **1.2.7.4.1 Gojaznost, dislipidemija i hronična insulinska rezistencija u endotelnoj disfunkciji**

Rezultati brojnih studija ukazuju na povezanost gojaznosti sa komplikacijama kod majke i ploda (gestacijski dijabetes, gestacijska hipertenzija, prevremeni porođaj, preeklampsija, eklampsija, makrozomija ploda, mrtvorodenost i dr.) Gojaznost majki udvostručuje rizik od perinatalne smrti. Pothranjene trudnice sa indeksom telesne mase ispod 18,5 u prvom trimestru, imaju ekstremno mali rizik za pojavu gestacijske hipertenzije i preeklampsije u odnosu na normalno uhranjene trudnice (129). Smatra se da dobijanje na težini u određenim vremenskim intervalima u trudnoći, pokazuje najveću povezanost sa rizicima od perinatalnih i maternalnih komplikacija, bez obzira da li je trudnica normalno uhranjena ili gojazna. Većina trudnica sa preeklampsijom su normalno uhranjene ali je njihovo dobijanje na težini kasnije nakon porođaja



znatno veće, što ukazuje da preeklampsija može da bude samo prva faza u otkrivanju latentne predispozicije ka gojaznosti (130).

U preeklampsiji insulinska rezistencija je izražena i nekoliko nedelja pre razvoja kliničkih simptoma bolesti i perzistira nekoliko godina postpartalno, ukazujući na njen veliki značaj kako u pojavi kardiovaskularnih bolesti tako i preeklampsije. Međutim, kod gojaznih i normalno uhranjenih osoba ukoliko se radi o istom nivou insulinske rezistencije, dijabetes tip 2 će se pre razviti kod gojaznih osoba, što ukazuje da gojaznost može da izazove promene na endotelu nezavisno od insulinske rezistencije (131).

Nedovoljna transformacija spiralnih arterija i placentalna ishemija nisu strogo specifične karakteristike preeklampsije, jer se mogu videti i kod zastoja u razvoju ploda bez preeklampsije, prevremenog porođaja, prevremene ruptur plodovih ovojaka i retko, ali čak i kod klinički nekomplikovanih trudnoća. Sa druge strane, nije ni kod svih slučajeva preeklampsije utvrđeno postojanje neadekvatne trofoblastne invazije, što ukazuje na heterogenost i upliva drugih verovatno maternalnih konstitucionalnih faktora u patogenezi ovog sindroma (132).

Metabolički sindrom, preeklampsija i drugi hipertenzivni poremećaji u trudnoći dele iste patogenetske mehanizme: gojaznost, insulinska rezistencija, dijabetes i hronična inflamacija koji dovode do endotelne disfunkcije. Uočeno je da trudnice kod kojih je preeklampsija superponirana na prethodnu hroničnu hipertenziju ili koje imaju dijabetes, imaju veći rizik za lošim perinatalnim ishodom i odlublivanjem posteljice nego kod „de novo „ nastale preeklampsije. Takođe, trudnice sa preeklampsijom imaju kasnije veći rizik za oboljevanjem od kardiovaskularnih bolesti (133, 134).

Iz svega navedenog može da se izvede pretpostavka da maternalni konstitucionalni faktori odnosno komponente metaboličkog sindroma mogu biti uzročnici lošeg placentalnog razvoja, koji u daljem toku kroz aktivaciju proinflamatornih procesa dovode do endotelne aktivacije i multiorganske disfunkcije (135).

Masno tkivo predstavlja veliki izvor energije ali je ujedno i važan endokrini organ u kome se sekretuju brojni bioaktivni molekuli-adipokini. U gojaznosti, masno tkivo proizvodi znatno više adipokina nego kod normalne uhranjenosti, pri čemu je mnogo značajnije visceralno masno tkivo koje je metabolički aktivnije i svoje produkte direktno izlučuje u jetru. Adipokini u jetri stimulišu produkciju reaktanata akutne faze kao što je C-reaktivni protein, inflamatorne citokine kao što je PAI-1, leptin, adiponektin, IL-6, TNF- $\alpha$  i mnogi drugi (136, 137).

Visceralno masno tkivo, u gojaznosti i insulinskoj rezistenciji, oslabljuje velike količine slobodnih masnih kiselina i TNF- $\alpha$  u cirkulaciju. Insulin ima važnu ulogu u kontroli koncentracije slobodnih masnih kiselina i glicerola u cirkulaciji, tako što inhibiše adipocitnu hormon-senzitivnu lipazu u cilju snižavanja adipocitne hidrolize triglicerida. Međutim, u insulinskoj rezistenciji aktivnost hormon-senzitivne lipaze se povećava i dolazi do ubrzane lipolize adipocita što sledstveno dovodi do nagomilavanja slobodnih masnih kiselina u jetri, pri čemu se jedan deo skladišti u vidu hepatskih triglicerida dovodeći do pojave masne infiltracije jetre, a drugi u formi VLDL čestica se izlučuje u cirkulaciju. Povećana koncentracija VLDL se smatra ključnim momentom u razvoju metaboličkog sindroma, jer dovodi do serije promena u lipoproteinima, sa povećanjem udela aterogenih remnanta lipoproteinskih partikula-koje su manje veličine ali nestabilnije (LDL čestice) i sniženjem koncentracije protektivnih HDL čestica (135, 138).

Slobodne masne kiseline, TNF- $\alpha$  i angiotenzin II, stimulacijom NADPH-oksidge, povećavaju produkciju slobodnih radikala kiseonika- O<sub>2</sub><sup>-</sup>, hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), koji ugrožavaju vazodilatatorna svojstva endotela putem inhibicije endotelne NOS, a pri tom stimulišu sintezu vazokonstriktornog endotelina-1.

Slobodne masne kiseline cirkulišu u krvi vezane za albumin, koji ima svojstva antioksidansa tako što vezuje za sebe bakar i hidroksilne radikale. Smatra se da, prekomerna saturacija albumina sa slobodnim masnim kiselinama dovodi do strukturnih promena albumina, tako da on dobija pro-oksidativna svojstva što je još jedan dodatni faktor u oštećenju endotelnih vazodilatatornih svojstava (139).

Angiotenzin II pored toga što ima potencijalnu ulogu u sistemske vazokonstrikciji, može da doprinese nastanku hroničnog inflamatornog procesa koji je karakteristika i metaboličkog sindroma i preeklampsije. U preeklampsiji nađene su povišene koncentracije angiotenzina II i cirkulišućih autoantitela koja aktiviraju AT1 receptore (140).

Mokraćna kiselina predstavlja završni produkt metabolizma purina i nezavisni je faktor rizika za pojavu kardiovaskularnih bolesti pogotovo kod žena. Serumske koncentracije mokraćne kiseline su povišene kod gojaznih pacijenata sa metaboličkim sindromom, i koncentracije rastu sa povećanjem broja komponentni metaboličkog sindroma. Hiperurikemija u metaboličkom sindromu može biti posledica ili povećane produkcije ili smanjene renalne ekskrecije zbog pojačane proksimalne tubulske reapsorpcije natrijuma ili hiperinsulinemije. Farmakološkom inhibicijom enzima urikaze kod pacova, dolazi do pojave hipertenzije i renalnog oštećenja, putem stimulacije renin-angiotenzin sistema i inhibicije NOS (141). Hiperurikemija može dovesti do aktivacije imunološkog odgovora, s obzirom da ćelije u inflamatornom procesu mogu da otpuštaju

mokraćnu kiselinu koja pojačava aktivaciju makrofaga. U akutnim ishemijskim procesima, mokraćna kiselina dovodi do mobilizacije endotelnih progenitorskih ćelija u cirkulaciju, dok kod hroničnih procesa izaziva suprotni efekat tako da je reparacija endotela oštećena. Hiperurikemija je karakterističan nalaz u preeklampsiji, pri čemu se povišene vrednosti u odnosu na normotenzivne trudnice mogu naći već u 10-oj nedelji trudnoće (142). Više vrednosti mokraćne kiseline povezane su sa težom formom preeklampsije, prevremenim porođajem i malom težinom za gestacijsku nedelju. Smatra se da gestacijska hiperurikemija direktno deluje na placentalne i maternalne vaskularne funkcije dovodeći do pojave preeklampsije (143, 144).

Jedan od uzroka placentalnog i endotelnog stresa u preeklampsiji i intrauterinom zastoju u razvoju ploda, mogao bi se nalaziti u hiperplastičnim ili hipertrofisanim adipocitima, gde dolazi do agregacije proteina u citosolu endoplazmatskog retikuluma i mitohondrijama, koji ometaju ostale celularne funkcije, dovodeći do povećanja insulinske rezistencije i apoptoze (145).

Endotelna disfunkcija nije samo privremena promena u hipertenzivnim trudnoćama. Kod preeklampičnih trudnica ona ostaje prisutna i nakon porođaja. Iako hipertenzija i proteinurija brzo iščezavaju nakon porođaja, žene sa preeklampijom imaju povećani rizik za pojavom hipertenzije i koronarne arterijske bolesti kasnije u životu. Najveći rizik za pojavom kardiovaskularnih bolesti je uočljiv 20 godina nakon preeklampične trudnoće. Studije na postmenopauzalnim ženama koje su imale preeklampsiju, ustanovile su visoke vrednosti apolipoproteina B, snižene vrednosti malih LDL partikula i tri puta veće vrednosti C-reaktivnog proteina u odnosu na opštu populaciju što je sve karakteristika metaboličkog sindroma (146). Postmenopauzalne žene sa visokim vrednostima C-reaktivnog proteina imale su više vrednosti sistolnog arterijskog pritiska, insulina, HOMA indeksa i niže vrednosti HDL holesterola u odnosu na grupu postmenopazalnih žena koje nisu imale povišene vrednosti C-reaktivnog proteina. Ovakvi podaci ukazuju da metabolički

sindrom pre trudnoće, sa hroničnom endotelnom disfunkcijom, dislipidemijom, insulinskom rezistencijom i proinflamatornim stanjem uzrokuju poremećaje u razvoju placente i kasnije pojave kardiovaskularnih oboljenja kod majke. Placentalna ishemija putem lučenja angiogenih faktora u maternalnu cirkulaciju dodatno pogoršava endotelnu disfunkciju stvarajući začarani krug inflamacije i oštećenja endotela (147).

### **1.2.8 Hemostazni mehanizam u hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći**

1982. godine Weinstein je, u svom radu o komplikacijama hipertenzivnih poremećaja u trudnoći, prvi put upotrebio termin HELLP sindrom, koji je obuhvatao hemolizu, povišene jetrene enzime i nisku vrednost trombocita kod trudnica sa teškim formama hipertenzije, ukazujući da su promene u funkciji jetre, eritrocita, trombocita i koagulacionim procesima povezani poremećaji i da mogu imati udela u etiopatogenezi težih formi hipertenzije i nastanku diseminovane intravaskularne koagulacije u trudnoći (148).

Trombociti su krvne ćelije sa vrlo složenom strukturom i mnogobrojnim funkcijama koje ostvaruju zahvaljujući prisustvu trombocitnih granula i njihovih sastojaka kao i sadržaju citoplazmatskih i membranskih struktura. U normotenzivnim trudnoćama postoje minimalne promene u broju i izgledu trombocita, dok je u preeklampsiji uočeno da se broj trombocita smanjuje, pri čemu stepen smanjenja korelira sa težinom kliničke slike preeklampsije (149). Broj trombocita, kod preeklamptičnih trudnica, se počinje smanjivati dosta rano (već u prvom trimestru trudnoće) u odnosu na kliničko ispoljavanje bolesti, međutim broj trombocita ima slabu prediktivnu vrednost u ovom oboljenju. Uočeno je da preeklamptične trudnice bez trombocitopenije, nemaju značajne koagulacione poremećaje, kao i da broj trombocita u referentnom opsegu uz uredne vrednosti laktat dehidrogenaze imaju 100% negativnu prediktivnu vrednost za pojavu koagulacionih poremećaja kod trudnica sa preeklampsijom (150, 151).

U preeklampsiji uočeno je povećanje volumena i skraćenje životnog veka trombocita, što se povezuje sa njihovom povećanom potrošnjom i destrukcijom. Kompenzatornim ubrzanim stvaranjem novih trombocita u koštanoj srži dolazi do predominacije mladih trombocita u cirkulaciji. U preeklampsiji uočeno je da pored promena u broju, izgledu i dužini životnog veka, dolazi i do povećane aktivacije trombocita. Pojačana aktivacija trombocita se najbolje ogleda kroz povećanu količinu trombocitnih faktora u cirkulaciji, koji se nakon stimulacije, sekretuju iz specifičnih granula (152). Na osnovu povišenih vrednosti CD63 antigena koji je karakterističan za membrane lizosomalnih granula, zaključeno je da dolazi do pojačane degranulacije  $\alpha$  granula i povećanog otpuštanja  $\beta$ -tromboglobulina iz trombocita preeklamptičnih trudnica. Stepen degranulacije korelira sa težinom proteinurije i serumskim nivoom kreatinina kod ovih trudnica, ukazujući na povezanost trombocitne aktivacije sa mikrovaskularnim oštećenjima bubrega. Povećanje  $\beta$ -tromboglobulina može da se uoči i nekoliko nedelja pre razvoja kliničke slike bolesti, pri čemu stepen povećanja  $\beta$ -tromboglobulina ne korelira sa povećanjem fibrinopeptida A kao markera trombinske aktivacije (153). Ovo ukazuje da postoje i drugi mehanizmi aktivacije trombocita osim putem trombina. Smatra se da imunski mehanizmi mogu biti odgovorni za aktivaciju trombocita u preeklampsiji, s obzirom da su uočene povišene vrednosti IgG trombocita, i da njihova koncentracija korelira sa težinom kliničke slike bolesti. Smatra se da placentalni antigeni putem formiranja imunih kompleksa ili vezivanja autoreaktivnih antitela za membranu trombocita dovode do njihove aktivacije (154). Takođe je uočena povećana ekspresija adhezionih molekula i produkcija tromboksana putem merenja njegovih metabolita u urinu, što sve potvrđuje značajnu aktivaciju trombocita u preeklampsiji. Smatra se da aktivacija trombocita može nastupiti kao posledica oštećenja endotela sa ogoljavanjem subendotelnog tkiva-kolagena što dovodi do adhezije, agregacije i sekrecije sadržaja trombocitnih granula, ili se radi o promenama unutar

trombocita koji nastupaju mnogo ranije: ili u ranoj trudnoći ili čak i pre nastupanja preeklampične trudnoće (155). U prilog tome govori povećanje vezujućih mesta za angiotenzin II na trombocitima već u prvom trimestru preeklamptičnih trudnica. Smatra se da angiotenzina II vezan za trombocite, ima sposobnost da intenzivira agregaciju trombocita stimulisanu adenzin difosfatom (ADP) i epinefrinom i poveća koncentraciju trombocitnog  $Ca^{2+}$ . Takođe i održavanje visokih nivoa cirkulišućih faktora aktivacije trombocita koji su inače u normotenzivnim trudnoćama sniženi, ukazuju da promene u ponašanju trombocita u preeklampsiji mogu biti posledica njihove nedovoljne adaptacije na trudnoću (156). U eksperimentima sa stimulatorima adenilne ciklaze na trombocitni ciklični adenzin monofosfat (cAMP), uočeno je da su vrednosti cAMP, kao sekundarnog inhibitora aktivacije trombocita, snižene u preeklamptičnih trudnica. Uočene su promene u aktivnosti cikličnog gvanozin monofosfata (cGMP) koji je takođe sekundarni glasnik u inhibiciji trombocitne aktivacije, a čija je sinteza pod kontrolom NO, takođe snažnog inhibitora trombocitne aktivacije. Intenzivniji odgovor cGMP na stimulaciju sa NO, ukazuje na povećanje aktivnosti trombocitne gvanilat ciklaze u preeklampsiji što se smatra kompenzatornim odgovorom na smanjenu produkciju NO u preeklampsiji (157).

Trudnoća inače predstavlja hiperkoagulabilno stanje koje uz dodatne faktore rizike može da ugrozi trudnoću. Rezultati brojnih studija ukazuju da u preeklampsiji dolazi do još izraženijeg hiperkoagulabilnog stanja sa preteranom aktivnošću faktora koagulacije i njihovih stimulatora, sa sniženjem aktivnosti koagulacionih inhibitornih regulatornih proteina i promenama u fibrinolitičkom sistemu (115).

U preeklampsiji uočene su promene u aktivnosti skoro svih faktora unutrašnjeg puta koagulacije. U normotenzivnim trudnoćama uočeno je da se nivoi faktora VIII i Ag vWF, luče u istim količinama, tako da im je odnos tokom trudnoće konstantan. U preeklampsiji sa intrauterinim

zastojem u razvoju ploda, dolazi do ranog porasta odnosa AgvWF i faktora VIII što korelira sa težinom kliničke slike i stepenom hiperurikemije. Smatra se da do poremećaja ovog odnosa dolazi zbog povećanja nivoa AgvWF a ne povećane potrošnje faktora VIII. Faktor VIII-antigen sintetišu endotelne ćelije, megakariociti i trombociti nakon agregacije, što ukazuje da je oštećenje endotela i aktivacija trombocita odgovorna za povećanje ovog faktora a ne trombinska aktivnost. Međutim, studije na osnovu povišenih vrednosti fibrinopeptida A i B, kao najvažnijih markera trombinske aktivnosti, ukazuju da je i aktivnost trombina značajno povišena u preeklampsiji i korelira sa težinom kliničke slike. Studije pokazuju da trombin može da stimuliše povećanu ekspresiju sFlt-1 u placenti i na taj način učestvuje u patogenezi preeklampsije (158, 159).

U većini preeklamptičnih trudnoća uočene su snižene vrednosti antitrombina III, koji je važan prirodni inhibitor koagulacije tako što formira ireverzibilne komplekse sa trombinom kao i sa aktivisanim faktorima koagulacije X, XI i XII. Nivo antitrombina III u ovim trudnoćama korelira sa perinatalnim morbiditetom i mortalitetom, pri čemu se smatra da do ovog smanjenja ne dolazi zbog smanjenje njegove produkcije u jetri već zbog povećane potrošnje. U prospektivnim studijama, davanjem antitrombina III u težim formama preeklampsije, postignuto je smanjenje broja neonatalnih komplikacija i manji broj hemoragijskih komplikacija kod majki. (160, 161).

Trombofilije predstavljaju heterogenu grupu naslednih ili stečenih oboljenja, koje se odlikuju povećanim rizikom za nastanak arterijskih i venskih tromboza. Prisustvo trombofilije za trudnoću predstavlja dodatni faktor rizika za pojavu tromboembijske bolesti majke kao i komplikacija u trudnoći. Smatra se da je vaskularna uteroplacentalna insuficijencija u trombofilijama odgovorna za nastanak smrti fetusa u drugom i trećem trimestru trudnoće, za odlublivanje posteljice, zastoj u razvoju ploda i pojavu rane preeklampsije težeg oblika. Jedna od najčešćih naslednih trombofilija koje se povezuju sa preeklampsijom jeste rezistencija na



aktivisani protein C, koja se nasleđuje autosomno dominantno. Tačkasta mutacija na faktoru V dovodi do neosetljivosti aktivisanog faktora V na aktivisani protein C što dovodi do preovladavanja prokoagulantnog stanja i povećanog rizika za nastanak tromboze. Studije pokazuju da je kod trudnica sa faktorom V Leiden, rizik za pojavom preeklampsije udvostručen (162). Mutacija gena za protrombin (G20210A) je povezana sa povećanim rizikom za intrauterini zastoj u razvoju ploda i odlublivanjem posteljice, dok su kod preeklampsije dobijeni oprečni rezultati (163, 164). Kod trudnica sa mutacijom gena za MTHFR (C667T), uočeno je da postoji povećani rizik za nastanak preeklampsije. Pored mutacije faktora V Leiden, prisustvo antifosfolipidnih antitela (lupusni antikoagulans ili antikardiolipinska antitela) predstavlja najznačajnije faktore rizika za pojavu preeklampsije, tako da je rizik kod ovih trudnica 10 puta veći (162).

Uočeno je da je u preeklampsiji fibrinolitička aktivnost izmenjena. Euglobulinsko vreme lize koaguluma, kao najbolji indirektni pokazatelj koncentracije plazminogen aktivatora, ukazuje da su vrednosti tkivnog aktivatora plazminogena povišene, dok su vrednosti urokinaza plazminogen aktivatora snižene. PAI-1 se sintetiše u endotelu i njegova funkcija je inhibicija tkivnog plazminogen aktivatora. Nađene su povišene vrednosti PAI-1u preeklampsiji, dok su vrednosti inhibitora aktivatora plazminogena 2 (PAI-2), koji je placentnog porekla i inhibiše urokinaza plazminogen aktivator, snižene u preeklampsiji ali i u trudnoćama sa zastojem u razvoju ploda kod normotenzivnih trudnica. Fibrin degradacioni produkti su kod trećine preeklampsijskih trudnica nađeni povišeni (165, 166).

D-dimer nastaje razgradnjom fibrina pod dejstvom plazmina i pokazatelj je i stimulisane plazminske i stimulisane trombinske aktivnosti. Predstavlja indeks između nastanka i razgradnje fibrina i najbolji je pokazatelj aktivacije koagulacionog sistema. Utvrđeno je da nivo D-dimera korelira sa težinom bolesti, stepenom hipertenzije, proteinurije, trombocitopenije, vrednostima

jetrenih enzima i nivoom fibrin degradacionih produkata u preeklampsiji. Nivo D-dimera je viši u težim oblicima preeklampsije, dok su vrednosti kod lakših formi slične normotenzivnim trudnoćama (167, 168).

S obzirom da mnoge trudnice sa težim oblicima preeklampsije i eklampsijom nemaju znake intenziviranja procesa koagulacije i fibrinolize, kao i da se ovakvi poremećaji mogu javiti i u drugim stanjima bez hipertenzije (intrauterini zastoj u razvoju ploda, odlublivanje posteljice i dr.) može se zaključiti da hemostazni poremećaji predstavljaju samo jednu nespecifičnu karakteristiku preeklampsije (158, 169).

### **1.2.9 Disfunkcija hepatocita u preeklampsiji**

Polja periportalne nekroze i ishemijske parenhimske lezije jetre, koje mogu da variraju od nekoliko milimetara do velikih infarktних područja, predstavljaju čestu karakteristiku težih formi preeklampsije i eklampsije.

Prilikom prolaska eritrocita kroz krvne sudove kod kojih je oštećen endotel, kao što je slučaj u preeklampsiji, dolazi do njihove fragmentacije i nastanka intravaskularne hemolize. Vrlo često se ove mikroangiopatske promene dešavaju u jetri sa posledičnim oštećenjem hepatocita koja dovodi do periportalne nekroze i hemoragije. Kao odraz hepatičke nekroze dolazi do povećanja vrednosti jetrenih enzima aspartat aminotransferaze (AST) i alanin aminotransferaze (ALT) u preeklampsiji (170). Utvrđeno je da vrednosti jetrenih enzima koreliraju sa težinom kliničke slike bolesti, ali da se patoanatomske promene na jetri kao i povišene vrednosti jetrenih enzima mogu uočiti i pre nego što dođe do ispoljavanja kliničke bolesti. HELLP sindrom se češće javlja u ranoj preeklampsiji pre 34. nedelje gestacije i eklampsiji. Preeklampsija sa HELLP sindromom je

povezana sa većim maternalnim i perinatalnim morbiditetom i mortalitetom nego sama preeklampsija (171, 172).

### 1.3 PREDIKTIVNI TESTOVI U PREEKLAMPSIJI

Većina istraživanja ukazuje da je poremećaj placentacije ključni događaj za pojavu preeklampsije i da sagledavanjem biohemijskih i hemodinamskih parametara tog procesa, može se obezbediti rano prepoznavanje preeklampsije. Formiranjem prediktivnog modela za rano otkrivanje preeklampsije omogućilo bi formiranje strateških lestvica u prevenciji i lečenju ovih oboljenja (173).

Do sada nije pronađen pojedinačni marker čija bi rana detekcija ukazivala na buduću pojavu preeklampsije, što nije čudno s obzirom da je ovo oboljenje heterogene prirode sa uplivom brojnih patofizioloških procesa. Međutim, multivarijantnom analizom biohemijskih markera sa ultrasonografskim parametrima može se formirati dovoljno kvalitetan prediktivni algoritam (174).

Prilikom povezivanja brojnih biohemijskih markera u cilju predikcije preeklampsije ne sme se zaboraviti značaj faktora rizika koji se definišu kao osnovni rizici. Najznačajniji su etnička pripadnost, životna dob, nuliparitet, gojaznost, poremećaj glikoregulacije, kardiovaskularni poremećaji, hronična hipertenzija, sistemski lupus ili antifosfolipidni sindrom, bolesti bubrega, prethodna trudnoća sa preeklampsijom i dr. Međutim, faktori rizika imaju svoju ograničenu upotrebu u predikciji iako se većina njih može modifikovati i mnogi od njih su česti u trudnoći. Iz toga razloga, naučnici u poslednjih 20 godina su usmerili napore u identifikaciji onih biohemijskih i kliničkih parametara koji već u ranoj trudnoći mogu da doprinesu predviđanju ovog oboljenja (175).

Dodatan podsticaj za primenu prediktivnog modela za preeklampsiju nastao je kada je rani biohemijski skrining na aneuploidije postao deo dobre kliničke prakse (Double test). Većina biohemijskih parametara uključenih u predikciju odraz su poremećaja placentacije odnosno radi se o placentalnim faktorima, faktorima angiogeneze, inflamacije, endotelne aktivacije, oksidativnog stresa i trombocitne aktivacije (176).

Tabela 4. Ispitivani biohemijski parametri u cilju predikcije preeklampsije

Placentalni, fetalni, endokrini testovi	Testovi endotelne aktivacije i oksidativnog stresa	Testovi renalne disfunkcije	Ostali testovi
Angiogeni faktori (sFlt-1, PlGF, VEGF, Endoglin)	Broj trombocita	Mokraćna kiselina	Hematokrit
Humani horionski gonadotropin	Fibronektin	Mikroalbuminurija	Antitrombin III
PAPP-A	Endotelin	Urinarna ekskrecija Ca	Mg
Inhibin A	Neurokinin B	Urinarni kalikrein	Feritin
Aktivin A	Prostaciklin	Mikrotransferinurija	Transferin
Alfa fetoprotein	Tromboksan	Kalciurija-kreatinurija	β2 mikroglobulin
Placentalni protein 13	C-reaktivni protein		Atrijalni natriuretski peptid
Kortikotropin-rilizing hormon	Homocistein		Genetski markeri
Estriol	Antifosfolipidna antitela		Neurokinin B
Matriks metaloproteinaza-9	P-selektin		Ukupni protein
Fetalna DNK	Plazminogen aktivator inhibitor		Leptin
Fetalna RNK	Citokini		L-arginin
	Adhezioni molekuli endotela		Neuropeptid Y
	TNF-receptor 1		Vitamin D
	Insulinska rezistencija		Haptoglobin

Od svih ispitivanih biohemijskih parametara najveću upotrebnu vrednost u ranoj predikciji preeklampsije našli su plazmatski protein A povezan sa trudnoćom (PAPP-A) i PIGF. PAPP-A je proteinski kompleks koji se proizvodi u sinciciotrofoblastu. Razdvajajući formirani kompleks između insulina sličnom faktoru rasta (IGF) i njegovih proteinskih nosača, povećava nivo ovog faktora u placenti. IGF igra značajnu ulogu u rastu i razvoju placente. PAPP-A kao samostalni biohemijski parametar nema značajnu prediktivnu vrednost, iako su nađene njegove niske serumske vrednosti u prvom i drugom trimestru preeklampsijskih trudnoća. Vrednosti PIGF kao proangiogenog markera su snižene već u prvom trimestru trudnoće koje će razviti preeklampsiju i te vrednosti se mogu izmeriti već u 12 nedelji trudnoće (177).

Pored biohemijskih parametara, veliki doprinos u ranom predviđanju preeklampsije nosi dopler ultrasonografija miometrijalnih segmenata aa. uterine, čije su završne grane spiralne arterije. Dopler ispitivanje služi za procenu maternalne i fetalne hemodinamike. Kolor doplerom i pulsatilnim doplerom mogu se odrediti indeks rezistencije  $R_i$ , pulsatilni indeks  $P_i$  i utvrditi postojanje rane dijastolne incizure. S obzirom da je proces trofoblastne invazije maksimalno izražen u prvom trimestru trudnoće, ispitivanje uterine cirkulacije ima značaja već u ranoj trudnoći (178). Otpor u uteroplacentalnoj cirkulaciji prvog trimestra je značajno povećan u preeklampsiji. Cut off vrednost pulsatilnog indeksa ( $P_i$ : 2,42-2,56) može da razlikuje „early onset“, „late onset“ ( $P_i$ : 1,91-2,09) i gestacijsku hipertenziju ( $P_i$ : 1,74-1,96). Takođe je dokazana negativna korelacija između nedelje porođaja i povećanog otpora u uteroplacentalnoj cirkulaciji u prvom trimestru (179).

Kombinacijom maternalnih faktora rizika, PAPP-A, PIGF, srednjeg arterijskog krvnog pritiska i vrednosti pulsatilnog indeksa stopa detekcije rane preeklampsije iznosi preko 90%, sa

lažno pozitivnom stopom u 5% slučajeva. Ovakav skrining se može sprovesti već između 11. i 14. nedelje gestacije (180).

U drugom trimestru trudnoće već od 20. nedelje gestacije, merenjem koncentracija sFlt-1 i PlGF u serumu trudnica može se potvrditi ili isključiti dijagnoza preeklampsije, pri čemu sFlt-1/PlGF količnik ima bolju dijagnostičku vrednost nego pojedinačne vrednosti ovih markera. Cut off vrednost 85, za sFlt-1/PlGF količnik [log10], pokazuje 95% senzitivnosti i 84% specifičnosti u dijagnozi preeklampsije (181). Velika pomoć ovog količnika je u razlikovanju trudnica sa hipertenzijom na one koje će razviti preeklampsiju i one koje će imati samo hroničnu ili gestacijsku hipertenziju. sFlt-1/PlGF količnik predstavlja dragocen dijagnostički pokazatelj jer može da potvrdi ili isključi dijagnozu preeklampsije i na taj način utiče na klinički pristup, odabir terapije i stratifikaciju rizika. Pored toga, sFlt-1/PlGF količnik posle 24. nedelje gestacije je dobar prediktor maternalnih i fetalnih komplikacija kod trudnica kod kojih je već dijagnostikovana preeklampsija i na taj način može da pomogne u izbegavanju ozbiljnih komplikacija. Takođe ovaj količnik može da razlikuje trudnice koje će zahtevati porođaj unutar 2 nedelje od onih koje mogu da nastave sa trudnoćom. Značajno je i da promene nivoa sFlt-1 i PlGF mogu da ukažu na težinu preeklampsije (182). Veće fluktuacije u vrednostima ovih markera u toku trudnoće su povezana sa pojavom preeklampsije pre 34. nedelje gestacije, dok manje fluktuacije ukazuju na pojavu kasne preeklampsije (183).

## 1.4 TERAPIJSKE SMERNICE U KONTROLI HIPERTENZIVNIH OBOLJENJA U TRUDNOĆI

Primarni cilj u kontroli trudnoća koje su opterećene hipertenzivnim oboljenjima jeste zaštita života i zdravlja trudnica, smanjenje rizika za nastanak komplikacija ploda, maksimalno produženje trajanja trudnoće u cilju postizanja što bolje vijabilnosti ploda i postizanje što većeg broja uspešno završenih trudnoća.

Ovakav cilj se može postići primenom strategijskih lestvica u evulaciji faktora rizika, prevenciji, kontroli i terapiji ovih oboljenja u periodu pre začeća, tokom trudnoće i periodu nakon trudnoće, odnosno periodu pre planiranja sledeće trudnoće.

Većina žena sa hroničnom hipertenzijom ima blag i nekomplikovan oblik hipertenzije u trudnoći sa minimalnim rizikom za pojavu kardiovaskularnih komplikacija. Međutim, sa menadžmentom ove grupe trudnica treba započeti pre planiranja trudnoće u cilju evaluacije etiologije i težine hipertenzije, procene dužine trajanja hipertenzije, primene antihipertenzivne terapije, efekat primenjene terapije kao i procene prisustva drugih oboljenja majke. Posebno treba obratiti pažnju na prisustvo oboljenja srca, bubrega, štitaste žlezde, dijabetesa kao i podataka o cerebrovaskularnim atacima i kongestivnoj srčanoj insuficijenciji. Važan je i podatak o eventulanom prisustvu superponirane preeklampsije, odlublivanju posteljice, prevremenom porođaju, intrauterinoj smrti ploda ili ploda malog za gestacijsku nedelju porođaja, u prethodnim trudnoćama. Pored anamnestičkih podataka i kliničkog pregleda neophodna je i laboratorijska evaluacija funkcije organa koji mogu biti pogođeni hroničnom hipertenzijom (184).

Nekoliko prospektivnih i retrospektivnih studija ispitala su efekat primene antihipertenzivne terapije u ovoj grupi trudnica, u cilju poboljšanja perinatalnog ishoda i smanjenja

kardiovaskularnih i renalnih komplikacija kod majke. Rezultati studija poazuju da nisu dobijeni značajni rezultati osim u smanjenju stope egzacerbacije hipertenzije. Iz svega navedenog, kod trudnica sa „low risk“ hroničnom hipertenzijom bez superponirane preeklampsije, nije potrebno uvođenje antihipertenzivne terapije, s obzirom da je perinatalni ishod sličan kao i kod ostalih trudnica iz opšte populacije. Studije su pokazale da se ukidanjem antihipertenzivne terapije u prvom trimestru ovih trudnica, učestalost preeklampsije, odlublivanja posteljice ili prevremnog porođaja ne povećava. Međutim, ovoj grupi trudnica neophodan je strog monitoring tokom čitave trudnoće uz edukaciju o higijensko-dijetetskom režimu, o dobijanju na težini u trudnoći i unosu soli (maks.2,4 gr na dan). Prilikom svake kontrole neophodno je praćenje svih znakova koji ukazuju na pojavu preeklampsije ili zastoja u razvoju ploda (185).

Trudnice sa „high risk“ hroničnom hipertenzijom (sa znacima renalne insuficijencije, dijabetesom sa znacima vaskularnih oštećenja, kardiomiopatije i dr.) imaju povećani rizik za nastanak brojnih komplikacija majke i ploda. Ove trudnice zahtevaju hospitalizaciju već prilikom prve perinatalne posete u cilju evaluacije renalnog i kardiovaskularnog statusa, kao i korigovanja antihipertenzivne terapije. Trudnicama, koje su pre trudnoće dobijale atenolol, inhibitore angiotenzin-konvertujućeg enzima (ACE) ili angiotenzin II receptor antagoniste, moraju da isključe ove lekove i zamene ih jednim ili više lekova koji su bezbedni u trudnoći (metildopa, labetalol, nifedipin, tiazidni diuretici, hidralazin i dr). Antihipertenzivni lekovi se primenjuju ukoliko je sistolni krvni pritisak  $\geq 160$  i/ili dijastolni  $\geq 80$  mmHg. Cilj antihipertenzivne terapije je da vrednosti sistolnog krvnog pritiska budu  $\leq 150$  i dijastolnog  $\leq 100$  mmHg (186, 187).

Za sada jedini način da se zaustavi preeklampsija jeste prekid trudnoće. Međutim, porođaj je idealan lek za majku ali ne i za plod. Odluka između porođaja ili nastavljanja trudnoće zavisi prvenstveno od maternalnog statusa odnosno od stepena njene ugroženosti, pa tek onda od



gestacijske starosti ploda, kondicije fetusa, prisustva trudova ili ruptura membrana i dr. Svi autori se slažu da kod teške preeklampsije sa zastojem u razvoju ploda pre 24. nedelje treba prekinuti trudnoću (187).

Preporuke su da, kod pojave preeklampsije i gestacijske hipertenzije  $\geq 37$  nedelje gestacije treba indukovati porođaj, dok kod njihove pojave  $\leq 37$  nedelje neophodno je proceniti maternalni i fetalni status. Osnovni princip antihipertenzivne terapije, u slučaju da se donese odluka o nastavku trudnoće, jeste uspostavljanje kontrole krvnog pritiska kako bi se smanjio periferni otpor i povećala uteroplacentalna i fetalna perfuzija i prevenirale konvulzije odnosno sprečio nastanak eklamptičnih napada, progresija bolesti i pojava HELLP sindroma. Vrednosti krvnog pritiska je poželjno sniziti do vrednosti na kojima će rizik od nastanka cerebralnog krvarenja biti minimalan a da se istovremeno ne ugrozi uteroplacentalni protok krvi i sam fetus (13).

Paralelno sa otkrivanjem prediktivnih laboratorijskih testova koji bi mogli da ukažu na pojavu preeklampsije već u prvom trimestru, mnoge studije su analizirale upotrebu niskih doza aspirina, vitamina C, E i kalcijuma u prevenciji preeklampsije. Aspirin, putem ireverzibilne inhibicije produkcije tromboksana A<sub>2</sub> u trombocitima, sprečava njihovu agregaciju kao i tromboksanom posredovanu vazokonstrikciju. Meta-analize su pokazale da primenom niskih doza aspirina nije došlo sniženja rizika (relativni rizik je smanjen samo za 10%) niti poboljšanja u perinatalnom ishodu. Međutim, rezultati drugih novijih studija ukazuju da uvođenje niskih doza aspirina pre 16. nedelje gestacije, može da se prevenira pojava preeklampsije (188-190). Terapija budućnosti

Unazad svega nekoliko godina pojavljuju se prvi rezultati o upotrebi ciljanje terapije (ekstrakorporalno uklanjanje sFlt-1 iz maternalne cirkulacije) u lečenju preeklampsije (191). Na

kongresu Internacionalnog udruženja za proučavanje hipertenzivnih oboljenja u trudnoći (ISSHP) održanog septembra 2015 godine, sa Lajpciškog univerziteta prezentovani su preliminarni podaci o uklanjanju cirkulišućih angiogenih proteina sFlt-1, putem ekstrakorporalne plazmafereze. U studiju je uključeno 10 trudnica sa vrlo ranom preeklampsijom (pre 31. nedelje gestacije). Sve trudnice su maksimalno tri puta bile podvrgnute postupku. Vrednosti sFlt-1 su, pomoću ove metode, bile snižene u proseku za 17% po jednom tretmanu, dok je količnik protein/kreatinin u proseku bio snižen za 39% po tretmanu. Nakon tretmana nije bilo pojave komplikacija kod majki i ploda, i trudnoće su se nastavile u proseku još 11 dana (192).

Farmakogenomika predstavlja naučnu disciplinu čijim saznanjima se predviđa postizanje značajnog napretka u terapiji hipertenzivnih oboljenja u trudnoći. Ova disciplina putem proučavanja čitavog genoma ili pojedinačnih nukleotidnih sekvenci i njihovih polimorfizama, kao i uočavanjem promena u genskoj ekspresiji ili inaktivaciji pojedinih gena kod svakog pacijenta, omogućava individualnu procenu efikasnosti i sigurnosti primene nekog leka kao i farmakološku adaptaciju leka za datu individuu. Ovakvi testovi pomogli bi kliničarima u individualnoj proceni rizika primene određenih lekova u trudnoći, što posebno ima značaja kod trudnica sa preegzistirajućom hipertenzijom, dijabetesom, gojaznošću ili drugim faktorima rizika (193, 194).

## 1.5 HIPERTENZIVNA OBOLJENJA U TRUDNOĆI – UVOD U KARDIOVASKULARNE BOLESTI I METABOLIČKI SINDROM

Trudnice sa preeklampsijom u prvoj trudnoći, imaju 20% veći rizik za ponavljanjem preeklampsije u sledećoj trudnoći, dok trudnice sa težom formom preeklampsije u drugom trimestru imaju 50% veći rizik za ponavljanjem. Takođe, ove trudnice imaju veći rizik za pojavu hronične hipertenzije, renalnih oboljenja i zastoja u razvoju ploda u sledećim trudnoćama. Brojne studije pokazuju da trudnice koje razviju hipertenzivna oboljenja u trudnoći imaju dva do četiri puta veći rizik za pojavu kardiovaskularnih oboljenja i metaboličkog sindroma kasnije u životu. Kod većine trudnica se nakon nekoliko nedelja od porođaja, krvni pritisak normalizuje, međutim endotelna disfunkcija ostaje kao podloga, koja uz sadejstvo gojaznosti i hronične hipertenzije, povećava rizik za nastanak kardiovaskularnih bolesti godinama posle preeklampsične trudnoće. Američki nacionalni vodić za lečenje bolesti srca prepoznaje preeklampsiju i gestacijsku hipertenziju kao nezavisne faktore rizika za pojavu kardiovaskularnih bolesti (195, 196).

Iz svega navedenog može se zaključiti da hipertenzivna oboljenja u trudnoći predstavljaju samo vrh ledenog brega, pri čemu se vidljivi deo, u vidu simptoma i znakova bolesti ispoljava tokom trudnoće, dok se za nevidljivim delovima odnosno uzrocima mora tragati pre trudnoće i čije se posledice moraju kontrolisati i lečiti decenijama posle završetka trudnoće.

## 2 RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Istraživanje se zasniva na sledećim pretpostavkama:

1. Koncentracije laboratorijskih parametara: placentalnih i angiogenih proteina (sFlt-1, PlGF, VEGF, PAPP-A, free  $\beta$ hCG), parametara biohemijaskog (Glukoza, AST, ALT, GGT, kreatinina, ureje, mokraćne kiseline), lipidskog (Uk. holesterol, trigliceridi, LDL, HDL, apo A-I, apo B), inflamatornog (KKS, hsCRP, fibrinogen), hemostaznog (D-dimer, vWF-antigen) i elektrolitskog statusa (Na, K, Cl, P, Mg) se statistički značajno razlikuju između trudnica sa hipertenzivnim poremećajima u odnosu na zdrave trudnice.
2. Koncentracije odabranih laboratorijskih parametara (sFlt-1, VEGF-a i PlGF) se značajno razlikuju u odnosu na gestacijsku nedelju u trenutku porođaja, težinu, dužinu i APGAR skor bodovanja novorođenčeta.
3. Koncentracije sFlt-1, VEGF, PlGF se statistički bitno razlikuju između trudnica u odnosu na broj prethodnih trudnoća i godine života trudnica.

Ciljevi istraživanja su:

1. Uporediti koncentracije odabranih placentalnih i angiogenih proteina, parametara biohemijaskog, lipidskog, inflamatornog, hemostaznog i elektrolitskog statusa između grupe trudnica sa preeklampsijom, grupe trudnica sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom i kontrolne grupe trudnica.
2. Ispitati da li se vrednosti odabranih laboratorijskih parametara (sFlt-1, VEGF-a i PLGF) kod ispitivanih trudnica statistički značajno razlikuju u odnosu na gestacijsku nedelju u trenutku porođaja, težinu i dužinu i APGAR skora bodovanja novorođenčeta.

3. Ispitati da li se vrednosti angiogenih proteina: sFlt-1, VEGF, PlGF značajno razlikuju kod ispitivanih trudnica u odnosu na broj prethodnih trudnoća i starosti trudnica.

### 3 MATERIJAL I METODE

Istraživanje je sprovedeno analitičkom metodom u formi opservacione studije prospektivnog karaktera u Kliničkom centru Vojvodine, u periodu od juna 2012. do februara 2015. godine. Prva faza istraživanja, koja je sprovedena na Klinici za ginekologiju i akušerstvo, obuhvatila je regrutovanje trudnica prema definisanim kriterijumima za uključivanje u studiju. Druga faza, koja je sprovedena u Centru za laboratorijsku medicinu i laboratoriji Klinike za ginekologiju i akušerstvo, obuhvatila je laboratorijsku analizu uzoraka krvi. Treća faza je obuhvatila prikupljanje podataka o ishodu trudnoće ispitivanih trudnica uključenih u istraživanje, uz pomoć akušerskih protokola, kartona istorija bolesti i podataka arhive Klinike za ginekologiju i akušerstvo.

U istraživanje je uključeno ukupno 143 trudnica starosti od 18 – 43 godine. Sve trudnice uključene u istraživanje podeljene su na dve ispitivane i jednu kontrolnu grupu. Prvu ispitivanu grupu činilo je 43 trudnice koje su po definisanim kriterijuma razvile preeklampsiju u aktuelnoj trudnoći. Drugu ispitivanu grupu činilo je 46 trudnica kojima je dijagnostikovana ili potvrđena hronična ili gestacijska hipertenzija u aktuelnoj trudnoći. Kontrolnu grupu činilo je 54 klinički i biohemijski potvrđeno zdravih trudnica sa verifikovanim fiziološkim ishodom trudnoće u terminu, bez maternalnih i fetalnih komplikacija.

Svim trudnicama prilikom regrutovanja u istraživanje, uzeti su detaljni anamnestički podaci, objašnjeni su ciljevi istraživanja kao i proces dijagnostičke obrade podataka i monitoringa trudnoće. Na osnovu anamnestičkih podataka, kliničkog i akušerskog pregleda, specijalizovanog ultrazvučnog pregleda ploda u prvom trimestru trudnoće, uvidom u prethodnu medicinsku dokumentaciju i istoriju bolesti kao i pregledom protokola i arhive Klinike za ginekologiju i

akušerstvo o pobačaju ili porođaju u aktuelnoj trudnoći, isključene su trudnice koje ne zadovoljavaju kriterijume za uključivanje u istraživanje.

### 3.1 KRITERIJUMI ZA UKLJUČIVANJE U ISTRAŽIVANJE

U istraživanje su uključene sve trudnice starije od 18 godina, između 11+0 i 13+6 nedelja gestacije prilikom regrutovanja u istraživanje, sa ultrazvučno verifikovanom jednoplodnom trudnoćom.

### 3.2 PODELA TRUDNICA PO ISPITIVANIM GRUPAMA

Trudnice su podeljene u sledeće tri grupe:

- 1) U prvu ispitivanu grupu (n=43) uključene su trudnice kojima je u aktuelnoj trudnoći postavljena dijagnoza preeklampsije. Preeklampsija je definisana prema revidiranim kriterijumima Internacionalnog udruženja za proučavanje hipertenzije u trudnoći (ISSHP 2014). Po navedenim preporukama preeklampsija se definiše pojavom povišenog krvnog pritiska u trudnoći koji je prvi put dijagnostikovao posle 20. nedelje gestacije, sa vrednošću sistolnog krvnog pritiska  $\geq 140$ mmHg (*Korotkoff I*) i/ili dijastolnog krvnog pritiska  $\geq 90$  mmHg (*Korotkoff II*), izmerenih u ležećem položaju najmanje dva puta u vremenskom intervalu od 2h do 2 nedelje, uz prisustvo minimalno jednog od dole navedenih novootkrivenih poremećaja:
  - a) prisustvo proteinurije  $\geq 300$  mg u sakupljenoj 24-četvoročasovnoj mokraći.
  - b) prisustvo drugih znakova organske disfunkcije kod trudnice
    - i. znaci renalne insuficijencije (serumski kreatinin preko gornje granice referentnih vrednosti)

- ii. povišene vrednosti jetrenih enzima minimalno duplo od referentnih vrednosti uz prisustvo bola u gornjem desnom abdominalnom kvadrantu ili u predelu epigastrijuma.
  - iii. neurološke promene (uključuju eklampsiju, dezorjentisanost, poremećaj svesti, teži stepen glavobolje uz hiperrefleksiju, moždani udar, perzistentni vizuelni skotomi, hiperrefleksija uz tonično klonične grčeve)
  - iv. hematološke promene (trombocitopenija, diseminovana intravaskularna koagulacija, hemoliza)
- c) znaci uteroplacentalne disfunkcije:
- i. Intrauterini zastoj u razvoju ploda (težina fetusa je jednaka ili manja od 10<sup>th</sup>-og percentila predviđenog za datu gestacijsku nedelju).
- 2) U drugu ispitivanu grupu (n=46) uključene su trudnice kojima je u aktuelnoj trudnoći postavljena dijagnoza hronične ili gestacijske hipertenzije prema revidiranim kriterijumima ISSHP 2014.
- a) Po navedenim preporukama hronična hipertenzija se definiše pojavom povišenog krvnog pritiska (sistolnog  $\geq 140$  i/ili dijastolnog  $\geq 90$  mmHg) koji je dijagnostikovao pre aktuelne trudnoće ili se prvi put dijagnostikuje u prvom trimestru trudnoće a najkasnije do 20. nedelje gestacije, izmeren najmanje dva puta. Za dijagnozu hronične hipertenzije vrednosti pritiska merene su jednom u toku dana i jednom nakon noćnog odmora ili celodnevnog mirovanja u bolničkoj postelji, i za dijagnozu je bilo



neophodno da vrednosti pritiska u oba merenja ostanu iznad gore pomenutih referentnih vrednosti.

- b) Gestacijska hipertenzija se definiše pojavom povišenog krvnog pritiska (sistolnog  $\geq 140$  i/ili dijastolnog  $\geq 90$  mmHg) nakon 20. nedelje gestacije bez prisustva ostalih laboratorijskih i kliničkih promena karakterističnih za preeklampsiju. Za dijagnozu gestacijske hipertenzije bilo je neophodno postojanje dokumentovanih normalnih vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska izmerenih barem jednom ili neposredno pre trudnoće ili u prvom trimestru trudnoće.
- 3) U kontrolnu grupu (n=54) uključene su sve zdrave trudnice sa verifikovanim optimalnim vrednostima krvnog pritiska (sistolnog  $< 120$  i dijastolnog  $< 80$  mmHg) prema preporukama Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje arterijske hipertenzije (2012). Vrednosti krvnog pritiska izmerene su minimalno jednom u sva tri trimestra trudnoće. Svim trudnicama je na osnovu akušerskog protokola i arhivskih podataka dokumentovan povoljan ishod trudnoće sa porođajem u terminu, bez maternalnih i fetalnih komplikacija.

### 3.3 KRITERIJUMI ZA ISKLJUČIVANJE IZ ISTRAŽIVANJA

Iz istraživanja su isključene:

- 1) sve trudnoće iz programa „*in vitro*“ fertilizacije
- 2) trudnice sa anatomskim malformacijama materice i vagine
- 3) trudnoće sa verifikovanim genetskim anomalijama ploda
- 4) trudnice sa spontanom pobačajem ili „*fetus mortus in utero*“ pre navršene 24. nedelje gestacije

- 5) trudnice sa malignim oboljenjima
- 6) trudnice sa verifikovanim zapaljenskim procesom (infekcije plodovih ovojaka, urogenitalnog trakta, zapaljenja žučne kesice, slepog creva i drugih lokalizacija)
- 7) trudnice koje su primale aspirin ili niskomolekularni heparin
- 8) višeprodne trudnoće

### 3.4 PROTOKOL ISPITIVANJA

Prilikom regrutovanja trudnica (između 11+0 i 13+6 nedelja gestacije) za učešće u istraživanju, uzeti su anamnestički podaci o godinama života, bračnom statusu, mestu življenja (urbana-ruralna sredina), stepenu obrazovanja, zaposlenosti, broju prethodnih seksualnih partnera, broju prethodnih trudnoća, broju namernih i spontanih pobačaja, zatim podaci o ishodima prethodnih trudnoća i eventualnim komplikacijama kod majke i deteta u prethodnim trudnoćama, prisustvu hroničnih oboljenja, zatim podaci o prisustvu preeklampsije i povišenog krvnog pritiska u prethodnim trudnoćama, prisustvu preeklampsije u porodici, da li su pušači ili ne, da li postoje tegobe u aktuelnoj trudnoći (bolovi, krvarenja) i da li uzimaju terapiju i koju.

U okviru kliničkog i akušerskog pregleda urađena su antropometrijska merenja, merenje krvnog pritiska, i specijalizovani ultrazvučni pregled ploda (po licenciranom protokolu Fetal medical foundation) radi utvrđivanja gestacijske starosti ploda i određivanja rizika za pojavu hromozomskih anomalija ploda. Trudnicama je nakon uzimanja anamnestičkih podataka i kliničkog i akušerskog pregleda objašnjena priprema pre jutarnjeg vađenja krvi: dvanaestočasovno gladovanje, poslednji lagani obrok oko 19h uveče, posle toga samo uzimanje vode, obavezno osmočasovno spavanje, bez intenzivne fizičke aktivnosti nakon buđenja, pola sata mirovanja pre vađenja krvi. Svim trudnicama koje su potvrdile da su se pridržavale gore objašnjenih upustava izvršeno je uzimanje uzoraka krvi iz kubitalne vene. Uzorkovanje krvi vršeno je u tri epruvete.

Nakon venepunkcije odvajani su plazma i serum. Plazma je odvajana centrifugiranjem na 3000 obrtaja u minuti u trajanju od 10 minuta. Serum je odvajan, nakon perioda potrebnog za koagulaciju (oko 45 minuta) centrifugiranjem na 3000 obrtaja u minuti u trajanju od 15 minuta na sobnoj temperaturi. Veći broj analiza je odmah izvođen po odvajanju seruma i plazme. Preostali serum za određivanje angiogenetskih proteina: solubilnog receptora za vaskularni endotelni faktor rasta (sFlt-1), vaskularni endotelni faktor rasta VEGF-A) i placentalni faktor rasta (PlGF) su podeljeni u alikvote (500 $\mu$ l svaki) i čuvani na - 72°C mesec dana do izvođenja analize.

### 3.5 METODE ISPITIVANJA

Analiza antropometrijskih parametara obuhvatila je merenje telesne visine, telesne mase i izračunavanje indeksa telesne mase.

Telesna visina (TV) je merena u stojećem stavu, sastavljenih peta i odmaknutih prstiju, ruku opuštenih uz telo. Položaj glave je bio takav da je Frankfurtska linija (linija koja spaja tragus ušne školjke i spoljašnji ugao usana) horizontalna. TV je merena antropometrom po Martinu, sa preciznošću od 0,1 cm i dobijene vrednosti su izražene u centimetrima (cm). Telesna masa (TM) je merena medicinskom decimalnom vagom sa preciznošću 0,1 kg, a vrednosti su izražavane u kilogramima (kg). Pomoću izmerenih vrednosti antropometrijskih parametara izračunat je indeks telesne mase (ITM) kao odnos telesne mase i kvadrata telesne visine izražene u metrima –  $ITM (kg/m^2) = TM (kg) / TV (m^2)$ . Vrednosti krvnog pritiska merene su sfingomanometrom, metodom po Riva Rocciju, dva puta nakon petominutnog mirovanja. Dobijene vrednosti izražene su u milimetrima živinog stuba (mmHg).

### **3.5.1 Laboratorijske analize**

#### **3.5.1.1 Serumski proteini angiogeneze**

Za određivanje solubilne forme receptora 1 za vaskularni endotelni faktor rasta - sFlt-1 (pg/mL), vaskularnog endotelnog faktora rasta –A VEGF-A (pg/mL) i placentalnog faktora rasta – PlGF (pg/mL) u serumu, krv je uzimana u epruvetu sa serum separator gelom. Nakon 30 minuta, uzorci su centrifugirani 15 minuta na 1000g. Tako obrađeni uzorci seruma čuvani su na -72°C do momenta analize. Neposredno pre izvođenja analize uzorci su odmrzavani na sobnoj temperaturi. Serumске koncentracije sFlt1, VEGF i PlGF određivane su kvantitativnom ELISA tehnikom (sandwich enzyme immunoassay), upotrebom *Quantikine human immunoassays* kitova firme (R&D Systems Europe Ltd. Abingdon, UK) na aparatu Titertek Multiscan MCC/340. Minimalni detekcioni nivo imunoeseja za sFlt-1 je 1,5-13,3 pg/mL, za PlGF je manji od 7 pg/mL i za VEGF-A je manji od 6,5 pg/mL. Inter i intra koeficijent varijacije za sFlt-1 je 3,8% i 7%, za PlGF je 3,6% i 11% i za VEGF-A je 3,5% i 8,0%.

#### **3.5.1.2 Serumski proteini specifični za trudnoću**

Slobodna beta podjedinica humanog horionskog gonadotropina - free  $\beta$ hCG (CorrMom), i plazma protein A povezan sa trudnoćom - PAPP-A (CorrMom) određivani su setovima *Brahms Kriptor* i na analizatoru *Brahms Kriptor* (Brahms Henningsford, Germany), Trace tehnologijom koja predstavlja modifikaciju imunofluorimetrijske metode.

#### **3.5.1.3 Hematološki, hemostazni i inflamatorni parametri**

Kompletna krvna slika (KKS) sa diferencijalnom formulom određivana je metodom protočne citometrije, na automatskom hematološkom brojaču Cell-dyne Sapphire Abbott, uz korišćenje komercijalnih reagenasa firme Abbott (SAD). Trudnice kod kojih je ukupni broj leukocita bio viši

od  $12 \times 10^9$  nisu uključene u istraživanje. Visoko senzitivni C reaktivni protein (hsCRP), određivan je imunoturbidimetrijskom metodom na aparatu Advia 1800-Siemens Chemistry system uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača. Referentne vrednosti: 0,0-5,0 mg/L. Trudnice sa izmerenim serumskim koncentracijama  $> 10 \text{ mg/L}$  nisu uključeni u istraživanje.

Nivo D-dimera određivan je automatizovanim Latex imunoesejom, pomoću reagensa D-dimer Latex Reagent, proizvođača Instrumentation Laboratory, Lexington, USA, uz pomoć automatizovanog koagulometra ACL-TOP 500 CTS, proizvođača Instrumentation Laboratory, Lexington, USA. VonWillebrand antigen (vWF-Ag) određivan je imunoturbidimetrijskom analizom, reagensom vonWillebrand Ag SIEMENS, uz pomoć automatizovanog koagulometra SIEMENS BCSxp, proizvođača Dade Behring, Marburg, Nemačka. Koncentracije fibrinogena određivana je koagulacionom metodom po *Clauss-u*, na ACL 9000 analizatoru uz korišćenje komercijalnih setova firme IL (Instrumentation Laboratory Milan, Italia). Referentne vrednosti: 2,2-4,96 g/L.

#### **3.5.1.4 Biohemijski parametri**

Koncentracija glukoze naše određivana je standardnim enzimatskim UV testom (metoda sa heksokinazom) na Advia 1800 Siemens Chemistry system biohemijском analizatoru, korišćenjem komercijalnih setova istog proizvođača. Referentne vrednosti: 4,0-6,1 mmol/L. Aspartat-amino-transferaza (AST), alanin-amino-transferaza (ALT) i gama glutamil-transferaza (GGT) određivane su kinetičkim UV testom, na aparatu Advia 1800-Siemens Chemistry uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača. Referentne vrednosti: AST-0-32 U/L, ALT-0-33 U/L, GGT-6-42 U/L. Serumaska koncentracija kreatinina određivana je kinetičkim kolor testom (metoda po Džafiju (Jaffe)) za kvantitativno određivanje kreatinina u serumu, na aparatu Advia 1800-Siemens

Chemistry system, uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača. Referentne vrednosti: 60-1

06  $\mu\text{mol/L}$ . Serumska koncentracija ureje određivana je kinetičkim UV testom za kvantitativno određivanje uree u serumu, na aparatu Advia 1800-Siemens Chemistry system, uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača. Referentne vrednosti: 3,3-7 mmol/L. Serumska koncentracija mokraćne kiseline određivana je standardnim enzimatskim kolor testom (PAP metod sa urikazom i peroksidazom) za kvantitativno određivanje mokraćne kiseline u serumu, na aparatu Advia 1800-Siemens Chemistry system, uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača. Referentne vrednosti: 90-350  $\mu\text{mol/L}$ .

#### **3.5.1.5 Parametri metabolizma lipida i lipoproteina:**

Lipidski status: ukupni holesterol i trigliceridi određivani su standardnim enzimskim postupkom uz korišćenje reagenasa firme Clinical Chemistry Abbott Architect ci 4100. Holesterol u HDL frakciji određivan je metodom po Bursteinu i sar, vrednosti LDL holesterola (Friedewald i saradnici) su dobijene računskim putem.

Serumske koncentracije apo A-I i apo B određivane su imunoturbidimetrijskom metodom na OLYMPUS biohemijском analizatoru, uz korišćenje komercijalnih Beckman Coulter kitova (Irska). Referentne vrednosti su uzete iz Odeljenja za specijalizovanu laboratorijsku dijagnostiku, Centra za laboratorijsku medicinu, KC Vojvodine i iznose za žene: 1,18–1,86 g/L (apoAI) i 0,38–0,9 g/L (apoB), za muškarce: 1,03–1,83 g/L (apoAI) i 0,35–1,07 g/L (apoB).

#### **3.5.1.6 Parametri elektrolitskog statusa:**

Natrijum (Na), kalijum (K) i hlor (Cl) određivani su metodom jon selektivne elektrode na aparatu Advia 1800 Siemens Chemistry system, korišćenjem komercijalnih setova istog

proizvođača. Referentne vrednosti: Na: 135–155 mmol/L, K: 3,5–5,5 mmol/L, Cl: 95-105 mmol/L. Serumske koncentracije fosfora (P) i magnezijuma (Mg) određivane su foto-metrijskim UV testom na automatizovanom sistemu Advia 1800-Siemens Chemistry system. Referentne vrednosti: P-0,81-1,35mmol/L; Mg-0,7-1,15mmol/L. Jonizovani kalcijum u serumu određivan je metodom jon selektivne elektrode na aparatu Ilyte. Referentne vrednosti: 0,95-1,35 mmol/L. Serumska koncentracija ukupnog kalcijuma određivana je spektrofotometrijski, metodom sa Arsenazo III na automatizovanom sistemu Advia 1800-Siemens Chemistry system. Referentne vrednosti: 2,2-2,7 mmol/L.

### **3.5.2 Ultrazvučno određivanje starosti fetusa:**

Gestacijska starost fetusa određivana je svim trudnicama između 11+0 i 13+6 nedelja trudnoće. Određivani su CRL (crown-rump length) merenjem dužine fetusa od temena do trtice, BPD (biparietal diameter) određivanjem udaljenosti temenih kostiju i FL (femur length) merenjem dužine bedrene kosti fetusa. U cilju isključenja trudnoća sa hromozomopatijama, rađena je procena rizika za prisustvo ovih anomalija kod fetusa. Određivan je NT (nuchal translucency). NT je određivan tako što se nađe srednji sagitalni presek fetusa, pri čemu je fetus u neutralnom položaju. Meri se maksimalna debljina potkožnog rasvetljenja između kože i mekog tkiva koje se nalazi iznad cervikalnog dela kičme. CRL pri ovom merenju mora biti između 45 i 84 mm.

Biohemijski markeri free  $\beta$ -HCG i PAPP-A (Pregnancy associated Plasma Protein-A) su parametri koji se u kombinaciji sa godinama trudnice i ultrasonografskim merenjem nuhalne translucence (NT), koriste za otkrivanje najčešćih hromozomopatija u prvom trimestru trudnoće. Navedeni markeri određeni su setovima *Brahms Kriptor* i na analizatoru *Brahms Kriptor* (Brahms Henningsford, Germany), koji je za skrining prvog trimestra preporučen od strane Fetalne Medicinske Fondacije (FMF-eng. Fethal Medical Fondation) London, UK. U softverski program

FMF od strane licenciranih ginekologa-obstetričara unose se vrednosti free beta-HCG-a, serumskog PAPP-A, godine života majke, telesna težina, vrednost fetalne nuhalne translucence (NT) i CRL vrednost. Na osnovu unetih parametara izračunava se vrednost biohemijskih markera u umnošcima medijane i uz ultrasonografski izmerene parametre i godine majke izračunava rizik najčešćih hromozomopatija-trizomije 21, trizomije 18 i trizomije 13-tog hromozoma. Vrednosti dobijenih biohemijskih markera se primenom licenciranog softverskog programa koriguju za vrednost telesne težine pacijentkinja kao i za vrednosti pušača (197).

### 3.6 METODE STATISTIČKE OBRADJE PODATAKA

Za potrebe studije kreirana je posebna baza podataka u koju su za svaku trudnicu, koja je uključena u istraživanje između 11.-14 nedelje gestacije, unošeni anamnestički, laboratorijski, klinički i akušerski podaci. Zatim su unošeni podaci o nedelji trudnoće pojave gestacijske hipertenzije ili preeklampsije u aktuelnoj trudnoći, podaci o stepenu razvijenosti fetusa u momentu dijagnostikovanja oboljenja, kao i podaci o nedelji završetka trudnoće, načinu porođaja, podaci o novorođenčetu i komplikacijama na porođaju vezano za majku i plod.

Za statičku obradu podataka osnovnih demografskih karakteristika trudnica korištene su metode deskriptivne statistike. Normalnost distribucije za svaku pojedinačnu varijablu testirana je pomoću Shapiro-Wilk's i Kolmogorov-Smirnov testa, pri čemu su kontinuirane varijable sa normalnom distribucijom prezentovane aritmetičkom sredinom ( $\bar{X}$ ) i standardnom devijacijom (SD), najmanja vrednost (Min) i najveća vrednost (Max), dok su varijable koje nemaju normalnu distribuciju prezentovane kao medijana – Me sa interkvantilnim rasponom.

Za ispitivanje statističke značajnosti razlika kontinuiranih varijabli između grupa, korišćeni su parametrijski testovi: Studentov T test (razlike između dve posmatrane grupe) ili ANOVA test



(razlike između tri i više posmatranih grupa), ukoliko je distribucija posmatranih varijabli bila normalna. Kod varijabli kod kojih je ustanovljeno da nema normalne distribucije, korišteni su Mann-Whitney U test (za poređenje između dve posmatrane grupe) ili Krushall Walis test (za poređenje između tri i više posmatranih grupa). Hi- kvadrat ( $\chi^2$ ) test je korišćen pri obradi podataka koji nisu numerički. Takođe je korišćen neparametrijski post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test, kao i parametrijski post hoc Tukey i Duncan's test za ispitivanje statističke značajnosti između podgrupa ispitivanih grupa sa preeklampsijom i hroničnom hipertenzijom. Za utvrđivanje korelacije korišten je Pearson-ov koeficijent linerane korelacije ( $r$ ) i Sperman-ov koeficijent za kategorijske varijable ( $\rho$ ). Za identifikaciju parametara koji su nezavisno povezani sa serumskom koncentracijom sFlt1, VEGF i PIGF urađena je postepena multipla linearna regresiona analiza.

Procena prognostičke vrednosti ispitivanih laboratorijskih markera u cilju predviđanja razvoja preeklampsije korišćena je multivarijantna logistička regresiona analiza. Takođe su konstruisane ROC krive (Receiver operating characteristics) u cilju procene pojedinačnih laboratorijskih markera kao prediktora razvoja preeklampsije. Određivana je površina ispod krive-AUC.

Nivo statističke značajnosti  $p$ , je tumačen statistički značajnim ukoliko su vrednosti  $p < 0,05$ . Za statističu obradu podataka korišten je statistički program STATISTICA 12 (StatSoft Inc.,Tulsa, OK, USA).

## 4 REZULTATI

### 4.1 OPŠTE KARAKTERISTIKE TRUDNICA U ISPITIVANIM I KONTROLNOJ GRUPI

#### 4.1.1 Demografski podaci u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

Istraživanjem je obuhvaćeno ukupno 143 trudnice koje su bile između 11+0 i 13+6 nedelja trudnoće prilikom regrutovanja u studiju. U prvoj ispitivanoj grupi sa preeklampsijom (Grupa I) nalazilo se ukupno 43 trudnice, drugu ispitivanu grupu sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom (Grupa II) činilo je 46 trudnica dok je kontrolnu grupu (grupa III) obuhvatilo 54 trudnice.

U tabeli 5 su prikazani rezultati poređenja godina života (post hoc, Duncan test) između sve tri grupe trudnica

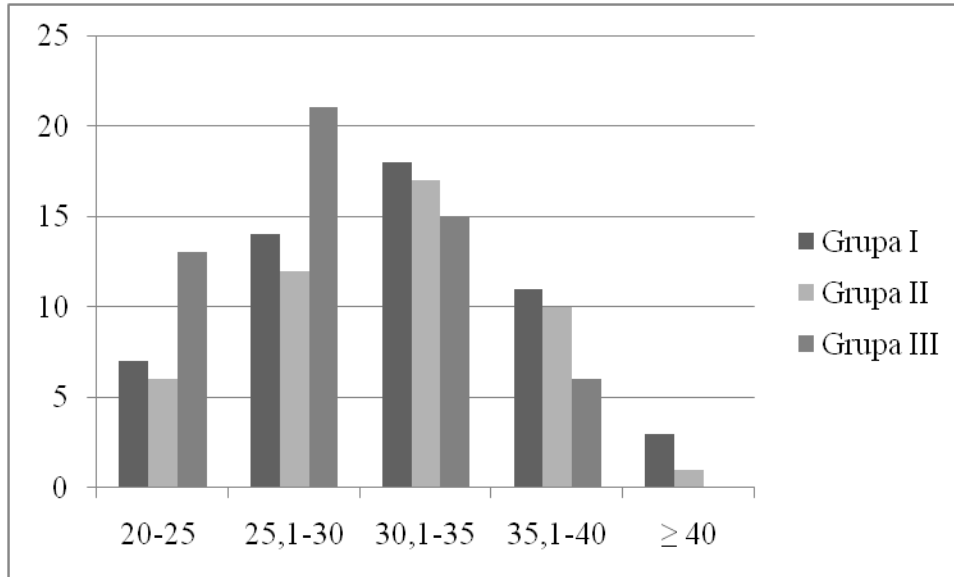
Tabela 5. Demografski podaci trudnica u ispitivanim i kontrolnoj grupi

Grupa/Parametar	Grupa I (n=43) ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min – Max)	Grupa II (n=46) ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min – Max)	Grupa III (n=54) ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min – Max)	Statistička značajnost p
Godine života	30,33 $\pm$ 5,06 (20–41)	30,34 $\pm$ 4,57 (23-42)	28,54 $\pm$ 4,48 (20-39)	NS* <b>p=0,01**</b> NS***

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom), Grupa III (kontrolna grupa trudnica);\*\*ANOVA, Post Hoc Duncan test, \* statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Utvrđeno je da prosečna starost trudnica u drugoj ispitivanoj grupi je statistički značajno veća u odnosu na kontrolnu grupu trudnica (p=0,01). Nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u vrednostima medijane za godine života između prve i kontrolne grupe trudnica (p=0,21) i prve i druge ispitivane grupe (p=0,54).

Grafikon 1. Zastupljenost trudnica ispitivanih i kontrolne grupe u odnosu na godine života



Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).

Zastupljenost trudnica starosti 35,1-40 godina, statistički je značajno veća u prvoj ispitivanoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu trudnica (11/43 vs. 6/54,  $p=0,06$ ). Značajno veći broj trudnica starosti 25,1-30 godina se nalazi u kontrolnoj u odnosu na prvu ispitivanu grupu trudnica (10/43 vs. 21/54,  $p=0,01$ ). Trudnica starosti 20-25 godina, najviše ima u kontrolnoj grupi u odnosu na prvu ispitivanu grupu (12/54 vs. 2/43,  $p=0,01$ ), i drugu ispitivanu grupu trudnica (12/54 vs. 7/46,  $p=0,05$ ). Između ostalih grupa nije uočena statistički značajna razlika u odnosu na podjelu grupa po godinama života trudnica.

U tabeli 6 su prikazani rezultati poređenja opštih karakteristika između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica ( $\chi^2$  test nezavisnosti) .

Tabela 6. Opšte karakteristike trudnica u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica.

Grupa/Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost p
Mesto stanovanja				
Selo	19 (44,2%)	25 (54,3%)	27 (50%)	NS*, NS**
Grad	24 (55,8%)	21 (45,7%)	27 (50%)	<b>p=0,04***</b>
Stepen obrazovanja ‡				
Niži	7 (16,3%)	9 (19,5%)	11 (20,4%)	NS*
Srednji	30 (69,8%)	28 (61%)	34 (63%)	NS**
Viši	6 (13,9%)	9 (19,5%)	9 (16,6%)	NS***
Zaposlenost				<b>p=0,03*</b>
Da	27 (62,8%)	20 (43,5%)**	25 (46,3%)	NS**
Ne	16 (37,2%)	26 (56,5%)	29 (53,7%)	<b>p=0,04***</b>
Konzum cigareta				NS*
Da	7 (16,3%)	9 (19,6%)	12 (22,2%)	NS**
Ne	36 (83,7%)	37 (80,4%)	42 (77,8%)	NS***

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica); ‡Niži nivo – osnovno obrazovanje, srednji nivo – srednje obrazovanje, viši nivo – više i visoko obrazovanje; statistička značajnost između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe II\*,  $p < 0,05$  između grupe I i grupe III\*\*\*.

Uočeno je da statistički značajno veći broj trudnica grupe I (24/55,8%) živi u gradu u odnosu na trudnice kontrolne grupe (27/50%,  $p=0,04$ ). Takođe veći broj trudnica grupe I je zaposleno (27/62,8%) u odnosu na trudnice grupe II (20/43,5%,  $p=0,03$ ) i kontrolne grupe trudnica (25/46,3%,  $p=0,04$ ). Nisu uočene statističke značajne razlike u stepenu obrazovanja između sve tri grupe trudnica (između grupe I i grupe II,  $p=0,32$ , grupe I i grupe III,  $p=0,46$ , grupe II i grupe

III,  $p=0,14$ ). Nije uočena statistički značajna razlika u konzumiranju cigareta između sve tri grupe trudnica (između grupe I i grupe II,  $p=0,24$ , grupe I i grupe III,  $p=0,4$ , grupe II i grupe III,  $p=0,33$ ).

#### 4.1.2 Karakteristike prethodnih trudnoća u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

U tabeli 7 prikazani su rezultati poređenja ispitivanih i kontrolne grupe trudnica o karakteristikama prethodnih trudnoća.

Tabela 7. Karakteristike prethodnih trudnoća kod ispitivanih i kontrolne grupe trudnica

Grupa /Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost p
§Broj prethodnih trudnoća	0 (0-1)	1 (1-2)	1 (0-2)	<b>p&lt;0,001*</b> NS** NS***
‡ SP i Missed abortusi u prethodnim trudnoćama	0 (0-1)	0 (0-0)	0 (0-0)	NS* NS** <b>p&lt;0,001***</b>
§Zastoj u razvoju ploda u prethodnim trudnoćama	0 (0-1)	0 (0-0)*	0 (0-0)**	<b>p&lt;0,001*</b> NS** <b>p&lt;0,001***</b>
§Prevrmeni porođaji	0 (0-1)	0 (0-1)*	0 (0-0)**	NS* <b>p=0,04**</b> <b>p=0,04***</b>

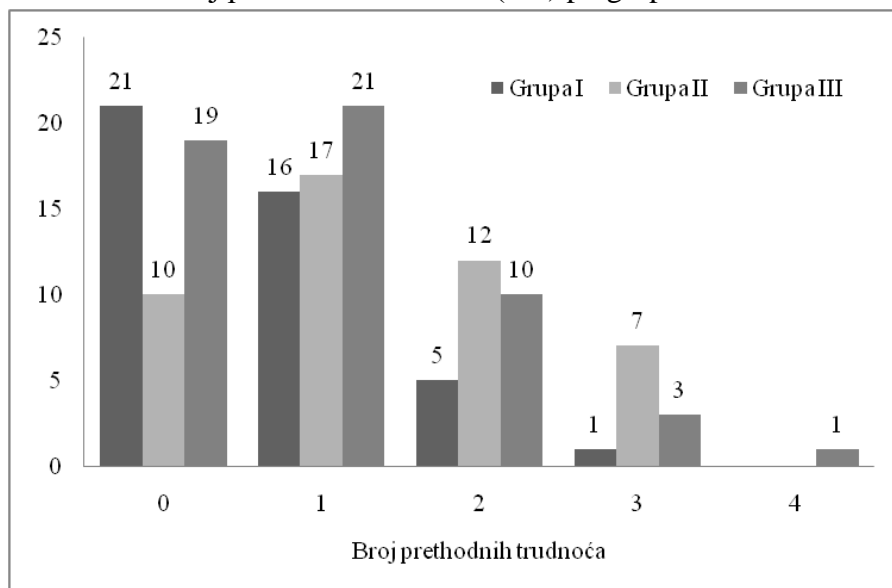
Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica); ‡ Spontani pobačaji. § Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Uočeno je da su trudnice u prvoj ispitivanoj grupi imale statistički značajno nižu vrednost medijane broja prethodnih trudnoća u odnosu na trudnice druge ispitivane grupe ( $p=0,00$ ), dok nije

bilo statistički značajne razlike u vrednostima medijane broja trudnoća između prve ispitivane i kontrolne grupe ( $p=0,19$ ) i druge ispitivane i kontrolne grupe ( $p=0,24$ ). Vrednosti medijane broja spontanih pobačaja i Missed abortusa su bile statistički značajno više u prvoj ispitivanoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu ( $p=0,00$ ), dok nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima medijane između prve i druge ispitivane grupe ( $p=0,1$ ) i druge ispitivane i kontrolne grupe trudnica ( $p=0,53$ ). Uočene su statistički značajno više vrednosti medijane zastoja u razvoju ploda u prvoj grupi trudnica u odnosu na drugu ispitivanu i kontrolnu grupu ( $p=0,00$ ), dok nije bilo razlike između druge ispitivane i kontrolne grupe ( $p=0,21$ ). Trudnice prve i druge ispitivane grupe su imale statistički značajno više vrednosti medijane broja prevremenih porođaja u prethodnim trudnoćama u odnosu na kontrolnu grupu ( $p=0,04$ ).

Na grafikonu 2 prikazana je zastupljenost ispitivanih trudnica prema broju prethodnih trudnoća (0-4).

Grafikon 2: Broj prethodnih trudnoća (0-4) po grupama trudnica

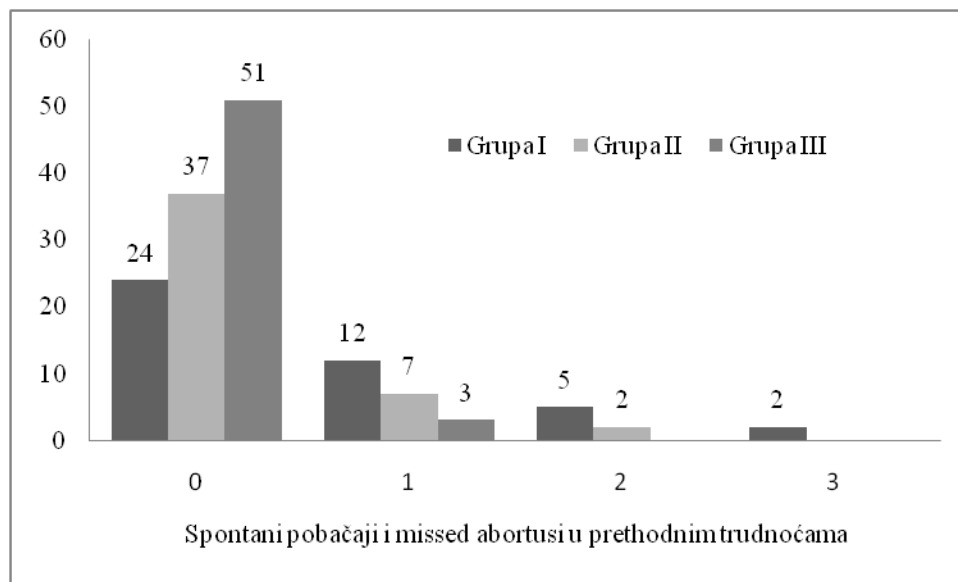


Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).

Trudnice prve ispitivane grupe imaju značajno veći broj prvih trudnoća u odnosu na drugu ispitivanu grupu (21/43 vs. 10/46,  $p=0,001$ ), trudnica sa prethodne tri trudnoće ima značajno više u drugoj ispitivanoj grupi (7/46 vs 1/43,  $p=0,03$ ) u odnosu na prvu ispitivanu i kontrolnu grupu trudnica (7/46 vs. 3/54,  $p=0,01$ ). Nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u ostalim grupama trudnica prema broju prethodnih trudnoća.

Na grafikonu 3 prikazana je zastupljenost ispitivanih trudnica prema prisustvu spontanijh pobačaja i missed abortusa.

Grafikon 3: Broj spontanijh pobačaja i missed abortusa (0-3) po grupama trudnica



Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).

Značajno veći broj trudnica bez spontanijh pobačaja i missed abortusa se nalazi u kontrolnoj grupi trudnica (51/54 vs. 24/43,  $p=0,01$ ) u odnosu na prvu ispitivanu i drugu ispitivanu grupu trudnica (51/54 vs. 37/46,  $p=0,03$ ), dok trudnica sa jednim prethodnim spontanijm pobačajem se nalazi više u prvoj ispitivanoj grupi (12/43 vs. 3/54,  $p=0,002$ ) u odnosu na kontrolnu grupu trudnica.

### 4.1.3 Nasledni, imunološki parametri i prisustvo pridruženih bolesti u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

U tabeli 8 prikazana su poređenja između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica prema naslednim i imunološkim karakteristikama vezanih za trudnoću.

Tabela 8. Nasledni i imunološki parametri kod trudnica ispitivanih i kontrolne grupe

Grupa /Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost p
‡PE u porodici (majka/sestra)	7 (16,3%)	1 (4,6%)	0 (0%)	<b>p&lt;0,001*</b> NS** <b>p&lt;0,001***</b>
‡PE u prethodnim trudnoćama	6 (13,4%)	1 (4,6%)	0 (0%)	<b>p&lt;0,001*</b> NS** <b>p&lt;0,001***</b>
§Broj partnera	3 (2-4)	5 (4-6)	4 (4-5)	<b>p&lt;0,001*</b> NS** <b>p&lt;0,001***</b>
‡§Dužina ekspozicije spermi	21 (5-65)	38,5 (31-45)	35,5 (24-45)	<b>p&lt;0,001*</b> NS** <b>p&lt;0,001***</b>

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica); ‡Dužina seksualnih odnosa izražena u mesecima. †  $\chi^2$  test nezavisnosti, § Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

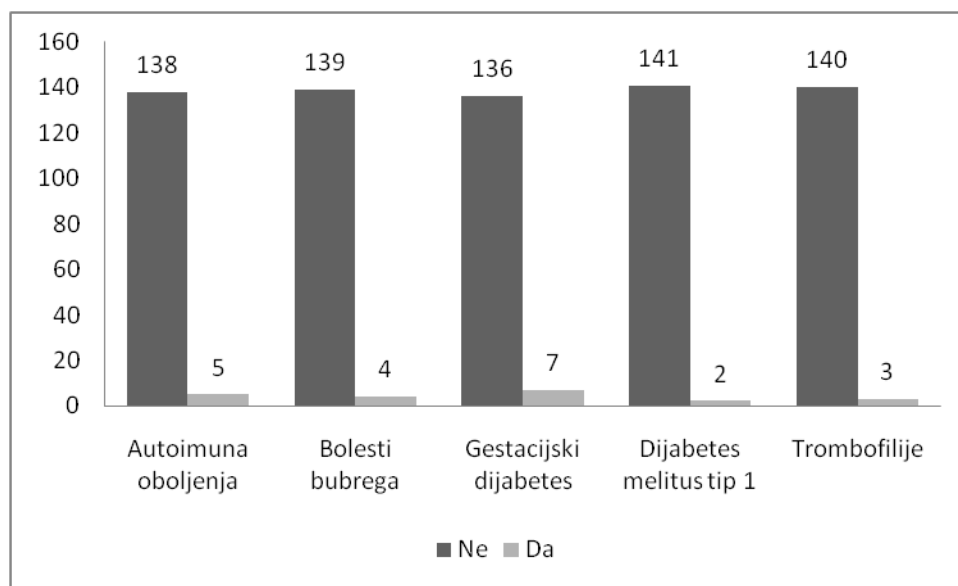
U prvoj ispitivanoj grupi je bilo statistički značajan veći broj trudnica sa prisustvom PE u bližoj porodici i prisustvom PE u prethodnim trudnoćama nego u drugoj ispitivanoj i kontrolnoj grupi trudnica (p=0,0). Trudnice prve ispitivane grupe su imale statistički značajno niže vrednosti medijane broja seksualnih partnera (p=0,00), u odnosu na drugu ispitivanu i kontrolnu grupu, dok



nije bilo značajne razlike između trudnica druge ispitivane i kontrolne grupe ( $p=0,31$ ). Trudnice prve ispitivane grupe su imale niže vrednosti medijane dužine ekspozicije spermi sa aktuelnim partnerom u odnosu na drugu ispitivanu grupu ( $p=0,00$ ) i kontrolnu grupu ( $p=0,00$ ), dok nije bilo statistički značajne razlike između druge ispitivane i kontrolne grupe ( $p=0,42$ ).

Na grafikonu 4 prikazani su podaci o prisustvu pridruženih bolesti u ispitivanim grupama trudnicama.

Grafikon 4: Prisustvo pridruženih bolesti u prvoj i drugoj ispitivanoj grupi trudnica



Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).

Na grafikonu 4 uočava se da od svih pridruženih bolesti gestacijski dijabetes je prisutan kod pet trudnica u prvoj i dve trudnice u drugoj ispitivanoj grupi. Sistemska autoimuna oboljenja se nalaze samo kod trudnica prve ispitivane grupe: dve trudnice imaju sistemski lupus eritematosus, dve trudnice antifosfolipidni sindrom i jedna trudnica reumatoidni artritis. Četiri trudnice prve ispitivane grupe imaju bolesti bubrega, dve trudnice - imunski difuzni mezangioproliferativni glomerulonefritis, jedna trudnica -glomerulonefritis sa minimalnim

promenama i jedna trudnica sa policističnim bubrežima. Dijabetes melitus tip I ima jedna trudnica u drugoj ispitivanoj grupi, dok tri trudnice u prvoj ispitivanoj grupi imaju oblik nasledne trombofilije.

#### 4.2 ANTROPOMETRIJSKI I KLINIČKI PARAMETRI U ISPITIVANIM I KONTROLNOJ GRUPI TRUDNICA

U tabeli 9 prikazana su poređenja antropometrijskih i kliničkih parametara između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica.

Tabela 9. Poređenje antropometrijskih i kliničkih parametara između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica.

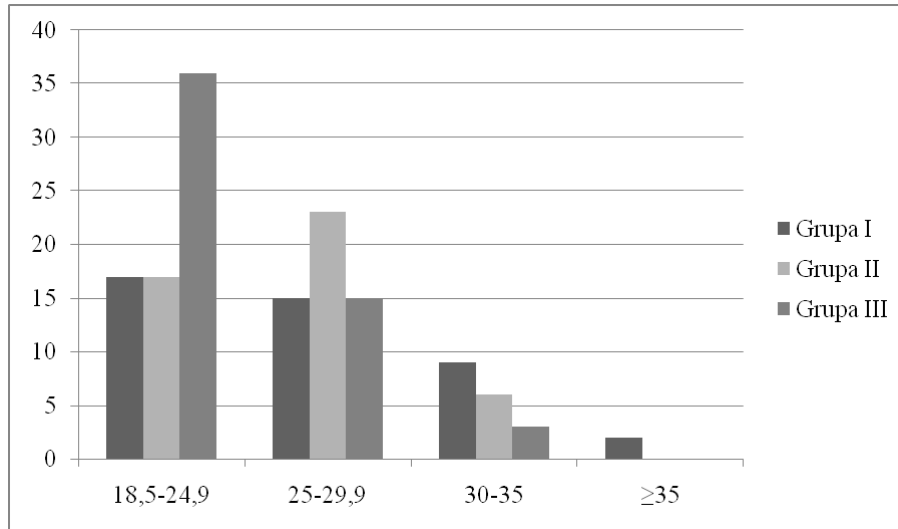
Grupa/Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost p
§‡ITM (kg/m <sup>2</sup> )	26,35±4,29 (18,94-33,91)	26,96±4,47 (19,37-40,07)	23,2±3,12 (16,26-29,3)	NS* <b>p&lt;0,001**</b> NS***
‡Sistolni arterijski pritisak (mmHg)	120 (117-124)	114,5 (112-120)	114 (110-117)	<b>p=0,01*</b> NS** <b>p=0,02***</b>
‡Dijastolni arterijski pritisak (mmHg)	78 (75-80)	71 (68-75)	69 (66-75)	<b>p=0,01*</b> NS** <b>p=0,01***</b>
‡Srednji arterijski pritisak (mmHg)	94,6 (91-97)	88,5 (85-92)	84 (81-88)**	NS* NS** <b>p=0,01***</b>

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica); § ITM: Indeks telesne mase, ‡ ANOVA, Post Hoc Duncan test, † Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

U tabeli 9 uočavaju se statistički značajno više vrednosti ITM u prvoj ispitivanoj u odnosu na kontrolnu grupu ( $26,35 \pm 4,29$  vs.  $23,2 \pm 3,12$  kg/m<sup>2</sup>,  $p=0,00$ ), takođe su vrednosti ITM značajno više u drugoj ispitivanoj u odnosu na kontrolnu grupu ( $26,96 \pm 4,47$  vs.  $23,2 \pm 3,12$  kg/m<sup>2</sup>  $p=0,00$ ). Vrednosti medijane sistolnog arterijskog pritiska je statistički značajno veća u prvoj ispitivanoj grupi u odnosu na drugu ispitivanu (120 (117-124) vs. 114,5 (112-120)  $p=0,01$ ) i kontrolnu grupu (120 (117-124) vs. 114 (110-117)  $p=0,02$ ), dok nije bilo značajne razlike između druge ispitivane i kontrolne grupe ( $p=0,32$ ). Vrednosti medijane dijastolnog arterijskog pritiska su statistički značajno više u prvoj ispitivanoj u odnosu na drugu ispitivanu i kontrolnu grupu (78 (75-80) vs. 71 (68-75), 78 (75-80) vs. 69 (66-75)  $p=0,01$ ), dok između druge ispitivane i kontrolne grupe nema značajne razlike ( $p=0,26$ ). Vrednosti medijane srednjeg arterijskog pritiska su statistički značajno više u prvoj ispitivanoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu (94,6 (91-97) vs. 84 (81-88)  $p=0,01$ ) dok nema značajne razlike između prve i druge ispitivane ( $p=0,22$ ) i druge ispitivane i kontrolne grupe ( $p=0,14$ ).

Na grafikonu 5 prikazana je zastupljenost trudnica u odnosu na stepen uhranjenosti.

Grafikon 5. Zastupljenost trudnica ispitivanih i kontrolne grupe u odnosu na stepen uhranjenosti (ITM  $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

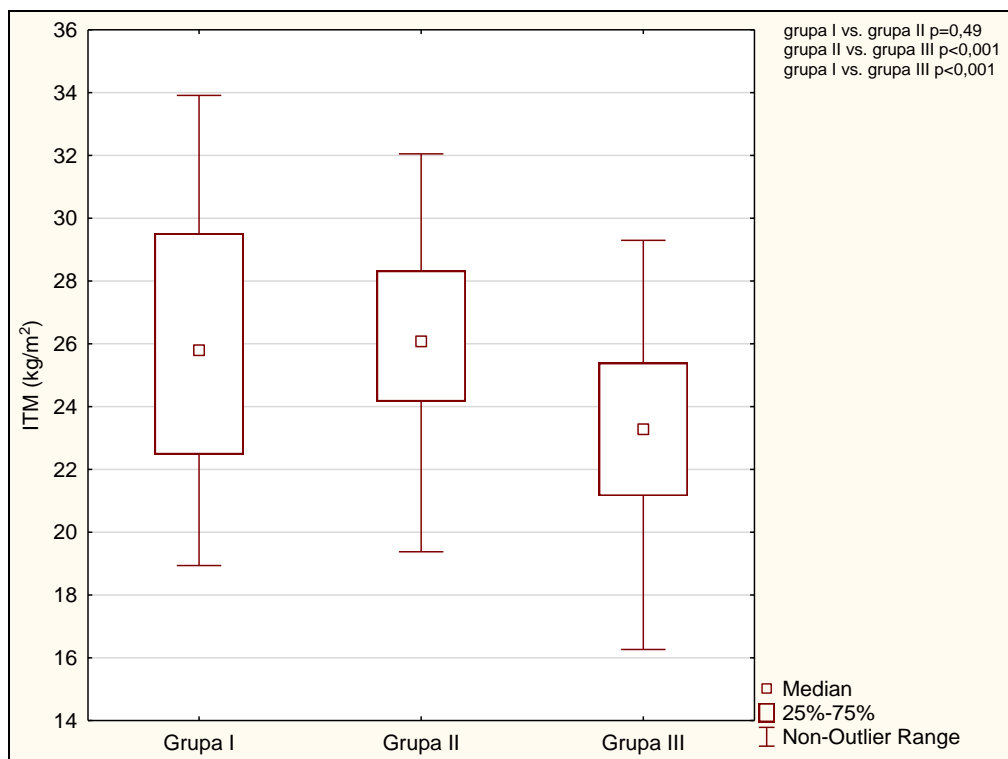


Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).

Trudnica sa ITM: 18,5-24,9, ima značajno više u kontrolnoj grupi (36/54 vs. 17/43,  $p=0,01$ ) u odnosu na prvu ispitivanu i drugu ispitivanu grupu trudnica (36/54 vs. 17/46,  $p=0,01$ ). Trudnica sa ITM: 25-29,9, ima više drugoj ispitivanoj grupi (23/46 vs. 15/54,  $p=0,02$ ) nego kontrolnoj grupi trudnica. U ostalim grupama nije uočeno postojanje statistički značajne razlike.

Na grafikonu 6 prikazana su poređenja vrednosti ITM između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica.

Grafikon 6. Poređenja ITM ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica



Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).

#### 4.3 LABORATORIJSKI PARAMETRI U ISPITIVANOJ I KONTROLNOJ GRUPI TRUDNICA

##### 4.3.1 Parametri inflamacije i hemostazni pokazatelji u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

U tabeli 10 prikazani su rezultati poređenja parametara inflamacije i hemostaze u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica.

Tabela 10. Parametri inflamacije i hemostazni pokazatelji u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica.

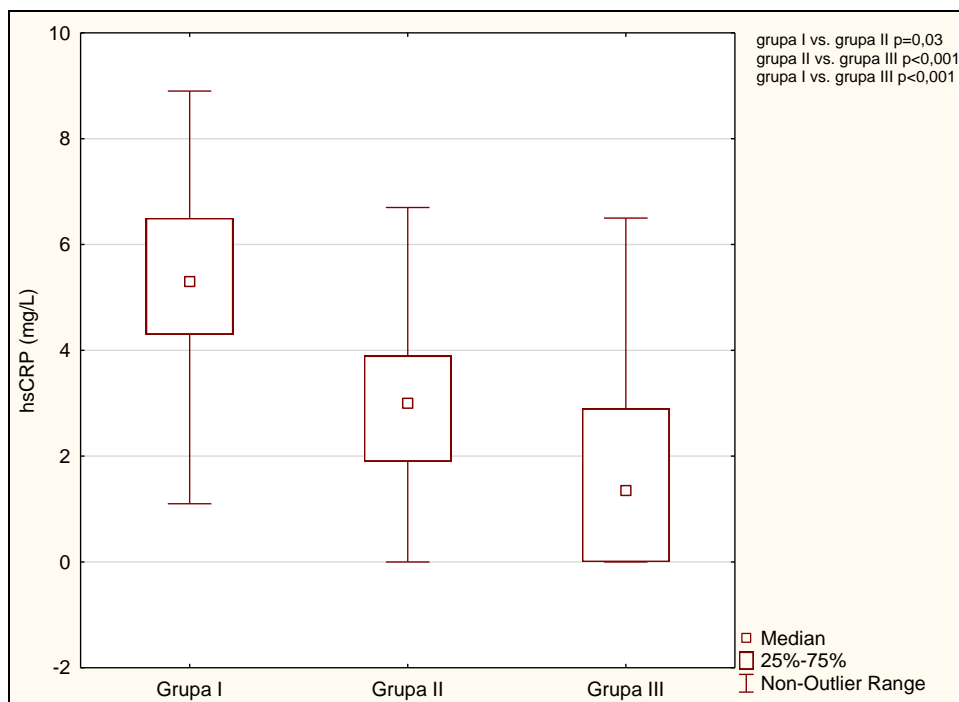
Grupa/Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost
‡Leukociti (x 10 <sup>9</sup> /L)	7,51±2,16 (Min. 5,41- 11,34)	8,02±1,63 (Min.4,98-10,55)	8,53±2,43 (Min.5,55-10,87)	NS* NS** NS***
#hsCRP (mg/L)	5,3 (4,3-6,5)	3,0 (1,9-3,9)	2,35 (1,0-3,2)	<b>p=0,03*</b> NS** <b>p&lt;0,01***</b>
‡Fibrinogen (g/L)	4,02±0,52 (Min.2,6- Max.5,27)	3,84±0,58 (Min.2,55- Max.5,87)	3,89±0,96 (Min.1,42- Max.6,37)	NS* NS** NS***
‡D dimer ng/ml	212,46±111,58 (Min.9-Max.714)	186,72±84,43 (Min.54-Max.464)	204,31±102,33 (Min.36-Max.622)	NS* NS** NS***
‡vWF-Ag (%)	188,43±56,84 (Min.118- Max.456)	208,31±77,2 (Min.96±Max.368)	181,54±67,44 (Min.112- Max.388)	NS* NS** NS***

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica); ‡ ANOVA, Post Hoc Duncan test, † Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Uočeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti medijane hsCRP u prvoj ispitivanoj u odnosu na drugu ispitivanu grupu (5,3 (4,3-6,5) vs 3,0 (1,9-3,9),  $p=0,03$ ) i kontrolnu grupu trudnica (5,3 (4,3-6,5) vs. 2,35 (1,0-3,2),  $p=0,00$ ). Nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u vrednostima medijane hsCRP između druge ispitivane i kontrolne grupe (3,0 (1,9-3,9) vs. 2,35 (1,0-3,2),  $p=0,54$ ). Nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u vrednostima fibrinogena između sve tri grupe trudnica (prve i druge ispitivane grupe:  $4,02\pm 0,52$  vs.  $3,84\pm 0,58$ ,  $p=0,27$ ; prve ispitivane i kontrolne grupe:  $4,02\pm 0,52$  vs.  $3,89\pm 0,96$ ,  $p=0,41$ ; druge ispitivane i kontrolne grupe:  $3,84\pm 0,58$  vs.  $3,89\pm 0,96$ ,  $p=0,73$ ). Nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u vrednostima broja leukocita u sve tri grupe trudnica (prva i druga ispitivana grupa:  $9,51\pm 2,16$  vs.  $9,02\pm 1,63$ ,  $p=0,34$ ; prva ispitivana i kontrolna grupa:  $9,51\pm 2,16$  vs.  $8,93\pm 2,43$ ,  $p=0,45$ ; druga ispitivana i kontrolna grupa:  $9,02\pm 1,63$  vs.  $8,93\pm 2,43$ ,  $p=0,56$ ). Između sve tri grupe trudnica nije uočena statistička značajna razlika u koncentracijama D dimera (prva i druga ispitivana grupa:  $212,46\pm 111,58$  vs.  $186,72\pm 84,43$ ,  $p=0,22$ ; prva ispitivana i kontrolna grupa:  $212,46\pm 111,58$  vs.  $204,31\pm 102,33$ ,  $p=0,19$ ; druga ispitivana i kontrolna grupa:  $186,72\pm 84,43$  vs.  $204,31\pm 102,33$ ,  $p=0,34$ ). Takođe nisu zabeležene statistički značajne razlike u vrednostima vWF-Ag između sve tri grupe trudnica (prva i druga ispitivana grupa:  $188,43\pm 56,84$  vs.  $208,31\pm 77,2$ ,  $p=0,18$ ; prva ispitivana i kontrolna grupa:  $188,43\pm 56,84$  vs.  $181,54\pm 67,44$ ,  $p=0,32$ ; druga ispitivana i kontrolna grupa:  $208,31\pm 77,2$  vs.  $181,54\pm 67,44$ ,  $p=0,14$ ).

Na grafikonu 7 prikazana su poređenja vrednosti hsCRP između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica.

Grafikon 7. Poređenja koncentracije hsCRP (mg/L) između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica



Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica

#### 4.3.2 Hematološki i biohemijski parametri u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

U tabeli 11 prikazani su rezultati poređenja osnovnih hematoloških i biohemijskih parametara kod trudnica (ANOVA, Post Hoc Tukey test).



Tabela 11. Hematološki i biohemijski parametri u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

Grupa/Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost
Eritrociti (x 10 <sup>12</sup> /L)	4,23±0,44 (Min.3,12-5,18)	4,11±0,52 (Min.3,45-5,06)	4,18±0,33 (Min.3,22-4,98)	NS* NS** NS***
lHgb (g/L)	119,53±9,55 (Min.92-Max.143)	122,42±7,43 (Min.96-Max.140)	120,95±10,33 (Min.90-144)	NS* NS** NS***
§Hct	0,44±0,01 (Min.0,33-Max.0,47)	0,39±0,03 (Min.0,31-Max.0,41)	0,38±0,4 (Min.0,30-Max.0,45)	NS* NS** NS***
Trombociti (x 10 <sup>9</sup> /L)	243,34±45,11 (Min.178-Max.345)	267,80±83,31 (Min.196-Max.401)	233,44±73,8 (Min.199-Max.397)	NS* NS** NS***
Glukoza našte mmol/L	5,11±0,45 (Min.4,11-Max.6,0)	4,87±0,77 (Min.3,96-5,80)	4,77±0,57 (Min.4,11-Max.5,58)	NS* NS** NS***
Urea mmol/L	3,80±2,40 (Min.1,5-Max.7,5)	2,5±0,8 (Min.1,4-Max.7,2)	3,9±0,7 (Min.1,9-Max.8,0)	NS* NS** NS***
Kreatinin mmol/L	53,82±7,40 (Min.40-Max.77)	49,21±4,11 (Min.38-Max.69)	48,93±6,30 (Min.40-Max.78)	NS* NS** NS***
Mokraćna kiselina μmol/L	194,89±42,02 (Min.108-Max.288)	106,02±31,97*** (Min.104-Max.232)	176,48±35,74 (Min.103-Max.263)	<b>p&lt;0,001*</b> NS** NS***
‡AST (U/L)	15,1±2,30 (Min. 5-Max.24)	17,3±3,80 (Min.7-Max.25)	17,81±3,50 (Min.2-Max.30)	NS* NS** NS***
‡ALT (U/L)	19,3±3,40 (Min.7-Max.31)	17,5±5,44 (Min.4-Max.28)	18,7±5,60 (Min.9-Max.29)	NS* NS** NS***
†GGT (U/L)	23,6±8,30 (Min.7-Max.39)	22,00±4,21 (Min.9-Max.36)	23,60±3,41 (Min.11-Max.35)	NS* NS** NS***

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica); lHgb-hemoglobin, § Hct-hematokrit, ‡AST-aspartat-aminotransferaza, ‡ALT-alanin-amino-transferaza, †GGT-gama glutamil-transferaza. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Između sve tri grupe trudnica nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u broju eritrocita (prva i druga ispitivana grupa  $4,23 \pm 3,34$  vs.  $4,11 \pm 3,22$ ,  $p=0,45$ , prva ispitivana i kontrolna grupa  $4,23 \pm 3,34$  vs.  $4,18 \pm 3,25$ ,  $p=0,34$ , druga ispitivana i kontrolna grupa  $4,11 \pm 3,22$  vs.  $4,18 \pm 3,25$ ,  $p=0,22$ ). Nisu uočene statistički značajne razlike između sve tri grupe trudnica u količini hemoglobina (prva i druga ispitivana  $119,53 \pm 9,55$  vs.  $122,42 \pm 7,43$ ,  $p=0,14$ , prva ispitivana i kontrolna grupa  $119,53 \pm 9,55$  vs  $120,95 \pm 10,33$ ,  $p=0,26$ , druga ispitivana i kontrolna grupa  $122,42 \pm 7,43$  vs.  $120,95 \pm 10,33$ ,  $p=0,61$ ). Nisu uočene statistički značajne razlike u vrednostima hematokrita u sve tri grupe trudnica (prva i druga ispitivana  $0,44 \pm 0,01$  vs.  $0,35 \pm 0,03$ ,  $p=0,21$ , prva ispitivana i kontrolna grupa  $0,44 \pm 0,01$  vs  $0,37 \pm 0,4$ ,  $p=0,18$ , druga ispitivana i kontrolna grupa  $0,35 \pm 0,03$  vs.  $0,37 \pm 0,4$ ,  $p=0,42$ ). Broj trombocita se nije statistički značajno razlikovao u sve tri grupe trudnica (prva i druga ispitivana  $243,34 \pm 45,11$  vs.  $267,80 \pm 63,31$ ,  $p=0,14$ , prva ispitivana i kontrolna grupa  $243,34 \pm 45,11$  vs  $233,44 \pm 53,8$ ,  $p=0,43$ , druga ispitivana i kontrolna grupa  $267,80 \pm 63,31$  vs.  $233,44 \pm 53,8$ ,  $p=0,39$ ). Koncentracije glukoze našte se nisu statistički značajno razlikovale u sve tri grupe trudnica, iako su prosečne vrednosti bile više u prvoj ispitivanoj u odnosu na preostale dve grupe trudnica (prva i druga ispitivana  $5,11 \pm 0,45$  vs.  $4,87 \pm 0,77$ ,  $p=0,24$ , prva ispitivana i kontrolna grupa  $5,11 \pm 0,45$  vs  $4,67 \pm 1,20$ ,  $p=0,18$ , druga ispitivana i kontrolna grupa  $4,87 \pm 0,77$  vs.  $4,67 \pm 1,20$ ,  $p=0,28$ ). Koncentracije uree se nisu statistički značajno razlikovale u sve tri grupe trudnica (prva i druga ispitivana  $3,87 \pm 2,43$  vs.  $2,56 \pm 0,88$ ,  $p=0,09$ , prva ispitivana i kontrolna grupa  $2,56 \pm 0,88$  vs  $3,93 \pm 0,75$ ,  $p=0,11$ , druga ispitivana i kontrolna grupa  $2,56 \pm 0,88$  vs.  $3,93 \pm 0,75$ ,  $p=0,08$ ). U sve tri grupe trudnica nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u koncentraciji kreatinina (prva i druga ispitivana.

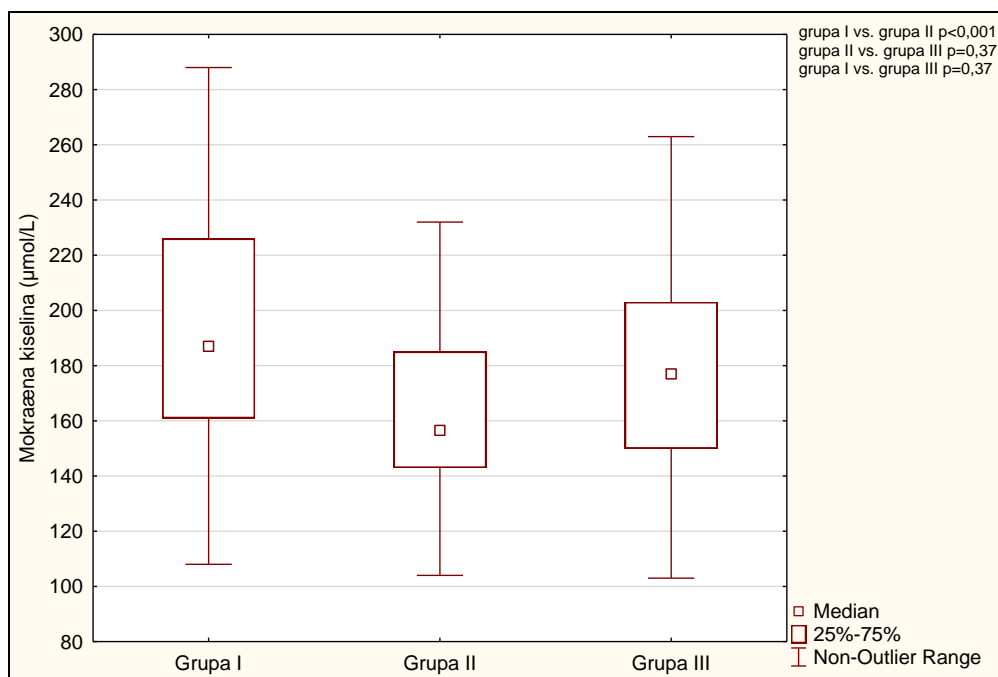
43,81±7,45 vs. 43,25±4,12, p=0,56, prva ispitivana i kontrolna grupa 43,81±7,45 vs 45,91±6,3, p=0,38 , druga ispitivana i kontrolna grupa 43,25±4,12 vs. 45,91±6,3, p=0,42).

Koncentracije mokraćne kiseline su bile statistički značajno više u prvoj ispitivanoj u odnosu na drugu ispitivanu grupu (194,89±42,02 vs. 106,02±31,97, p=0,00), između druge ispitivane i kontrolne grupe nije bilo statistički značajne razlike (106,02±31,97 vs. 176,48±35,74, p=0,37). Koncentracije mokraćne kiseline su prosečno bile više u prvoj ispitivanoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu ali bez postignute statističke značajnosti (194,89±42,02 vs. 176,48±35,74, p=0,37).

Nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima AST između sve tri grupe trudnica (prva i druga ispitivana grupa: 15,11±2,34 vs. 17,32±3,84, p=0,41; prva ispitivana i kontrolna grupa: 15,11±2,34 vs 17,81±3,51, p=0,36; druga ispitivana i kontrolna grupa: 17,32±3,84 vs. 17,81±3,5, p=0,24). Između sve tri grupe trudnica nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima ALT (prva i druga ispitivana grupa: 17,31±2,44 vs. 18,55±2,44, p=0,23; prva ispitivana i kontrolna grupa: 17,31±2,44 vs 18,74±3,61, p=0,15; druga ispitivana i kontrolna grupa: 18,55±2,44 vs. 18,74±3,61, p=0,32). Vrednosti GGT se statistički nisu značajno razlikovale između grupa (prva i druga ispitivana grupa: 21,5±5,32 vs. 19,55±4,21, p=0,26; prva ispitivana i kontrolna grupa: 21,5±5,32 vs 23,64±3,44, p=0,19; druga ispitivana i kontrolna grupa 19,55±4,21 vs. 23,64±3,44, p=0,12).

Na grafikonu 8 prikazana su poređenja mokraćne kiseline između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica.

Grafikon 8. Poređenja koncentracije mokraćne kiseline između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica



Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).

### 4.3.3 Parametri elektrolitskog statusa u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

U tabeli 12 prikazana su poređenja parametara elektrolitskog statusa između posmatranih grupa trudnica (Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test).

Tabela 12. Parametri elektrolitskog statusa u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

Grupa/Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost
Natrijum mmol/L	141 (140-145)	143 (141-146)	141 (139-144)	NS* NS** NS***
Kalijum mmol/L	4,4 (4,1-4,7)	4,2 (3,9-4,5)	4,3 (4,1-4,6)	NS* NS** NS***
Hlor mmol/L	103 (100-107)	102 (99-105)	100 (97-102)	NS* NS** NS***
Fosfor mmol/L	0,95 (0,84-1,18)	1,0 (0,85-1,2)	1,05 (0,96-1,21)	NS* NS** NS***
Uk.kalcijum mmol/L	2,4 (2,2-2,6)	2,3 (2,2-2,5)	2,4 (2,3-2,6)	NS* NS** NS***
Magnezijum mmol/L	0,9 (0,7-1,0)	0,8 (0,7-0,9)	0,8 (0,7-0,9)	NS* NS** NS***
Jonizovani kalcijum Ca <sup>++</sup> mmol/L	1,00 (0,95-1,05)	1,05 (1,0-1,1)	1,07 (1,02-1,115)	NS* NS** NS***

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica); Uk.kalcijum-ukupni kalcijum. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Između ispitivanih grupa trudnica nisu uočene statistički značajne razlike u vrednostima elektrolita. Poređenja za koncentracije natrijuma (prva i druga ispitivana grupa: 141 (140-145) vs. 143 (141-146), p=0,15, prva ispitivana i kontrolna grupa 141 (140-145) vs 141 (139-144), p=0,21,

druga ispitivana i kontrolna grupa 143 (141-146) vs. 141 (139-144),  $p=0,24$ ). Poređenja za koncentracije kalijuma (prva i druga ispitivana grupa. 4,4 (4,1-4,7) vs. 4,2 (3,9-4,5),  $p=0,33$  prva ispitivana i kontrolna grupa 4,4 (4,1-4,7) vs 4,3 (4,1-4,6),  $p=0,11$ , druga ispitivana i kontrolna grupa 4,2 (3,9-4,5) vs. 4,3 (4,1-4,6),  $p=0,27$ ). Poređenja za koncentracije hlora (prva i druga ispitivana grupa: 103 (100-107) vs. 102 (99-105),  $p=0,08$ , prva ispitivana i kontrolna grupa: 103 (100-107) vs 100 (97-102),  $p=0,13$ , druga ispitivana i kontrolna grupa: 102 (99-105) vs. 100 (97-102),  $p=0,41$ ). Poređenja za koncentracije fosfora (prva i druga ispitivana grupa: 0,95 (0,84-1,18) vs. 1,0 (0,85-1,2),  $p=0,09$ ; prva ispitivana i kontrolna grupa: 0,95 (0,84-1,18) vs 1,05 (0,96-1,21),  $p=0,33$ ; druga ispitivana i kontrolna grupa 1,0 (0,85-1,2) vs. 1,05 (0,96-1,21),  $p=0,45$ ). Poređenja koncentracije ukupnog kalcijuma (prva i druga ispitivana grupa: 2,4 (2,2-2,6) vs. 2,3 (2,2-2,5),  $p=0,45$ ; prva ispitivana i kontrolna grupa: 2,4 (2,2-2,6) vs 2,4 (2,3-2,6),  $p=0,35$ ; druga ispitivana i kontrolna grupa: 2,3 (2,2-2,5) vs. 2,4 (2,3-2,6),  $p=0,54$ ). Poređenja koncentracijuma magnezijuma (prva i druga ispitivana grupa: 0,9 (0,7-1,0) vs. 0,8 (0,7-0,9),  $p=0,24$ ; prva ispitivana i kontrolna grupa 0,9 (0,7-1,0) vs 0,8 (0,7-0,9),  $p=0,31$ , druga ispitivana i kontrolna grupa 0,8 (0,7-0,9) vs. 0,8 (0,7-0,9),  $p=0,86$ ). Poređenja koncentracije jonizovanog kalcijuma (prva i druga ispitivana grupa: 1,00 (0,95-1,05) vs. 1,05 (1,0-1,1),  $p=0,09$ ; prva ispitivana i kontrolna grupa: 1,00 (0,95-1,05) vs 1,07 (1,02-1,115),  $p=0,14$ ; druga ispitivana i kontrolna grupa: 1,05 (1,0-1,1) vs. 1,07 (1,02-1,115),  $p=0,40$ ).

#### **4.3.4 Parametri metabolizma lipida i lipoproteina u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica**

U tabeli 13 predstavljeni su rezultati poređenja parametara metabolizma lipida i lipoproteina između posmatranih grupa trudnica.

Tabela 13. Parametri metabolizma lipida i lipoproteina u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

Grupa/Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost
‡Uk. holesterol (mmol/L)	4,85±1,64 (Min.3,88- Max.5,6)	5,01±1,88 (Min.4,01- Max.5,4)	4,77±0,97 (Min.3,66-Max- 5,22)	NS* NS** NS***
‡Trigliceridi (mmol/L)	1,34±0,54 (Min.0,98- Max.2,14)	1,42±0,24 (Min.1,0-Max.2,4)	1,05±0,31 (Min.0,56- Max.1,73)	<b>p=0,09*</b> <b>p=0,01**</b> <b>p=0,03***</b>
‡LDL – H (mmol/L)	2,64±0,76 (Min.1,88- Max.3,23)	2,48±0,63 (Min.1,34- Max.3,50)	2,31±0,88 (Min.1,56- Max.2,92)	NS* NS** NS***
‡HDL – H (mmol/L)	1,15±0,43 (Min.0,67-Max- 1,76)	1,22±0,54 (Min.0,75- Max.2,01)	1,65±0,63 (Min.0,97- Max.2,45)	NS* NS** <b>p=0,02***</b>
‡Apo A-I (g/L)	1,38 (1,10-1,75)	1,26 (0,93-1,64)	1,45 (1,12-1,79)	NS* NS** NS***
‡Apo B (g/L)	0,82 (0,57-1,10)	0,85 (0,60-1,05)	0,76 (0,53-0,98)	NS* NS*** NS***
TG/HDL-H	1,35±0,75 (Min.0,54- Max.2,12)	1,40±0,56 (Min.0,56- Max.2,01)	0,72±0,31 (Min.0,33- Max.1,55)	NS* <b>p=0,07**</b> NS***

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica); UK holesterol-ukupni holesterol; apo A-I – apolipoprotein A-I, apo B-apolipoprotein B; Lp(a)-lipoprotein; ‡ ANOVA, Post Hoc Duncan test; † Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Između sve tri grupe trudnica nije utvrđeno postojanje statistički značajnih razlika u vrednostima ukupnog holesterola (prva i druga ispitivana grupa: 4,85±1,64 vs. 5,01±1,88, p=0,26; prva ispitivana i kontrolna grupa: 4,85±1,64 vs 4,77±0,97, p=0,34; druga ispitivana i kontrolna grupa: 5,01±1,88 vs. 4,77±0,97, p=0,17).

Utvrđeno je da su vrednosti triglicerida u prvoj i drugoj ispitivanoj grupi statistički značajno više u odnosu na kontrolnu grupu trudnica (prva i druga ispitivana grupa: 1,34±0,54 vs.

1,42±0,24, p=0,09; prva ispitivana i kontrolna grupa: 1,34±0,54 vs 1,05±0,31, p=0,03; druga ispitivana i kontrolna grupa: 1,42±0,24 vs. 1,05±0,31, p=0,01). Nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima LDL holesterola između sve tri grupe trudnica (prva i druga ispitivana grupa: 2,64±0,76 vs. 2,48±0,63, p=0,14; prva ispitivana i kontrolna grupa 2,64±0,76 vs 2,31±0,88 , p=0,21; druga ispitivana i kontrolna grupa 2,48±0,63 vs. 2,31±0,88, p=0,28).

Vrednosti HDL holesterola su statistički značajno više kod trudnica prve ispitivane grupe u odnosu na kontrolnu grupu (1,35±0,43 vs. 1,65±0,63, p=0,02), dok nije bilo statistički značajne razlike između druge ispitivane i kontrolne grupe (1,68±0,54 vs. 1,65±0,63, p=0,12). Prva ispitivana grupa ima niže prosečne vrednosti u odnosu na drugu ispitivanu grupu ali bez utvrđene statističke značajnosti (1,35±0,43 vs. 1,68±0,54, p=0,06). Nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između vrednosti apolipoproteina A-I između sve tri grupe trudnica (prva i druga ispitivana grupa: 1,38 (1,10-1,75) vs. 1,26 (0,93-1,64) , p=0, 14; prva ispitivana i kontrolna grupa: 1,38 (1,10-1,75) vs 1,45 (1,12-1,79), p=0, 09; druga ispitivana i kontrolna grupa: 1,26 (0,93-1,64) vs. 1,45 (1,12-1,79), p=0,18). Između sve tri grupe trudnica nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u vrednostima apolipoproteina B ((prva i druga ispitivana grupa: 0,82 (0,57-1,10) vs. 0,85 (0,60-1,05) , p=0, 22; prva ispitivana i kontrolna grupa: 0,82 (0,57-1,10) vs 0,76 (0,53-0,98), p=0,32; druga ispitivana i kontrolna grupa: 0,85 (0,60-1,05) vs. 0,76 (0,53-0,98), p=0,21). Nije bilo značajne razlike u vrednostima TG/HDL-H između prve i druge ispitivane grupe: 1,35±0,75 vs. 1,40±0,56, p=0,62; prva ispitivane i kontrolne grupe: 1,35±0,75 vs 0,72±0,31, p=0,11; dok je utvrđena značajna razlika između druge ispitivane i kontrolne grupe 1,40±0,56 vs. 0,72±0,31, p=0,07).



### 4.3.5 Serumski proteini angiogeneze u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

#### 4.3.5.1 Serumske koncentracije solubilne forme antiangiogenog receptora 1 za vaskularni endotelni faktor rasta (sFlt-1) u posmatranim grupama trudnica

U tabeli 14 prikazani su rezultati poređenja serumskih koncentracija sFlt-1 u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica (ANOVA test, Post Hoc Duncan test).

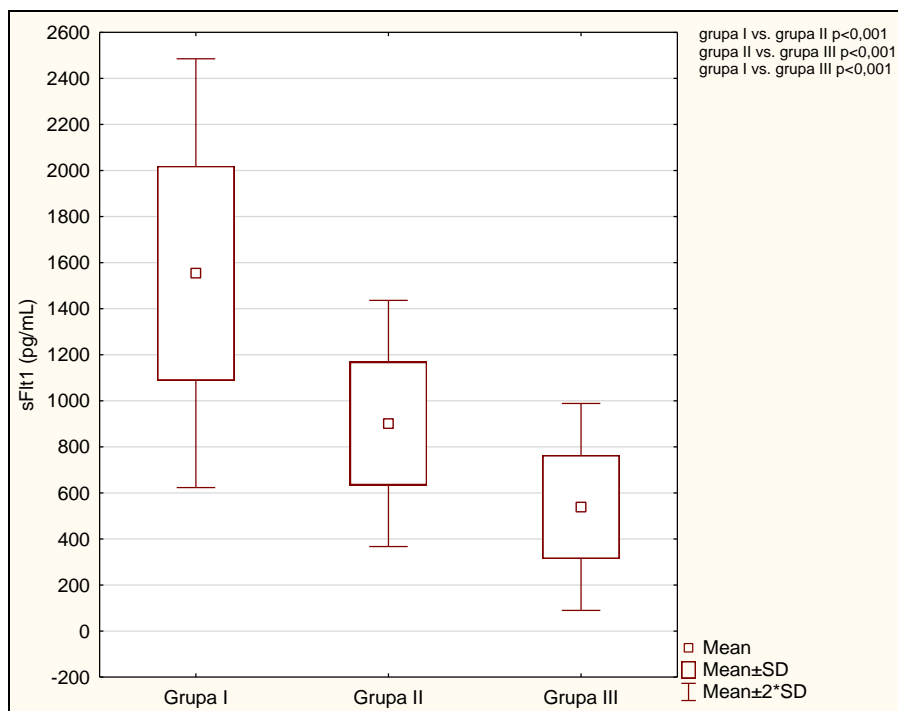
Tabela 14. Poređenje serumskih koncentracija sFlt-1 u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

Grupa/Parametar	Grupa I (n=43) ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min – Max)	Grupa II (n=46) ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min – Max)	Grupa III (n=54) ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min – Max)	Statistička značajnost
sFlt-1 (pg/mL)	1554,06 $\pm$ 465,60 (745,00-2430,50)	901,46 $\pm$ 267,24 (350,5-1650,00)	538,88 $\pm$ 224,69 (155,50-1010,00)	<b>p&lt;0,001*</b> <b>p&lt;0,001**</b> <b>p&lt;0,001***</b>

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica);sFlt1-solubilni receptor za vaskularni endotelni faktor rasta. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Između sve tri grupe trudnica utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u vrednostima serumske koncentracije sFlt-1 (prva i druga ispitivana grupa: 1554,06 $\pm$ 465,60 vs. 901,46 $\pm$ 267,24, p=0,00; prva ispitivana i kontrolna grupa 1554,06 $\pm$ 465,60 vs 538,88 $\pm$ 224,69, p=0,00; druga ispitivana i kontrolna grupa 901,46 $\pm$ 267,24 vs. 538,88 $\pm$ 224,69, p=0,00).

Grafikon 9. Poređenja serumske koncentracije sFlt-1 (pg/mL) u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica



Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).

#### 4.3.5.2 Serumske koncentracije vaskularnog endotelnog faktora rasta A (VEGF-A) u posmatranim grupama trudnica

U tabeli 15 prikazani su rezultati poređenja serumskih koncentracija VEGF-A između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica (Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test).

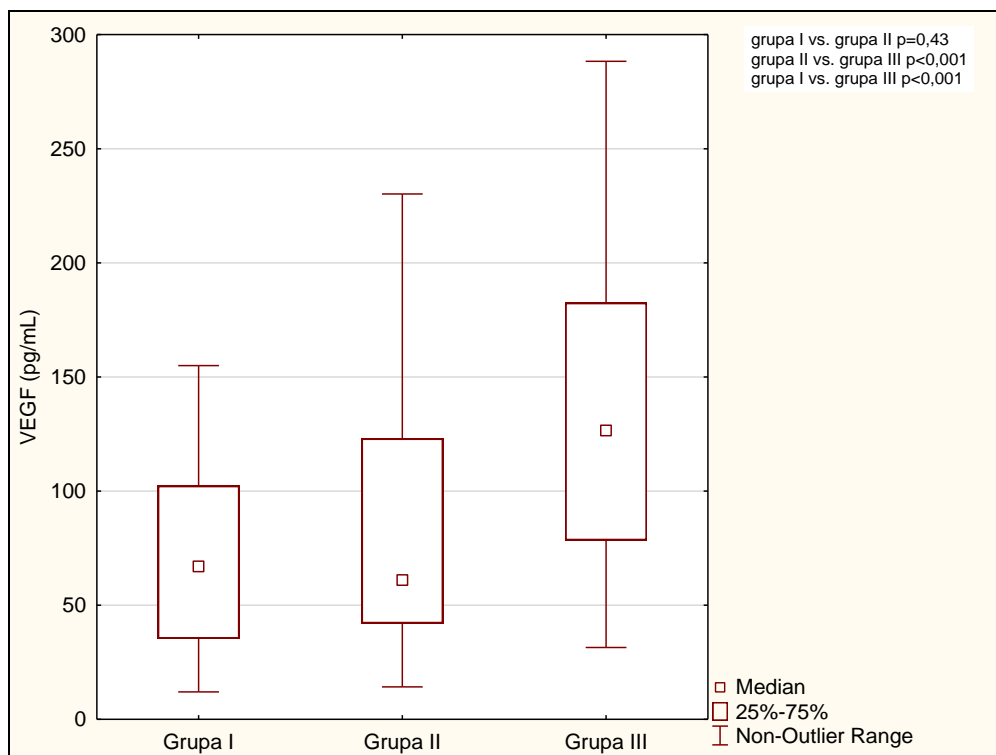
Tabela 15. Poređenja serumskih koncentracija VEGF-A između ispitivanih i kontrolne grupe trudnica

Grupa/Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost
VEGF-A (pg/mL)	67 (35,4-102,3)	61 (42,1-123,0)	126,5(78,5-182,5)	NS* <b>p&lt;0,001**</b> <b>p&lt;0,001***</b>

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica); VEGF-A-vaskularni endotelni faktor rasta A. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u vrednostima serumske koncentracije VEGF-A između prve ispitivane i kontrolne grupe: (67 (35,4-102,3) vs. 126,5(78,5-182,5), p=0,00; i između druge ispitivane i kontrolne grupe: (61 (42,1-123,0) vs. 126,5(78,5-182,5), p=0,00), dok između prve i druge ispitivane grupe nije uočeno postojanje statistički značajne razlike (67 (35,4-102,3) vs. 61 (42,1-123,0), p=0,43).

Grafikon 10. Poređenje serumskih koncentracija VEGF-A (pg/mL) u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica



Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).

### 4.3.5.3 Serumske koncentracije placentalnog faktora rasta (PIGF) u posmatranim grupama trudnica

U tabeli 16 prikazana su poređenja serumskih koncentracija placentalnog faktora rasta (PIGF) u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica (Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test).

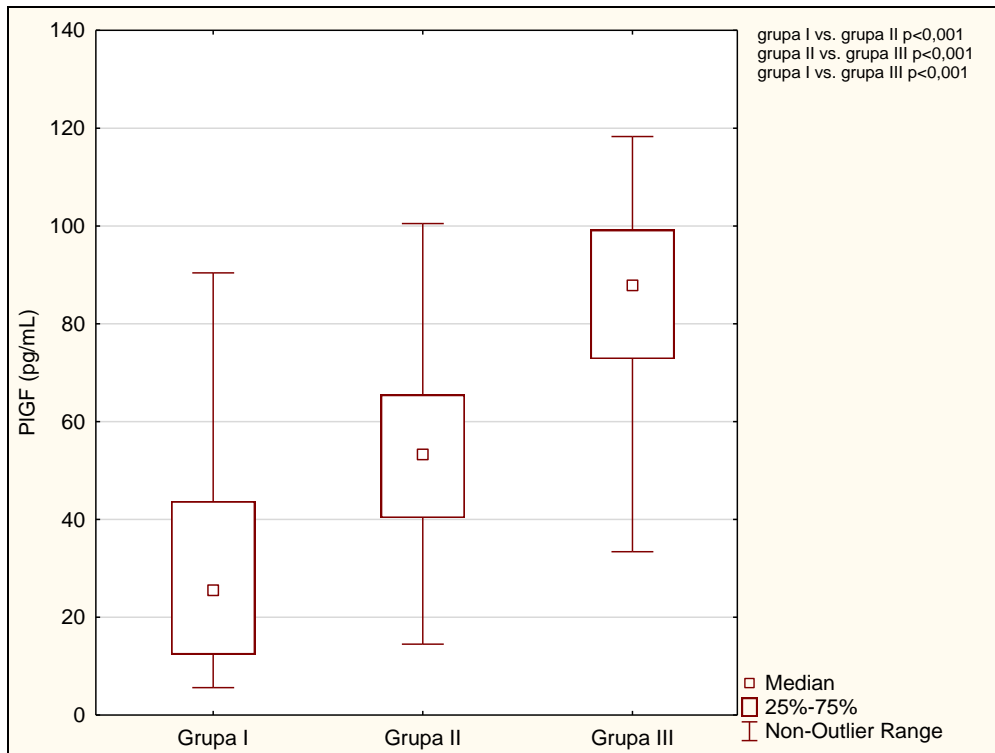
Tabela 16. Poređenja serumskih koncentracija PIGF u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

Grupa/Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost
PIGF (pg/mL)	25,5 (12,4-43,7)	53,3 (40,3-65,5)	87,85 (72,8-99,2)	<b>p&lt;0,001*</b> <b>p&lt;0,001**</b> <b>p&lt;0,001***</b>

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).PIGF-placentalni faktor rasta. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u vrednostima medijane serumske koncentracije PIGF između sve tri grupe trudnica (prva i druga ispitivana grupa: 25,5 (12,4-43,7) vs. 53,3 (40,3-65,5), p=0,00; prva ispitivana i kontrolna grupa 25,5 (12,4-43,7) vs 87,85 (72,8-99,2), p=0,00, druga ispitivana i kontrolna grupa 53,3 (40,3-65,5) vs. 87,85 (72,8-99,2), p=0,00).

Grafikon 11. Poređenja serumskih koncentracija PlGF u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica



Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).

#### 4.3.5.4 Serumski proteini PAPP-A i free $\beta$ hCG

U tabeli 17 i 18 prikazana su poređenja PAPP-A i free  $\beta$ hCG između ispitivanih grupa trudnica.

##### 4.3.5.4.1 Serumske koncentracije plazma protein A povezan sa trudnoćom (PAPP-A) u posmatranim grupama trudnica

U tabeli 17 prikazana su poređenja serumskih koncentracija PAPP-A između ispitivanih I kontrolne grupe trudnica (Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test).

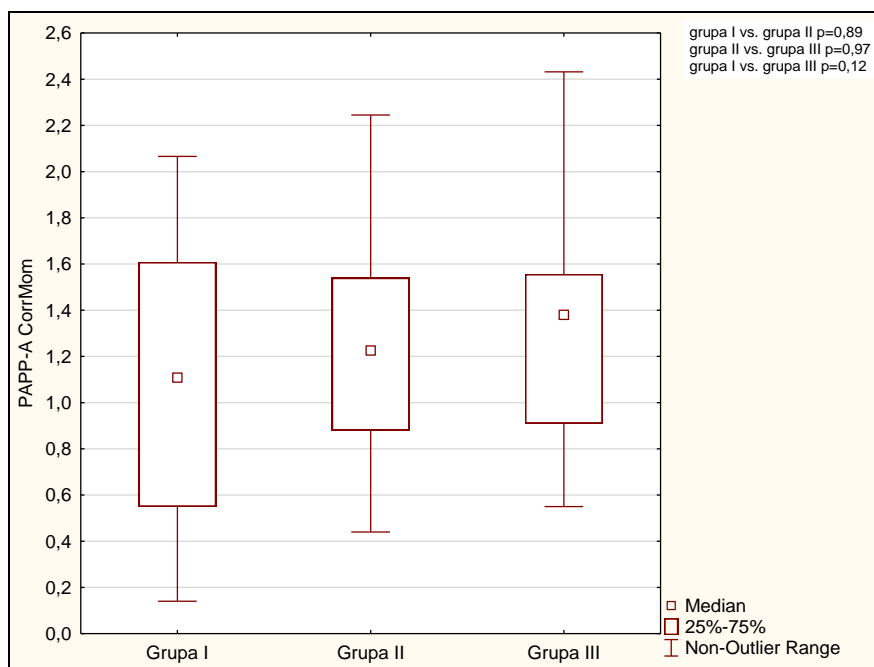
Tabela 17. Poređenja serumskih koncentracija PAPP-A u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

Grupa/Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost
PAPP-A	1,1 (0,55-1,60)	1,23 (0,88-1,54)	1,38 (0,91-1,56)	NS*
CorrMom				NS** NS***

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica). PAPP-A- plazma protein A povezan sa trudnoćom. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Između ispitivanih grupa trudnica nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u vrednostima medijane serumске koncentracije PAPP-A, međutim uočava se da su vrednosti medijane u prvoj ispitivanoj grupi niže u odnosu na drugu ispitivanu grupu (1,1 (0,55-1,60) vs. 1,23 (0,88-1,54),  $p=0,89$ ; i niže u odnosu na kontrolnu grupu (1,1 (0,55-1,60) vs. 1,38 (0,91-1,56),  $p=0,12$ . Vrednosti medijane serumске koncentracije PAPP-A su niže u drugoj ispitivanoj u odnosu na kontrolnu grupu trudnica (1,23 (0,88-1,54) vs. 1,38 (0,91-1,56),  $p=0,97$ ).

Grafikon 12. Poređenja serumskih koncentracija PAPP-A u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica.



Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).



#### 4.3.5.4.2 Serumske koncentracije slobodnih beta podjedinica humanog horionskog gonadotropina (free $\beta$ hCG) u posmatranim grupama trudnica

U tabeli 18 prikazana su poređenja serumskih koncentracija free  $\beta$ hCG u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica (Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test).

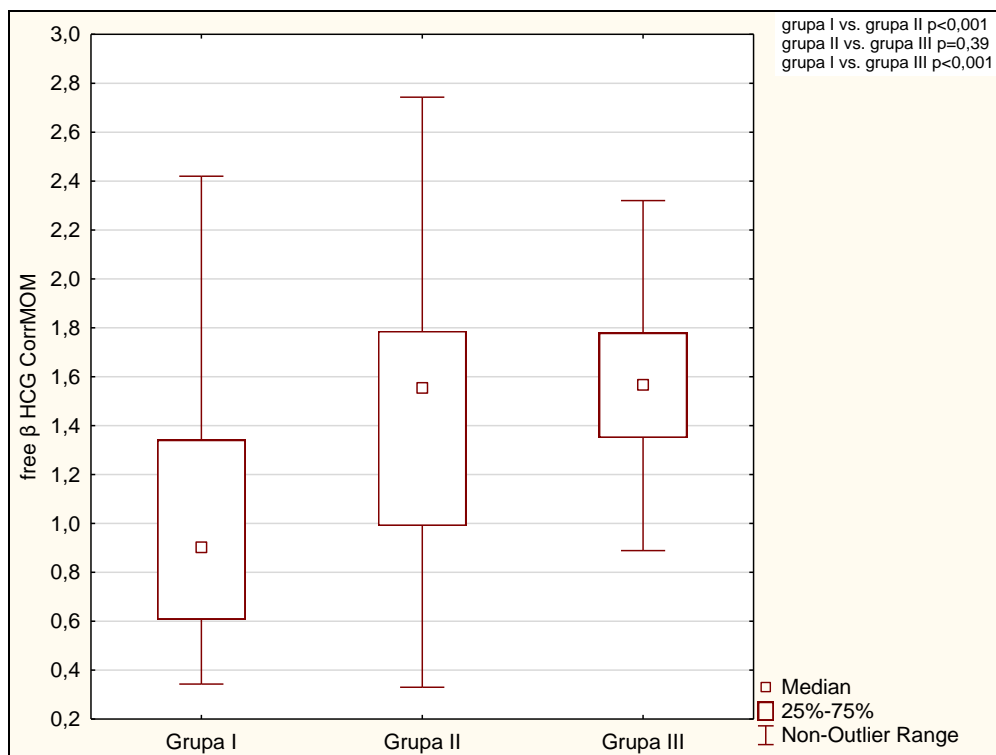
Tabela 18. Poređenje serumskih koncentracija free  $\beta$ hCG u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

Grupa/Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost
free $\beta$ hCG	0,90 (0,60-1,34)	1,55 (0,99-1,78)	1,57 (1,35-1,78)	<b>p&lt;0,001*</b>
Corr-Mom				NS** <b>p&lt;0,001***</b>

Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica); free  $\beta$ hCG-slobodne beta podjedinice humanog horionskog gonadotropina; Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u vrednostima medijane serumskih koncentracija free  $\beta$ hCG između prve ispitivane i kontrolne grupe (0,90 (0,60-1,34) vs. 1,57 (1,35-1,78), p=0,00, i između prve i druge ispitivane grupe (0,90 (0,60-1,34) vs. 1,55 (0,99-1,78), p=0,00; dok između druge ispitivane i kontrolne grupe nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u vrednostima medijane free  $\beta$ hCG, iako su vrednosti medijane bile niže u drugoj ispitivanoj u odnosu na kontrolnu grupu (1,55 (0,99-1,78) vs. 1,57 (1,35-1,78), p=0,39.

Grafikon 13. Poređenja serumskih koncentracija free  $\beta$ hCG u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica



Legenda: Grupa I (trudnice sa preeklampsijom), Grupa II (trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, Grupa III (kontrolna grupa trudnica).

#### 4.4 POREĐENJA KONCENTRACIJE PROTEINA ANGIOGENEZE U ODNOSU NA BROJ PRETHODNIH TRUDNOĆA I GODINA ŽIVOTA MAJKE

U tabelama 19 i 20 prikazana su poređenja proteina sFlt-1, VEGF-A i PlGF prema broju prethodnih trudnoća i godina života majke

Tabela 19. Poređenja koncentracija sFlt-1, VEGF-A i PlGF u odnosu na broj prethodnih trudnoća.

Parametar/Grupa	sFlt-1 (pg/mL)	VEGF-A (pg/mL)	PlGF (pg/mL)
0 (n=50)	1225,5 (625-1555,5)	52,3 (29,7-63,5)	27,8 (17,5-37,4)
‡ 1-2 (n=81)	945,5 (645-1450,5)	67,4 (36,4-84,2)	27,45 (22,3-31,6)
§ 3-4 (n=12)	1425 (1115-1850)	61,7 (34,3-89,5)	30,6 (22,3-31,0)
Statistička značajnost	NS	NS	NS

U tabeli 19 uočava da ne postoje značajne razlike u koncentracijama proteina angiogeneze u odnosu na broj prethodnih trudnoća.

Tabela 20. Poređenja koncentracija sFlt-1, VEGF-A i PlGF u odnosu na godine života majke.

Parametar/Grupa	sFlt-1 (pg/mL)	VEGF-A (pg/mL)	PlGF (pg/mL)
20-25 (n=19)	1525,23±423,7	69,5 (44,5-110,5)	43,2 (20,3-61,4)
‡ 25,1-30 (n=41)	1299,56±310,54	75,4 (55,2-90,1)	30,3 (20,4-54,1)
§ 30,1-35 (n=50)	1412,54±544,02	70,34 (50,2-88,5)	37,2 (18,9-49,2)
¶ >35,1 (n=33)	1066,22±331,34	59 (55,4-72,4)	51,5 (22,1-86,5)
Statistička značajnost	NS	NS	NS

U tabeli 20 uočava se da ne postoji značajna razlika u koncentracijama proteina angiogeneze u odnosu na godine života majke.

#### 4.5 ANALIZA ISPITIVANIH PARAMETARA U ODNOSU NA STEPEN UHRANJENOSTI TRUDNICA

U tabeli 21 prikazana su poređenja vrednosti analiziranih parametara u odnosu na stepen uhranjenosti svih trudnica uključenih u istraživanje (Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test).

Tabela 21. Poređenje analiziranih parametara u odnosu na stepen uhranjenosti trudnica

Kategorija uhranjenosti Parametar	BMI < 25 kg/m <sup>2</sup> n=70	BMI 25-29,9 kg/m <sup>2</sup> n=53	BMI ≥ 30 kg/m <sup>2</sup> n=20	Statistička značajnost
sFlt-1 pg/mL	715 (550-980)	850 (610-1150,5)	1820,5 (1250-2100)	NS* <b>p&lt;0,001**</b> <b>p&lt;0,001***</b>
VEGF-A pg/MI	100,4 (67-156,2)	70,3 (45-124)	49,5 (33,5-145,0)	NS* NS** <b>p=0,05***</b>
PlGF pg/mL	64,4 (43,7-92,1)	56,5 (38-78,2)	20,3 (10,3-36,7)	NS* <b>p=0,01**</b> <b>p&lt;0,001***</b>
hsCRP mg/L	2,0 (0,3-3,7)	2,9 (1,2-4,5)	5,0 (4,3-6,7)	NS* <b>p&lt;0,001**</b> <b>p&lt;0,001***</b>
D dimer ng/MI	180 (137-246)	185 (138-251)	201 (145-291)	NS* NS** NS***
Fibrinogen g/L	3,87 (3,54-4,3)	3,82 (3,45-4,23)	4,23 (3,73-4,7)	NS* <b>p=0,05**</b> NS***
PAPP-A CorrMom	1,37 (0,99-1,67)	1,34 (0,86-1,54)	0,69 (0,35-1,2)	NS* <b>p&lt;0,001**</b> <b>p&lt;0,001***</b>
free βhCG CorrMom	1,56 (1,16-1,78)	1,45 (0,9-1,79)	1,23(0,84-1,57)	NS* NS** NS***
Mokraćna kiselina μmol/L	178 (150-204)	164 (147-199)	180 (152-214)	NS* NS** NS***

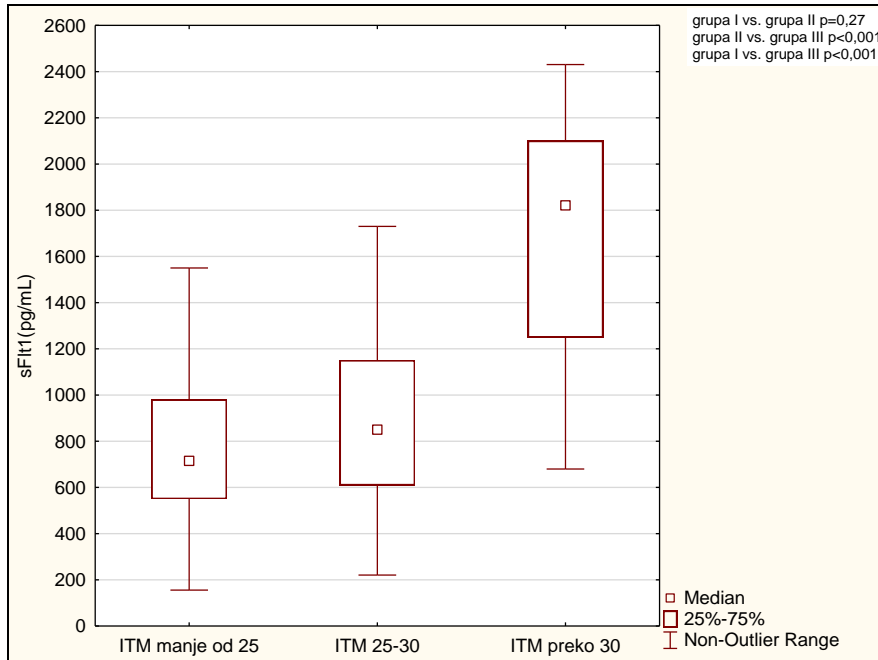
Legenda: Prva grupa-BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>, druga grupa-BMI 25-29,9 kg/m<sup>2</sup>, treća grupa-BMI ≥ 30 kg/m<sup>2</sup>. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Poređenjem analiziranih parametara kod svih trudnica na osnovu stepena uhranjenosti uočava se da postoji statistički značajna razlika u vrednostima medijane sFlt1 između druge i treće grupe trudnica (850 (610-1150,5) vs. 1820,5 (1250-2100),  $p=0,00$ ), između prve i treće grupe trudnica (715 (550-980) vs. 1820,5 (1250-2100),  $p=0,00$ ), dok nije bilo značajne razlike između prve i druge trudnica (715 (550-980) vs. 850 (610-1150,5),  $p=0,27$ ). Između vrednosti medijane VEGF-A uočena je granična statistički značajna razlika između prve i treće grupe trudnica (100,4 (67-156,2) vs. 49,5 (33,5-145,0),  $p=0,054$ , između prve i druge grupe nije uočena značajna razlika (100,4 (67-156,2) vs. 70,3 (45-124),  $p=0,14$ , između druge i treće grupe trudnica nije uočena statistički značajna razlika (70,3 (45-124) vs. 49,5 (33,5-145,0),  $p=0,34$ ). Između ispitivanih grupa trudnica uočena je statistički značajna razlika vrednostima medijane PlGF, prve i treće grupe (56,5 (38-78,2) vs. 20,3 (10,3-36,7),  $p=0,00$ , druge i treće grupe (56,5 (38-78,2) vs. 20,3 (10,3-36,7),  $p=0,01$ , dok između prve i druge grupe nije bilo statistički značajne razlike (64,4 (43,7-92,1) vs. 56,5 (38-78,2),  $p=0,22$ ). Vrednosti medijane CRP-a su bile statistički značajno različite između prve i treće grupe (2,0 (0,3-3,7)) vs. 5,0 (4,3-6,7),  $p=0,00$  i druge i treće grupe trudnica (2,9 (1,2-4,5) vs. 5,0 (4,3-6,7),  $p=0,00$ . Između prve i druge grupe trudnica nije bilo statistički značajne razlike (2,0 (0,3-3,7) vs. 2,9 (1,2-4,5),  $p=0,44$ ). Nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u vrednostima medijane D-dimera između sve tri grupe trudnica (prva i druga grupa 180 (137-246) vs. 185 (138-251),  $p=0,56$  prva i treća grupa 180 (137-246) vs 201 (145-291),  $p=0,63$  , druga i treća grupa 185 (138-251) vs. 201 (145-291),  $p=0,43$ . Uočena je granična statistički značajna razlika u vrednostima medijane fibrinogena između druge i treće grupe trudnica 3,82 (3,45-4,23) vs. 4,23 (3,73-4,7),  $p=0,052$ . Između prve i druge grupe trudnica (3,87 (3,54-4,3) vs. 3,82 (3,45-4,23),  $p=0,13$  nije uočena statistički značajna razlika. Uočena je statistički značajna razlika u

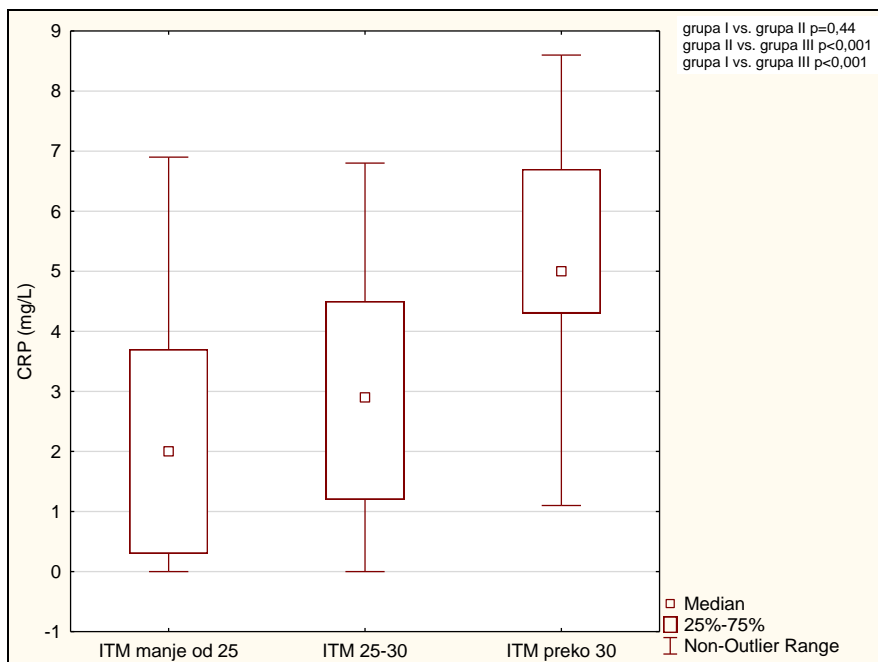
vrednostima medijane PAPP-A između prve i treće grupe (1,37 (0,99-1,67) vs. 0,69 (0,35-1,2),  $p=0,00$ , i druge i treće grupe trudnica (1,34 (0,86-1,54) vs. 0,69 (0,35-1,2),  $p=0,00$ . Između prve i druge grupe nije bilo značajne razlike u vrednostima medijane PAPP-A (1,37 (0,99-1,67) vs. 1,34 (0,86-1,54),  $p=0,54$ . Nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u vrednostima medijane free  $\beta$ hCG između sve tri grupe trudnica (prva i druga grupa 1,56 (1,16-1,78) vs 1,45 (0,9-1,79),  $p=0,23$ ; prva i treća grupa 1,56 (1,16-1,78) vs. 1,23(0,84-1,57),  $p=0,14$ , druga i treća grupa 1,45 (0,9-1,79), vs. 1,23(0,84-1,57),  $p=0,33$ ). Vrednosti medijane mokraćne kiseline se nisu statistički značajno razlikovale između sve tri grupe trudnica (prva i druga grupa 178 (150-204) vs 164 (147-199),  $p=0,34$ ; prva i treća grupa 178 (150-204) vs. 180 (152-214),  $p=0,19$ , druga i treća grupa , 164 (147-199) vs. 180 (152-214),  $p=0,21$ .

Na grafikonima 14, 15, 16 prikazana su poređenja vrednosti sFlt-1, hsCRP i PAPP-A prema stepenu uhranjenosti trudnica.

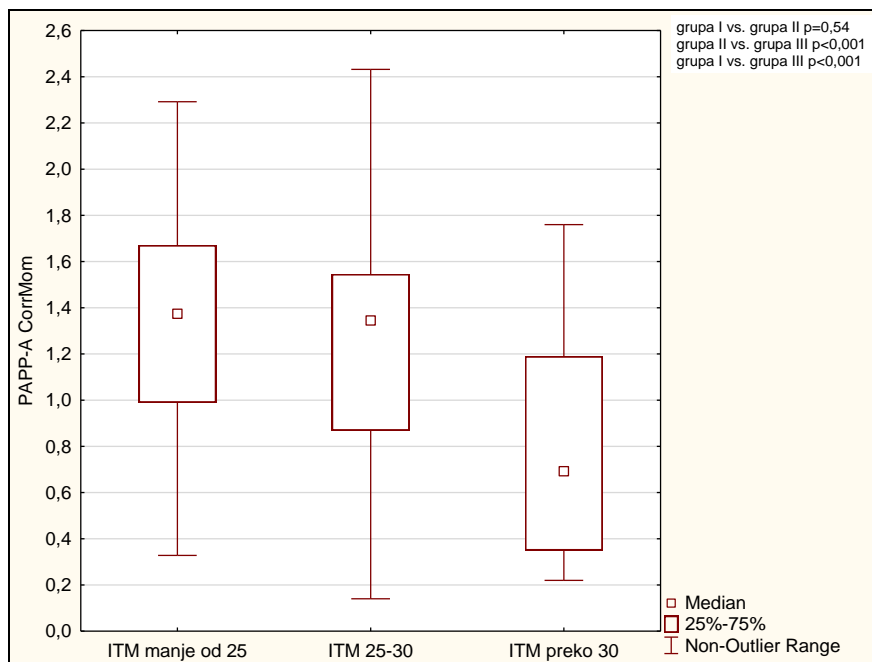
Grafikon 14. Poređenja sFlt-1 (pg/mL) na osnovu stepena uhranjenosti trudnica



Grafikon 15. Poređenja hsCRP-a (mg/L) na osnovu stepena uhranjenosti trudnica



Grafikon 16. Poređenja PAPP-A CorrMom na osnovu stepena uhranjenosti trudnica



#### 4.6 ANALIZA ISPITIVANIH PARAMETARA UNUTAR PRVE ISPITIVANE GRUPE TRUDNICA

U tabelama 22, 23 i 24 prikazana su poređenja analiziranih parametara unutar prve ispitivane grupe trudnice u odnosu na nedelju razvoja preeklampsije, prisustva pridruženih bolesti i naslednih parametara.

##### 4.6.1 Poređenja analiziranih parametara unutar prve ispitivane grupe u odnosu na nedelju razvoja preeklampsije

U tabeli 22 prikazana su poređenja analiziranih parametara unutar prve ispitivane grupe trudnica (trudnica sa preeklampsijom) u odnosu na nedelju gestacije kada je preeklampsija dijagnostikovana (Mann-Whitney U test).



Tabela 22. Poređenje analiziranih parametara unutar prve ispitivane grupe trudnica

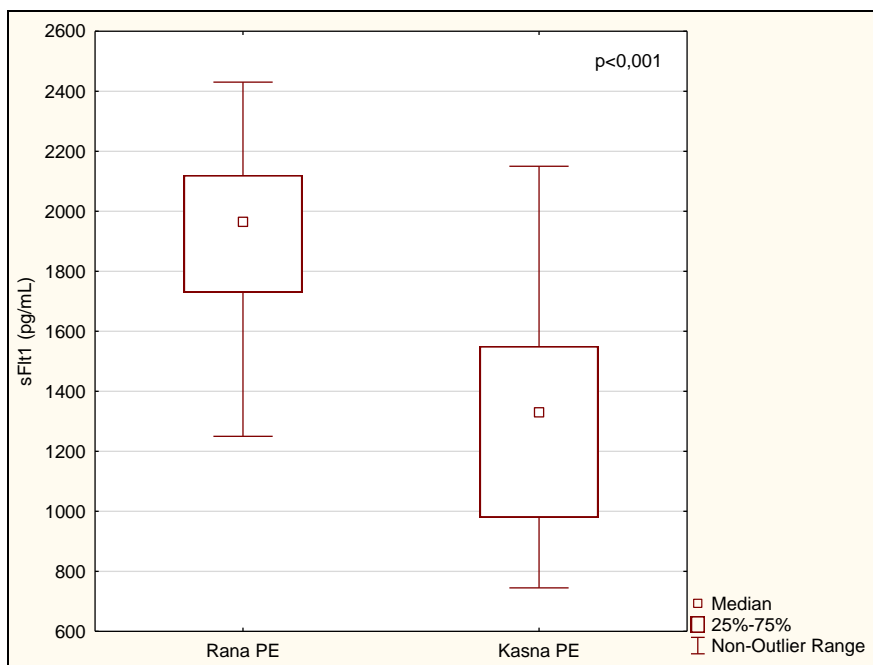
Grupa/Parametar	Rana preeklampsija	Kasna preeklampsija	Statistička značajnost
sFlt-1 pg/ml	1965 (1730-2120)	1330 (980-1580)	<b>p&lt;0,001</b>
VEGF-A pg/ml	87,51 (44,2-102,3)	62,7 (35,4-97,8)	NS
PlGF pg/ml	12,2 (10,3-14,3)	39,9 (25,5-51,5)	<b>p&lt;0,001</b>
hsCRP mg/L	5,6 (4,5-6,8)	5,6 (4,8-6,5)	NS
PAPP-A CorrMom	0,55 (0,23-0,95)	1,4 (1,0-1,77)	<b>p&lt;0,001</b>
free βhCG CorrMom	0,97 (0,78-1,58)	1,16 (0,79-1,83)	NS
Mokraćna kiselina μmol/L	198 (175-240)	155,5 (144-177)	<b>p&lt;0,001</b>

Legenda: Rana preeklampsija-≤34 nedelje gestacije, kasna preeklampsija->34 nedelje gestacije

U tabeli 22 uočava se da su vrednosti medijane sFlt-1 i mokraćne kiseline statistički značajno više u grupi sa ranom u odnosu na kasnu preeklampsiju ( $p=0,00$ ), dok su vrednosti medijane PlGF i PAPP-A statistički značajno niže u ranoj u odnosu na kasnu preeklampsiju ( $p=0,00$ ). Nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u vrednostima medijane za VEGF-A ( $p=0,59$ ), CRP ( $p=0,33$ ) i free βhCG ( $p=0,27$ ).

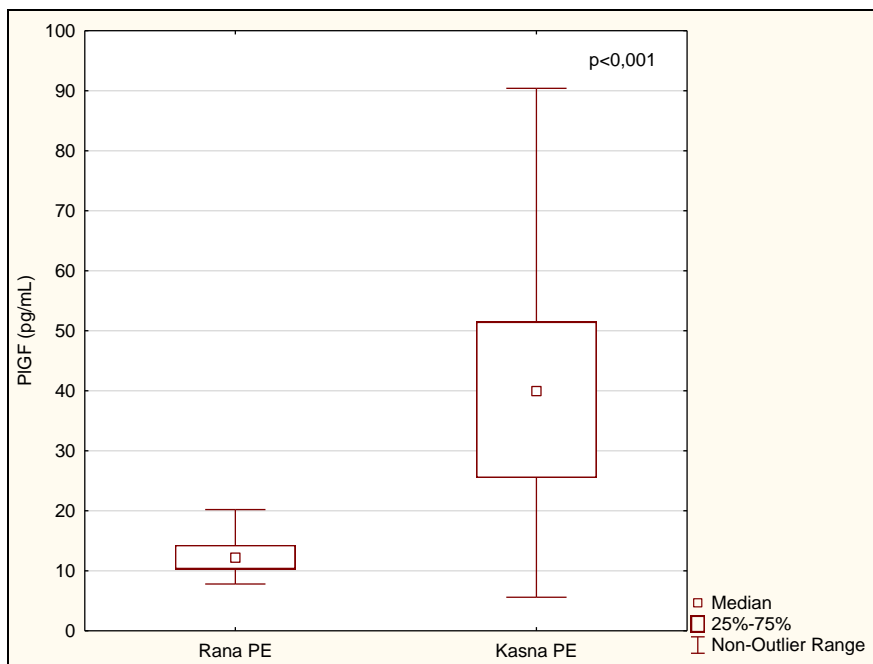
Na grafikonima 17, 18, 19 i 20 prikazana su poređenja nivoa sFlt-1, PlGF, PAPP-A i mokraćne kiseline u odnosu na vremensku pojavu preeklampsije (rana/kasna).

Grafikon 17. Poređenje koncentracije sFlt-1 (pg/mL) u ranoj i kasnoj preeklampsiji (PE)



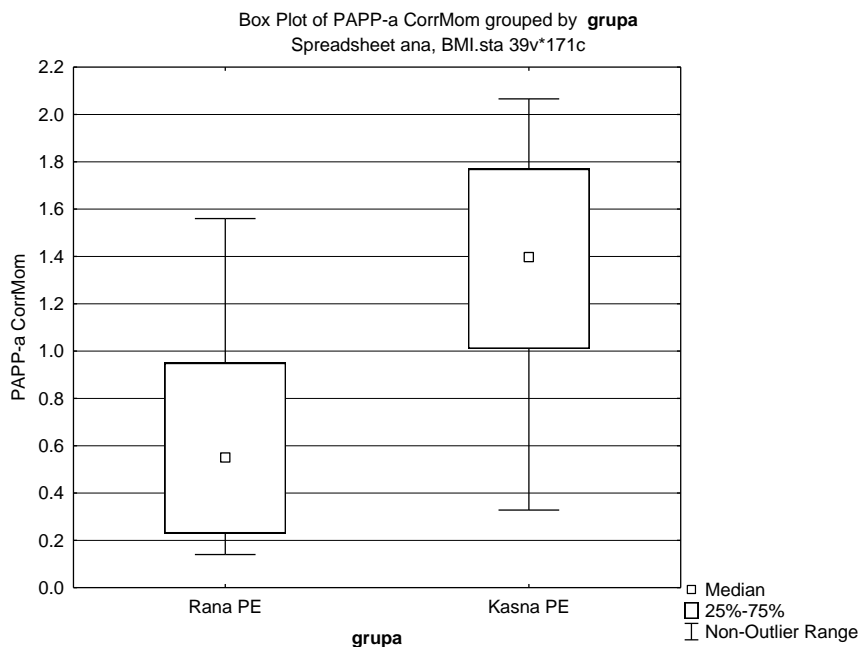
Legenda: Rana PE-rana preeklampsija  $\leq 34$  nedelje gestacije, kasna PE-kasna preeklampsija- $>34$  nedelje gestacije.

Grafikon 18. Poređenje koncentracije PlGF (pg/mL) u ranoj i kasnoj preeklampsiji (PE)



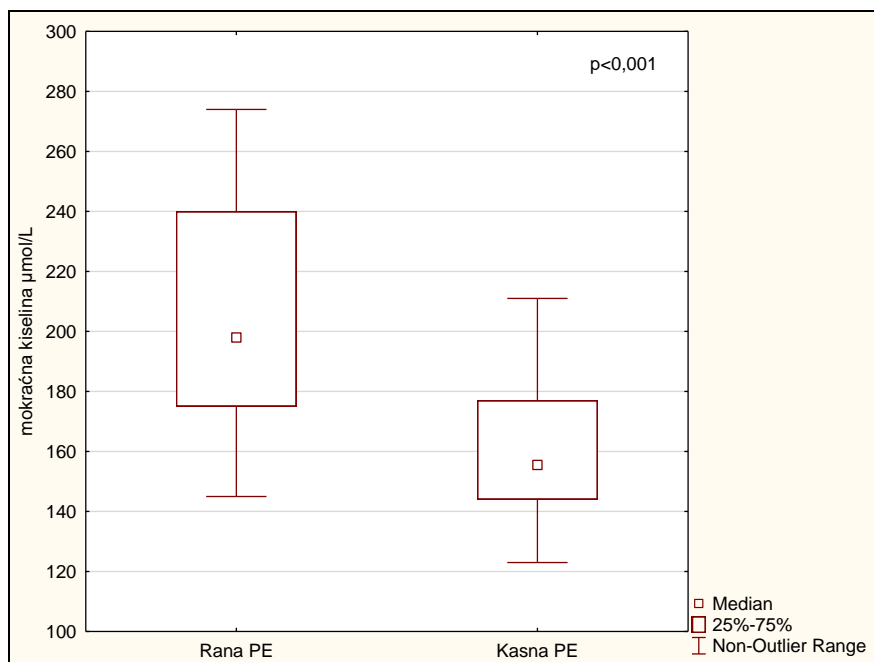
Legenda: Rana PE-rana preeklampsija  $\leq 34$  nedelje gestacije, kasna PE-kasna preeklampsija- $>34$  nedelje gestacije.

Grafikon 19. Poređenje vrednosti PAPP-A CorrMom u ranoj i kasnoj preeklampsiji



Legenda: Rana PE-rana preeklampsija  $\leq 34$  nedelje gestacije, kasna PE-kasna preeklampsija  $> 34$  nedelje gestacije.

Grafikon 20. Poređenje koncentracije mokračne kiseline ( $\mu\text{mol/L}$ ) u ranoj i kasnoj preeklampsiji (PE)



Legenda: Rana PE-rana preeklampsija  $\leq 34$  nedelje gestacije, kasna PE-kasna preeklampsija  $> 34$  nedelje gestacije.

#### 4.6.2 Poređenje analiziranih parametara unutar prve ispitivane grupe u odnosu na prisustvo pridruženih bolesti ili naslednih parametara

U tabeli 23 i 24 prikazani su rezultati poređenja analiziranih parametara unutar prve ispitivane grupe trudnica (Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test).

Tabela 23. Poređenje analiziranih parametara unutar prve ispitivane grupe na osnovu prisustva pridruženih bolesti ili naslednih parametara

Parametar Grupa	sFlt-1 (pg/mL)	VEGF (pg/mL)	PlGF (pg/mL)	hsCRP (mg/L)
¶Autoimuna oboljenja	2120 (1915-2230)	134,5 (90,3-145,5)	10,5 (10,3-12,10)	2,9 (0,8-4,9)
†Bubrežna oboljenja	1350 (1150-1450)	144 (62,5-222)	34,5 (18-58,5)	5,3 (4,5-6,5)
‡Gestacijski dijabetes	1230 (900,5-1250)	45 (22,3-67)	46,7 (44,4-53,4)	6,5 (4,4-7,2)
*PE u prethodnoj trudnoći ili porodici	1885,25 (1702,5-2037,5)	65,2 (28,8-94,1)	13,55 (10,6-22,4)	5,05 (3,4-6,45)
††PE superponirana na hrHTA	1350 (1305-2320)	89,5 (21,2-97)	35,5 (9,2-36,3)	7,8 (6,5-8,9)
§Ostali	1320 (900,5-1550)	45,5 (35,4-65,2)	39,6 (25,5-43,7)	5,0 (4,5-5,6)
Statistička značajnost	<b>p=0,02</b> ¶,‡ <b>p=0,02</b> ¶,§ <b>p=0,04</b> *,§	NS	<b>p&lt;0,001</b> ¶,‡ <b>p&lt;0,001</b> ¶,§ <b>p&lt;0,001</b> ¶,†† <b>p=0,01</b> *,‡	NS

Legenda: PE-preeklampsija, hrHTA-hronična hipertenzija, ostali-trudnice bez pridruženih bolesti i/ili naslednih faktora

Vrednosti medijane sFlt-1 najviše su u grupi sa autoimunim oboljenjima 2120 (1915-2230) i statistički su značajno više u odnosu na vrednosti medijane u grupi sa gestacijskim dijabetesom 1230 (900,5-1250),  $p=0,02$  i grupom ostali 1320 (900,5-1550),  $p=0,02$ . Vrednosti medijane sFlt1 statistički su značajno više u grupi sa PE u prethodnoj trudnoći 1885,25 (1702,5-2037,5) u odnosu na grupu ostali 1320 (900,5-1550),  $p=0,04$ . Vrednosti medijane PIGF najniže su u grupi sa autoimunim oboljenjima 10,5 (10,3-12,10) i statistički su značajno niže u odnosu na grupu sa gestacijskim dijabetesom 46,7 (44,4-53,4),  $p=0,00$ , grupom ostali (39,6 (25,5-43,7),  $p=0,02$  i grupom PE superponirana na hrHTA 35,5 (9,2-36,3),  $p=0,00$ . Vrednosti medijane PIGF statistički su značajni niže u grupi sa PE u prethodnoj trudnoći 13,55 (10,6-22,4) u odnosu na grupu sa gestacijskim dijabetesom 46,7 (44,4-53,4),  $p=0,01$ . Među ostalim grupama nema statistički značajne razlike u vrednostima medijana posmatranih parametara.

Tabela 24. Poređenje analiziranih parametara unutar prve ispitivane grupe na osnovu prisustva pridruženih bolesti ili naslednih parametara

Grupa/Parametar	PAPP-A CorrMom	free $\beta$ hCG CorrMom	Mokraćna kiselina $\mu\text{mol/L}$
¶Autoimuna oboljenja	0,32 (0,23-0,44)	0,43 (0,43-0,67)	175 (134-176)
†Bubrežna oboljenja	1,09 (0,98-1,65)	1,44 (1,1-2,42)	206 (167-211)
‡Gestacijski dijabetes	1,56 (1,42-1,77)	0,89 (0,67-0,98)	158 (144-211)
*PE u prethodnoj trudnoći ili porodici	0,87 (0,49-1,34)	0,93 (0,58-1,31)	183,5 (156-229)
#PE superponirana na hrHTA	1,33 (0,22-1,98)	1,11 (0,48-1,13)	176 (155-210)
§Ostali	1,56 (0,96-1,66)	1,23 (0,79-1,88)	200 (161-225)
Statistička značajnost	<b><math>p=0,01</math></b> ¶,‡ <b><math>p=0,03</math></b> ¶,§	NS	NS

Legenda: PE-preeklampsija, hrHTA-hronična hipertenzija, ostali-trudnice bez pridruženih bolesti i/ili naslednih faktora.

U tabeli 24 uočava se da su vrednosti medijane PAPP-A 0,32 (0,23-0,44) najniže u grupi sa autoimunim oboljenjima i statistički se značajno razlikuju u odnosu na vrednost medijane u grupi sa gestacijskim dijabetesom 1,56 (1,42-1,77),  $p=0,01$  i grupi ostali 1,56 (0,96-1,66),  $p=0,03$ . Među ostalim grupama nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u vrednostima medijana posmatranih parametara.

#### 4.7 KORELACIONA I REGRESIONA ANALIZA IZMEĐU PROTEINA ANGIOGENEZE I ANALIZIRANIH PARAMETARA

U tabelama 25-33 prikazana je korelaciona analiza proteina angiogeneze (sFlt-1, VEGF-A, PlGF) sa godinama života trudnice, prethodnim trudnoćama, naslednim, imunološkim, kliničkim, antropometrijskim, inflamatornim, hemostaznim, biohemijskim, lipidskim, lipoproteinskim parametrima i placentalnim proteinima.

##### 4.7.1 Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (sFlt-1 i VEGF-A) i parametara prethodnih trudnoća, naslednih i imunoloških parametara i godina života trudnica

Tabela 25. Koeficijenti korelacije između sFlt1, VEGF-A i parametara prethodnih trudnoća, naslednih i imunoloških parametara i godina života trudnica

	sFlt-1 pg/ml		VEGF pg/mL	
	R	P	R	P
Godine života	0,09	0,24	-0,15	0,06
Broj prethodnih trudnoća	-0,11	0,17	0,01	0,18
SP i missed abortusi u pret. Trudnoćama	0,51	0,00	-0,18	0,03
Zastoj u razvoju ploda	0,43	0,00	0,01	0,11
Prevremani porođaji	0,46	0,00	0,12	0,27
PE u prethodnim trudnoćama	0,43	0,00	0,05	0,08
PE u porodici	0,49	0,00	-0,08	0,37
Broj partnera	-0,34	0,00	0,07	0,24
Dužina ekspozicije spermiji	-0,32	0,00	0,07	0,33

Legenda: r-Pearsonov koeficijent korelacije, SP i missed abortusi u prethodnim trudnoćama-spontani pobačaji i missed abortusi u prethodnim trudnoćama, PE u prethodnim trudnoćama-preeklampsija u prethodnim trudnoćama, PE u porodici-preeklampsija u porodici (sestra, majka).

Analizom svih trudnica uključenih u istraživanje, uočene su značajne vrednosti koeficijenta korelacije između koncentracije sFlt-1 i parametara prethodnih trudnoća, umerenog

stepena sa spontanim pobačajima i missed abortusima u prethodnim trudnoćama ( $r=0,51, p=0,00$ ), zastoj u razvoju ploda ( $r=0,43, p=0,00$ ) i prevremeni porođaji ( $r=0,46, p=0,00$ ). Uočene su značajne vrednosti koeficijenta korelacije između koncentracije sFlt-1 i naslednih i imunoloških parametara, umerenog stepena sa PE u prethodnim trudnoćama ( $r=0,43, p=0,00$ ) i PE u porodici ( $r=0,49, p=0,00$ ). Utvrđena je statistički značajna negativna korelacija niskog stepena povezanosti sa brojem partnera ( $r=-0,34, p=0,00$ ), i dužinom ekspozicije spermi ( $r=-0,32, p=0,00$ ). Između koncentracije VEGF-A i analiziranih parametara nije uočeno postojanje statistički značajne korelacije.



#### 4.7.2 Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (sFlt-1 i VEGF-A) i antropometrijskih, kliničkih, inflamatornih i hemostaznih parametara

Tabela 26. Koeficijenti korelacije između sFlt1, VEGF-A i antropometrijskih, kliničkih, inflamatornih i hemostaznih parametara.

	sFlt-1 pg/MI		VEGF-A pg/mL	
	R	P	R	P
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	0,41	0,00	-0,14	0,1
Sistolni arterijski pritisak (mmHg)	0,47	0,00	-0,18	0,03
Dijastolni arterijski pritisak (mmHg)	0,53	0,00	-0,02	0,74
Srednji arterijski pritisak (mmHg)	0,45	0,00	-0,06	0,56
Leukociti (x 10 <sup>9</sup> /L)	0,18	0,07	0,14	0,09
hsCRP (mg/L)	0,45	0,00	-0,32	0,00
Fibrinogen (g/L)	0,10	0,23	0,01	0,9
D dimer ng/mL	-0,03	0,46	-0,09	0,26
vWF-Ag (%)	-0,11	0,24	0,11	0,32

Legenda: r-Pearsonov koeficijent korelacije, ITM-indeks telesne mase, vWF-Ag-Von Willebrand antigen.

Iz tabele 26. uočava se postojanje statistički značajne povezanosti između koncentracije sFlt-1 i antropometrijskih i kliničkih parametara, umerenog inteziteta sa ITM ( $r=0,41, p=0,00$ ), sistolni arterijski pritisak ( $r=0,47, p=0,00$ ), dijastolni arterijski pritisak ( $r=0,53, p=0,00$ ) i srednji arterijski pritisak ( $r=0,45, p=0,00$ ). Takođe se uočava statistički značajna povezanost koncentracije sFlt-1 sa hsCRP umerenog inteziteta ( $r=0,45, p=0,00$ ). Između koncentracija VEGF-A i hsCRP uočava se postojanje statistički značajne inverzne povezanosti niskog intenziteta ( $r=-0,32, p=0,00$ ),

kao i statistički značajne inverzne neznatne povezanosti sa dijastolnim krvnim pritiskom ( $r=0,18, p=0,03$ ).

#### 4.7.3 Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (sFlt-1 i VEGF-A) i biohemijskih parametara

Tabela 27. Koeficijenti korelacije između sFlt1, VEGF-A i biohemijskih parametara.

	sFlt-1 pg/mL		VEGF-A pg/mL	
	R	P	R	P
Glukoza našte mmol/L	0,23	0,01	0,15	0,05
Urea mmol/L	0,03	0,07	0,14	0,26
Kreatinin mmol/L	0,09	0,43	0,06	0,18
Mokraćna kiselina $\mu\text{mol/L}$	0,00	0,95	-0,12	0,01
‡AST (U/L)	0,15	0,30	0,01	0,26
‡ALT (U/L)	0,21	0,09	0,17	0,23
†GGT (U/L)	0,02	0,34	0,11	0,19

Legenda: r-Pearsonov koeficijent korelacije, AST- Aspartat-amino-transferaza, ALT-alanin-amino-transferaza, GGT-gama glutamil-transferaza.

Korelacionom analizom utvrđeno je postojanje statistički značajne povezanosti niskog stepena između koncentracije sFlt-1 i koncentracije glukoze ( $r=0,23, p=0,01$ ). Između koncentracije VEGF-A i mokraćne kiseline utvrđeno je postojanje statistički značajne povezanosti negativnog niskog intenziteta ( $r=-0,12, p=0,01$ ), kao i granično značajne povezanosti neznatnog intenziteta sa koncentracijom glukoze ( $r=0,15, p=0,05$ ).

#### 4.7.4 Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (sFlt-1 i VEGF-A) i parametara lipidskog i lipoproteinskog statusa

Tabela 28. Koeficijenti korelacije između sFlt1, VEGF-A i parametara lipidskog i lipoproteinskog statusa

	sFlt-1 pg/mL		VEGF-A pg/mL	
	R	P	R	P
Uk. holesterol (mmol/L)	0,01	0,11	-0,02	0,22
Trigliceridi (mmol/L)	0,43	0,00	0,29	0,08
LDL – H (mmol/L)	0,08	0,09	0,07	0,33
HDL – H (mmol/L)	-0,55	0,00	0,18	0,07
Apo A-I (g/L)	0,12	0,07	0,12	0,08
Apo B (g/L)	0,04	0,12	0,14	0,15
TG/HDL-H	0,01	0,24	0,07	0,22

Legenda: r-Pearsonov koeficijent korelacije, UK holesterol-ukupni holesterol; apo A-I – apolipoprotein A-I, apo B-apolipoprotein B; Lp(a)-lipoprotein.

U tabeli 28 uočava se postojanje statistički značajne povezanosti koncentracije sFlt1 i triglicerida umerenog intenziteta ( $r=0,43, p=0,00$ ) i negativna korelacija umerenog intenziteta sa HDL holesterolom ( $r=-0,55, p=0,00$ ).

#### 4.7.5 Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (PIGF) i parametara prethodnih trudnoća, naslednih i imunoloških parametara i godina života trudnica

Tabela 29. Koeficijenti korelacije između PIGF i parametara prethodnih trudnoća, naslednih i imunoloških parametara i godina života trudnica

	PIGF pg/mL	
	R	P
Godine života	-0,08	0,35
Broj prethodnih trudnoća	0,06	0,42
SP i missed abortusi u pret. Trudnoćama	-0,45	0,00
Zastoj u razvoju ploda	-0,33	0,00
Prevremeni porođaji	0,36	0,00
PE u prethodnim trudnoćama	-0,51	0,00
PE u porodici	-0,58	0,00
Broj partnera	0,26	0,00
Dužina ekspozicije spermi	0,19	0,04

Legenda: r-Pearsonov koeficijent korelacije, SP i missed abortusi u prethodnim trudnoćama-spontani pobačaji i missed abortusi u prethodnim trudnoćama, PE u prethodnim trudnoćama-preeklampsija u prethodnim trudnoćama, PE u porodici-preeklampsija u porodici (sestra, majka).

U tabeli 29 uočava se postojanje statistički značajne povezanosti koncentracije PIGF sa brojem spontanih pobačaja i missed abortusa sa negativnom korelacijom umerenog intenziteta ( $r=-0,45, p=0,00$ ), sa PE u prethodnim trudnoćama ( $r=-0,51, p=0,00$ ), sa PE u porodici ( $r=-0,58, p=0,00$ ), zatim negativnom korelacijom niskog intenziteta sa zastojem u razvoju ploda ( $r=-0,33, p=0,00$ ), prevremenim porođajem ( $r=0,36, p=0,00$ ) i brojem partnera ( $r=0,26, p=0,00$ ) I korelacija neznatnog intenziteta sa dužinom ekspozicije spermi ( $r=0,19, p=0,04$ ).

#### 4.7.6 Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (PIGF) i antropometrijskih, kliničkih, inflamatornih i hemostaznih parametara

Tabela 30. Koeficijenti korelacije između PIGF i antropometrijskih, kliničkih, inflamatornih i hemostaznih parametara.

	PIGF pg/mL	
	R	P
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	-0,41	0,00
Sistolni arterijski pritisak (mmHg)	-0,44	0,00
Dijastolni arterijski pritisak (mmHg)	-0,29	0,00
Srednji arterijski pritisak (mmHg)	-0,40	0,00
Leukociti (x 10 <sup>9</sup> /L)	0,06	0,11
hsCRP (mg/L)	-0,40	0,00
Fibrinogen (g/L)	-0,11	0,20
D dimer ng/mL	0,08	0,29
vWF-Ag (%)	-0,12	0,18

Legenda: r-Pearsonov koeficijent korelacije, ITM-indeks telesne mase, vWF-Ag-Von Willebrand antigen.

Korelacionom analizom utvrđeno je prisustvo značajnih vrednosti koeficijenta korelacije između koncentracija PIGF i ITM, i to inverzne korelacije umerenog stepena ( $r=-0,41, p=0,00$ ), zatim sa sistolnim arterijskim krvnim pritiskom ( $r=-0,44, p=0,00$ ), srednjim arterijskim pritiskom ( $r=-0,40, p=0,00$ ) i hsCRP ( $r=-0,40, p=0,00$ ). Utvrđeno je postojanje značajne negativne korelacije niskog stepena koncentracije PIGF sa dijastolnim krvnim pritiskom ( $r=-0,29, p=0,00$ ).

#### 4.7.7 Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (PIGF) i biohemijskih parametara

Tabela 31. Koeficijenti korelacije između PIGF i biohemijskih parametara

	PIGF pg/mL	
	R	P
Glukoza našte mmol/L	-0,11	0,08
Urea mmol/L	-0,07	0,17
Kreatinin mmol/L	-0,12	0,07
Mokraćna kiselina μmol/L	-0,15	0,07
‡AST (U/L)	0,15	0,22
‡ALT (U/L)	-0,01	0,29
†GGT (U/L)	0,05	0,31

Legenda: r-Pearsonov koeficijent korelacije, AST- Aspartat-amino-transferaza, ALT-alanin-amino-transferaza, GGT-gama glutamil-transferaza

Korelacionom analizom nije utvrđeno postojanje statistički značajne povezanosti koncentracija PIGF i biohemijskih parametara.

#### 4.7.8 Korelaciona analiza između proteina angiogeneze (PIGF) i parametara lipidskog i lipoproteinskog statusa

Tabela 32. Koeficijenti korelacije između PIGF i parametara lipidskog i lipoproteinskog statusa

	PIGF pg/mL	
	R	P
Uk. holesterol (mmol/L)	0,03	0,21
Trigliceridi (mmol/L)	-0,44	0,00
LDL – H (mmol/L)	0,07	0,18
HDL – H (mmol/L)	-0,47	0,00
Apo A-I (g/L)	0,11	0,23
Apo B (g/L)	-0,09	0,11
TG/HDL-H	-0,01	0,14

Legenda: r-Pearsonov koeficijent korelacije, UK holesterol-ukupni holesterol; apo A-I – apolipoprotein A-I, apo B-apolipoprotein B; Lp(a)-lipoprotein.

Korelacionom analizom utvrđeno je postojanje statistički značajne povezanosti koncentracije PIGF sa vrednostima trigliceridima, negativna korelacije umerenog stepena ( $r=-0,44, p=0,00$ ) i vrednostima HDL holesterola ( $r=-0,47, p=0,00$ ).

#### 4.7.9 Korelaciona analiza između proteina angiogeneze i placentalnih proteina

Tabela 33. Korelaciona analiza proteina angiogeneze i placentalnih proteina

	sFlt-1 (pg/mL)		VEGF-A (pg/mL)		PlGF (pg/mL)		PAPP-A CorrMom		freeβhCG CorrMom	
	R	P	R	P	R	P	r	P	R	P
sFlt-1 (pg/mL)			-0,24	0,00	-0,58	0,00	-0,03	0,54	-0,51	0,00
VEGF-A (pg/mL)	-0,24	0,00			0,15	0,07	-0,09	0,24	0,15	0,08
PlGF (pg/mL)	-0,49	0,00	0,15	0,07			0,00	0,96	0,33	0,00
PAPP-A CorrMom	-0,03	0,72	-0,09	0,24	0,00	0,96			0,23	0,14
FreeβhCG CorrMom	-0,51	0,00	0,15	0,08	0,33	0,00	0,23	0,14		

Legenda: r-Pearsonov koeficijent korelacije.

Korelacionom analizom utvrđeno je postojanje statistički značajne povezanosti koncentracije sFlt-1 i PlGF, negativne korelacije umerenog stepena ( $r=-0,58, p=0,00$ ) i sFlt-1 i freeβhCG ( $r=-0,51, p=0,00$ ). Uočava se postojanje značajne inverzne korelacije niskog inteziteta sFlt-1 i VEGF-A ( $r=-0,24, p=0,00$ ) i značajne korelacije PlGF i freeβhCG ( $r=0,33, p=0,00$ ).

U tabelama 34 i 35 prikazana je regresiona analiza sFlt-1 i PlGF sa izdvojenim parametrima.



#### 4.7.10 Regresiona analiza između koncentracije sFlt-1 i ispitivanih parametara

Tabela 34. Multipla linearna regresiona analiza nezavisne povezanosti serumske koncentracije sFlt-1 sa ispitivanim parametrima

	sFlt-1 (pg/mL)		
	$\beta$	P	VIF
Dijastolni arterijski pritisak (mmHg)	-0,248	0,00	1,278
hsCRP (mg/L)	0,225	0,00	1,195
free $\beta$ hCG (CorrMom)	0,123	0,035	1,262

Legenda:  $\beta$  vrednost regresionog koeficijenta, VIF: koeficijent kolinearnosti

U tabeli 34 uočava se da su dobijene statistički značajne vrednosti regresionog koeficijenta  $\beta$  za dijastolni krvni pritisak ( $\beta = -0,248$ ,  $p=0,00$ ), hsCRP ( $\beta = 0,225$ ,  $p=0,00$ ) i free  $\beta$ hCG ( $\beta = 0,123$ ,  $p=0,035$ ). Izdvojeni parametri su u nezavisnoj korelaciji sa koncentracijom sFlt-1 i značajno određuju njenu vrednost.

#### 4.7.11 Regresiona analiza između koncentracije PlGF i ispitivanih parametara

Tabela 35. Multipla linearna regresiona analiza nezavisne povezanosti serumske koncentracije PlGF sa ispitivanim parametrima

	PlGF (pg/mL)		
	$\beta$	P	VIF
ITM ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	-0,163	0,042	1,231
Sistolni arterijski pritisak (mmHg)	-0,209	0,008	1,187
hsCRP (mg/L)	-0,161	0,038	1,155

Legenda:  $\beta$  vrednost regresionog koeficijenta, VIF: koeficijent kolinearnosti koji isključuje međusobni uticaj nezavisnih varijabli.

U tabeli 35 uočava se da su dobijene statistički značajne vrednosti regresionog koeficijenta  $\beta$  za ITM ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) ( $\beta = -0,163$ ,  $p=0,042$ ), sistolni krvni pritisak ( $\beta = -0,209$ ,  $p=0,008$ ) i hsCRP ( $\beta = 0,161$ ,  $p=0,038$ ). Izdvojeni parametri su u nezavisnoj korelaciji sa koncentracijom PlGF i značajno određuju njenu vrednost.

#### 4.8 ANALIZA PARAMETARA ISHODA TRUDNOĆE KOD ISPITIVANIH TRUDNICA

U tabelama 36-38 prikazani su rezultati poređenja ispitivanih grupa trudnica sa parametrima ishoda trudnoće i poređenja koncentracija sFlt-1, PlGF I VEGF-A sa nedeljom porođaja i porođanom težinom novorođenčeta.

##### 4.8.1 Poređenja ispitivanih grupa trudnica na osnovu parametara ishoda trudnoće

U tabeli 36 prikazani su rezultati poređenja parametara ishoda trudnoće u ispitivanoj i kontrolnoj grupi trudnica (Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test).

Tabela 36. Poređenja parametara ishoda trudnoće u ispitivanim i kontrolnoj grupi trudnica

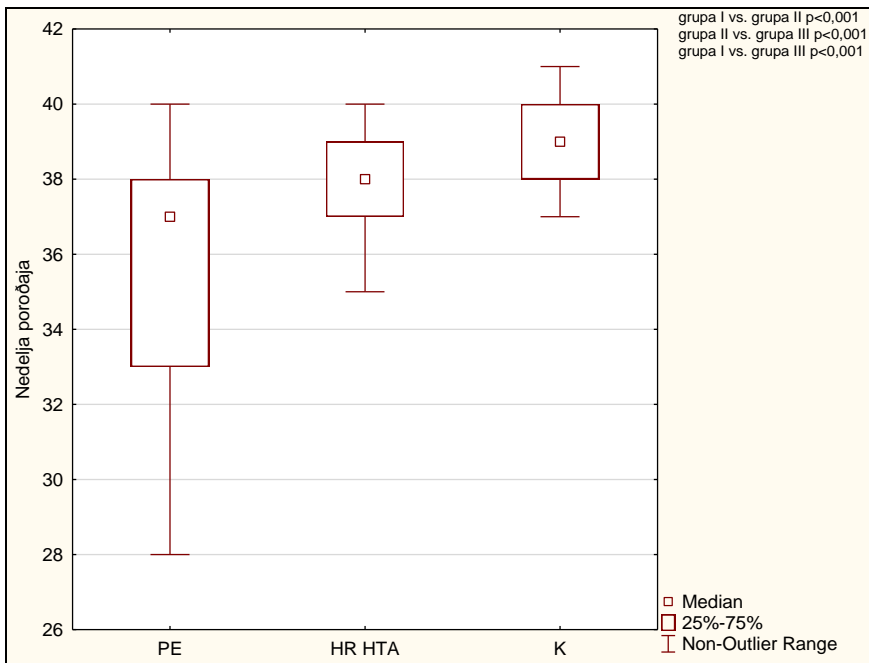
Grupa/Parametar	Grupa I (n=43)	Grupa II (n=46)	Grupa III (n=54)	Statistička značajnost
Nedelja porođaja	37 (33-38)	38 (37-39)	39 (38-40)	<b>p&lt;0,001*</b> <b>p&lt;0,001**</b> <b>p&lt;0,001***</b>
Dužina bebe (cm)	47 (42-49)	48,5 (48-49)	50 (49-51)	<b>p&lt;0,001*</b> NS** <b>p&lt;0,001***</b>
Težina bebe (kg)	2450 (1450-2820)	3250 (2950-3550)	3445 (3150-3670)	<b>p&lt;0,001*</b> NS** <b>p&lt;0,001***</b>
APGAR skor I	8,9 (7,8-9,1)	9,6 (9,4-9,9)	9,9 (9,1-10,0)	<b>p=0,01*</b> NS** <b>p&lt;0,001***</b>
APGAR skor II	9 (8-9)	9 (9-10)	10 (9-10)	NS* NS** <b>p&lt;0,001***</b>

Legenda: APGAR skor I- APGAR skor u prvom minutu, APGAR skor II-APGAR skor u petom minutu. Statistička značajnost p između grupe I i grupe II\*, između grupe II i grupe III\*\*, između grupe I i grupe III\*\*\*.

Analizom parametara ishoda u trudnoće prikazanim u tabeli 36 utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u medijani nedelje porođaja između sve tri grupe trudnica (prva i druga ispitivana grupa 37 (33-38) vs. 38 (37-39),  $p=0,00$ , prva ispitivana i kontrolna grupa 37 (33-38) vs. 39 (38-40),  $p=0,00$ , druga ispitivana i kontrolna grupa 38 (37-39) vs. 39 (38-40),  $p=0,00$ . Medijana dužine bebe je statistički značajno niža u prvoj ispitivanoj u odnosu na drugu ispitivanu grupu (47 (42-49) vs. 48,5 (48-49),  $p=0,00$  i u odnosu na kontrolnu grupu trudnica 47 (42-49) vs. 50 (49-51),  $p=0,00$ . Nije bilo značajne razlike u medijani dužine bebe između druge ispitivane i kontrolne grupe (48,5 (48-49) vs. 50 (49-51),  $p=0,11$ ). Medijana težine bebe se statistički značajno razlikuje između prve i druge ispitivane (2450 (1450-2820) vs. 3250 (2950-3550),  $p=0,00$  i prve ispitivane i kontrolne grupe trudnica 2450 (1450-2820) vs. 3445 (3150-3670),  $p=0,00$ . Između druge ispitivane i kontrolne grupe trudnica nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u medijani težine bebe (3250 (2950-3550) vs. 3445 (3150-3670),  $p=0,08$ . APGAR skor I je statistički značajno niži u prvoj ispitivanoj u odnosu na drugu ispitivanu grupu (8,9 (7,8-9,1) vs. 9,6 (9,4-9,9),  $p=0,01$  i kontrolnu grupu trudnica (8,9 (7,8-9,1) vs. 9,9 (9,1-10,0),  $p=0,00$ . Nije bilo statistički značajne razlike u vrednosti medijane APGAR skor I između druge ispitivane i kontrolne grupe (9,6 (9,4-9,9) vs. 9,9 (9,1-10,0),  $p=0,17$ . APGAR skor II je statistički značajno niži u prvoj ispitivanoj u odnosu na kontrolnu grupu trudnica (9 (8-9) vs. 10 (9-10),  $p=0,00$ . Između prve i druge ispitivane grupe 9 (8-9) vs. 9 (9-10),  $p=0,09$  i druge ispitivane i kontrolne grupe trudnica (9 (9-10) vs. 10 (9-10),  $p=0,1$  nije bilo statistički značajne razlike.

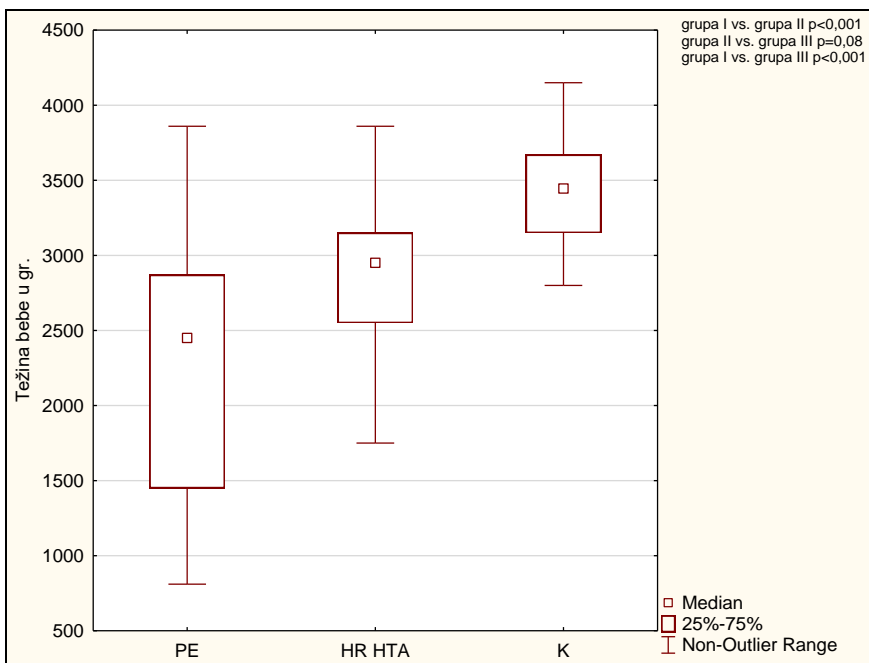
Na grafikonima 21 i 22 prikazana su poređenja ispitivanih trudnica prema nedelji porođaja i telesnoj težini beba.

Grafikon 21. Poređenje ispitivanih grupa trudnica prema nedelji porođaja



Legenda: PE-grupa sa preeklampsijom, HR HTA-grupa sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom i K-kontrolna grupa trudnica.

Grafikon 22. Poređenje ispitivanih grupa trudnica prema težini bebe



Legenda: PE-grupa sa preeklampsijom, HR HTA-grupa sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom i K-kontrolna grupa trudnica

#### 4.8.2 Poređenja koncentracija proteina angiogeneze u odnosu na nedelju porođaja

U tabeli 37 prikazana su poređenja koncentracija sFlt-1, VEGF-A i PlGF u odnosu na nedelju porođaja u prvoj grupi trudnica sa preeklampsijom.

Tabela 37. Poređenja koncentracija sFlt-1, VEGF-A i PlGF u odnosu na nedelju porođaja trudnica

Grupa/Parametar	< 33NG (n=10)	33-37NG (n=10)	>37-40NG (n=23)	Statistička značajnost
‡sFlt-1 pg/ml	940,25 (845,5-990)	1345 (1305-1520)	1820,5 (1450,5-2100)	NS* <b>p&lt;0,001**</b> <b>p&lt;0,001**</b>
‡VEGF-A pg/mL	63,6 (42,8-97)	63,85 (35,5-97,5)	87,5 (32,3-112)	NS* NS** NS***
§PlGF pg/ml	16,47±9,26 (Min.5,3- Max.34,5)	27,37±10,59 (Min.11,2- Max.45,5)	47,56 ±16,56 (Min.20,8- Max.78,9)	NS* <b>p&lt;0,001**</b> <b>p&lt;0,001**</b>

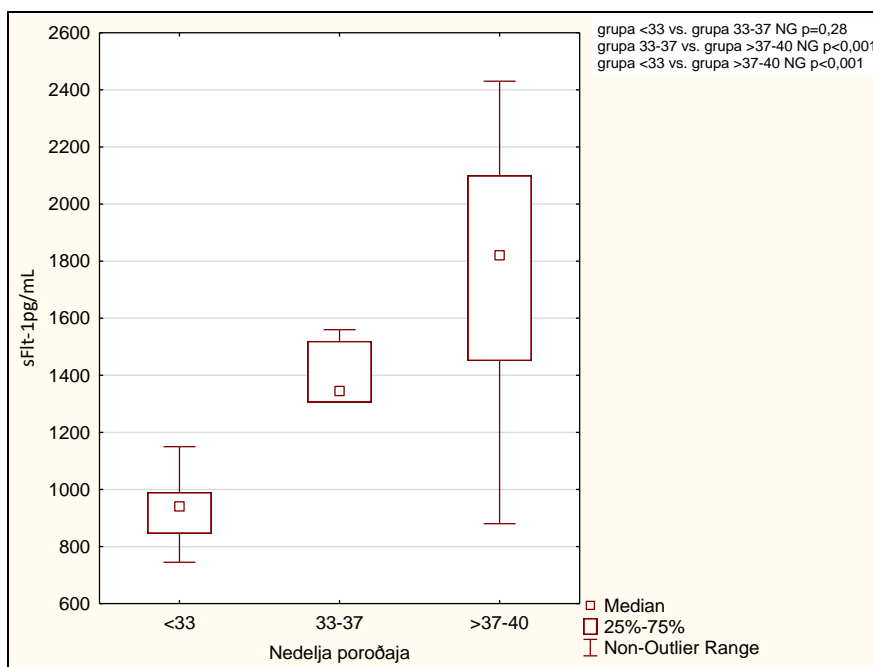
Legenda: NG-nedelja gestacije; ‡Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups (post test); § ANOVA test, Post Hoc Duncan test; \* p<0,05 između grupe < 33NG i 33-37NG, \*\* p<0,05 između grupe 33-37NG i >37-40NG, \*\*\* p<0,05 između grupe < 33NG i >37-40NG.

Poređenjem koncentracija proteina angiogeneze unutar prve ispitivane grupe trudnica sa preeklampsijom u odnosu na nedelju porođaja utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u vrednostima medijane sFlt-1 između grupa < 33NG i >37-40NG (p=0,00), i grupa 33-37NG i >37-40NG (p=0,00). Između grupa < 33NG i 33-37NG nije uočeno postojanje statistički značajne razlike (p=0,282). Između koncentracija VEGF-A nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa (< 33NG vs. 33-37NG, p=0,24, < 33NG vs. >37-40NG, p=0,36, 33-37NG vs. >37-40NG, p=0,34). Koncentracije PlGF su statistički značajno niže u grupi < 33NG u odnosu na grupu >37-40NG, p=0,00. U grupi 33-37NG koncentracije PlGF su statistički

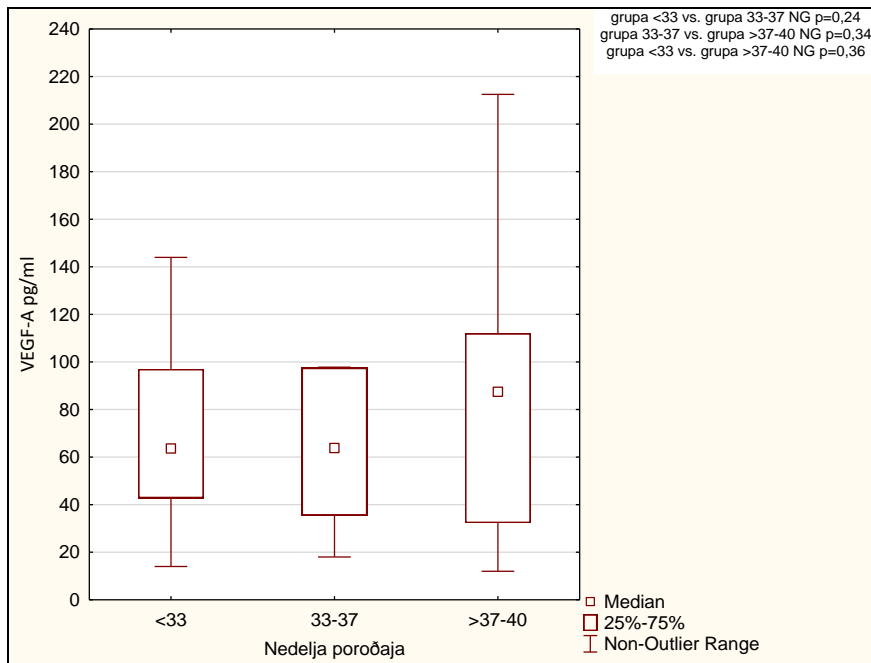
značajno niže u odnosu na grupu >37-40NG, p=0,00. Nije bilo statistički značajne razlike između grupa < 33NG i 33-37NG, p=0,43).

Na grafikonima 22,23 i 24 prikazana su poređenja koncentracija sFlt-1, VEGF-A i PIGF unutar prve ispitivane grupe trudnica sa preeklampsijom u odnosu na nedelju porođaja.

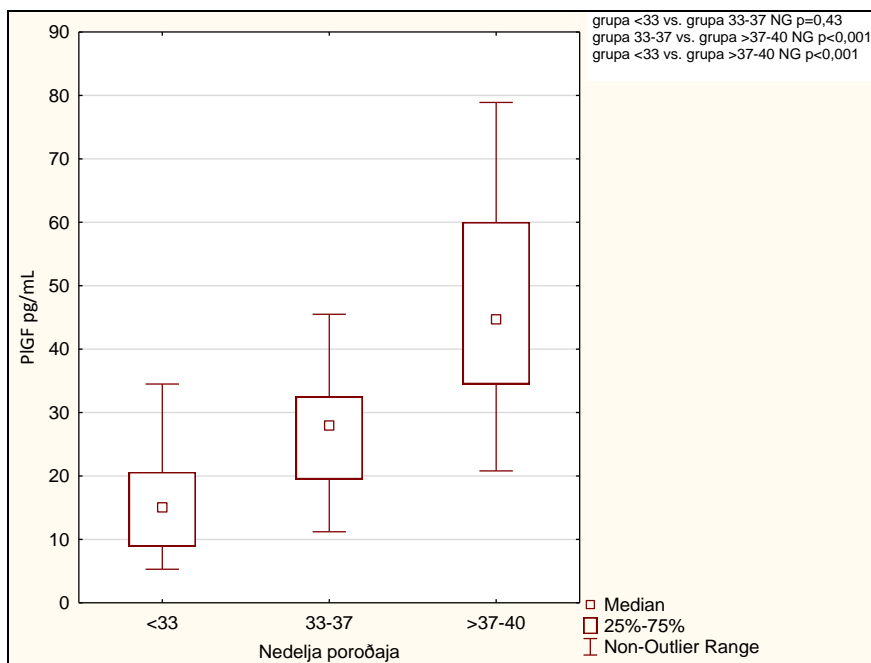
Grafikon 23. Poređenja koncentracija sFlt-1(pg/mL) u odnosu na nedelju porođaja



Grafikon 24. Poređenja koncentracija VEGF-A (pg/mL) u odnosu na nedelju porođaja



Grafikon 25. Poređenja koncentracija PlGF (pg/mL) u odnosu na nedelju porođaja



### 4.8.3 Poređenja koncentracija proteina angiogeneze u odnosu na porođajnu težinu

U tabeli 38 prikazana su poređenja koncentracije proteina angiogeneze unutar prve ispitivane grupe trudnica sa preeklampsijom u odnosu na porođajnu težinu bebe (Kruskal Wallis test, post hoc Multiple comparisons of mean ranks for all groups test).

Tabela 38. Poređenja koncentracija sFlt-1, VEGF-A i PlGF u odnosu na porođajnu težinu bebe

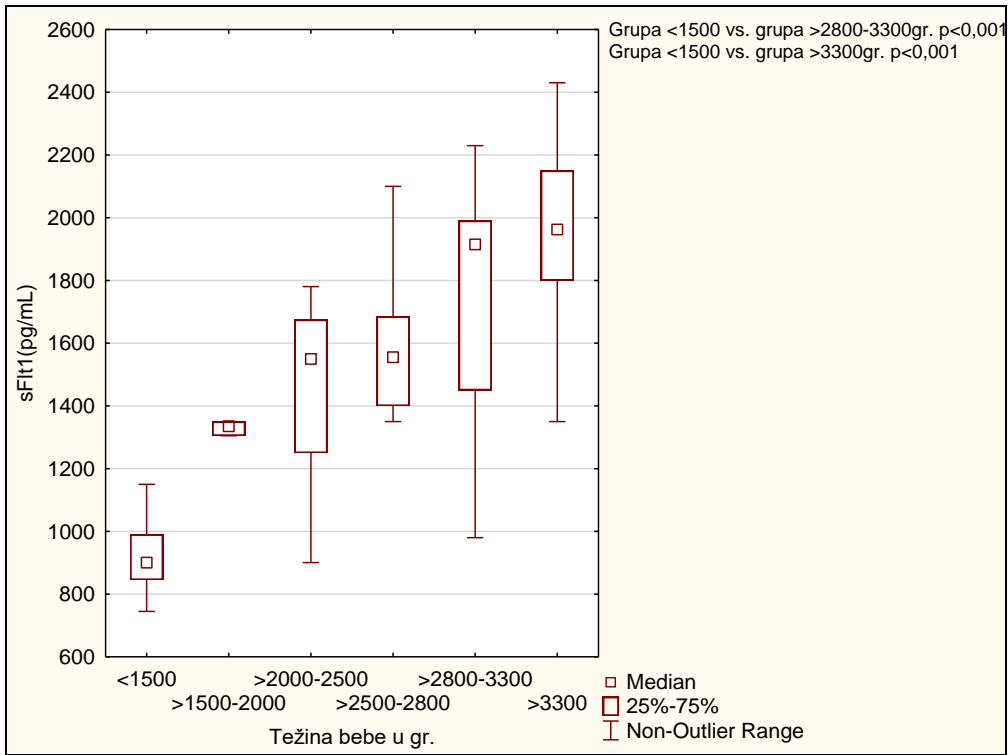
Parametar/Grupa	sFlt-1 (pg/mL)	VEGF-A (pg/mL)	PlGF (pg/mL)
¶<1500 gr.(n=7)	900,5 (845,5-990)	65,2 (42,8-97,5)	14,6 (8,9-20,6)
†1500-2000 gr.(n=6)	1335 (1305-1350)	76 (35,4-97)	29,55 (23,5-30,6)
‡>2000-2500 gr.(n=5)	1550 (1250-1675)	44,5 (22,3-45)	30,6 (25,5-32,3)
*>2500-2800 gr.(n=8)	1555 (1400,25-1685)	65,85 (29,35-105,7)	44,95 (36,75-50,15)
tt>2800-3300 gr.(n=7)	1915 (1450-1990,5)	90,3 (45,5-134,5)	60 (31,7-70,3)
‡>3300 gr.(n=10)	1962,5 (1800-2150)	116,65 (32,3-155)	46,25 (44,7-55,4)
Statistička značajnost	<b>p&lt;0,001¶,tt</b>	NS	<b>p&lt;0,001¶,*</b> <b>p&lt;0,001¶,tt</b> <b>p&lt;0,001¶,‡</b>

Legenda: gr-grama

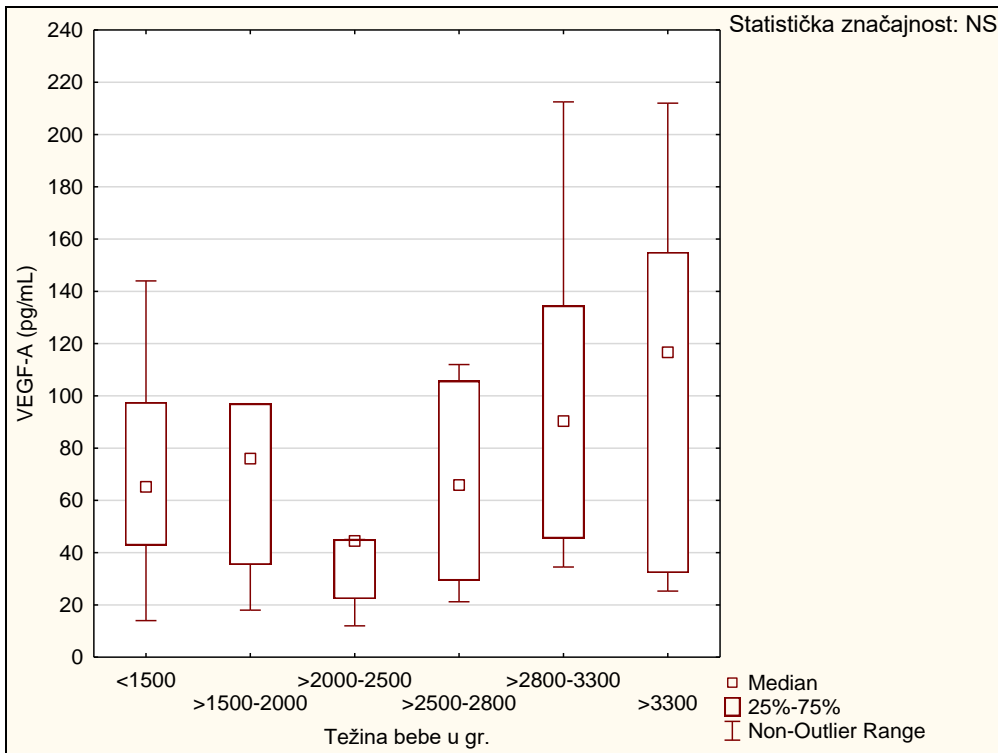
Utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u koncentracijama sFlt-1 između grupe <1500 gr i 2800-3300gr. (p=0,00) i grupa <1500 gr i >3300 gr, (p=0,00). Koncentracije PlGF se statistički značajno razlikuju između grupa <1500 gr i >2500-2800 gr, p=0,00, <1500 gr i >2800-3300 gr, p=0,00 i grupa <1500 gr i >3300 gr, p=0,00. Između ostalih ispitivanih grupa nisu uočene statistički značajne razlike u vrednostima ispitivanih proteina angiogeneze.



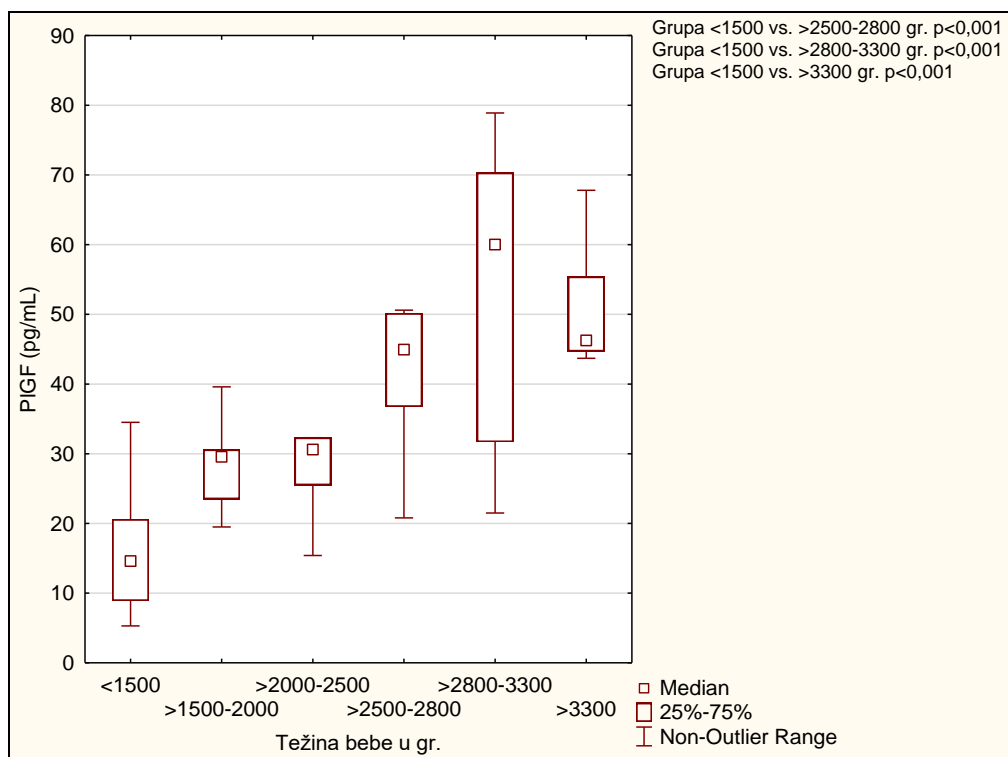
Grafikon 26. Poređenja koncentracije sFlt-1(pg/mL) prema porođajnoj težini beba (gr.)



Grafikon 27. Poređenja koncentracije VEGF-A (pg/mL) prema porođajnoj težini beba (gr.)



Grafikon 28. Poređenja koncentracije PlGF (pg/mL) prema porođajnoj težini beba (gr.)



#### 4.8.4 Poređenja koncentracija proteina angiogeneze u odnosu na porođajnu dužinu

Tabela 39. Poređenja koncentracija sFlt-1, VEGF-A i PlGF u odnosu na porođajnu dužinu bebe (cm).

Parametar/Grupa	sFlt-1 (pg/mL)	VEGF-A (pg/mL)	PlGF (pg/mL)
‡37-42 (n=14)	1325 (1215-1250)	54,6 (32,7-57,8)	33,6 (18,6-35,4)
‡43-47 (n=9)	1415 (1115-1550)	72,5 (32,5-89,3)	28,65 (21,5-33,6)
‡48-51 (n=20)	1850 (1310-2050)	62,5 (35,7-91,4)	31,6 (24,5-34,3)
Statistička značajnost	<b>p=0,02 ‡,§</b>	NS	NS

U tabeli 39 uočava se postojanje značajne razlike u koncentracijama sFlt-1 između grupe sa telesnom dužinom 37-42 i 48-51cm (p=0,02), dok između ostalih grupa nije uočeno postojanje značajne razlike u koncentracijama proteina angiogeneze.

#### 4.8.5 Poređenja koncentracija proteina angiogeneze u odnosu na APGAR skor

Tabela 40. Poređenja koncentracija sFlt-1, VEGF-A i PlGF u odnosu na APGAR skor.

Parametar/Grupa	sFlt-1 (pg/mL)	VEGF-A (pg/mL)	PlGF (pg/mL)
6-7 (n=15)	1635 (1445-1830)	53,2 (29,7-61,3)	29,4 (19,1-37,2)
8 (n=18)	1455 (1210,5-1750)	69,5 (27,5-84,2)	25,45 (20,5-32,4)
9-10 (n=9)	1835 (1545-2010,5)	61,4 (31,5-94,3)	28,4 (21,5-35,3)
Statistička značajnost	p=0,01 <sup>‡,§</sup>	NS	NS

U tabeli 40 uočava se postojanje značajne razlike u koncentracijama sFlt-1 između grupa sa APGAR skor 8 i grupe 9-10 (p=0,01) dok između ostalih grupa nije uočeno postojanje značajne razlike u koncentracijama proteina angiogeneze.

#### 4.9 KOREACIONA ANALIZA ODABRANIH LABORATORIJSKIH PARAMETARA I PARAMETARA ISHODA TRUDNOĆE

U tabelama 41-44 prikazana je korelaciona analiza proteina angiogeneze, placentalnih proteina, mokraćne kiseline i hsCRP sa parametrima ishoda trudnoće.

##### 4.9.1 Korelaciona analiza proteina angiogeneze i parametara ishoda trudnoće

U tabeli 41 i 42 prikazani su rezultati korelacione analize između proteina angiogeneze i parametara ishoda trudnoće u svim ispitivanim grupama trudnica.

Tabela 41. Korelaciona analiza između sFlt-1, PlGF i parametara ishoda trudnoće

	sFlt-1 pg/mL		PlGF pg/mL	
	R	P	R	P
Nedelja porođaja	0,57	0,00	0,51	0,00
Dužina bebe (cm)	0,46	0,00	0,14	0,07
Težina bebe (kg)	0,51	0,00	0,47	0,00
APGAR skor I	0,45	0,00	0,12	0,09
APGAR skor II	0,43	0,00	0,02	0,23

Legenda: r- koeficijent korelacije, APGAR skor I- APGAR skor u prvom minutu, APGAR skor II-APGAR skor u petom minutu.

Korelacionom analizom utvrđeno je postojanje statistički značajne povezanosti koncentracije sFlt-1 sa parametrima ishoda trudnoće, korelacije umerenog stepena sa nedeljom porođaja i težinom bebe (0,58, p=0,00;0,55, p=0,00), korelacije umerenog intenziteta sa dužinom bebe (0,49, p=0,00),APGAR skor I (0,49, p=0,00)i APGAR skor II (0,44, p=0,00). Utvrđeno je postojanje značajnih korelacija između PlGF i nedelje porođaja umerenog intenziteta (0,56, p=0,00) i težine bebe (r=0,48,p=0,00).

Tabela 42. Korelaciona analiza VEGF-A i parametara ishoda trudnoće

	VEGF-A (pg/mL)	
	R	P
Nedelja porođaja	0,22	0,00
Dužina bebe (cm)	0,21	0,01
Težina bebe (kg)	0,24	0,00
APGAR skor I	0,15	0,07
APGAR skor II	0,11	0,10

Legenda: r- koeficijent korelacije, APGAR skor I- APGAR skor u prvom minutu, APGAR skor II-APGAR skor u petom minutu

Korelacionom analizom utvrđeno je postojanje značajnih korelacija niskog stepena VEGF-A sa nedeljom porođaja (0,22, p=0,00), dužinom bebe (0,21, p=0,00) i težinom bebe (0,24, p=0,00).

#### 4.9.2 Korelaciona analiza placentalnih proteina i parametara ishoda trudnoće

Tabela 43. Korelaciona analiza placentalnih proteina i parametara ishoda trudnoće

	PAPP-A CorrMom		free βhCG CorrMom	
	R	P	R	P
Nedelja porođaja	0,37	0,00	0,21	0,00
Dužina bebe (cm)	0,05	0,21	0,14	0,07
Težina bebe (kg)	0,38	0,00	0,33	0,00
APGAR skor I	0,25	0,02	0,11	0,08
APGAR skor II	0,17	0,07	0,00	0,31

Legenda: r- koeficijent korelacije, APGAR skor I- APGAR skor u prvom minutu, APGAR skor II-APGAR skor u petom minutu.

Korelacionom analizom utvrđeno je postojanje značajne korelacije niskog stepena između vrednosti PAPP-A i nedelje porođaja (0,37, p=0,00),težine bebe (0,38, p=0,00) i APGAR skor I (0,25, p=0,02). Između vrednosti free βhCG i nedelje porođaja (0,21, p=0,00) i težine bebe (0,33, p=0,00) utvrđeno je postojanje značajne korelacije niskog stepena.

### 4.9.3 Korelaciona analiza između hsCRP, mokraćne kiseline i parametara ishoda trudnoće

Tabela 44. Korelaciona analiza između hsCRP, mokraćne kiseline i parametara ishoda trudnoće

	hsCRP (mg/L)		Mokraćna kiselina ( $\mu\text{mol/L}$ )	
	R	P	R	P
Nedelja porođaja	-0,52	0,00	-0,28	0,01
Dužina bebe (cm)	-0,44	0,00	-0,12	0,14
Težina bebe (kg)	-0,49	0,00	-0,21	0,08
APGAR skor I	-0,31	0,01	-0,06	0,08
APGAR skor II	-0,29	0,02	-0,00	0,43

Legenda: r- koeficijent korelacije, APGAR skor I- APGAR skor u prvom minutu, APGAR skor II-APGAR skor u petom minutu.

Korelacionom analizom utvrđeno je postojanje statistički značajne inverzne korelacije umerenog intenziteta između vrednosti CRP i nedelje porođaja (-0,52, p=0,00), dužine bebe (-0,44, p=00), težine bebe (-0,49, p=0,00), i korelacije niskog intenziteta sa APGAR skor I (-0,31, p=0,01) i APGAR skor II (-0,29, p=0,02). Utvrđeno je postojanje značajne inverzne korelacije niskog inteziteta između mokraćne kiseline i nedelje porođaja (-0,28, p=0,00).

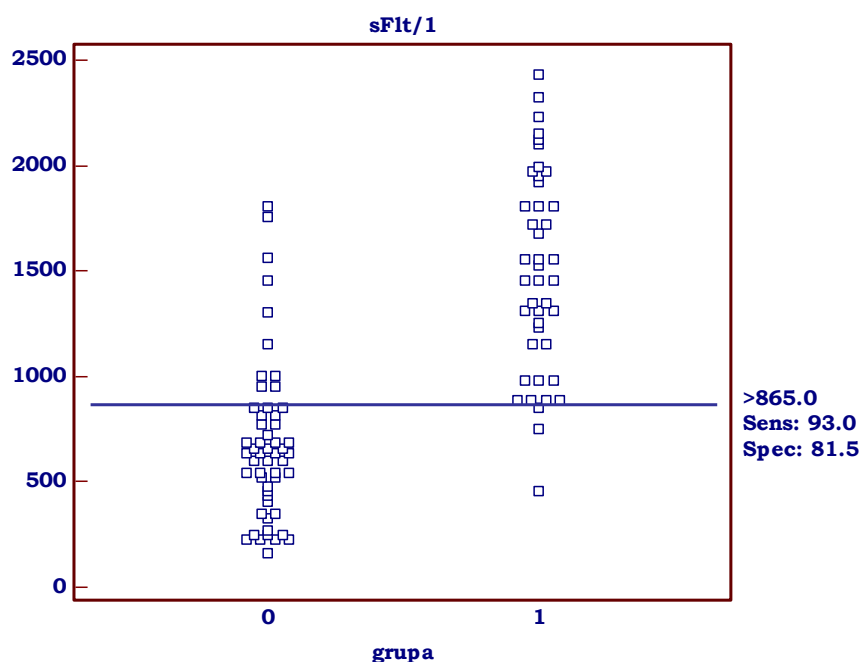
#### 4.10 PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ LABORATORIJSKIH PARAMETARA U CILJU PREDVIĐANJA RAZVOJA PREEKLAMPSIJE

Na grafikonima 29-38 i tabelama 45-47 prikazani su rezultati prognostičkog značaja proteina angiogeneze, placentalnih proteina, hsCRP i mokraćne kiseline u predviđaju pojave preeklampsije.

##### 4.10.1 Prognoštički značaj proteina angiogeneze u cilju predviđanja razvoja preeklampsije

###### 4.10.1.1 Prognoštički značaj sFlt-1 u predviđanju razvoja preeklampsije

Grafikon 29. Cut off vrednost, senzitivnost i specifičnost sFlt-1 u predviđanju preeklampsije

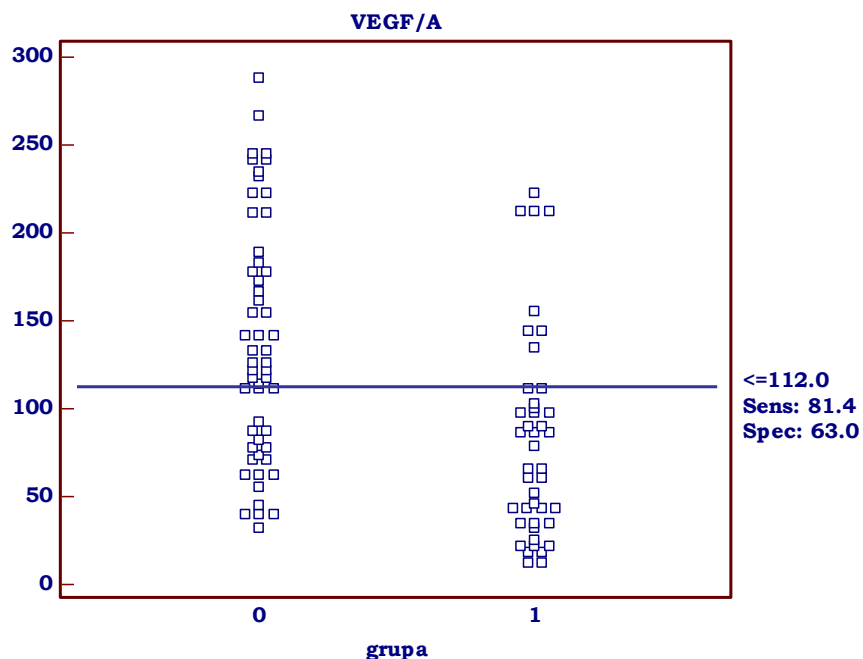


Legenda: 0- bez preeklampsije, 1- sa preeklampsijom.

Na grafikonu 29. prikazano je da dobijene vrednosti koncentracije sFlt-1 preko 865 pg/mL imaju senzitivnost 93% i specifičnost od 81,5% u predviđanju razvoja preeklampsije.

#### 4.10.1.2 Prognostički značaj VEGF-A u predviđanju preeklampsije

Grafikon 30. Cut off vrednosti, senzitivnost i specifičnost VEGF-A u predviđanju preeklampsije



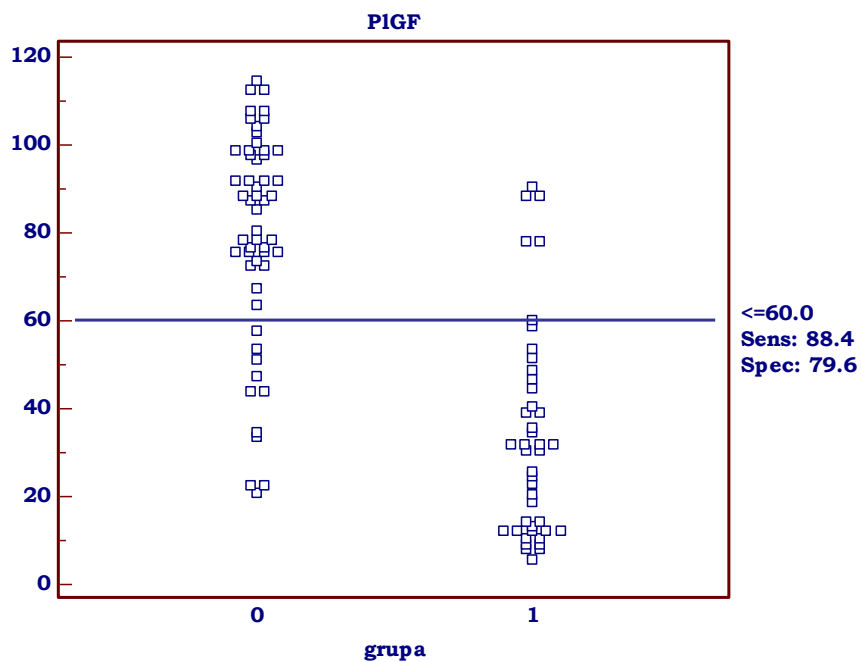
Legenda: 0-bez preeklampsije, 1-sa preeklampsijom

Na grafikonu 30. prikazano je da dobijene vrednosti koncentracije VEGF-A  $\leq 112$  pg/mL imaju senzitivnost 81,4% i specifičnost od 63 % u predviđanju razvoja preeklampsije.



### 4.10.1.3 Prognostički značaj PIGF u predviđanju preeklampsije

Grafikon 31. Cut off vrednost, senzitivnost i specifičnost PIGF u predviđanju preeklampsije



Legenda: 0-bez preeklampsije, 1-sa preeklampsijom.

Na grafikonu 31. prikazano je da dobijene vrednosti koncentracije PIGF  $\leq 60,0$  pg/mL imaju senzitivnost 88,4% i specifičnost od 79,6 % u predviđanju razvoja preeklampsije

Grafikon 32. ROC kriva za vrednosti sFlt-1 (pg/mL), VEGF-A (pg/mL) i PlGF (pg/mL) u cilju predviđanja razvoja preeklampsije

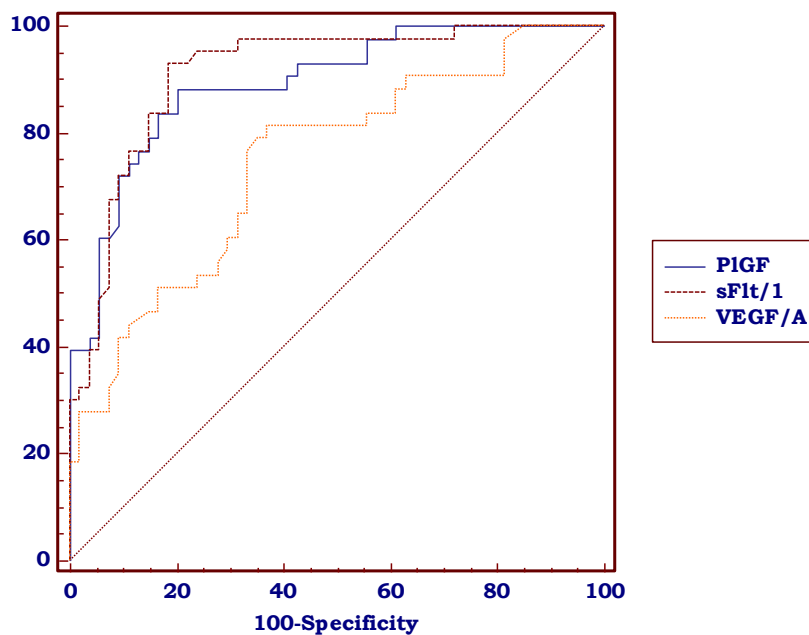


Tabela 45. Statistička značajnost i površina ispod (AUC) ROC krivi za vrednosti sFlt-1, VEGF-A i PlGF u predviđanju razvoja preeklampsije

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)	95% CI
sFlt-1 (pg/mL)	0,032	0,912	0,813-0,946
VEGF-A (pg/mL)	0,049	0,745	0,837-0,96
PlGF (pg/mL)	0,033	0,893	0,647-0,828

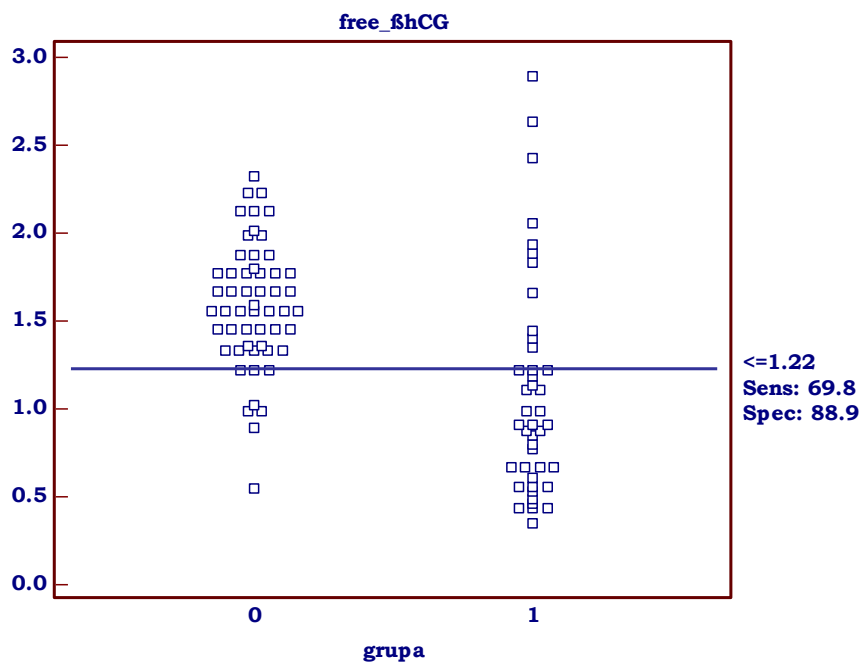
Na grafikonu 32. i tabeli 45. na osnovu ROC krivi i površina ispod krivi (AUC) uočava se da proteini angiogeneze imaju statistički značajnu diskriminativnu sposobnost u poređenju grupa u cilju predviđanja razvoja preeklampsije. Vrednosti VEGF-A iako su se pokazale statistički značajnim u predviđanju razvoja preeklampsije imaju manju diskriminativnu sposobnost u odnosu na sFlt-1 i PlGF. sFlt-1 ima veću diskriminativnu sposobnost u odnosu na PlGF i VEGF-A. Uočena je statistički značajna razlika u površini ispod krivi sFlt-1 i VEGF (95% CI:0,061-0,272),  $p=0,002$ ,

kao i između VEGF i PlGF (95% CI: 0,039-0,256),  $p=0,008$ . Između sFlt-1 i PlGF (95% CI: -0,054-0,092) nije uočena statistička značajna razlika  $p=0,607$ .

#### 4.10.2 Prognošički značaj placentalnih proteina u cilju predviđanja razvoja preeklampsije

##### 4.10.2.1 Prognošički značaj free $\beta$ hCG u predviđanju preeklampsije

Grafikon 33. Cut off vrednosti, senzitivnost i specifičnost free  $\beta$ hCG u predviđanju preeklampsije

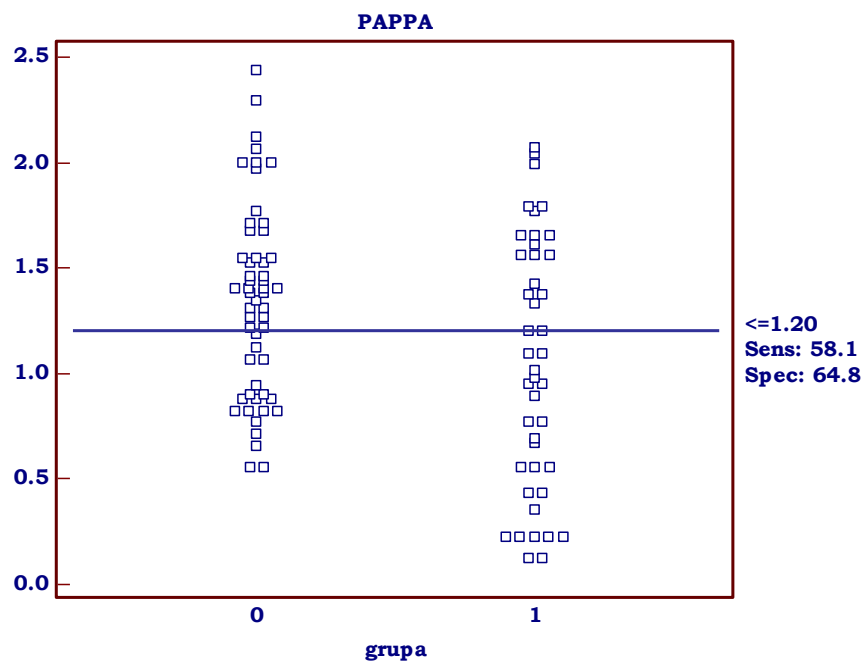


Legenda: 0-bez preeklampsije, 1-sa preeklampsijom.

Na grafikonu 33. prikazano je da dobijene vrednosti koncentracije free  $\beta$ hCG  $\leq 1,22$  CorrMom imaju senzitivnost 69,8% i specifičnost od 88,9 % u predviđanju razvoja preeklampsije

#### 4.10.2.2 Prognostički značaj PAPP-A u predviđanju preeklampsije

Grafikon 34. Cut off vrednosti, senzitivnost i specifičnost PAPP-A u predviđanju preeklampsije



Legenda: 0-bez preeklampsije, 1-sa preeklampsijom.

Na grafikonu 34. prikazano je da dobijene vrednosti koncentracije PAPP-A  $\leq 1,20$  CorrMom imaju senzitivnost 58,1% i specifičnost od 64,8 % u predviđanju razvoja preeklampsije

Grafikon 35. ROC kriva vrednosti free  $\beta$ hCG (CorrMom) i PAPP-A (CorrMom) u cilju predviđanja razvoja preeklampsije

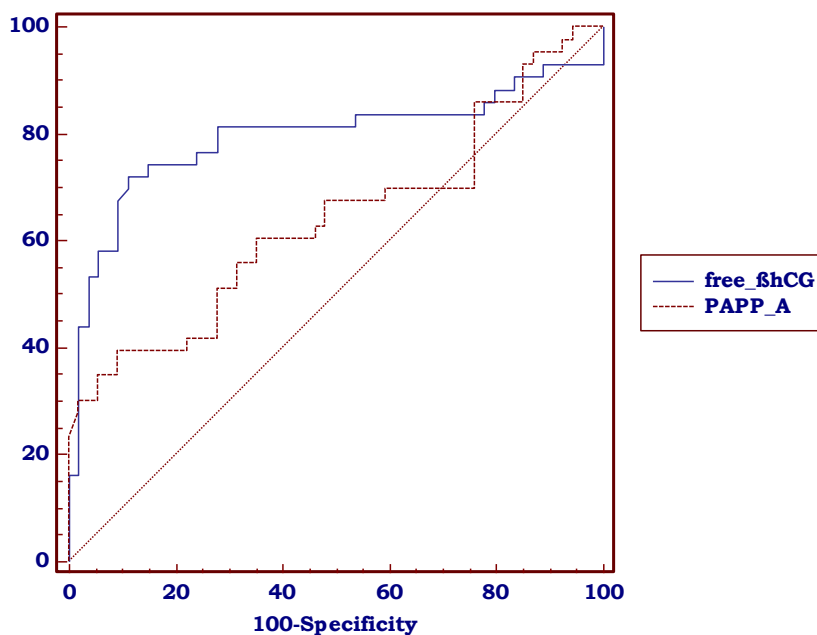


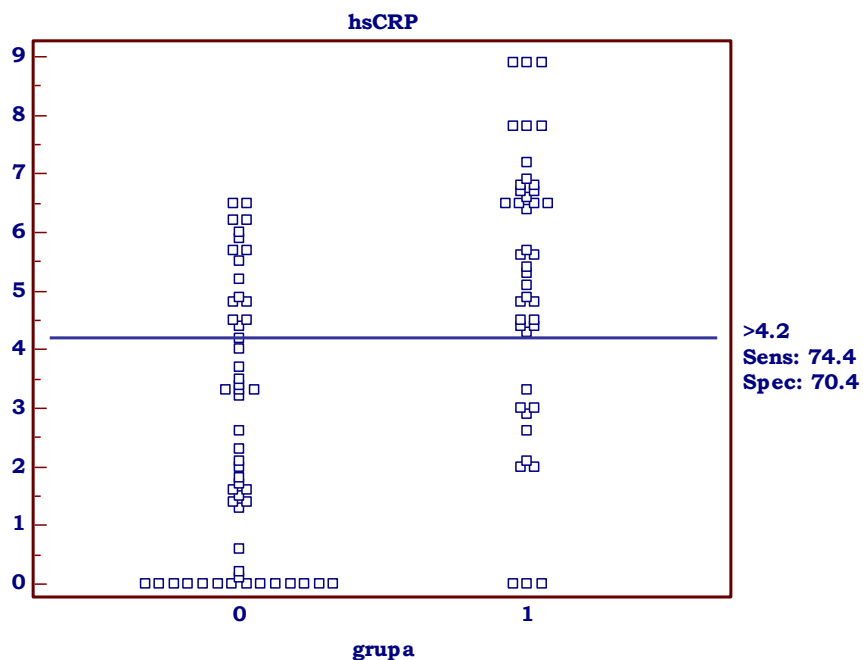
Tabela 46. Statistička značajnost i površina ispod (AUC) ROC krivi za vrednosti free  $\beta$ hCG i PAPP-A u predviđanju razvoja preeklampsije

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)	95% CI
free $\beta$ hCG (CorrMom)	0,045	0,794	0,7-0,87
PAPP-A (CorrMom)	0,056	0,637	0,533-0,732

Na grafikonu 35. i tabeli 46. na osnovu ROC krivi i površina ispod krivi (AUC) uočava se da placentalni proteini imaju statistički značajnu ali malu diskriminativnu sposobnost u poređenju grupa u cilju predviđanja razvoja preeklampsije. Uočena je statistički značajna razlika u površinama ispod krivi (95% CI 0,03-0,285) za free  $\beta$ hCG i PAPP-A,  $p=0,015$ , što ukazuje da PAPP-A ima manju diskriminativnu sposobnost u odnosu na free  $\beta$ hCG.

### 4.10.3 Prognošički značaj hsCRP i mokraćne kiseline u cilju predviđanja razvoja preeklampsije

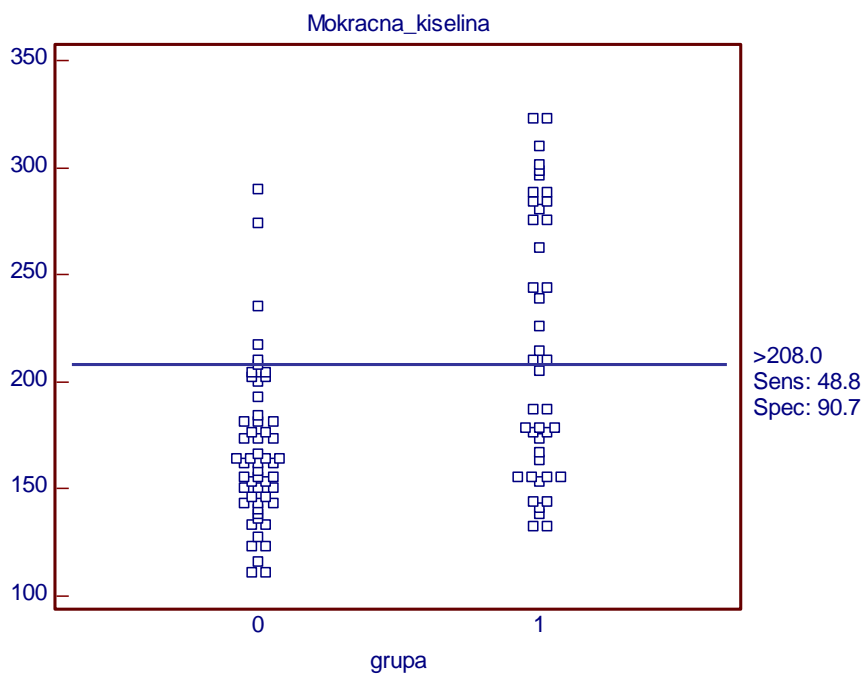
Grafikon 36. Cut off vrednost, senzitivnost i specifičnost hsCRP u predviđanju preeklampsije



Legenda: 0-bez preeklampsije, 1-sa preeklampsijom.

Na grafikonu 36. prikazano je da dobijene vrednosti koncentracije hsCRP > 4,20 mg/L imaju senzitivnost 74,4% i specifičnost od 70,4 % u predviđanju razvoja preeklampsije.

Grafikon 37. Cut off vrednost, senzitivnost i specifičnost mokraćne kiseline u predviđanju preeklampsije



Legenda: 0-bez preeklampsije, 1-sa preeklampsijom.

Na grafikonu 37. prikazano je da dobijene vrednosti koncentracije mokraćne kiseline > 208,0  $\mu\text{mol/L}$  imaju senzitivnost 48,8% i specifičnost od 90,7 % u predviđanju razvoja preeklampsije.

Grafikon 38. ROC kriva vrednosti hsCRP (mg/L) i mokraćne kiseline ( $\mu\text{mol/L}$ ) u cilju predviđanja razvoja preeklampsije

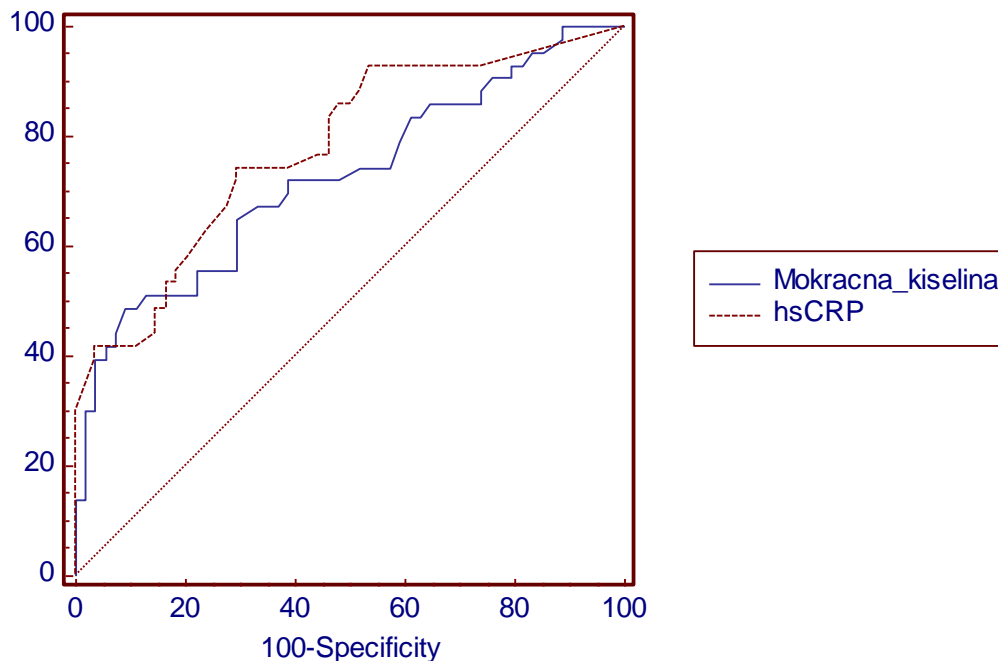


Tabela 47. Statistička značajnost i površina ispod (AUC) ROC krivi za vrednosti hsCRP i mokraćne kiseline za predviđanje razvoja preeklampsije

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)	95% CI
hsCRP (mg/L)	0,049	0,778	0,694-0,82
Mokraćna kiselina ( $\mu\text{mol/L}$ )	0,053	0,726	0,59-0,782

Na grafikonu 38. i tabeli 47. na osnovu ROC krivi i površina ispod krivi (AUC) uočava se da hsCRP i mokraćna kiselina imaju statistički značajnu ali malu diskriminativnu sposobnost u poređenju grupa u cilju predviđanja razvoja preeklampsije. Nije uočeno postojanje statistički



značajne razlike u površinama ispod krivi mokraćne kiseline i hsCRP (95% CI -0,027-0,232),  
p=0,121.

## 5 DISKUSIJA

S obzirom na to da se hipertenzivna oboljenja javljaju kod 8-10% trudnica i da su njihove teže forme povezane sa visokom stopom maternalnog i perinatalnog morbiditeta i mortaliteta, istraživanja u poslednjih nekoliko godina usmerena su na pronalaženje senzitivnih i specifičnih testova za predviđanje njihove pojave. Prva grupa testova usmerena je na ispitivanje trudnica u aktuelnoj trudnoći. Pronalaskom ovakvih testova, omogućila bi se selekcija trudnica koje imaju faktore rizika za pojavu hipertenzivnih oboljenja u trudnoći, i to nekoliko nedelja pre pojave simptoma, što bi omogućilo primenu mera zaštite i uvođenja terapije pre nego što dođe do razvoja kliničke slike i komplikacija koje mogu da ugroze majku i plod. Druga grupa testova uključivala bi žene generativnog doba, kojima bi se u prekonceptijskom savetovanju utvrdili faktori rizika za pojavu hipertenzivnih oboljenja u planiranoj trudnoći, kako bi se oni faktori koji su promenljivi mogli korigovati, čime bi se postiglo smanjenje rizika ili od njihove pojave ili smanjila težina oboljenja u trudnoći. Treća grupa testova uključivala bi žene koje su imale hipertenzivna oboljenja u prethodnoj trudnoći i njihovu novorođenčad, kako bi se utvrdio rizik od pojave metaboličkog sindroma kod žena i na taj način sprečila pojava kardiovaskularnih bolesti u ovoj populaciji. Praćenjem dece iz ovakvih trudnoća postigla bi se bolja kontrola rasta i razvoja, kao i uvođenja mere prevencije kod one dece koja pokažu sklonost ka gojaznosti i poremećaju glikoregulacije.

U našoj studiji ispitivali smo laboratorijske parametre i faktore rizika za pojavu hipertenzivnih oboljenja u prvom trimestru aktuelne trudnoće sa ciljem identifikacije parametara koji se u prvom trimestru značajno razlikuju između trudnica sa hipertenzivnim oboljenjima i zdravih trudnica, zatim upoređivanje ispitivanih parametara sa gestacijskom nedeljom u trenutku porođaja i parametrima novorođenčeta (dužina, težina i APGAR skor). Takođe cilj studije je i

određivanje prognostičkog značaja i prediktivne vrednosti onih laboratorijskih analiza koji su pokazali statistički značajnu razliku između ispitivanih grupa trudnica.

U studiju je uključeno ukupno 143 trudnice u prvom trimestru trudnoće između 11.-14. nedelje gestacije, što s obzirom na godišnji broj porođaja (oko 6500) na Klinici za ginekologiju i akušerstvo kliničkog centra Vojvodine i s obzirom na učestalost hipertenzivnih oboljenja u trudnoći (5-8%) predstavlja reprezentativan uzorak.

### 5.1 Faktori rizika za pojavu hipertenzivnih oboljenja u trudnoći

Na osnovu anamnestičkih podataka i pregledom kartona istorija bolesti trudnica prikupljeni su demografski, antropometrijski i klinički podaci o parametrima koji predstavljaju potencijalne faktore rizika za pojavu hipertenzivnih oboljenja u trudnoći.

U našoj studiji trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom su bile u proseku starije od trudnica kontrolne grupe ( $p = 0,01$ ), dok je trudnica starosti između 35,1-40 godina bilo više u grupi sa preeklampsijom nego u kontrolnoj grupi ( $p = 0,05$ ). Najveći broj trudnica između 20-25 godina je bio u kontrolnoj grupi ( $p = 0,01$ ,  $p = 0,05$ ). Međutim, kod sve tri grupe trudnica uočava se širok raspon godina života, sa prosekom  $30,33 \pm 5,06$  u grupi sa preeklampsijom,  $30,34 \pm 4,57$  u grupi sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom i  $28,54 \pm 4,48$  u kontrolnoj grupi, što ukazuje na generalni trend pomeranja starosnih granica rađanja. Ovakvi podaci su u skladu sa drugim istraživanjima koji ukazuju da u opštoj populaciji žena generativnog perioda, postoji trend ka pomeranju rađanja sa treće na rađanje u četvrtoj deceniji života, pa čak više nije ni neuobičajeno rađanje posle 40. godine života (198). Nalazi u ovoj studiji pokazuju da veći broj trudnica sa preeklampsijom živi u gradovima ( $p = 0,04$ ) u odnosu na kontrolnu grupu i broj zaposlenih trudnica je veći u grupi sa preeklampsijom nego u preostale dve grupe ( $p = 0,03$ ,  $p = 0,04$ ), ali nije

uočeno postojanje razlike u stepenu obrazovanja između sve tri grupe trudnica ( $p = 0,32$ ,  $p = 0,46$ ,  $p = 0,14$ ). Veći broj zaposlenih trudnica u grupi sa preeklampsijom kao i veći broj trudnica ove grupe koje žive u gradovima povezano je sa njihovom starošću i takođe je u skladu sa drugim istraživanjima (24). Smatra se da je starija životna dob trudnica posledica delovanja više faktora istovremeno: pomeranje radno aktivnog stanovništva u gradove, veći stepen obrazovanja i napredovanja žena u društvu, veća zastupljenost radno aktivnih žena generativnog doba, koje zauzimaju važne pozicije u društvu i obavljaju zahtevne poslove koji ne dozvoljavaju odsustvo sa posla pa samim tim i veći procenat materijalno nezavisnih žena, zatim bolja edukacija žena o upotrebi kontraceptivnih sredstava kao i dostupnost tretmana kod problema sa sterilitetom. Sa druge strane mali finansijski prihodi mlađih bračnih parova i nemogućnost obezbeđivanja brige o deci radnoaktivnih roditelja, usmeravaju žene ka rađanju u starijoj životnoj dobi (199, 200). Takođe u našoj studiji trudnice sa preeklampsijom imale su veći broj komplikacija u prethodnim trudnoćama (veći broj spontanih pobačaja, missed abortusa i zastoja u razvoju ploda) u odnosu na kontrolnu grupu ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ), dok su trudnice sa preeklampsijom, hroničnom i gestacijskom hipertenzijom imale veći broj prevremenih porođaja u odnosu na kontrolnu grupu ( $p = 0,04$ ). Ovakvi rezultati su u skladu sa drugim istraživanjima gde je pored veće učestalosti komplikacija u prethodnim trudnoćama uočena i povezanost između starosti trudnica i učestalosti pojave komplikacija tokom aktuelne trudnoće (gestacijski dijabetes, hronična hipertenzija, preeklampsija, prevremeni porođaj i veći broj carskih rezova), dok se beleže obrnuti podaci o deci rođenoj iz ovakvih visoko rizičnih trudnoća. Smatra se da ova deca imaju bolji stepen preživljavanja, manji broj komplikacija i manju stopu smrtnosti na rođenju (201). Povezanost starije životne dobi trudnica sa većim rizikom od pojave komplikacija u trudnoći, uključujući i hipertenzivna oboljenja, nije do kraja razjašnjenja. Smatra se da biološko, a ne hronološko starenje,

utiče na smanjenu funkciju reproduktivnih organa žena. Međutim starenje utiče i na smanjenje funkcija drugih organa kao što su srce (smanjenje funkcionalne rezerve i atrofija srčanog mišića, depozicija lipofuscina), vaskularna mreža (gubitak rastegljivosti i elastičnosti zidova krvnih sudova, razvoj ateroskleroze), pluća (smanjenje kapaciteta) i dr. što može biti klinički bez značaja do trudnoće, koja predstavlja dodatno opterećenje za većinu organskih sistema. Sa druge strane, postoje nerazjašnjeni mehanizmi kao što su: *i*) uticaj gojaznosti na starenje reproduktivnog sistema, *ii*) genetski faktori koji kontrolišu implantaciju ploda, održavanje i završetak trudnoće, *iii*) uticaj starenja na genetske faktore (da li se cervikalna ekspresija gena i struktura proteina menja sa godinama), *iv*) uticaj očevih godina života na ishod trudnoće i *v*) uticaj zagađenja i radijacije iz okoline na trudnoću u starijoj životnoj dobi (201-204). Veće prisustvo spontanih pobačaja, prevremenih porođaja i missed abortusa kod trudnica sa preeklampsijom i hroničnom i gestacijskom hipertenzijom u aktuelnoj trudnoći u našoj studiji, može da ukaže placenta ima važnu ulogu u nastanku mnogih komplikacija u trudnoći uključujući i hipertenzivna oboljenja (45, 205). Rezultati brojnih studija ukazuju da poremećaji u ranoj placentalnoj angiogenezi i vaskulogenezi udruženi sa prethodnim opterećenjem majke (gojaznost, dislipidemija, insulinska rezistencija, hronična inflamacija, genetski faktori i neadekvatno imunološko prilagođavanje majke na fetus) dovode do pojave širokog spektra oboljenja u trudnoći, pri čemu vremenski momenat kliničkog ispoljavanja ovih oboljenja kao i tip i težina poremećaja, zavise od stepena oštećenja placente i odgovora vaskularnog endotela majke na nastale patofiziološke poremećaje (205, 206). Studije pokazuju da preeklampsija i kod prethodno zdravih trudnica, predstavlja nezavisni faktor rizika za pojavu hipertenzije, gojaznosti, metaboličkog sindroma i kardiovaskularnih bolesti kasnije u životu, pogotovo ako se preeklampsija dijagnostikuje pre 34. nedelje gestacije, ako je udružena sa intrauterinim zastojem u razvoju ploda i ako je trudnoća prekinuta pre 34. nedelje gestacije (207).

Međutim, i kod trudnica sa rekurentnim spontanim pobačajima i missed abortusima, uočena je povećana učestalost kardiovaskularnih bolesti kasnije tokom života. Smatra se da endotelna disfunkcija koja prethodi trudnoći, a koja može da postoji i nekoliko godina pre aktuelne trudnoće pa čak i u detinjstvu dece koja su rođena sa niskom porođajnom težinom, dovodi do poremećaja u endovaskularnoj invaziji spiralnih arterija u aktuelnoj trudnoći, stvaranju visoko rezistentnih uteroplacentalnih krvnih sudova, otežanom snabdevanju fetusa nutritivnim, pojavi fetalnih i maternalnih komplikacija tokom trudnoće i kardiovaskularnih bolesti kasnije u životu (208). Rezultati nekih studija, koji su u cilju procene prisustva i upoređivanja stepena endotelne disfunkcije kod žena sa prethodnim rekurentnim spontanim pobačajima i preeklampsijom, merenjem reaktivnosti i rezistencije brahijalne i materične arterije, određivanjem koncentracije mokraćne kiseline, L arginina, asimetričnog dimetilarginina (ADMA), holesterola i NO, pokazuju da su kod 50% žena obe grupe prisutni znakovi endotelne disfunkcije, sa sličnim nivoima odabranih parametara. Ovakvi rezultati mogu da ukažu da je endotelna disfunkcija značajan faktor u nastanku preeklampsije, spontanih pobačaja i kardiovaskularnih bolesti kasnije u životu ovih trudnica. Nekoliko studija je ispitivanjem proinflammatoryh citokina (IL-6, IL-8 i TNF- $\alpha$ ) u amnionskoj tečnosti i NK ćelija periferne krvi, kao moćnih medijatora ćelijskog rasta, odraza stepena inflamacije i imunološkog mehanizma prilagođavanja majke na fetomaternalnu jedinicu, u prvom trimestru trudnica sa spontanom pobačajem i preeklampsijom u aktuelnoj trudnoći, došlo do zaključka da ne postoje značajne razlike u koncentracijama navedenih parametara odnosno da nemaju značajnu vrednost u razlikovanju ova dva poremećaja u trudnoći. (81, 82, 209, 210).

U našoj studiji se uočava podjednaka zastupljenost pušača u sve tri grupe trudnica ( $p = 0,24$ ,  $p = 0,4$ ,  $p = 0,33$ ), odnosno nije uočen veći broj pušača u grupi sa preeklampsijom u

odnosu na ostale grupe trudnica. Iako je opšte poznata činjenica da pušenje ugrožava zdravlje ljudi, rezultati brojnih istraživanja ukazuju da pušenje u trudnoći ima protektivni efekat na pojavu preeklampsije, odnosno trudnice koje su bile pušači neposredno pre trudnoće i tokom aktuelne trudnoće su imale manji rizik od pojave preeklampsije nego trudnice nepušači. Pronađeno je da ugljen monoksid, koji je glavni toksični sastojak nikotina, snižava nivo antiangiogenih proteina (sFlt-1 i sEndoglin) u placenti i endotelnim ćelijama, kao i da nikotin smanjuje oksidativni stres u placenti (205). Još jedno moguće objašnjenje zašto je preeklampsija manje zastupljena kod trudnica pušača je da se klinička slika ovog oboljenja ne stigne ispoljiti pošto je pušenje u trudnoći povezano sa većom učestalošću prevremenih porođaja (211-213).

U našoj studiji anamnestički podaci o broju prethodnih trudnoća, prisustvu preeklampsije u porodici i prethodnim trudnoćama, broju seksualnih partnera i dužini kontakta sa semenom tečnošću ukazali su da ovi parametri predstavljaju značajne faktore rizika za pojavu hipertenzivnih oboljenja u trudnoći, posebno preeklampsije kao i na značajan udeo imunoloških i genetskih mehanizama u nastanku preeklampsije. Poređenjem sve tri grupe ispitanica, trudnica kojima je aktuelna trudnoća ujedno i prva trudnoća, ima više u grupi sa preeklampsijom nego u grupi sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom ( $p = 0,001$ ), što je u skladu sa drugim istraživanjima gde je pronađeno da je učestalost preeklampsije u prvoj trudnoći između 4,1-7,3%, dok je u narednim trudnoćama između 0,9%-1,7% (210,212). Trudnica sa prisutnom preeklampsijom u bližoj porodici i preeklampsijom u prethodnoj trudnoći ima više u grupi sa preeklampsijom nego u preostale dve ispitivane grupe ( $p = 0,00$ ), dok je broj seksualnih partnera i dužina kontakta sa semenom tečnošću manja u grupi sa preeklampsijom u odnosu na preostale dve grupe ( $p = 0,00$ ) što je takođe u skladu sa drugim istraživanjima (43, 214). Smatra se da neadekvatni imunološki odgovor, sa reakcijom maternalnih antitela na paternalne antigene prisutne u placenti, dovodi do

poremećaja u trofoblastnoj invaziji i oštećenju razvoja placente (145). Istraživanja koja se baziraju na ispitivanju uloge gena u nastanku placentalne disfunkcije ukazuju da maternalne i paternalne antigenske strukture prilikom sučeljavanja na fetoplacentalnoj jedinici mogu podjednako da povećaju šansu za nastanak spontanih pobačaja, prevremenih porođaja i preeklampsije (47). Proučavanjem jednojajčanih ženskih blizanaca, penetrantnost gena je bila ispod 50%, ukazujući da maternalni geni nemaju presudan značaj za ispoljavanje preeklampsije (215). U prilog tome da paternalni geni igraju ulogu u nastanku preeklampsije, govore podaci velikih studija sprovedenih u Švedskoj, Australiji, Islandu i Norveškoj (216). Uočeno je da u trudnoćama različitih žena u kojima je otac isti dolazilo do pojave preeklampsije, kao i da u molarnoj trudnoći (gde svi fetalni hromozomi potiču od oca) učestalost pojave preeklampsije iznosi preko 75% (216). Međutim, kod trudnica čije su očeve majke imale preeklampsiju, takođe imaju veću učestalost pojave preeklampsije, što ukazuje da i paternalni i maternalni genetski faktori doprinose pojavi ovog oboljenja (80). Eksperimenti na mišjim fetusima koji su nasledili humani gen za renin od očeva, pokazali su pojavu hipertenzije, morfoloških promena na bubrezima sa proteinurijom i generalizovanim konvulzijama kasnije u trudnoći, ukazujući na direktnu povezanost paternalnih gena koji su eksprimovani u placenti sa hipertenzivnim poremećajima u trudnoći (94, 103). Smatra se da paternalni geni učestvuju u normalnom razvoju fetoplacentalne jedinice tako što obezbeđuju dovoljan dotok nutritijenata za fetus nezavisno koliko takav protok može da predstavlja cirkulatorno i metaboličko opterećenje za majku, dok maternalni geni imaju suprotnu ulogu, oni limitiraju transfer i smanjuju krvni pritisak u korist održavanja optimuma za funkcionisanje maternalnog organizma. U takvom svetlu, endotelna disfunkcija majke u preeklampsiji mogla bi predstavljati kompenzatorni odgovor fetusa na neadekvatni uteroplacentalni dotok nutritijenata (217, 218). Na važnu ulogu gena u pojavi preeklampsije ukazuju i podaci da četiri pojedinačna



nukleotidna polimorfizma na hromozomu 2q22 dele isti rizik za pojavu preeklampsije i kardiovaskularnih oboljenja, što je česta kasnija komplikacija žena sa preeklamptičnim trudnoćama (219). Velika istraživanja usmerena su na ispitivanje pojedinačnih polimorfizama za VEGF (G-634C) kao važnog promotera endotelne ćelijske proliferacije i vaskularne permeabilnosti, PAPP-A (rs7020782), promena u DNK metilaciji gena za VEGF, Flt-1 i KDR gene koji kodiraju sintezu angiogenih proteina i promena u nivoima njihovih informacionih RNK u cilju detekcije genetskih faktora rizika za pojavu preeklampsije (220-223).

U našoj studiji prosečan ITM je veći u grupi sa preeklampsijom ( $26,35 \pm 4,29$ ,  $p = 0,00$ ) i grupi sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom ( $26,96 \pm 4,47$ ) u odnosu na kontrolnu grupu trudnica ( $23,2 \pm 3,12$ ) što je u skladu sa rezultatima drugih studija (128, 131, 146). Prethodne studije ukazuju da je prekomerna telesna težina ( $ITM \geq 28$ ) a posebno gojaznost, udružena sa rizikom od pojave gestacijske hipertenzije, svih formi preeklampsije posebno “early onset” i preeklampsije superponirane na hroničnu hipertenziju. Rizik za pojavu preeklampsije je 3-4 puta veći kod gojaznih trudnica i 1,9 puta veći kod trudnica sa  $ITM \geq 28$  (215). Međutim rezultati brojnih drugih studija ukazuju da rizik od pojave preeklampsije nije ograničen samo na prekomerno uhranjene i gojazne trudnice, već je povećan i kod trudnica sa ITM u okviru vrednosti za normalno uhranjene, ukoliko dođe do njegovog značajnog porasta u toku trudnoće (224). S obzirom da veliki broj gojaznih trudnica ne razvije preeklampsiju, smatra se da metabolička aktivnost i lokalizacija masnog tkiva ima veći uticaj na pojavu hipertenzivnih oboljenja u trudnoći nego samo vrednost ITM (225). Iz tog razloga nedostatak naše studije je izostanak praćenja porasta telesne težine u toku trudnoće kao i određivanja stepena centralne gojaznosti kod trudnica. Rezultati brojnih studija ukazuju da centralna gojaznost sa nakupljanjem visceralnog masnog tkiva je veći faktor rizika nego ukupna i periferna gojaznost. Visceralno masno tkivo je hormonski

aktivno tkivo, koje ima sposobnost da produkuje proinflamatorne citokine, adipokine (leptin, adiponektin) i da utiče na metaboličke funkcije jetre. Ovakvim mehanizmima centralna gojaznost može dovesti do insulinske rezistencije, inflamacije i oksidativnog stresa što sve predstavlja komponente u razvoju preeklampsije (135). U gojaznosti usled prisustva rezistencije na leptin dolazi do pojave povišenih koncentracija ovog hormona u cirkulaciji. Smatra se da povećana produkcija leptina direktno dovodi do aktivacije endotelnih ćelija i proinflamatornih citokina sa nastankom inflamacije niskog stepena (226). Leptin se smatra nezavisnim faktorom rizika za pojavu kardiovaskularnih bolesti, nezavisno od insulinske rezistencije i direktno učestvuje u nastanku ateroskleroze i hipertenzije. U toku fiziološke trudnoće, leptin se luči u placenti u količini koja je slična kao u masnom tkivu. U brojnim studijama nađene su više vrednosti leptina u preeklampsiji nego kod fizioloških trudnoća, čije vrednosti čak i u kasnoj trudnoći koreliraju sa ITM trudnice. Smatra se da u preeklampsiji leptin ima sposobnost da autonomno i direktno aktivira vaskularni endotel majke imitirajući efekte placentalnih angiogenih faktora (227). Sa druge strane adiponektin ima osobinu da povećava senzitivnost insulina, oksidaciju slobodnih masnih kiselina i smanjuje koncentraciju serumskih triglicerida, glukoze i slobodnih masnih kiselina. Takođe inhibiše ekspresiju adhezivnih molekula posredovanu sa TNF- $\alpha$ . Snižene koncentracije adiponektina uzrokovane genetskim polimorfizmima pronađene su u gojaznosti i povezane su sa visokim rizikom od kardiovaskularnih bolesti. Međutim, u preeklampsiji do sada nisu potvrđene snižene vrednosti ovog hormona (228).

U našoj studiji uočava se da su vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska više u grupi sa preeklampsijom 120 (117-124), 78 (75-80), nego u preostale dve grupe trudnica 114,5 (112-120), 71 (68-75) i 114 (110-117), 69 (66-75);  $p = 0,01$ ,  $p = 0,02$ , što je u skladu sa drugim istraživanjima koja su pokazala povezanost maternalne gojaznosti i dobijanja na težini u toku

trudnoće sa vrednostima sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska i pojavi hipertenzivnih oboljenja u trudnoći (229). Smatra se da gojaznost i insulinska rezistencija dovode do pojave hipertenzije povećanjem simpatičkog tonusa, povećanom ekspresijom angiotenzinogena u masnom tkivu, smanjenjem vazodilatatornih svojstava endotela sa smanjenim stvaranjem NO i povećanim stvaranjem ADMA i toksičnih radikala (131).

## 5.2 Dijagnostički značaj laboratorijskih parametara prvog trimestra u hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći

U našoj studiji su, u krvi trudnica u prvom trimestru trudnoće između 11-14. nedelje gestacije, određeni proteini angiogeneze sFlt-1, VEGF-A i PlGF kao i placentalni proteini PAPP-A i  $\beta$ hCG. Poređenjem vrednosti sFlt-1 između sve tri grupe trudnica uočava se da se najviše vrednosti nalaze u grupi sa preeklampsijom ( $1554,06 \pm 465,60$ ,  $p = 0,00$ ), dok su vrednosti u grupi sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom ( $901,46 \pm 267,24$ ,  $p = 0,00$ ) više u odnosu na kontrolnu grupu trudnica ( $538,88 \pm 224,69$ ). Vrednosti PlGF kreću se obrnuto, najniže su u grupi sa preeklampsijom ( $25,5$  ( $12,4-43,7$ ),  $p = 0,00$ ), dok su vrednosti u grupi sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom ( $53,3$  ( $40,3-65,5$ ),  $p = 0,00$ ) niže u odnosu na kontrolnu grupu ( $87,85$  ( $72,8-99,2$ )). Vrednosti VEGF-A ( $67$  ( $35,4-102,3$ ),  $p = 0,00$ ) ponašaju se slično vrednostima PlGF i niže su u grupi sa preeklampsijom u odnosu na kontrolnu grupu  $126,5$  ( $78,5-182,5$ ), takođe su niže u grupi sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom ( $61$  ( $42,1-123,0$ ),  $p = 0,00$ ) u odnosu na kontrolnu grupu, pri čemu nije uočena razlika u vrednostima VEGF-A između prve i druge ispitivane grupe ( $p = 0,43$ ). Ovakvi rezultati su u skladu sa drugim istraživanjima (62, 230-232). Nekoliko studija je pokazalo, da u preeklampsiji vrednosti sFlt-1 počinju bitno da se razlikuju u odnosu na normalne trudnoće tek posle 20. nedelje gestacije, dok su druge studije pokazale da se te vrednosti mogu razlikovati već posle 10. nedelje trudnoće što je u skladu i sa rezultatima naše studije (233)

McKeeman et al. 2009, su ispitivanjem sFlt-1 u nekoliko vremenskih intervala (12, 20, 30, 37. nedelja gestacije kao i 24. sata pre porođaja) kod trudnica sa preeklampsijom, pronašli značajno više vrednosti ovog angioproteina u svim fazama merenja u odnosu na kontrolnu grupu trudnica (234). Vatten et al. 2012, su merenjem koncentracija sFlt-1 i PlGF u dva vremenska intervala, uočili da porast sFlt-1 i pad PlGF između prvog i drugog trimestra trudnoće pokazuje najbolju povezanost sa pojavom preeklampsije (235). Baumman et al. 2008, su ispitivanjem sFlt-1 između 11+2 i 13+6 nedelja gestacije kod trudnica koje su razvile preeklampsiju posle 34. nedelje gestacije, uočili da su vrednosti značajno više nego u kontrolnoj grupi. Mayat et al. 2012, su našli da su vrednosti PlGF značajno više u prvom trimestru trudnoće (između 10+0 i 14+0 nedelja gestacije), dok su Rana et al. 2014, našli da vrednosti sFlt-1 nisu pokazale značajnu razliku u prvom trimestru trudnoće, već da se značajna razlika između grupe sa preeklampsijom i kontrolne grupe uočava tek posle 18. nedelje gestacije (236, 237). U našoj studiji više vrednosti sFlt-1 kao i niže vrednosti PlGF i VEGF-a u grupi sa preeklampsijom mogu se objasniti karakteristikama solubilne forme Flt-1, koji poseduje samo ligand-vezujući domen i koji slobodno cirkulišući u krvi ima veliki afinitet da vezuje VEGF-A i PlGF pre nego što se ove molekule vežu za svoje pune receptore (238). Iz tog razloga u našoj studiji, više vrednosti sFlt-1 koje su pronađene u grupi trudnica sa preeklampsijom putem vezivanja slobodnih VEGF-A i PlGF molekula, mogle bi uzrokovati niže vrednosti ovih proangiogenih molekula nego u preostale dve grupe ispitanica. Mehanizam prekomerne produkcije sFlt-1 u preeklampsiji i značaj njegove uloge kako u preeklampsiji tako i u normalnom razvoju placente i pseudovaskulogenezi nije do kraja razjašnjen (239).

Smatra se da u preeklampsiji zbog izostanka pune trofoblastne invazije, koja normalno počinje krajem prvog trimestra i završava se između 18-20. nedelje gestacije, spiralne arteriole

ostaju uskog promera, izuvijane i citotrofoblastne ćelije pokrivaju samo površinski sloj decidualnih arteriola (240). Prethodno nabrojane promene za posledicu imaju pojavu placentalne ishemije sa nesposobnošću citotrofoblastnih ćelija da usvoje osobine vaskularnog endotela (241). Smatra se da brojni faktori mogu biti potencijalni uzročnici placentalne ishemije što se vidi i kroz rezultate naše studije, gde se uočava veća učestalost genetskih, imunoloških i metaboličkih promena u grupi sa preeklampsijom i hroničnom i gestacijskom hipertenzijom (242). Placentalna ishemija i hipoksija dovode do lučenja solubilnih faktora u maternalnu cirkulaciju koja dovodi prvo do podržaja, a kasnije i hronične aktivacije i disfunkcije vaskularnog endotela, što se kasnije u trudnoći očituje multisistemskim i multiorganskim poremećajima kod majke. Razlog zbog kojeg dolazi do otpuštanja brojnih podražajnih molekula u maternalnu cirkulaciju nije do kraja ispitan. Smatra se da sa jedne strane ove molekule imaju zadatak da kompenzatornim mehanizmima: povećanjem maternalnog vaskularnog otpora majke i zadržavanjem osnovnih nutritijenata (glukoze, triglicerida, slobodnih masnih kiselina i drugih) u cirkulaciji, omoguće savladavanje naraslog otpora u placentalnim krvnim sudovima, smanje placentalnu ishemiju i hipoksiju, omoguće dovoljan dotok nutritijenata do fetusa i omoguće nesmetan rast i razvoj placente i fetusa tokom trudnoće (243). Ovakvi mehanizmi koji su potencijalno protektivni za fetus, sa druge strane su cirkulatorno opterećenje za majku. Prema drugim hipotezama, prisustvo podražajnih molekula u maternalnoj cirkulaciji, ne predstavlja samo posledicu placentalne ishemije već i njen uzrok, pri čemu u tom slučaju placenta u samom startu razvoja leži u nepovoljnom miljeu, izazvanom prethodnim prisustvom endotelne disfunkcije majke (244). Takođe veza između sFlt-1, PlGF, VEGF-A i faktora rizika nije do kraja razjašnjena. Davanjem sFlt-1 eksperimentalnim životinjama, pojava poremećaja koagulacije, disfunkcije jetre i znakova cerebralnog oštećenja odnosno znakova eklampsije i HELLP sindroma uočena je samo u 50% slučajeva. Ni u svim slučajevima

preeklampsije nisu pronađene povišene vrednosti ovog markera, što može ukazivati da je sFlt-1 i njegov efekat na VEGF-A i PlGF, značajan ali nespecifičan uslov za razvoj hipertenzivnih oboljenja u trudnoći (245). Sa druge strane, u ovoj studiji pronađene su više vrednosti sFlt-1 i niže vrednosti PlGF i VEGF-A u grupi sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom u odnosu na kontrolnu grupu, gde osim hipertenzije nema drugih sistemskih znakova endotelne disfunkcije. Ovakvi podaci mogu ukazivati da prekomerna produkcija sFlt-1 nije specifična samo za preeklampsiju, već da u svim hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći postoji sličan patofiziološki sled događaja, pri čemu stepen ispoljavanja antiangiogenih mehanizama zavisi od stepena placentalne ishemije u ranoj trudnoći i endotelne aktivacije u organizmu majke pre trudnoće (246). Placentalna ekspresija i viši nivoi sFlt-1 u serumu pronađeni su u većini slučajeva „aktivne bolesti“ odnosno ispoljavanja kliničke slike preeklampsije, u odnosu na zdrave trudnice. Nakon porođaja vrednosti sFlt-1 opadaju istom brzinom i kod preeklampsičnih i zdravih trudnica. Ispitivanjem nivoa sFlt-1 u više vremenskih intervala odnosno gestacijskih nedelja (8-12, 10-14, 16-20, 22-28, 33-36) kod zdravih trudnica, uočeno je da su vrednosti ovog proteina konstantne sve do 33-36. nedelje i korelišu sa gestacijskom nedeljom, kada vrednosti počinju naglo da rastu do kraja trudnoće (247, 248).

U našoj studiji vrednosti VEGF-A kao proangiogenog, vazodilatatornog i mitogenog faktora za rast i diferencijaciju endotelnih ćelija, je niži u grupi sa preeklampsijom u odnosu na sve ostale ispitivane grupe. Takođe vrednosti VEGF-A u našoj studiji se ponašaju slično vrednostima PlGF, i bitno se razlikuju između grupe sa preeklampsijom i zdrave grupe trudnica kao i grupe sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom i kontrolne grupe trudnica, što je u skladu sa prethodnim istraživanjima (249, 250). U prethodnim studijama dobijeni su oprečni podaci o nivoima VEGF-A u preeklampsiji. Lee et al, 2007 i Maynard et al. 2011 su ispitivanjem serumskih

nivoa VEGF-A u prvom i drugom trimestru trudnoće, dobili značajno niže vrednosti u preeklampsiji u odnosu na normotenzivne trudnice, dok su Sikora et al. 2007 pronašli da nema razlike u nivoima VEGF-A između grupe sa preeklampsijom i kontrolne grupe trudnica (62, 251, 252). Akercan et al, 2008 su proučavanjem bioptata placenti dobili značajno veću ekspresiju VEGF-A u placentama preeklampsijskih trudnica nego u kontrolnoj grupi (249). Rezultati drugih studija ukazuju da su, s obzirom na to da sFlt-1 ima veći afinitet vezivanja za VEGF-A nego za PlGF, nivoi slobodnog (biološki aktivnog) VEGF u serumu izrazito niski, čak i na granici detektabilnosti u studijama na preeklampsijskim trudnicama, u poređenju sa vrednostima PlGF (253). Uloga VEGF-A u identifikaciji trudnica sa preeklampsijom nije još potvrđena, s obzirom na oprečne podatke o nivoima VEGF-A u ranoj trudnoći preeklampsijskih trudnica u brojnim studijama (254, 255). Pronađene su značajno povišene koncentracije ukupnih cirkulišućih nivoa VEGF, dok su vrednosti slobodnih nevezanih molekula ovog proteina značajno niže, ukazujući na verovatnu ulogu sFlt-1 u zarobljavanju biološki aktivnog VEGF-A (256). Takođe je pronađena značajna pozitivna korelacija VEGF-A sa sistemskom i uterušnom vaskularnom rezistencijom i negativna korelacija sa NO metabolitima u preeklampsiji. Smatra se da povećana aktivacija sinteze VEGF-A na svim nivoima regulacije (transkripcionim i translacionim), nastaje kao odgovor na hroničnu placentalnu hipoksiju, što ukazuje da VEGF-A aktivno učestvuje u patogenezi preeklampsije. Na značajnu ulogu VEGF-A kako u normalnoj trudnoći tako i u preeklampsiji, ukazuju i podaci istraživanja koji su određivanjem VEGF i NO u plodovoj vodi, pronašli značajno niže vrednosti ovih parametara u ranom drugom trimestru preeklampsijskih trudnica u odnosu na normotenzivne trudnoće (257). Ovakvi podaci mogu da ukažu da nedostatak sinergističnog dejstva promotera vazodilatacije i angiogeneze već u ranoj trudnoći uzrokuje rane poremećaje placentne vaskularizacije i oštećenje endotelne funkcije (258). O protektivnoj ulozi VEGF, govore

istraživanja na genetski modifikovanim miševima, kod kojih redukcija od 50% renalne produkcije ovog faktora, dovodi do glomerularne endotelioze i proteinurije (62, 236). Međutim, VEGF je bitan i za održavanje stabilnosti i funkcije endotelinih ćelija u mozgu i jetri, koji takođe predstavljaju organe pogođene preeklampsijom (259). Proučavanjem renalnih bioptata kod preeklamptičnih trudnica, uočeno je da pored dobro poznate glomerularne endotelioze postoje i znaci oštećenja podocita sa poremećajem u ekspresiji njihovih proteina citoskeleta (260). U urinu preeklamptičnih trudnica pronađeni su slobodni podociti nastali odvajanjem od glomerularne bazalne membrane, što može ukazivati da oštećenje podocita može imati značaja u patofiziologiji preeklampsije. S obzirom da poslednja istraživanja ukazuju na pojavu podociturije u mokraći preeklamptičnih trudnica, Zhao et al, 2009 su ispitivanjem ekspresije VEGF-A i sFlt-1 u glomerularnim endotelinim ćelijama kod trudnica sa preeklampsijom i gestacijskom hipertenzijom pronašli značajno veću ekspresiju oba molekula u odnosu na zdrave trudnice. Pretpostavka je da visoke koncentracije sFlt-1 dovode do oštećenja glomerularnih podocita i poremećaja u ekspresiji podocitnih specifičnih proteina koji su važni faktori u održavanju integriteta glomerularne membrane. Smatra se da povećana ekspresija VEGF-A u glomerularnim endotelinim ćelijama predstavlja kompenzatorni odgovor (u cilju ubrzanja glomerularne angiogeneze) na postojeće oštećenje podocita uzrokovano sFlt-1. S obzirom da su u preeklampsiji pronađene povišene vrednosti VEGF u urinu, smatra se da renalna produkcija VEGF doprinosi povećanju ovog proteina u mokraći (261). Studije pokazuju da VEGF-A pokazuje korelaciju značajnog stepena sa težinom proteinurije u kliničkoj slici preeklampsije (261). O zaštitnoj ulozi VEGF-A na funkciju bubrega govore i podaci da kod velikog broja pacijenata koji u terapiji karcinoma primaju VEGF antagoniste, dolazi do pojave hipertenzije i proteinurije (87).



U našoj studiji niže vrednosti PlGF u grupi trudnica sa preeklampsijom u odnosu na sve ostale ispitivane grupe su u saglasnosti sa drugim istraživanjima, pri čemu takve vrednosti su najverovatnije posledica antiangiogenog potencijala sFlt-1, koji visokim afinitetom vezuje slobodne molekule PlGF u cirkulaciji, a manja je verovatnoća da se radi o smanjenoj placentalnoj produkciji. U prilog ovome govore i naši rezultati postojanja značajne inverzne korelacije umerenog stepena između sFlt-1 i PlGF ( $r = -0,58$ ,  $p = 0,00$ ). Studije su pokazale da su vrednosti PlGF niže u nekoliko vremenskih intervala odnosno gestacijskih nedelja pre pojave simptoma preeklampsije (25-28, 29-32 i 33-36) u odnosu na normotenzivne trudnice, odnosno da 9 do 11 nedelja pre pojave preeklampsije vrednosti počinju bitno da se razlikuju, tako da 5. nedelje pre pojave kliničke slike praktično postaju nemerljive (177). Međutim, brojne studije pokazuju oprečne rezultate u pogledu upotrebe PlGF za razlikovanje preeklampsije od drugih komplikacija u trudnoći. Niske vrednosti ovog proteina u serumu, u nekim studijama, pronađene su samo kod preeklampsije koja je udružena sa plodovima malim za gestacijsku nedelju porođaja, dok druge studije pokazuju da PlGF pokazuje bolju prediktivnu vrednost za pojavu SGA kod normotenzivnih trudnica nego za preeklampsiju (262). Niže vrednosti PlGF u prvom trimestru pronađene su i kod fetalne trizomije 21, 18 i 13. Međutim, rezultati drugih istraživanja ukazuju da su serumski nivoi PlGF znatno niži u preeklampsiji i znatno se razlikuju od vrednosti kod gestacijske hipertenzije, trizomije 21, 13, 18 i plodova malih za gestacijsku nedelju kod normotenzivnih trudnica, što je u saglasnosti i sa rezultatima ovog istraživanja gde se vrednosti PlGF u grupi sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom razlikuju i od grupe sa preeklampsijom i od kontrolne grupe trudnica (263). Najnovije studije ukazuju da se istovremenim određivanjem sFlt-1 i PlGF u prvom trimestru omogućava identifikacija trudnica koje će razviti preeklampsiju u aktuelnoj trudnoći (264). Pored serumskih nivoa, proučavane su i vrednosti PlGF u urinu. Za razliku od sFlt-1 koji ima veliku

molekulska masu tako da se ne može naći u urinu zdravih trudnica, PIGF je protein male molekulske mase i pronađene su njegove niže vrednosti u urinu kod preeklampsijskih trudnica. Prednosti urinarnog određivanja PIGF su u njegovoj većoj specifičnosti, s obzirom na to da urinarne vrednosti ovog proteina ne opadaju u gestacijskoj hipertenziji i kod plodova malih za gestacijsku nedelju, već samo kod preeklampsije (265, 266). S toga je i nedostatak naše studije što nisu određivane vrednosti PIGF i VEGF u urinu ispitivanih trudnica.

U daljem toku istraživanja urađena je korelaciona analiza proteina angiogeneze sa parametrima rizika za pojavu preeklampsije. Uočava se postojanje značajne pozitivne korelacije sFlt-1 i negativne korelacije PIGF umerenog stepena sa komplikacijama u prethodnim trudnoćama (spontani pobačaji, missed abortusi, zastoj u razvoju ploda i prevremeni porođaji) kao i sa prisustvom preeklampsije u porodici i prethodnim trudnoćama (tabela 23,27) što je u skladu sa prethodnim istraživanjima (215, 267). Ovakvi rezultati potvrđuju značajnu povezanost naslednih faktora sa angiogenetskim disbalansom (sFlt-1 i PIGF) kao i povezanost stepena poremećaja placentalne angiogeneze i vaskulogeneze sa vremenskim momentom i kliničkim oblikom ispoljavanja komplikacija u trudnoći.

Poređenjem vrednosti placentanog proteina PAPP-A između ispitivanih grupa nije uočeno postojanje značajne razlike, iako su prosečne vrednosti nešto niže u grupi sa preeklampsijom 1,1 (0,55-1,60) u odnosu na grupu sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom 1,23 (0,88-1,54) i kontrolnom grupom trudnica 1,38 (0,91-1,56). Ovakvi rezultati su u skladu sa rezultatima drugih istraživanja (238, 268). U nekim studijama pronađene su niske vrednosti PAPP-A u ranom drugom trimestru trudnoće, kako u preeklampsiji, tako i kod zastoja u razvoju ploda i prevremenog porođaja, dok su u drugim studijama nađene povišene vrednosti ovog proteina, što ukazuje da PAPP-a kao samostalni marker ima malu dijagnostičku vrednost u skriningu trudnica na

hipertenzivna oboljenja u trudnoći (269). Pilalis et al. 2007 i Mikat et al. 2012 našli su niže vrednosti PAPP-A između 11 i 14 nedelje gestacije, pri čemu su bolju prediktivnu vrednost dobili kombinacijom PAPP-A sa dopler ultrasonografijom merenjem indeksa rezistencije krvnih sudova materice nego upotrebom pojedinačnih parametara (268, 270). Gu et al. 2015 pokazali su da PAPP-A ima bolju prediktivnu vrednost u kombinaciji sa PIGF i sFlt-1 nego kao pojedinačni marker (271). Studije pokazuju da PAPP-A u serumu trudnica postaje detektabilan ubrzo nakon implantacije i njegove vrednosti progresivno rastu do kraja trudnoće. Vrednosti PAPP-A su u većini studija u korelaciji sa nedeljom gestacije, brojem prethodnih trudnoća, pušenjem kao i sa telesnom težinom majke što ukazuje na njegovu povezanost sa volumenom placente (272). Smatra se da nivo PAPP-A u prvom i drugom trimestru trudnoće predstavlja odraz količine trofoblastnog tkiva, što kod malih fetusa za gestacijsku nedelju može biti povezano sa zastojem u razvoju ploda, preeklampsijom i spontanom pobačajem (273). Na značaj PAPP-A u rastu i razvoju placente i fetusa ukazuju eksperimenti na miševima kojima je nakon odstranjenja ovog proteina, došlo do redukcije normalne dužine na rođenju za 60% (274). Smatra se da PAPP-A svoje dejstvo ispoljava indirektno preko insulinu sličnom faktoru rasta (IGF), koji ima mitogenu i antiapoptotičnu aktivnost u skoro svim tkivima u organizmu. Odvajanjem inhibitora IGF vezujućeg proteina 4 i 5, PAPP-A povećava količinu slobodnog IGF i omogućava njegovu biološku dostupnost i aktivnost, što je neophodno za rast i razvoj fetusa (275). Smatra se da IGF kontroliše trofoblastnu invaziju decidue, sintezu steroidnih hormona i transport glukoze i aminokiselina u horionskim resicama. Tačna uloga i povezanost niskih vrednosti PAPP-A sa pojavom hipertenzivnih oboljenja i drugih komplikacija u trudnoći nije do kraja razjašnjena. Uočeno je da određeni genski polimorfizmi za PAPP-A gen (Cys327Cys) su povezani sa većom učestalošću preeklampsije (276). PAPP-A nije strogo specifičan marker za trudnoću, jer se takođe sintetiše u fibroblastima, osteoblastima,

vaskularnim glatkim mišićnim ćelijama i manje količine su pronađene i u jajnicima, endometriju, bubrezima, testima i mnogim drugim tkivima. Smatra se da nivo PAPP-A u cirkulaciji predstavlja odraz aktivnosti i nestabilnosti aterosklerotski izmenjenih krvnih sudova s obzirom da su pronađene visoke vrednosti ovog proteina u nestabilnim aterosklerotskim plakovima i predstavlja marker akutnog koronarnog sindroma. S obzirom da su hipertenzivna oboljenja u trudnoći, posebno preeklampsija, povezana sa 4-5 puta većim rizikom od pojave kardiovaskularnih bolesti kasnije u životu, najnovija istraživanja ukazuju da PAPP-A nije samo marker hromosomskih anomalija ploda, prediktivni marker u pojavi preeklampsije već i prediktor pojave kardiovaskularnih bolesti nakon trudnoća sa preeklampsijom (277, 278).

U našoj studiji vrednosti free  $\beta$ hCG su značajno niže u grupi sa preeklampsijom 0,90 (0,60-1,34) u odnosu na grupu sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom 1,55 (0,99-1,78),  $p = 0,00$ , i kontrolnom grupom trudnica 1,57 (1,35-1,78),  $p = 0,00$ , što je u skladu sa rezultatima drugih istraživanja (279, 280). Di Lorenzo et al. 2012 istraživanjem serumskih nivoa free  $\beta$ hCG kod 2118 trudnica među kojima su bile trudnice sa hroničnom, gestacijskom hipertenzijom i preeklampsijom ustanovili su značajno niže vrednosti ovog markera u odnosu na normotenzivne trudnice, dok su Jelliffe et al. 2015 ustanovili više vrednosti ukupnog i free  $\beta$ hCG samo u preeklampsiji, bez značajne razlike nivoa ovog markera u gestacijskoj hipertenziji u odnosu na normotenzivne trudnice (262, 281). Nivoi hCG mogu se detektovati već tokom prvog dana implantacije i progresivno rastu tokom prvog trimestra trudnoće, dostižu svoju maksimalnu vrednost između 8. i 12. nedelje gestacije, kada počinju naglo da opadaju tokom drugog trimestra i ostaju vrlo niske do kraja trudnoće (282). Smatra se da u preeklampsiji, neadekvatna trofoblastna invazija spiralnih arteriola i sledstvena placentalna ishemija dovode do poremećaja u sekreciji i funkciji hCG što rezultira smanjenju uterusnih i cirkulatornih T ćelija i uNK ćelija u placenti (262). Nađeno je da

hCG ima brojne uloge u održavanju trudnoće: stimuliše produkciju progesterona, učestvuje u procesima implantacije i decidualizacije, angiogenezi, citotrofoblastnoj diferencijaciji i regulaciji imunološkog prilagođavanja majke na fetus (283). Prema podacima najnovijih studija, hCG se smatra značajnim proangiogenetskim faktorom u trudnoći, s obzirom da koordinira i reguliše međusobnu interakciju trofoblasta, endotelnih ćelija i imunih uNK ćelija. hCG reguliše lučenje IL-10 koji kao imunosupresivni citokin kontroliše i modulira citotoksičnu aktivnost uNK ćelija u proinflamatornom miljeu gravidnog uterusa, sprečavajući konverziju T regulatornih ćelija u proinflamatorne Th17 ćelije (284). U in vitro eksperimentima pokazano je da produkcija VEGF-C u uNK ćelijama pospešuje endovaskularne procese angiogeneze (285). Smatra se da je ovakva tolerantnost uNK ćelija na prisutni fetus, posledica direktnog delovanja hCG na uNK ćelije, čiju proliferaciju indukuju u gravidnom uterusu. U preeklampsiji pronađene su niže vrednosti T regulatornih ćelija, hCG i IL-10 kako u placenti tako i u cirkulaciji ukazujući na protektivnu ulogu ovih molekula u održavanju niskog stepena inflamacije i imunološke tolerancije na fetoplacentalnu jedinicu (286, 287). Iz tog razloga poremećaji u ekspresiji hCG mogu imati ulogu u razvoju brojnih komplikacija u trudnoći uključujući i hipertenzivna oboljenja. Smatra se da postoje najmanje četiri strukturno i funkcionalno različite forme hCG: hiperglikolizirani (HhCG), intaktni hCG, slobodna  $\beta$  subjedinica hCG i hipofizna hCG koji se proizvode u visokim koncentracijama tokom rane trudnoće i imaju značajnu ulogu u invaziji i rastu citotrofoblasta vezivanjem za receptore transformišućeg rasta  $\beta$  (TGF). Osobina svih formi hCG je da se putem dalje degradacije ili varijacijama u pripajanju oligosaharida omogućava promena hemijske strukture molekule tako da i biološka funkcija postaje izmenjena. Poremećaji u sekreciji free  $\beta$  hCG, modifikacija oligosaharidnih lanaca i formiranje alternativnih formi ovih molekula sa promenama njihove biološke funkcije i sledstvenog izostanka imunološke placentalne adaptacije smatraju se

odgovornim za nastanak preeklampsije. (288). Druge studije su ukazale na povišene vrednosti free  $\beta$ hCG u cirkulaciji preeklamptičnih trudnica. Smatra se da u preeklampsiji usled prisustva placentalne ishemije i hipoksije, dolazi do povećane produkcije slobodnih radikala i ćelijske nekroze, što aktivira kompenzatorne placentalne mehanizme u zameni oštećenog sinciotrofoblasta i povećanja citotrofoblastnog tkiva što rezultuje i višim nivoima free  $\beta$ hCG (289).

U daljem toku studije u grupi trudnica sa preeklampsijom uočavaju se značajno više vrednosti hsCRP: 5,3 (4,3-6,5) u odnosu na grupu sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom: 3,0 (1,9-3,9),  $p=0,03$ , i u odnosu na kontrolnu grupu trudnica: 2,35 (1,0-3,2),  $p = 0,00$  što je u skladu sa drugim istraživanjima (290, 291). Ovakve vrednosti mogu da ukažu da u prvoj grupi trudnica postoji veći stepen inflamacije nego u preostale dve grupe ispitanica. Smatra se da normalna trudnoća predstavlja stanje koje je praćeno niskim stepenom inflamatornog odgovora organizma majke na novonastale zahteve fetusa i placente. Inflamatorno stanje se najbolje očituje kroz lako ubrzanu sedimentaciju eritrocita, povećani ukupan broj leukocita (prvenstveno na račun neutrofila) i lako povišene reaktante akutne faze kao i povišene vrednosti brojnih proinflamatornih citokina, čijom modulacijom i kontrolom se sprečava preovladavanje izraženog inflamatornog odgovora koji može da ugrozi napredovanje trudnoće (292). Preterani inflamatorni odgovor, sa uplivom aktivacije leukocita, sistema komplementa, koagulacije i aktivacije endotelnih ćelija, smatra se važnim patofiziološkim mehanizmom u nastanku preeklampsije i drugim hipertenzivnim oboljenjima u trudnoći (293). U preeklampsiji pronađene su visoke koncentracije proinflamatornih citokina i hemokina kako u sistemskeoj cirkulaciji tako i placenti. Iako brojne studije pokazuju znatnu povezanost izraženog inflamatornog odgovora sa pojavom preeklampsije i zastoja u razvoju ploda, još uvek nije utvrđeno da li su inflamatorni procesi direktno odgovorni za

poremećaje u remodelovanju spiralnih arteriola, odnosno da li je inflamacija uzrok ili samo posledica placentalne hipoksije. Na značajnu povezanost inflamatornih procesa sa placentalnom angiogenezom ukazuju rezultati našeg istraživanja gde postoji značajna korelaciona povezanost umerenog stepena sFlt-1 i PlGF sa vrednostima hsCRP. Takođe u našem ispitivanju regresionom analizom je utvrđeno da je hsCRP jedan od parametara koji značajno i nezavisno doprinosi nivoima sFlt-1 i PlGF kod ispitivanih trudnica.

Smatra se da dnevno oko 150 000 sincicijalnih multinuklearnih fragmenata biva otpušteno iz placente u maternalnu cirkulaciju kao posledica normalnog ćelijskog ciklusa, u kome istrošene ćelije podležu procesima sličnim apoptozi (294). U preeklampsiji, postoje dve mogućnosti: da se broj multinuklearnih fragmenata značajno povećava kao posledica delovanja hipoksije, preterane inflamacije ili oksidativnog stresa, ili se radi o promeni programirane ćelijske smrti tako da se u sistemsku cirkulaciju otpušta veći broj nekrotičnih a ne apoptotičnih sincicijalnih fragmenata. Endotelne ćelije imaju sposobnost da fagocituju nekrotične trofoblastne ćelije što dovodi do njihove aktivacije. S obzirom da većina sincicijalnih fragmenata ostaje zarobljena u plućima (ne prelazi u sistemsku cirkulaciju), ovo može da dovede samo do aktivacije pulmonalnog endotela, a ne do njegove sistemske aktivacije. Iz tog razloga smatra se da jednom aktivisane endotelne ćelije u plućima, dovode do oslabljanja brojnih stimulatora koji na udaljenim mestima mogu da dovedu do naknadne aktivacije endotela sistemske cirkulacije. Ispitivanjem nekoliko desetina različitih citokina, potopljenih u medijum sa aktivisanim endotelnim ćelijama nakon fagocitoze nekrotičnih modifikovanih trofoblastnih ćelija, samo su IL-5, IL-6 i TNF- $\alpha$  imali sposobnost da dalje prošire aktivaciju endotelnih ćelija (295). In vitro je dokazano da aktivisani makrofazi putem sekrecije subapoptotičnih količina TNF-a imaju sposobnost da inhibišu trofoblastnu invaziju, pri čemu TNF direktno može inhibisati migraciju i pokretljivost trofoblasta. Pretpostavlja se da u normalnoj

trudnoći, sincicijalni fragmenti podležu u pulmonalnim kapilarima apoptotičnim procesima bez aktivacije citokina odnosno IL-6, dok u preeklampsiji ovi fragmenti su nekrotično izmenjeni, tako da prilikom fagocitoze dovode do aktivacije IL-6 koji ima sposobnost da proširi aktivaciju endotela na sistemsku cirkulaciju (114). Smatra se da samo hronično oštećenje placente, kao što je neadekvatna transformacija spiralnih arterija i placentalna hipoksija, može da dovede do produkcije dovoljnih količina sincicijalnih fragmenata i koje sledstveno dovode do kontinuirane produkcije znatnih količina IL-6 (296). S obzirom na to da je u ovoj studiji uočeno postojanje znatno viših vrednosti antiangiogenog proteina sFlt-1, hsCRP i nižih vrednosti protektivnih VEGF-A i PlGF molekula u grupi sa preeklampsijom, pretpostavka je da disbalans u procesima angiogeneze reflektuje stanje placentalne ishemije koje kao hronični okidač dovodi do prekomerne produkcije sincicijalnih fragmenata u cirkulaciju sa sledstvenim nastankom endotelne aktivacije i hronične inflamacije niskog stepena.

CRP je reaktant akutne faze koji se sintetise u jetri pod kontrolom mnogih citokina, ali najviše IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$  (116). Smatra se da ima važnu ulogu u procesima opsonizacije i fagocitoze apoptotičnih ćelija. U preeklampsiji u stimulaciji sinteze CRP-a, pored IL-6, sekretovanog iz aktivisanih endotelnih ćelija, smatra se da značajnu ulogu ima i visceralno masno tkivo, koje ili putem adipokina povećava sintezu CRP u jetri ili dovodi do povećane produkcije CRP-a u samim adipocitima (297). S obzirom na to da je u našoj studiji ITM veći u grupi trudnica sa preeklampsijom, pretpostavka je da masno tkivo igra bitnu ulogu u povećanju vrednosti CRP i pre trudnoće, pri čemu ovaj protein pored inflamacije niskog stepena složenim mehanizmima može da dovede i do aktivacije endotela pre trudnoće. Pretpostavka je da se u prvoj grupi trudnica, endotelna aktivacija i inflamacija podižu na još viši stepen u trudnoći usled dodatnog otpuštanja medijatora iz ishemične placente. Prilikom podele svih trudnica uključenih u istraživanje, prema



stepenu uhranjenosti, vrednosti hsCRP su bile više u grupi sa gojaznošću 5,0 (4,3-6,7) nego kod normalno uhranjenih trudnica: 2,0 (0,3-3,7),  $p=0,00$ , što dodatno potvrđuje ulogu masnog tkiva u stvaranju inflamatornog miljea u trudnoći, nezavisno od prisustva hipertenzivnih komplikacija u trudnoći. Smatra se da CRP ne predstavlja samo marker prisustva inflamacije, odnosno ne učestvuje samo u aktivaciji komplementa i opsonizaciji nekrotičnog tkiva, već aktivno učestvuje u nastanku inflamatorne vaskulopatije (298). CRP ispoljava aterogene efekte na vaskularnom endotelu i glatkim mišićnim ćelijama i dovodi do endotelne disfunkcije. Ima sposobnost da indukuje ekspresiju endotelnih adhezivnih proteina ICAM-1, VCAM-1, E-selektina, P-selektina, angiotenzin tip 1 receptora, IL-6, PAI-1, TNF- $\alpha$  endotelina-1, kao i da inhibiše aktivnost endotelne NOS i vazodilatatornu ulogu NO, što sve predstavlja osnovne mehanizme razvoja endotelne disfunkcije. Smatra se da čak i bez prisustva tkivnog oštećenja, CRP ima sposobnost da samostalno povećava vaskularnu inflamaciju (115). Usled gubitka sposobnosti endotela i glatkih mišićnih ćelija za produkcijom NO, uz produkciju vazokonstriktornih endotelina-1 i angiotenzina II, dolazi do preovladavanja vaskularne vazokonstrukcije koja rezultuje sa hipertenzijom. Adipociti visceralnog masnog tkiva poseduju osobine slične makrofazima koji ih okružuju, tako što reaguju na infektivne stimulse i citokinske inflamatorne signale (267). Na svojim površinama poseduju brojne receptore čijom aktivacijom omogućavaju prenošenje inflamatornih signala i indukciju sinteze brojnih citokina i proteina akutne faze (TNF- $\alpha$ , PAI-1, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, leptin, adiponektin, CRP, faktor inhibicije leukemija, prostaglandin E<sub>2</sub>, rezistin o i dr) (299). S obzirom na to da su u grupi trudnica sa preeklampsijom izmerene povišene vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, više vrednosti hsCRP, viši ITM, može se pretpostaviti da prethodno maternalno opterećenje sa inflamacijom niskog stepena i endotelnom aktivacijom uz prisustvo znakova placentalnog angiogenog disbalansa već u prvom trimestru trudnoće, predstavlja patofiziološku

podlogu razvoja multisistemskih poremećaja nakon 20. nedelje gestacije. Rezultati naše studije, u kojoj je uočena značajna korelacija umerenog stepena hsCRP sa gestacijskom nedeljom u trenutku porođaja, dužinom i težinom bebe (tabela 40), ukazuju da inflamatorni procesi pored toga što su povezani sa nastankom hipertenzivnih oboljenja u trudnoći, pokazuju povezanost i sa neonatalnim ishodom. Guven et al.2009 su proučavanjem hsCRP u svim trimestrima trudnoće našli da vrednosti hsCRP u prvom trimestru najbolje korelišu sa težinom preeklampsije i telesnom težinom bebe na rođenju (291).

Podelom svih ispitanica koje su učestvovala u istraživanju prema ITM: prva grupa:  $< 25$  kg/m<sup>2</sup>, druga grupa: 25-29,9 kg/m<sup>2</sup>, treća grupa:  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> uočavaju se značajno više vrednosti sFlt-1: 1820,5 (1250-2100) i niže vrednosti PlGF: 20,3 (10,3-36,7) u grupi sa gojaznošću u odnosu na prekomerno uhranjene 850 (610-1150,5); 56,5 (38-78,2) i normalno uhranjene trudnice 715 (550-980); 64,4 (43,7-92,1), p = 0,00. Takođe su vrednosti VEGF niže kod gojaznih: 49,5 (33,5-145,0) u odnosu na normalno uhranjene trudnice: 100,4 (67-156,2), p = 0,054. Ovakvi rezultati su u skladu sa brojnim drugim istraživanjima (225, 228, 300). Angiogeneza je pored uloge u reproduktivnim funkcijama organizma esencijalna i u procesima rasta, razvoja i reparacije tkiva (301). Masno tkivo se po svojim osobinama značajno razlikuje u odnosu na sva ostala tkiva, s obzirom da poseduje veliku funkcionalnu plastičnost, odnosno ima sposobnost da se uvećava i smanjuje što sve zavisi od trenutnih potreba organizma i navika u ishrani. Istraživanja pokazuju da je gojaznost tesno povezana sa procesima angiogeneze i adipogeneze (302). S obzirom da je masno tkivo izuzetno dobro vaskularizovano (nekoliko kapilara okružuje svaki adipocit), smatra se da su procesi angiogeneze odgovorni za rast i remodelovanje krvnih sudova masnog tkiva. Takođe masno tkivo je važan endokrini organ koji ima sposobnost lučenja brojnih citokina i faktora rasta, među kojima su za procese angiogeneze bitni VEGF, IL-6 i TNF- $\alpha$ . Između lokalnih

endotelnih ćelija i adipocita postoji tesna saradnja, putem produkcije citokina i faktora rasta. Ovakvom međusobnom signalizacijom omogućena je kontrola rasta i remodelovanja krvnih sudova u masnom tkivu. U masnom tkivu je takođe detektovano prisustvo sFlt-1, pri čemu ispitivanjem njegove uloge u angiogenezi, dobijeni su suprotni podaci u odnosu na njegovu ulogu vezanu za razvoj placente i uticaj na endotelne ćelije u drugim tkivima (303). U masnom tkivu, sFlt-1 negativno korelira sa ITM, tako da normalno uhranjeni ispitanici bez insulinske rezistencije imaju više vrednosti sFlt-1. Povećanje masnog tkiva u gojznosti posledica je adipocitne hipertrofije i hiperplazije, što zahteva intenzivne procese angiogeneze. Ovakvi podaci ukazuju da sFlt-1, inhibicijom angiogeneze i sprečavanjem rasta masnog tkiva, smanjuje rizik od pojave gojznosti (304). Hipoksija i angiotenzin II u endotelnim ćelijama i trofoblastu izaziva povećano lučenje sFlt-1, dok u masnom tkivu nemaju nikakav uticaj. Takođe, TNF- $\alpha$  kao važan proinflamatorni citokin čije su vrednosti povišene u gojznosti, u masnom tkivu snižava koncentraciju izlučenog sFlt-1 u zrelim adipocitima. U in vitro uslovima inhibicija TNF- $\alpha$  dovodi do smanjenja insulinske rezistencije. Najnovije studije ukazuju da glavni izvor lučenja sFlt-1 u masnom tkivu ne predstavljaju zreli adipociti već stromalne vaskularne ćelije (305). Sa druge strane, rezultati brojnih studija ukazuju da su vrednosti antiangiogenog markera sFlt-1 više, dok su vrednosti VEGF i PlGF niže kod gojznih trudnica koje su razvile preeklampsiju u odnosu na normalno uhranjene trudnice sa istim ishodom trudnoće, što je u saglasnosti i sa rezultatima našeg istraživanja. Takođe u našoj studiji postoji značajna pozitivna korelacija sFlt-1 i negativna korelacija PlGF umerenog stepena sa vrednostima ITM svih trudnica koje su učestvovala u istraživanju (tabela 24,28). Regresionom analizom smo pokazali da ITM statistički značajno i nezavisno doprinosi nivou PlGF kod ispitivanih trudnica. S obzirom na to da brojne studije u preeklampsiji ukazuju na promene u nivoima adipocitnih hormona: niže vrednosti adiponektina i

više vrednosti leptina nego u normotenzivnim trudnoćama, pretpostavlja se da veća placentalna produkcija leptina u uslovima hipoksije, kroz povećanje insulinske rezistencije i direktne stimulacije endotelnih ćelija učestvuje u nastanku preeklampsije (306). Sa druge strane nedostatak adiponektina dovodi do gubitka endotelne funkcije vazodilatacije i sledstvene pojave hipertenzije (307). Na tesnu povezanost adipokina i poremećaja u placentalnoj angiogenezi u preeklampsiji ukazuju studije gde je pronađeno da prekomerna placentalna produkcija sFlt-1 predstavlja okidač povećanog lučenja leptina direktno iz placente, dok na adiponektin nema direktni efekat jer se luči prevashodno iz masnog tkiva (308). Byers et al.2009 u eksperimentima na miševima su pronašli da stepen gojaznosti pre preeklampsične trudnoće pokazuje visoku korelaciju sa nivoima sFlt-1 kroz čitavu trudnoću i takođe utiče na vaskularne funkcije (vazodilatatorna svojstva endotela) novorođenčeta iz takvih trudnoća (309).

U našoj studiji uočene su više vrednosti triglicerida u grupi sa preeklampsijom i gestacijskom i hroničnom hipertenzijom ( $1,34 \pm 0,54$ ,  $1,42 \pm 0,24$ ) u odnosu na kontrolnu grupu trudnica ( $1,05 \pm 0,31$ ),  $p = 0,03$ ;  $p = 0,09$ , kao i niže vrednosti HDL holesterola u grupi sa preeklampsijom ( $1,35 \pm 0,43$ ) u odnosu na kontrolnu grupu ( $1,65 \pm 0,63$ ),  $p = 0,02$ . Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa drugim istraživanjima koji ukazuju na više vrednosti triglicerida i niže vrednosti HDL holesterola u prvom, drugom i trećem trimestru preeklampsičnih u odnosu na normotenzivne trudnice (310-312). U prethodnim studijama takođe su detektovane više vrednosti triglicerida ali i LDL holesterola kod većine trudnica sa gestacijskom i hroničnom hipertenzijom u odnosu na normotenzivne trudnice između 11-14., 20-28. i 30-33. nedelje gestacije (313). Tokom trudnoće, vrednosti lipida (triglicerida i holesterola) su normalno više nego pre trudnoće zbog potreba snabdevanja fetusa. Međutim u preeklampsiji je pokazano da dolazi do izraženih poremećaja u metabolizmu lipida koji su slični u procesima ateroskleroze (hipertrigliceridemija i predominacija

LDL holesterola). Smatra se da su promene u lipidskom statusu povezane sa nastankom oksidativnog stresa i endotelne disfunkcije u preeklampsiji. Pokazano je da hipertrigliceridemija može samostalno bez prisustva gojaznosti da dovede do endotelne disfunkcije (314). Iako prekomerna akumulacija visceralnog masnog tkiva ima sposobnost produkcije brojnih prethodno navedenih adipocitokina, u gojaznosti ali i preeklampsiji dolazi do sniženja produkcije adiponektina sa smanjenjem insulinske senzitivnosti i povećanjem inflamatornog odgovora endotelnih ćelija (315). Sa druge strane, visceralno masno tkivo ima visoku lipolitičku sposobnost tako da se velika količina slobodnih masnih kiselina direktno drenira u jetru što dovodi do povećane produkcije lipoproteina bogatih trigliceridima. Takođe slobodne masne kiseline i TNF- $\alpha$  visceralnog masnog tkiva putem stimulacije vazokonstriktornih supstanci (endotelina-1) kao i putem produkcije toksičnih radikala kiseonika oštećuju eNOS i smanjuju produkciju NO, što dovodi do gubitka endotel zavisne vazodilatacije, smanjenja insulinske senzitivnosti i povećanja krvnog pritiska (316). Visoke koncentracije triglicerida pored toga što se talože u maternalnom endotelu i dovode do smanjene produkcije prostaklicina, takođe mogu da se talože i u spiralnim arteriolama decidue, gde putem produkcije malih LDL partikula dovode do endotelne disfunkcije (317). Ovakvi podaci su u saglasnosti sa rezultatima našeg istraživanja gde se uočava prisustvo značajne povezanosti proteina angiogeneze sFlt-1 i PlGF umerenog stepena sa vrednostima triglicerida i HDL holesterola (tabela 26,30), što potvrđuje uticaj vrednosti ovih lipidskih parametara na procese angiogeneze. U našoj studiji nisu uočene statistički značajne razlike u vrednostima ostalih lipoproteinskih čestica u prvom trimestru trudnoće, iako neke prethodne studije ukazuju da su koncentracije VLDL i LDL čestica značajno više u preeklamptičnih nego normotenzivnih trudnica (318). Smatra se da prekomerna produkcija VLDL čestica u preeklampsiji dovodi do sekvencijalnih promena u količini aterogenih remnantnih lipoproteinskih

partikula, tako da se povećava količina LDL čestica koje su manjeg dijametra ali više podložne oksidaciji (319).

U našoj studiji vrednosti mokraćne kiseline su značajno više u grupi sa preeklampsijom ( $194,89 \pm 42,02$ ) u odnosu na grupu sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom ( $106,02 \pm 31,97$ ),  $p = 0,00$ , što je u skladu sa brojnim istraživanjima (320-326). Više vrednosti mokraćne kiseline u grupi sa preeklampsijom mogu se delimično objasniti time da u preeklampsiji usled aktivacije maternalnog vaskularnog endotela i prisustva oksidativnog stresa, dolazi do povećane produkcije reaktivnih kiseoničnih radikala što dovodi do kompenzatornog povećanog lučenja mokraćne kiseline koji u ulozi čistača slobodnih radikala kiseonika ograničava oksidativni stres (327). Međutim prema rezultatima prethodnih studija, ovako povišene vrednosti mokraćne kiseline ne moraju biti samo marker bolesti odnosno posledica patofizioloških promena u preeklampsiji, već da mokraćna kiselina direktno učestvuje u inicijaciji reakcije maternalnog endotela na promene u placenti. Smatra se da povećana produkcija mokraćne kiseline dovodi do endotelne disfunkcije putem inhibicije aktivnosti NOS i aktivacije cirkulišućih trombocita. Takođe studije pokazuju da mokraćna kiselina izlučena u prevelikim količinama dodatno može pogoršati već postojeću endotelnu disfunkciju (328). Prekomernim lučenjem, mokraćna kiselina u preeklampsiji dobija proinflamatorne karakteristike, tako što u formi mikroprecipitata kristala stimuliše makrofage na produkciju IL-6 i TNF- $\alpha$  i direktno stimuliše proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih ćelija. Takođe se smatra da hiperurikemija učestvuje u razvoju preeklampsije u sklopu metaboličkog sindroma što je u skladu sa rezultatima našeg istraživanja gde pored viših vrednosti mokraćne kiseline u grupi sa preeklampsijom postoje i više vrednosti ITM, sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska kao i više vrednosti hsCRP i triglicerida u odnosu na ostale ispitivane grupe. Iako u našoj studiji nije uočeno postojanje značajne povezanosti između nivoa angiogenih, antiangiogenih

proteina i vrednosti mokraćne kiseline (tabele 25 i 28), smatra se da povećana količina mokraćne kiseline tokom ranog razvoja placente može da ošteti trofoblastnu invaziju spiralnih arteriola, preko smanjenja produkcije NO u endotelnim ćelijama, što dovodi do redukcije placentalne perfuzije, oksidativnog stresa i ishemijskog oštećenja placente (329). Takve promene mogu da se odigravaju i na maternalnom vaskularnom endotelu, dovodeći do njegove disfunkcije i vazospazma, koji stimuliše još veću produkciju mokraćne kiseline što pojačava placentalnu i maternalnu vaskularnu disfunkciju. Međutim povišene vrednosti ovog markera nađene su i kod drugih hipertenzivnih oboljenja u trudnoći, ali i drugih komplikacija kod majke i ploda (prevremena ruptura plodovih ovojaka, prevremeni porođaj, spontani pobačaji) (330). Vrednosti mokraćne kiseline su u većini studija povišene iznad graničnih vrednosti u trenutku razvoja kliničke slike preeklampsije, i koreliraju sa rizikom od maternalnih i fetalnih komplikacija što je u skladu i sa rezultatima našeg istraživanja gde se uočava postojanje značajne korelacije ali niskog intenziteta mokraćne kiseline sa gestacijskom nedeljom u trenutku porođaja (331). Pored mokraćne kiseline, novija istraživanja ukazuju da njegovi metaboliti alantoin i triuret, takođe učestvuju u patogenezi preeklampsije, iako su enzimatski kapaciteti za produkciju ovih metabolita izrazito niski kod ljudi (332).

U našoj studiji u grupi trudnica sa preeklampsijom, uočava se da postoje značajne razlike u vrednostima sFlt-1 i PlGF u odnosu na nedelju gestacije kada je preeklampsija prvi put dijagnostikovana. Vrednosti sFlt-1 su više u ranoj: 1965 (1730-2120) nego u kasnoj preeklampsiji: 1330 (980-1580),  $p = 0,00$ , dok su vrednosti PlGF: 12,2 (10,3-14,3) niže u ranoj nego kasnoj preeklampsiji: 39,9 (25,5-51,5),  $p = 0,00$ . Između vrednosti VEGF nisu uočene značajne razlike  $p = 0,59$ . Ovakvi rezultati su u skladu sa drugim istraživanjima gde je uočeno da preeklampsija koja se razvije pre 34. nedelje gestacije ima teži oblik placentaln disfunkcije teži klinički tok i

praćena je sa većim brojem komplikacija kod majke i ploda (333). Intrauterini zastoj u razvoju ploda je prevashodno karakteristika rane preeklampsije, dok je dopler ispitivanjem uterine arterije u drugom trimestru trudnoće, uočena značajno veća redukcija protoka cirkulacije i placentalne hipoperfuzije nego u kasnoj preeklampsiji (264, 334). U našoj studiji više koncentracije sFlt-1 i PlGF već u prvom trimestru trudnica sa ranom preeklampsijom mogu da ukažu da je angiogeni disbalans u ranoj preeklampsiji izraženiji nego u kasnoj, odnosno da postoji veći stepen placentalne hipoksije sa većim efektom antiangiogenih proteina na maternalni endotel, što sve može dovesti do ranijeg ispoljavanja kliničke slike bolesti sa težim posledicama po majku i plod .

Poređenjem koncentracija proteina angiogeneze u grupi trudnica sa preeklampsijom, uočava se da su vrednosti sFlt-1 više kod porođaja nakon 37. nedelje gestacije: 1820,5 (1450,5-2100),  $p = 0,00$ , u odnosu na porođaje između 33.-37. nedelje gestacije: 1345 (1305-1520) i porođaja pre 34. nedelje gestacije: 940,25 (845,5-990),  $p = 0,00$ . Takođe su vrednosti sFlt-1 više u grupi sa porođajnom težinom preko 3300 gr (1962,5 (1800-2150)) i 2800-3300 gr (1915 (1450-1990,5)), nego u grupi sa težinom ispod 1500 gr (900,5 (845,5-990),  $p = 0,00$ ). Vrednosti PlGF su niže u grupi pre 34. nedelje porođaja: (16,47±9,26) u odnosu na grupu 33.-37. nedelje gestacije (27,37±10,59) i grupu porođaja posle 37. nedelje gestacije (47,56 ±16,56,  $p = 0,00$ ). U grupi sa porođajnom težinom ispod 1500 gr. vrednosti PlGF su niže (14,6 (8,9-20,6)) nego u grupi sa težinom između 2500-2800 gr. (44,95 (36,75-50,15)) i grupi 2800-3300 gr. (60 (31,7-70,3),  $p=0,00$ ). Rezultati našeg istraživanja ukazuju da su više vrednosti antiangiogenog proteina sFlt-1 udružene sa većim rizikom od pojave preeklampsije i gestacijske hipertenzije, kao i sa većim rizikom od pojave rane preeklampsije. Međutim, kada su u pitanju parametri novorođenčeta i gestacijske nedelje u trenutku porođaja, dobijeni su paradoksalni rezultati, tako da su više vrednosti sFlt-1 udružene sa boljim ishodom trudnoće: kasnijim porođajem i većom telesnom težinom



novorođenčeta. Takođe se uočava postojanje značajne pozitivne korelacije umerenog stepena između sFlt-1 i svih parametara novorođenčeta i gestacijske nedelje u trenutku porođaja, sa najznačajnijim korelacijama sa gestacijskom nedeljom porođaja i težinom novorođenčeta (0,57, 0,57). Ovakvi rezultati potencijalno ukazuju da povišene vrednosti sFlt-1 u ranoj trudnoći mogu da imaju protektivnu ulogu u rastu i razvoju fetusa, odnosno da povećavajući otpor u maternalnim krvnim sudovima, obezbeđuju dovoljan dotok nutritijenata u ishemičnu i hipoperfundovanu placentu, čime se šanse za normalan ishod trudnoće značajno povećavaju. Ovakvi rezultati su u skladu sa drugim istraživanjima gde je uočeno da su visoke vrednosti sFlt-1 u ranoj trudnoći preeklampsičnih trudnica udružene i sa manjom učestalošću neonatalnog mortaliteta i komplikacija kod novorođenčeta, što potvrđuje ulogu sFlt-1 da kao fiziološki signal već u prvih nekoliko nedelja trudnoće obezbedi optimalnu fetoplacentalnu perfuziju. Ovakvi podaci daju naznake da bi terapijska primena VEGF ili drugih inhibitora sFlt-1 u ranoj trudnoći mogla da ima loš uticaj na ishod novorođenčeta i majke u preeklampsiji (235, 335-337).

### 5.3 Laboratorijski parametri prvog trimestra u predviđanju preeklampsije

U cilju predviđanja preeklampsije na osnovu laboratorijskih parametara u prvom trimestru trudnoće, određivane su cut-off vrednosti za maksimalnu senzitivnost i specifičnost laboratorijskih parametara koji su pokazali statistički značajnu razliku u grupi sa preeklampsijom u odnosu na preostale grupe ispitanica. Cut-off vrednost za sFlt-1 viša od 865 pg/mL pokazuje senzitivnost od 93% i specifičnost od 81,5%, dok cut-off vrednost za PIGF  $\leq 60,0$  pg/mL pokazuje senzitivnost od 88,4% i specifičnost od 79,6 % u predviđanju razvoja preeklampsije, dok cut off vrednosti preostalih ispitivanih parametara (PAPP-A,  $\beta$ hCG, hsCRP i mokraćne kiseline) imaju manju senzitivnost i specifičnost u predviđanju preeklampsije (tabele 39 i 40).

U cilju ocene diskriminativne sposobnosti ispitivanih laboratorijskih parametara u postavljanju dijagnoze preeklampsije, konstruisane su ROC krive i izračunate AUC za one parametre čije su vrednosti bile statistički značajno različite u grupi sa preeklampsijom u odnosu na preostale dve grupe ispitanica. Dobijeni rezultati ukazuju da vrednosti proteina angiogeneze sFlt-1, PlGF i VEGF-A imaju statistički značajnu i visoku diskriminativnu sposobnost u poređenju grupe trudnica sa preeklampsijom u odnosu na zdrave trudnice i trudnice sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom, pri čemu sFlt-1 (površina ispod ROC krive-AUC:0,912) i PlGF (površina ispod ROC krive-AUC:0,893) imaju bolju diskriminativnu sposobnost u odnosu na VEGF-A (površina ispod ROC krive-AUC: 0,745). Ovakvi rezultati ukazuju da sFlt-1 i PlGF mogu da predstavljaju potencijalne rane dijagnostičke markere preeklampsije. Vrednosti placentalnog proteina free  $\beta$ hCG pokazuje statistički značajnu ali manju diskriminativnu sposobnost (površina ispod ROC krive-AUC:0,794) u odnosu na sFlt-1 i PlGF, odnosno bliža je vrednosti VEGF-A, dok vrednost PAPP-A ima značajnu, ali manju diskriminativnu sposobnost u odnosu na  $\beta$ hCG, u poređenju grupe sa preeklampsijom u odnosu na grupu zdravih trudnica i trudnica sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom ( $p=0,056$ , površina ispod ROC krive-AUC:0,637). Vrednosti hsCRP (površina ispod ROC krive-AUC:0,778) i mokraćne kiseline (površina ispod ROC krive-AUC:0,726) imaju statistički značajnu, ali malu diskriminativnu sposobnost u poređenju grupe sa preeklampsijom i preostale dve grupe ispitanica. Ovakvi rezultati ukazuju da su proteini angiogeneze sFlt-1 i PlGF bolji pokazatelji u predviđanju preeklampsije u odnosu na preostale laboratorijske parametre što je u saglasnosti sa drugim istraživanjima. Rezultati drugih studija ukazuju da PlGF ima bolju sposobnost predikcije preeklampsije u prvom trimestru trudnoće u odnosu na sFlt-1, dok druge studije ukazuju da sFlt-1 ima bolju sposobnost

predikcije preeklampsije u odnosu na PlGF i VEGF nakon 27. nedelje gestacije (177, 181, 338-342).

## 6 ZAKLJUČCI:

1. Serumske koncentracije antiangiogenog proteina sFlt-1 se značajno razlikuju između sve tri posmatrane grupe trudnica, tako da su najviše vrednosti uočene u grupi trudnica sa preeklampsijom u odnosu na grupu sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom i grupu trudnica bez hipertenzivnih poremećaja trudnoći.
2. Serumske koncentracije proangiogenog proteina VEGF-A su značajno niže u grupi trudnica sa preeklampsijom i hroničnom i gestacijskom hipertenzijom u odnosu na grupu trudnica bez hipertenzivnih poremećaja u trudnoći.
3. Serumske koncentracije proangiogenog proteina PlGF se značajno razlikuju između sve tri posmatrane grupe trudnica, tako da su najniže vrednosti uočene u grupi trudnica sa preeklampsijom u odnosu na grupu sa hroničnom i gestacijskom hipertenzijom i grupu trudnica bez hipertenzivnih poremećaja trudnoći.
4. Serumske koncentracije placentalnog proteina freeβhCG i HDL holesterola su značajno niže, dok su vrednosti hsCRP i triglicerida značajno više u grupi trudnica sa preeklampsijom u odnosu na grupu bez hipertenzivnih poremećaja u trudnoći.
5. Između trudnica sa hipertenzivnim poremećajima u trudnoći i zdravih trudnica nije uočeno postojanje značajne razlike u vrednostima placentalnog proteina PAPP-A, biohemijskih parametara (glukoze, AST, ALT, GGT, kreatinina, ureje, mokraćne kiseline), lipidskih parametara (uk. holesterol, LDL, apo A-I, apo-B), parametara inflamatornog (KKS, fibrinogen), hemostaznog (D-dimer, vWF-antigen) i elektrolitskog statusa (Na, K, Cl, P, Mg).

6. Serumske koncentracije sFlt-1 i PlGF se značajno razlikuju u odnosu na gestacijsku starost na porođaju i telesnu masu novorođenčeta i niže su kod trudnica koje su se prevremeno porodile kao i kod novorođenčeta sa manjom porođajnom težinom.
7. Serumske koncentracije sFlt-1 se značajno razlikuju u odnosu na telesnu dužinu i APGAR skor novorođenčeta, tako da su više vrednosti sFlt-1 udružene sa većom telesnom dužinom novorođenčeta i boljim APGAR skorom.
8. Serumske koncentracije sFlt-1, VEGF-A i PlGF se ne razlikuju značajno u odnosu na godine života trudnice i broja prethodnih trudnoća
9. Serumske koncentracije sFlt-1u prvom trimestru trudnoće su značajno povezane sa parametrima inflamacije (hsCRP), vrednostima dijastolnog krvnog pritiska i nivoima free  $\beta$ hCG.
10. Uočava se značajna povezanost koncentracije PlGF sa indeksom telesne mase, vrednostima sistolnog krvnog pritiska i koncentracijom hsCRP-a
11. Značajno više vrednosti sFlt-1 i niže vrednosti PlGF u prvom trimestru trudnoće kod trudnica sa ranom preeklampsijom u odnosu na trudnice kod kojih je preeklampsija dijagnostikovana nakon 34. nedelje gestacije mogu da ukažu na veći stepen angiogenog disbalansa i oštećenja funkcije placente u ranoj preeklampsiji
12. Značajna povezanost serumskih koncentracija sFlt-1 sa nepovoljnim ishodom prethodnih trudnoća (spontani pobačaji, missed abortusi, prevremeni porođaji, zastoj u razvoju ploda) kao i prisustvom preeklampsije u porodici i prethodnim trudnoćama ukazuje na značajan uticaj genetskih i imunoloških mehanizama na pojavu poremećaja placentalne angiogeneze i placentalne disfunkcije već u ranoj trudnoći

13. Nivoi proteina angiogeneze sFlt-1 i PlGF u prvom trimestru trudnoće predstavljaju dobre prediktore u predviđanju nastanka preeklampsije
14. Uključivanjem serumskih proteina angiogeneze (sFlt-1 i PlGF) u rani dijagnostički skrining visoko rizičnih trudnica za pojavu hipertenzivnih oboljenja u trudnoći omogućila bi se bolja stratifikacija rizika za pojavu ovih oboljenja kao i primena mera rane prevencije i terapije u cilju sprečavanja nastanka oboljenja, ublažavanja težine kliničke slike kod ispoljenog oboljenja i smanjenja broja komplikacija kod majke i ploda
15. Značajno više vrednosti sFlt-1 u grupi trudnica sa preeklampsijom koje su imale bolji ishod trudnoće (sa porođajem posle 37. nedelje gestacije kao i novorođenčadi sa većom porođajnom težinom preko 2800 gr.), mogu da ukažu visoke vrednosti sFlt-1 u ranom prvom trimestru trudnoće mogu da imaju protektivnu ulogu na rast i razvoj fetusa, odnosno da bi primena inhibitora sFlt-1 u prvom trimestru mogla imati loš uticaj na ishod trudnoće.

## LITERATURA:

1. Chesley LC. A short history of eclampsia. *Obstet Gynecol.* 1974;43(4):599-602.
2. Chesley LC. History and epidemiology of preeclampsia-eclampsia. *Clin Obstet Gynecol.* 1984;27(4):801-20.
3. Al-Jameil N, Khan FA, Khan MF, Tabassum H. A brief overview of preeclampsia. *J Clin Med Res.* 2013;6(1):1-7.
4. Roberts JM, Bell MJ. If we know so much about preeclampsia, why haven't we cured the disease? *J Reprod Immunol.* 2013;99(1):1-9.
5. Davey DA, MacGillivray I. The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1988;158(4):892-8.
6. Cosgrove S, CHESLEY LC. The clinical management of the late toxemias of pregnancy. *Obstet Gynecol Surv.* 1948;3(5):769.
7. Bell MJ. A historical overview of preeclampsia-eclampsia. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.* 2010;39(5):510-8.
8. Eastman N, Bell E, Dieckmann W, Kellogg F, Mussey R, Chesley L, et al. Definition and classification of toxemias brought up-to-date. American Committee on Maternal Welfare, Chicago. 1952.
9. Levine R, Ewell M, Hauth J, Curet L, Catalano P, Morris C, et al. Should the definition of preeclampsia include a rise in diastolic blood pressure of  $\geq 15$  mm Hg to a level  $< 90$  mm Hg in association with proteinuria? *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(4):787-92.
10. Obstetricians ACo, Gynecologists. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *ACOG practice bulletin.* 2002;33:159-67.
11. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Assche AV, Moutquin J-M. 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.
12. Program NHBPE. Report of the national high blood pressure education program working group on high blood pressure in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(1):s1-s22.

13. Gillon TE, Pels A, von Dadelszen P, MacDonell K, Magee LA. Hypertensive disorders of pregnancy: a systematic review of international clinical practice guidelines. *PloS one*. 2014;9(12):e113715.
14. Tranquilli A, Dekker G, Magee L, Roberts J, Sibai B, Steyn W, et al. The classification, diagnosis and management of the hypertensive disorders of pregnancy: a revised statement from the ISSHP. *Pregnancy Hypertens*. 2014;4(2):97-104.
15. Tranquilli AL, Brown MA, Zeeman GG, Dekker G, Sibai BM. The definition of severe and early-onset preeclampsia. Statements from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Pregnancy Hypertens*. 2013;3(1):44-7.
16. Sibai BM. Hypertensive disorders of pregnancy: the United States perspective. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2008;20(2):102-6.
17. Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph K. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Clin Obstet Gynecol*. 2011;25(4):391-403.
18. Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gülmezoglu AM, Van Look PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet*. 2006;367(9516):1066-74.
19. Wallis AB, Saftlas AF, Hsia J, Atrash HK. Secular trends in the rates of preeclampsia, eclampsia, and gestational hypertension, United States, 1987-2004. *Am J Hypertens*. 2008;21(5):521-6.
20. Ronsmans C, Graham WJ, group LMSSs. Maternal mortality: who, when, where, and why. *Lancet*. 2006;368(9542):1189-200.
21. Say L, Chou D, Gemmill A, Tunçalp Ö, Moller A-B, Daniels J, et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *Lancet*. 2014;2(6):e323-e33.
22. Campbell OM, Graham WJ, group LMSSs. Strategies for reducing maternal mortality: getting on with what works. *Lancet*. 2006;368(9543):1284-99.
23. Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Requejo JH, et al. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ*. 2010;88(1):31-8.
24. Savitz DA, Danilack VA, Engel SM, Elston B, Lipkind HS. Descriptive epidemiology of chronic hypertension, gestational hypertension, and preeclampsia in New York state, 1995–2004. *Matern Child Health J*. 2014;18(4):829-38.



25. Ghulmiyyah L, Sibai B, editors. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. Semin Perinatol; 2012: Elsevier.
26. Lydon-Rochelle MT, Holt VL, Cárdenas V, Nelson JC, Easterling TR, Gardella C, et al. The reporting of pre-existing maternal medical conditions and complications of pregnancy on birth certificates and in hospital discharge data. Am J Obstet Gynecol. 2005;193(1):125-34.
27. Klemmensen ÅK, Olsen SF, Wengel CM, Tabor A. Diagnostic criteria and reporting procedures for pre-eclampsia: a national survey among obstetrical departments in Denmark. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2005;123(1):41-5.
28. Lo JO, Mission JF, Caughey AB. Hypertensive disease of pregnancy and maternal mortality. Curr Opin Obstet Gynecol. 2013;25(2):124-32.
29. Tam WH, Sahota DS, Lau TK, Li CY, Fung TY. Seasonal variation in pre-eclamptic rate and its association with the ambient temperature and humidity in early pregnancy. Gynecol Obstet Invest. 2008;66(1):22-6.
30. Kaaja R, Kinnunen T, Luoto R. Regional differences in the prevalence of pre-eclampsia in relation to the risk factors for coronary artery disease in women in Finland. Eur Heart J. 2005;26(1):44-50.
31. Phillips JK, Bernstein IM, Mongeon JA, Badger GJ. Seasonal variation in preeclampsia based on timing of conception. Obstet Gynecol. 2004;104(5, Part 1):1015-20.
32. Thornton C, Dahlen H, Korda A, Hennessy A. The incidence of preeclampsia and eclampsia and associated maternal mortality in Australia from population-linked datasets: 2000-2008. Am J Obstet Gynecol. 2013;208(6):476. e1-. e5.
33. Lecarpentier E, Tsatsaris V, Goffinet F, Cabrol D, Sibai B, Haddad B. Risk factors of superimposed preeclampsia in women with essential chronic hypertension treated before pregnancy. Plos one. 2013;8(5):e62140.
34. Zwart JJ, Richters A, Öry F, de Vries JI, Bloemenkamp KW, van Roosmalen J. Eclampsia in the Netherlands. Obstet Gynecol. 2008;112(4):820-7.
35. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller A-B, Narwal R, et al. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. Lancet. 2012;379(9832):2162-72.
36. Blencowe H, Cousens S, Chou D, Oestergaard M, Say L, Moller A-B, et al. Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births. Reprod Health. 2013;10(Suppl 1):S2.

37. Roberge S, Villa P, Nicolaides K, Giguère Y, Vainio M, Bakthi A, et al. Early administration of low-dose aspirin for the prevention of preterm and term preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Fetal Diagn Ther.* 2012;31(3):141-6.
38. Tikkanen M. Placental abruption: epidemiology, risk factors and consequences. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2011;90(2):140-9.
39. Matsuda Y, Hayashi K, Shiozaki A, Kawamichi Y, Satoh S, Saito S. Comparison of risk factors for placental abruption and placenta previa: Case-cohort study. *J Obstet Gynaecol Res.* 2011;37(6):538-46.
40. Ananth CV, Basso O. Impact of pregnancy-induced hypertension on stillbirth and neonatal mortality in first and higher order births: a population-based study. *Epidemiology (Cambridge, Mass).* 2010;21(1):118.
41. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ.* 2005;330(7491):565.
42. Steegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2010;376(9741):631-44.
43. Naljayan MV, Karumanchi SA. New developments in the pathogenesis of preeclampsia. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2013;20(3):265-70.
44. Stuart JJ, Bairey Merz CN, Berga SL, Miller VM, Ouyang P, Shufelt CL, et al. Maternal recall of hypertensive disorders in pregnancy: a systematic review. *J Womens Health.* 2013;22(1):37-47.
45. George EM, Granger JP. Recent insights into the pathophysiology of preeclampsia. *Expert Rev Obstet Gynecol.* 2010;5(5):557-66.
46. Faber JJ, Anderson DF. The placenta in the integrated physiology of fetal volume control. *Int J Dev Biol.* 2010;54(2-3):391.
47. Soares MJ, Chakraborty D, Rumi MK, Konno T, Renaud SJ. Rat placentation: an experimental model for investigating the hemochorial maternal-fetal interface. *Placenta.* 2012;33(4):233-43.
48. Rampersad R, Cervar-Zivkovic M, Nelson DM. Development and anatomy of the human placenta. *Placenta.* 2011:17-26.
49. Young BC, Levine RJ, Karumanchi SA. Pathogenesis of preeclampsia. *Annu Rev Pathol.* 2010;5:173-92.

50. Ogge G, Chaiworapongsa T, Romero R, Hussein Y, Kusanovic JP, Yeo L, et al. Placental lesions associated with maternal underperfusion are more frequent in early-onset than in late-onset preeclampsia. *J Perinat Med*. 2011;39(6):641-52.
51. Staff AC, Dechend R, Pijnenborg R. Learning From the Placenta Acute Atherosclerosis and Vascular Remodeling in Preeclampsia–Novel Aspects for Atherosclerosis and Future Cardiovascular Health. *Hypertension*. 2010;56(6):1026-34.
52. Ji L, Brkić J, Liu M, Fu G, Peng C, Wang Y-L. Placental trophoblast cell differentiation: physiological regulation and pathological relevance to preeclampsia. *Mol Aspects Med*. 2013;34(5):981-1023.
53. Roberts JM, Escudero C. The placenta in preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2012;2(2):72-83.
54. Redman C, Tannetta D, Dragovic R, Gardiner C, Southcombe J, Collett G, et al. Review: Does size matter? Placental debris and the pathophysiology of pre-eclampsia. *Placenta*. 2012;33:S48-S54.
55. Nelson DB, Ziadie MS, McIntire DD, Rogers BB, Leveno KJ. Placental pathology suggesting that preeclampsia is more than one disease. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;210(1):66. e1-. e7.
56. Lam C, Lim K-H, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension*. 2005;46(5):1077-85.
57. Zygmunt M, Herr F, Münstedt K, Lang U, Liang OD. Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003;110:S10-S8.
58. Wulff C, Weigand M, Kreienberg R, Fraser HM. Angiogenesis during primate placentation in health and disease. *Reproduction*. 2003;126(5):569-77.
59. Silasi M, Cohen B, Karumanchi SA, Rana S. Abnormal placentation, angiogenic factors, and the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2010;37(2):239-53.
60. Steinberg G, Khankin EV, Karumanchi SA. Angiogenic factors and preeclampsia. *Thromb Res*. 2009;123:S93-S9.
61. De Falco S. The discovery of placenta growth factor and its biological activity. *Exp Mol Med*. 2012;44(1):1-9.
62. Maynard SE, Karumanchi SA, editors. *Angiogenic factors and preeclampsia*. Semin Nephrol; 2011: Elsevier.

63. Zhou Q, Liu H, Qiao F, Wu Y, Xu J. VEGF deficit is involved in endothelium dysfunction in preeclampsia. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2010;30:370-4.
64. Murakami M, Zheng Y, Hirashima M, Suda T, Morita Y, Ooehara J, et al. VEGFR1 tyrosine kinase signaling promotes lymphangiogenesis as well as angiogenesis indirectly via macrophage recruitment. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28(4):658-64.
65. Wulff C, Wilson H, Dickson SE, Wiegand SJ, Fraser HM. Hemochorial placentation in the primate: expression of vascular endothelial growth factor, angiopoietins, and their receptors throughout pregnancy. *Biol Reprod.* 2002;66(3):802-12.
66. Luttun A, Tjwa M, Carmeliet P. Placental Growth Factor (PlGF) and Its Receptor Flt-1 (VEGFR-1). *Ann N Y Acad Sci.* 2002;979(1):80-93.
67. Nagy JA, Benjamin L, Zeng H, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability, vascular hyperpermeability and angiogenesis. *Angiogenesis.* 2008;11(2):109-19.
68. Ahmad S, Ahmed A. Elevated placental soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 inhibits angiogenesis in preeclampsia. *Circ Res.* 2004;95(9):884-91.
69. Wang A, Rana S, Karumanchi SA. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology.* 2009;24(3):147-58.
70. Widmer M, Villar J, Benigni A, Conde-Agudelo A, Karumanchi SA, Lindheimer M. Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review. *Obstet Gynecol.* 2007;109(1):168-80.
71. Crispi F, Llurba E, Dominguez C, Martín-Gallán P, Cabero L, Gratacos E. Predictive value of angiogenic factors and uterine artery Doppler for early-versus late-onset pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31(3):303-9.
72. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J-i, Mammoto T, Kim YM, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med.* 2006;12(6):642-9.
73. Kleinrouweler CE, Wiegerinck MM, Ris-Stalpers C, Bossuyt PM, van der Post JA, von Dadelszen P, et al. Accuracy of circulating placental growth factor, vascular endothelial growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in the prediction of pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis. *BJOG.* 2012;119(7):778-87.
74. Karumanchi S, Epstein F. Placental ischemia and soluble fms-like tyrosine kinase 1: cause or consequence of preeclampsia? *Kidney Int.* 2007;71(10):959-61.

75. Gilbert JS, Ryan MJ, LaMarca BB, Sedeek M, Murphy SR, Granger JP. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;294(2):H541-H50.
76. Trogstad L, Magnus P, Stoltenberg C. Pre-eclampsia: risk factors and causal models. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2011;25(3):329-42.
77. Robillard P-Y, Dekker G, Chaouat G, Hulsey TC, Saftlas A. Epidemiological studies on primipaternity and immunology in preeclampsia—a statement after twelve years of workshops. *J Reprod Immunol.* 2011;89(2):104-17.
78. Zhang J. Partner change, birth interval and risk of pre-eclampsia: a paradoxical triangle. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2007;21 Suppl 1:31-5.
79. Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell.* 2002;111(7):927-30.
80. Dekker G, Robillard PY, Roberts C. The etiology of preeclampsia: the role of the father. *J Reprod Immunol.* 2011;89(2):126-32.
81. Martínez-Varea A, Pellicer B, Perales-Marín A, Pellicer A. Relationship between maternal immunological response during pregnancy and onset of preeclampsia. *Journal of immunology research.* 2014;2014.
82. Fukui A, Funamizu A, Yokota M, Yamada K, Nakamura R, Fukuhara R, et al. Uterine and circulating natural killer cells and their roles in women with recurrent pregnancy loss, implantation failure and preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2011;90(1):105-10.
83. Jebbink J, Wolters A, Fernando F, Afink G, van der Post J, Ris-Stalpers C. Molecular genetics of preeclampsia and HELLP syndrome—a review. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822(12):1960-9.
84. Laresgoiti-Servitje E. A leading role for the immune system in the pathophysiology of preeclampsia. *J Leukoc Biol.* 2013;94(2):247-57.
85. Kestlerova A, Feyereisl J, Frisova V, Měchurová A, Šůla K, Zima T, et al. Immunological and biochemical markers in preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2012;96(1):90-4.
86. Quinn KH, Lacoursiere DY, Cui L, Bui J, Parast MM. The unique pathophysiology of early-onset severe preeclampsia: role of decidual T regulatory cells. *J Reprod Immunol.* 2011;91(1-2):76-82.

87. Jonsson Y, Ruber M, Matthiesen L, Berg G, Nieminen K, Sharma S, et al. Cytokine mapping of sera from women with preeclampsia and normal pregnancies. *J Reprod Immunol.* 2006;70(1-2):83-91.
88. Saito S, Sakai M. Th1/Th2 balance in preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2003;59(2):161-73.
89. Perez-Sepulveda A, Torres MJ, Khoury M, Illanes SE. Innate immune system and preeclampsia. *Front Immunol.* 2014;5:244.
90. Djuriscic S, Hviid TV. HLA Class Ib Molecules and Immune Cells in Pregnancy and Preeclampsia. *Front Immunol.* 2014;5:652.
91. Valenzuela FJ, Perez-Sepulveda A, Torres MJ, Correa P, Repetto GM, Illanes SE. Pathogenesis of preeclampsia: the genetic component. *J Pregnancy.* 2012;2012:632732.
92. Oudejans CB, van Dijk M, Oosterkamp M, Lachmeijer A, Blankenstein MA. Genetics of preeclampsia: paradigm shifts. *Hum Genet.* 2007;120(5):607-12.
93. Lachmeijer AM, Arngrimsson R, Bastiaans EJ, Frigge ML, Pals G, Sigurdardottir S, et al. A genome-wide scan for preeclampsia in the Netherlands. *Eur J Hum Genet.* 2001;9(10):758-64.
94. Buurma AJ, Turner RJ, Driessen JH, Mooyaart AL, Schoones JW, Bruijn JA, et al. Genetic variants in pre-eclampsia: a meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2013;19(3):289-303.
95. van Dijk M, Oudejans CB. STOX1: Key player in trophoblast dysfunction underlying early onset preeclampsia with growth retardation. *J Pregnancy.* 2011;2011:521826.
96. Lachmeijer AM, Dekker GA, Pals G, Aarnoudse JG, ten Kate LP, Arngrimsson R. Searching for preeclampsia genes: the current position. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2002;105(2):94-113.
97. Rodger MA, Betancourt MT, Clark P, Lindqvist PG, Dizon-Townson D, Said J, et al. The association of factor V leiden and prothrombin gene mutation and placenta-mediated pregnancy complications: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *PLoS medicine.* 2010;7(6):e1000292.
98. Karimi S, Yavarian M, Azinfar A, Rajaei M, Azizi Kootenaee M. Evaluation the frequency of factor V Leiden mutation in pregnant women with preeclampsia syndrome in an Iranian population. *Iran J Reprod Med.* 2012;10(1):59-66.
99. Xia XP, Chang WW, Cao YX. Meta-analysis of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and susceptibility to pre-eclampsia. *Hypertens Res.* 2012;35(12):1129-34.

100. Silver RM, Zhao Y, Spong CY, Sibai B, Wendel G, Jr., Wenstrom K, et al. Prothrombin gene G20210A mutation and obstetric complications. *Obstet Gynecol.* 2010;115(1):14-20.
101. Rahimi Z, Malek-Khosravi S, Jalilvand F, Parsian A. MTHFR C677T and eNOS G894T variants in preeclamptic women: Contribution to lipid peroxidation and oxidative stress. *Clin Biochem.* 2013;46(1-2):143-7.
102. Srinivas SK, Morrison AC, Andrela CM, Elovitz MA. Allelic variations in angiogenic pathway genes are associated with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(5):445 e1-11.
103. Buurma A, Turner R, Driessen A, Mooyaart A, Schoones J, Bruijn JA, et al. OS050. Genetic variants in pre-eclampsia: a meta-analysis. *Pregnancy Hypertens.* 2012;2(3):204.
104. Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation.* 2011;123(24):2856-69.
105. Redman CW, Sargent IL. Placental stress and pre-eclampsia: a revised view. *Placenta.* 2009;30 Suppl A:S38-42.
106. Szpera-Gozdziwicz A, Breborowicz GH. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2014;19:734-46.
107. Lamarca B. Endothelial dysfunction. An important mediator in the pathophysiology of hypertension during pre-eclampsia. *Minerva Ginecol.* 2012;64(4):309-20.
108. Pokrovskii MV, Pokrovskaia TG, Gureev VV, Barsuk AA, Proskuriakova EV, Korokin MV, et al. [Correction of endothelial dysfunction by L-arginine under experimental pre-eclampsia conditions]. *Eksp Klin Farmakol.* 2012;75(2):14-6.
109. Szarka A, Rigo J, Jr., Lazar L, Beko G, Molvarec A. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC Immunol.* 2010;11:59.
110. Jerath R, Barnes VA, Fadel HE. Mechanism of development of pre-eclampsia linking breathing disorders to endothelial dysfunction. *Med Hypotheses.* 2009;73(2):163-6.
111. Xiao JP, Yin YX, Gao YF, Lau S, Shen F, Zhao M, et al. The increased maternal serum levels of IL-6 are associated with the severity and onset of preeclampsia. *Cytokine.* 2012;60(3):856-60.

112. Saito S. Th17 cells and regulatory T cells: new light on pathophysiology of preeclampsia. *Immunol Cell Biol.* 2010;88(6):615-7.
113. de Oliveira LG, Karumanchi A, Sass N. [Preeclampsia: oxidative stress, inflammation and endothelial dysfunction]. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2010;32(12):609-16.
114. Harmon AC, Cornelius DC, Amaral LM, Faulkner JL, Cunningham MW, Jr., Wallace K, et al. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. *Clin Sci (Lond).* 2016;130(6):409-19.
115. Boij R, Svensson J, Nilsson-Ekdahl K, Sandholm K, Lindahl TL, Palonek E, et al. Biomarkers of coagulation, inflammation, and angiogenesis are independently associated with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 2012;68(3):258-70.
116. Cotechini T, Komisarenko M, Sperou A, Macdonald-Goodfellow S, Adams MA, Graham CH. Inflammation in rat pregnancy inhibits spiral artery remodeling leading to fetal growth restriction and features of preeclampsia. *J Exp Med.* 2014;211(1):165-79.
117. Bernardi F, Guolo F, Bortolin T, Petronilho F, Dal-Pizzol F. Oxidative stress and inflammatory markers in normal pregnancy and preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Res.* 2008;34(6):948-51.
118. Siddiqui IA, Jaleel A, Tamimi W, Al Kadri HM. Role of oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet.* 2010;282(5):469-74.
119. Shaker OG, Sadik NA. Pathogenesis of preeclampsia: Implications of apoptotic markers and oxidative stress. *Hum Exp Toxicol.* 2013;32(11):1170-8.
120. Sanchez-Aranguren LC, Prada CE, Riano-Medina CE, Lopez M. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Front Physiol.* 2014;5:372.
121. Genc H, Uzun H, Benian A, Simsek G, Gelisgen R, Madazli R, et al. Evaluation of oxidative stress markers in first trimester for assessment of preeclampsia risk. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;284(6):1367-73.
122. Hansson SR, Naav A, Erlandsson L. Oxidative stress in preeclampsia and the role of free fetal hemoglobin. *Front Physiol.* 2014;5:516.
123. Mihiu D, Sabau L, Costin N, Ciortea R, Malutan A, Mihiu CM. Implications of maternal systemic oxidative stress in normal pregnancy and in pregnancy complicated by preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(7):944-51.
124. Misra VK, Trudeau S, Perni U. Maternal serum lipids during pregnancy and infant birth weight: the influence of prepregnancy BMI. *Obesity (Silver Spring).* 2011;19(7):1476-81.



125. Herrera E, Ortega-Senovilla H. Lipid metabolism during pregnancy and its implications for fetal growth. *Curr Pharm Biotechnol*. 2014;15(1):24-31.
126. Emet T, Ustuner I, Guven SG, Balik G, Ural UM, Tekin YB, et al. Plasma lipids and lipoproteins during pregnancy and related pregnancy outcomes. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;288(1):49-55.
127. Vrijkotte TG, Krukziener N, Hutten BA, Vollebregt KC, van Eijnsden M, Twickler MB. Maternal lipid profile during early pregnancy and pregnancy complications and outcomes: the ABCD study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(11):3917-25.
128. Lappas M. Effect of pre-existing maternal obesity, gestational diabetes and adipokines on the expression of genes involved in lipid metabolism in adipose tissue. *Metabolism*. 2014;63(2):250-62.
129. De Boer MP, Meijer RI, Wijnstok NJ, Jonk AM, Houben AJ, Stehouwer CD, et al. Microvascular dysfunction: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. *Microcirculation*. 2012;19(1):5-18.
130. Catalano PM, McIntyre HD, Cruickshank JK, McCance DR, Dyer AR, Metzger BE, et al. The hyperglycemia and adverse pregnancy outcome study: associations of GDM and obesity with pregnancy outcomes. *Diabetes Care*. 2012;35(4):780-6.
131. Roberts JM, Bodnar LM, Patrick TE, Powers RW. The Role of Obesity in Preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2011;1(1):6-16.
132. Sohlberg S, Stephansson O, Cnattingius S, Wikstrom AK. Maternal body mass index, height, and risks of preeclampsia. *Am J Hypertens*. 2012;25(1):120-5.
133. Armanini D, Sabbadin C, Dona G, Andrisani A, Ambrosini G, Bordin L. Maternal and Fetal Outcomes in Preeclampsia: Interrelations Between Insulin Resistance, Aldosterone, Metabolic Syndrome, and Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2015;17(10):783-5.
134. Hauth JC, Clifton RG, Roberts JM, Myatt L, Spong CY, Leveno KJ, et al. Maternal insulin resistance and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2011;204(4):327 e1-6.
135. Higgins L, Mills TA, Greenwood SL, Cowley EJ, Sibley CP, Jones RL. Maternal obesity and its effect on placental cell turnover. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013;26(8):783-8.
136. Duan DM, Niu JM, Lei Q, Lin XH, Chen X. Serum levels of the adipokine chemerin in preeclampsia. *J Perinat Med*. 2012;40(2):121-7.

137. Stepan H, Philipp A, Roth I, Kralisch S, Jank A, Schaarschmidt W, et al. Serum levels of the adipokine chemerin are increased in preeclampsia during and 6 months after pregnancy. *Regul Pept.* 2011;168(1-3):69-72.
138. Miehle K, Stepan H, Fasshauer M. Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012;76(1):2-11.
139. Horvath B, Bodecs T, Boncz I, Bodis J. Metabolic syndrome in normal and complicated pregnancies. *Metab Syndr Relat Disord.* 2013;11(3):185-8.
140. Irani RA, Xia Y. Renin angiotensin signaling in normal pregnancy and preeclampsia. *Semin Nephrol.* 2011;31(1):47-58.
141. Broughton Pipkin F. Uric acid, endothelial dysfunction and pre-eclampsia. *J Hypertens.* 2004;22(2):237-9.
142. Kang DH, Finch J, Nakagawa T, Karumanchi SA, Kanellis J, Granger J, et al. Uric acid, endothelial dysfunction and pre-eclampsia: searching for a pathogenetic link. *J Hypertens.* 2004;22(2):229-35.
143. Bytautiene E, Tamayo E, Kechichian T, Drever N, Gamble P, Hankins GD, et al. Prepregnancy obesity and sFlt1-induced preeclampsia in mice: developmental programming model of metabolic syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(5):398 e1-8.
144. Soltani Z, Rasheed K, Kapusta DR, Reisin E. Potential role of uric acid in metabolic syndrome, hypertension, kidney injury, and cardiovascular diseases: is it time for reappraisal? *Curr Hypertens Rep.* 2013;15(3):175-81.
145. Norman JE, Reynolds RM. The consequences of obesity and excess weight gain in pregnancy. *Proc Nutr Soc.* 2011;70(4):450-6.
146. Ryckman KK, Borowski KS, Parikh NI, Saftlas AF. Pregnancy Complications and the Risk of Metabolic Syndrome for the Offspring. *Curr Cardiovasc Risk Rep.* 2013;7(3):217-23.
147. Lu J, Zhao YY, Qiao J, Zhang HJ, Ge L, Wei Y. A follow-up study of women with a history of severe preeclampsia: relationship between metabolic syndrome and preeclampsia. *Chin Med J (Engl).* 2011;124(5):775-9.
148. Weinstein L. Syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: a severe consequence of hypertension in pregnancy. 1982. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(3 Pt 1):859; discussion 60.

149. Kadir RA, McLintock C. Thrombocytopenia and disorders of platelet function in pregnancy. *Semin Thromb Hemost.* 2011;37(6):640-52.
150. Juan P, Stefano G, Antonella S, Albana C. Platelets in pregnancy. *Journal of prenatal medicine.* 2011;5(4):90-2.
151. Yang H, Tang W, Zhu C, Guo C. Platelets, inflammation, and prediction of the hypertension disorders of pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(1):99-103.
152. Swanepoel AC, Pretorius E. Ultrastructural analysis of platelets during three phases of pregnancy: a qualitative and quantitative investigation. *Hematology.* 2015;20(1):39-47.
153. Valera MC, Parant O, Vayssiere C, Arnal JF, Payrastre B. Physiologic and pathologic changes of platelets in pregnancy. *Platelets.* 2010;21(8):587-95.
154. Xia Y, Kellems RE. Is preeclampsia an autoimmune disease? *Clin Immunol.* 2009;133(1):1-12.
155. Mecacci F, Simeone S, Rambaldi MP, Serena C, Ottanelli S, Marchetti G, et al. L10. Prediction and prevention of preeclampsia in autoimmune disease. *Pregnancy Hypertens.* 2011;1(3-4):244.
156. Siddiqui AH, Irani RA, Zhang W, Wang W, Blackwell SC, Kellems RE, et al. Angiotensin receptor agonistic autoantibody-mediated soluble fms-like tyrosine kinase-1 induction contributes to impaired adrenal vasculature and decreased aldosterone production in preeclampsia. *Hypertension.* 2013;61(2):472-9.
157. Chaiworapongsa T, Chaemsaitong P, Yeo L, Romero R. Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. *Nature reviews Nephrology.* 2014;10(8):466-80.
158. Han L, Liu X, Li H, Zou J, Yang Z, Han J, et al. Blood coagulation parameters and platelet indices: changes in normal and preeclamptic pregnancies and predictive values for preeclampsia. *PloS one.* 2014;9(12):e114488.
159. Zhao Y, Koga K, Osuga Y, Nagai M, Izumi G, Takamura M, et al. Thrombin enhances soluble Fms-like tyrosine kinase 1 expression in trophoblasts; possible involvement in the pathogenesis of preeclampsia. *Fertil Steril.* 2012;98(4):917-21.
160. Ogawa M, Matsuda Y, Kobayashi A, Mitani M, Makino Y, Matsui H. Plasma antithrombin levels correlate with albumin and total protein in gestational hypertension and preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2014;4(2):174-7.

161. Loukidi B, Merzouk H, Merzouk SA, Malti N, Taouli K, Belarbi B, et al. Thrombosis factors and oxidant/antioxidant markers in obese and hypertensive women during pregnancy. *Blood Press.* 2015;24(4):242-9.
162. Berks D, Duvekot JJ, Basalan H, De Maat MP, Steegers EA, Visser W. Associations between phenotypes of preeclampsia and thrombophilia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;194:199-205.
163. Gerhardt A, Goecke TW, Beckmann MW, Wagner KJ, Tutschek B, Willers R, et al. The G20210A prothrombin-gene mutation and the plasminogen activator inhibitor (PAI-1) 5G/5G genotype are associated with early onset of severe preeclampsia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH.* 2005;3(4):686-91.
164. Kovac M, Mitic G, Mikovic Z, Djordjevic V, Savic O, Mandic V, et al. Thrombophilia in women with pregnancy-associated complications: fetal loss and pregnancy-related venous thromboembolism. *Gynecol Obstet Invest.* 2010;69(4):233-8.
165. Morgan JA, Bombell S, McGuire W. Association of plasminogen activator inhibitor-type 1 (-675 4G/5G) polymorphism with pre-eclampsia: systematic review. *PloS one.* 2013;8(2):e56907.
166. Bodova KB, Biringer K, Dokus K, Ivankova J, Stasko J, Danko J. Fibronectin, plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) and uterine artery Doppler velocimetry as markers of preeclampsia. *Dis Markers.* 2011;30(4):191-6.
167. Bozkurt M, Yumru AE, Sahin L, Salman S. Troponin I and D-Dimer levels in preeclampsia and eclampsia: prospective study. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2015;42(1):26-31.
168. Manolov V, Marinov B, Maseva A, Vasilev V. [Plasma D-dimer levels in preeclampsia]. *Akush Ginekol (Sofia).* 2014;53 Suppl 2:15-8.
169. Greer IA, Aharon A, Brenner B, Gris JC. Coagulation and placenta-mediated complications. *Rambam Maimonides medical journal.* 2014;5(4):e0034.
170. Oliveira N, Doyle LE, Atlas RO, Jenkins CB, Blitzer MG, Baschat AA. External validity of first-trimester algorithms in the prediction of pre-eclampsia disease severity. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;44(3):286-92.
171. Kucukgoz Gulec U, Ozgunen FT, Buyukkurt S, Guzel AB, Urunsak IF, Demir SC, et al. Comparison of clinical and laboratory findings in early- and late-onset preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013;26(12):1228-33.
172. Mei-Dan E, Wiznitzer A, Sergienko R, Hallak M, Sheiner E. Prediction of preeclampsia: liver function tests during the first 20 gestational weeks. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013;26(3):250-3.

173. von Dadelszen P, Magee LA, Devarakonda RM, Hamilton T, Ainsworth LM, Yin R, et al. The prediction of adverse maternal outcomes in preeclampsia. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada : JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada : JOGC*. 2004;26(10):871-9.
174. Kenny LC, Black MA, Poston L, Taylor R, Myers JE, Baker PN, et al. Early pregnancy prediction of preeclampsia in nulliparous women, combining clinical risk and biomarkers: the Screening for Pregnancy Endpoints (SCOPE) international cohort study. *Hypertension*. 2014;64(3):644-52.
175. Thornton J. Angiogenic factors combined with clinical risk factors to predict preterm pre-eclampsia in nulliparous women: a predictive test accuracy study. *BJOG*. 2014;121(4):507.
176. Myatt L, Clifton RG, Roberts JM, Spong CY, Hauth JC, Varner MW, et al. First-trimester prediction of preeclampsia in nulliparous women at low risk. *Obstet Gynecol*. 2012;119(6):1234-42.
177. Chappell LC, Duckworth S, Seed PT, Griffin M, Myers J, Mackillop L, et al. Diagnostic accuracy of placental growth factor in women with suspected preeclampsia: a prospective multicenter study. *Circulation*. 2013;128(19):2121-31.
178. Prefumo F. Re: Uterine artery Doppler and sFlt-1/PIGF ratio: prognostic value in early-onset pre-eclampsia. P. I. Gomez-Arriaga, I. Herraiz, E. A. Lopez-Jimenez, D. Escribano, B. Denk and A. Galindo. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 43: 525-532. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;43(5):488-9.
179. Gomez-Arriaga PI, Herraiz I, Lopez-Jimenez EA, Escribano D, Denk B, Galindo A. Uterine artery Doppler and sFlt-1/PIGF ratio: prognostic value in early-onset pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;43(5):525-32.
180. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennstrom M, et al. Predictive Value of the sFlt-1:PIGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med*. 2016;374(1):13-22.
181. Engels T, Pape J, Schoofs K, Henrich W, Verlohren S. Automated measurement of sFlt1, PIGF and sFlt1/PIGF ratio in differential diagnosis of hypertensive pregnancy disorders. *Hypertens Pregnancy*. 2013;32(4):459-73.
182. Stepan H, Herraiz I, Schlembach D, Verlohren S, Brennecke S, Chantraine F, et al. Implementation of the sFlt-1/PIGF ratio for prediction and diagnosis of pre-eclampsia in singleton pregnancy: implications for clinical practice. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45(3):241-6.
183. Boucoiran I, Thissier-Levy S, Wu Y, Wei SQ, Luo ZC, Delvin E, et al. Risks for preeclampsia and small for gestational age: predictive values of placental growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase-1, and inhibin A in singleton and multiple-gestation pregnancies. *Am J Perinatol*. 2013;30(7):607-12.

184. Al Khaja KA, Sequeira RP, Alkhaja AK, Damanhori AH. Drug treatment of hypertension in pregnancy: a critical review of adult guideline recommendations. *J Hypertens*. 2014;32(3):454-63.
185. Bramham K, Parnell B, Nelson-Piercy C, Seed PT, Poston L, Chappell LC. Chronic hypertension and pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2014;348:g2301.
186. Firoz T, Magee LA, MacDonell K, Payne BA, Gordon R, Vidler M, et al. Oral antihypertensive therapy for severe hypertension in pregnancy and postpartum: a systematic review. *BJOG*. 2014;121(10):1210-8; discussion 20.
187. Killion M. New hypertension in pregnancy guidelines. *MCN Am J Matern Child Nurs*. 2015;40(2):128.
188. Bujold E, Roberge S, Lacasse Y, Bureau M, Audibert F, Marcoux S, et al. Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: a meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 2010;116(2 Pt 1):402-14.
189. Cantu JA, Jauk VR, Owen J, Biggio JR, Abramovici AR, Edwards RK, et al. Is low-dose aspirin therapy to prevent preeclampsia more efficacious in non-obese women or when initiated early in pregnancy? *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2015;28(10):1128-32.
190. Xu TT, Zhou F, Deng CY, Huang GQ, Li JK, Wang XD. Low-Dose Aspirin for Preventing Preeclampsia and Its Complications: A Meta-Analysis. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2015;17(7):567-73.
191. Thadhani R, Kisner T, Hagmann H, Bossung V, Noack S, Schaarschmidt W, et al. Pilot study of extracorporeal removal of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia. *Circulation*. 2011;124(8):940-50.
192. Thadhani R, Hagmann H, Schaarschmidt W, Roth B, Cingoz T, Karumanchi SA, et al. Removal of Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase-1 by Dextran Sulfate Apheresis in Preeclampsia. *J Am Soc Nephrol*. 2015.
193. Becquemont L, Alfirevic A, Amstutz U, Brauch H, Jacqz-Aigrain E, Laurent-Puig P, et al. Practical recommendations for pharmacogenomics-based prescription: 2010 ESF-UB Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics. *Pharmacogenomics*. 2011;12(1):113-24.
194. Lupoli S, Salvi E, Barcella M, Barlassina C. Pharmacogenomics considerations in the control of hypertension. *Pharmacogenomics*. 2015;16(17):1951-64.
195. Enkhmaa D, Wall D, Mehta PK, Stuart JJ, Rich-Edwards JW, Merz CN, et al. Preeclampsia and Vascular Function: A Window to Future Cardiovascular Disease Risk. *J Womens Health (Larchmt)*. 2016.

196. Charlton F, Tooher J, Rye KA, Hennessy A. Cardiovascular risk, lipids and pregnancy: preeclampsia and the risk of later life cardiovascular disease. *Heart, lung & circulation*. 2014;23(3):203-12.
197. O'Callaghan SP, Giles WB, Raymond SP, McDougall V, Morris K, Boyd J. First trimester ultrasound with nuchal translucency measurement for Down syndrome risk estimation using software developed by the Fetal Medicine Foundation, United Kingdom--the first 2000 examinations in Newcastle, New South Wales, Australia. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2000;40(3):292-5.
198. Kurek Eken M, Tuten A, Ozkaya E, Dincer E, Senol T, Karatekin G, et al. Evaluation of the maternal and fetal risk factors associated with neonatal care unit hospitalization time. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016:1-5.
199. Dietl A, Cupisti S, Beckmann MW, Schwab M, Zollner U. Pregnancy and Obstetrical Outcomes in Women Over 40 Years of Age. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2015;75(8):827-32.
200. Cohen W. Does maternal age affect pregnancy outcome? *BJOG*. 2014;121(3):252-4.
201. Tsiakkas A, Saiid Y, Wright A, Wright D, Nicolaides KH. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 30-34 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol*. 2016.
202. Gallo DM, Wright D, Casanova C, Campanero M, Nicolaides KH. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 19-24 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol*. 2015.
203. Andrietti S, Silva M, Wright A, Wright D, Nicolaides KH. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 35-37 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015.
204. O'Gorman N, Wright D, Syngelaki A, Akolekar R, Wright A, Poon LC, et al. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks gestation. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;214(1):103 e1- e12.
205. Naver KV, Grinsted J, Larsen SO, Hedley PL, Jorgensen FS, Christiansen M, et al. Increased risk of preterm delivery and pre-eclampsia in women with polycystic ovary syndrome and hyperandrogenaemia. *BJOG*. 2014;121(5):575-81.
206. Sandvik MK, Leirgul E, Nygard O, Ueland PM, Berg A, Svarstad E, et al. Preeclampsia in healthy women and endothelial dysfunction 10 years later. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;209(6):569 e1- e10.
207. Kessous R, Shoham-Vardi I, Pariente G, Holcberg G, Sheiner E. An association between preterm delivery and long-term maternal cardiovascular morbidity. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;209(4):368 e1-8.

208. Scioscia M, Karumanchi SA, Goldman-Wohl D, Robillard PY. Endothelial dysfunction and metabolic syndrome in preeclampsia: an alternative viewpoint. *J Reprod Immunol*. 2015;108:42-7.
209. Germain AM, Romanik MC, Guerra I, Solari S, Reyes MS, Johnson RJ, et al. Endothelial dysfunction: a link among preeclampsia, recurrent pregnancy loss, and future cardiovascular events? *Hypertension*. 2007;49(1):90-5.
210. Bamberg C, Fotopoulou C, Thiem D, Roehr CC, Dudenhausen JW, Kalache KD. Correlation of midtrimester amniotic fluid cytokine concentrations with adverse pregnancy outcome in terms of spontaneous abortion, preterm birth, and preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012;25(6):812-7.
211. Wei J, Liu CX, Gong TT, Wu QJ, Wu L. Cigarette smoking during pregnancy and preeclampsia risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Oncotarget*. 2015;6(41):43667-78.
212. Mattsson K, Kallen K, Rignell-Hydbom A, Hansson SR, McElrath TF, Cantonwine DE, et al. Maternal Smoking during Pregnancy and Daughters' Preeclampsia Risk. *PloS one*. 2015;10(12):e0144207.
213. Chang JJ, Strauss JF, 3rd, Deshazo JP, Rigby FB, Chelmow DP, Macones GA. Reassessing the impact of smoking on preeclampsia/eclampsia: are there age and racial differences? *PloS one*. 2014;9(10):e106446.
214. Daikoku T, Matsumoto H, Gupta RA, Das SK, Gassmann M, DuBois RN, et al. Expression of hypoxia-inducible factors in the peri-implantation mouse uterus is regulated in a cell-specific and ovarian steroid hormone-dependent manner. Evidence for differential function of HIFs during early pregnancy. *J Biol Chem*. 2003;278(9):7683-91.
215. Abou El Hassan M, Diamandis EP, Karumanchi SA, Shennan AH, Taylor RN. Preeclampsia: an old disease with new tools for better diagnosis and risk management. *Clin Chem*. 2015;61(5):694-8.
216. Roten LT, Thomsen LC, Gundersen AS, Fenstad MH, Odland ML, Strand KM, et al. The Norwegian preeclampsia family cohort study: a new resource for investigating genetic aspects and heritability of preeclampsia and related phenotypes. *BMC pregnancy and childbirth*. 2015;15:319.
217. Williams PJ, Broughton Pipkin F. The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2011;25(4):405-17.
218. Morgan L, McGinnis R, Steinhorsdottir V, Svyatova G, Zakhidova N, Lee WK, et al. InterPregGen: genetic studies of pre-eclampsia in three continents. *Norsk epidemiologi = Norwegian journal of epidemiology*. 2014;24(1-2):141-6.



219. Loset M, Johnson MP, Melton PE, Ang W, Huang RC, Mori TA, et al. Preeclampsia and cardiovascular disease share genetic risk factors on chromosome 2q22. *Pregnancy Hypertens.* 2014;4(2):178-85.
220. Silva VR, Soardi FC, Tanaka SC, da Silva-Grecco RL, Paschoini MC, Balarin MA. Investigation of polymorphisms in pre-eclampsia related genes VEGF and IL1A. *Arch Gynecol Obstet.* 2015;291(5):1029-35.
221. Sundrani DP, Reddy US, Joshi AA, Mehendale SS, Chavan-Gautam PM, Hardikar AA, et al. Differential placental methylation and expression of VEGF, FLT-1 and KDR genes in human term and preterm preeclampsia. *Clinical epigenetics.* 2013;5(1):6.
222. Ozkan S, Sanhal CY, Yeniel O, Arslan Ates E, Ergenoglu M, Binbir B, et al. Pregnancy-associated plasma protein A gene polymorphism in pregnant women with preeclampsia and intrauterine growth restriction. *The Kaohsiung journal of medical sciences.* 2015;31(10):518-22.
223. Leonardo DP, Albuquerque DM, Lanaro C, Baptista LC, Cecatti JG, Surita FG, et al. Association of Nitric Oxide Synthase and Matrix Metalloprotease Single Nucleotide Polymorphisms with Preeclampsia and Its Complications. *PLoS one.* 2015;10(8):e0136693.
224. Sween LK, Althouse AD, Roberts JM. Early-pregnancy percent body fat in relation to preeclampsia risk in obese women. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(1):84 e1-7.
225. Jeyabalan A. Epidemiology of preeclampsia: impact of obesity. *Nutr Rev.* 2013;71 Suppl 1:S18-25.
226. Lucovnik M, Blickstein I, Verdenik I, Steblovnik L, Trojner Bregar A, Tul N. Impact of pre-gravid body mass index and body mass index change on preeclampsia and gestational diabetes in singleton and twin pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014;27(18):1901-4.
227. Lisonkova S, Joseph KS. Incidence of preeclampsia: risk factors and outcomes associated with early- versus late-onset disease. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;209(6):544 e1- e12.
228. Masuyama H, Nobumoto E, Segawa T, Hiramatsu Y. Severe superimposed preeclampsia with obesity, diabetes and a mild imbalance of angiogenic factors. *Acta Med Okayama.* 2012;66(2):171-5.
229. Gaillard R, Steegers EA, Hofman A, Jaddoe VW. Associations of maternal obesity with blood pressure and the risks of gestational hypertensive disorders. The Generation R Study. *J Hypertens.* 2011;29(5):937-44.
230. Weissgerber TL, Craici IM, Wagner SJ, Grande JP, Garovic VD. Advances in the pathophysiology of preeclampsia and related podocyte injury. *Kidney Int.* 2014;86(2):445.

231. Chaiworapongsa T, Romero R, Savasan ZA, Kusanovic JP, Ogge G, Soto E, et al. Maternal plasma concentrations of angiogenic/anti-angiogenic factors are of prognostic value in patients presenting to the obstetrical triage area with the suspicion of preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2011;24(10):1187-207.
232. Chaiworapongsa T, Romero R, Korzeniewski SJ, Cortez JM, Pappas A, Tarca AL, et al. Plasma concentrations of angiogenic/anti-angiogenic factors have prognostic value in women presenting with suspected preeclampsia to the obstetrical triage area: a prospective study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014;27(2):132-44.
233. Schoofs K, Grittner U, Engels T, Pape J, Denk B, Henrich W, et al. The importance of repeated measurements of the sFlt-1/PlGF ratio for the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction. *J Perinat Med.* 2014;42(1):61-8.
234. McKeeman GC, Ardill JE, Caldwell CM, Hunter AJ, McClure N. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sFlt-1) is increased throughout gestation in patients who have preeclampsia develop. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191(4):1240-6.
235. Vatten LJ, Asvold BO, Eskild A. Angiogenic factors in maternal circulation and preeclampsia with or without fetal growth restriction. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2012;91(12):1388-94.
236. Rana S, Karumanchi SA, Lindheimer MD. Angiogenic factors in diagnosis, management, and research in preeclampsia. *Hypertension.* 2014;63(2):198-202.
237. Rana S, Karumanchi SA, Levine RJ, Venkatesha S, Rauh-Hain JA, Tamez H, et al. Sequential changes in antiangiogenic factors in early pregnancy and risk of developing preeclampsia. *Hypertension.* 2007;50(1):137-42.
238. Fournie A. [Pathophysiology of preeclampsia: some recent data]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris).* 2012;41(4):313-7.
239. Laresgoiti-Servitje E, Gomez-Lopez N. The pathophysiology of preeclampsia involves altered levels of angiogenic factors promoted by hypoxia and autoantibody-mediated mechanisms. *Biol Reprod.* 2012;87(2):36.
240. Zhou Q, Qiao FY, Zhao C, Liu HY. Hypoxic trophoblast-derived sFlt-1 may contribute to endothelial dysfunction: implication for the mechanism of trophoblast-endothelial dysfunction in preeclampsia. *Cell Biol Int.* 2011;35(1):61-6.
241. Schiattecatte J, Russcher H, Anckaert E, Mees M, Leeser B, Tirelli AS, et al. Multicenter evaluation of the first automated Elecsys sFlt-1 and PlGF assays in normal pregnancies and preeclampsia. *Clin Biochem.* 2010;43(9):768-70.

242. Ohkuchi A, Hirashima C, Suzuki H, Takahashi K, Yoshida M, Matsubara S, et al. Evaluation of a new and automated electrochemiluminescence immunoassay for plasma sFlt-1 and PlGF levels in women with preeclampsia. *Hypertens Res.* 2010;33(5):422-7.
243. Stocks G. Preeclampsia: pathophysiology, old and new strategies for management. *Eur J Anaesthesiol.* 2014;31(4):183-9.
244. Saleh L, Verdonk K, Danser AH, Steegers EA, Russcher H, van den Meiracker AH, et al. 8c.01: Sflt-1 and Plgf Measurements and Their Ratio for the Diagnosis and Prognosis of Preeclampsia in a High-Risk Cohort. *J Hypertens.* 2015;33 Suppl 1:e110.
245. Xiong Y, Liebermann DA, Holtzman EJ, Jeronis S, Hoffman B, Geifman-Holtzman O. Preeclampsia-associated stresses activate Gadd45a signaling and sFlt-1 in placental explants. *J Cell Physiol.* 2013;228(2):362-70.
246. Manolov V, Marinov B, Vasilev V. [PlGF and sFlt-1--diagnostic significance in preeclampsia prediction in pregnant women with gestational and chronic hypertension]. *Akush Ginekol (Sofia)*. 2013;52 Suppl 1:61-9.
247. Thadhani R, Mutter WP, Wolf M, Levine RJ, Taylor RN, Sukhatme VP, et al. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(2):770-5.
248. Farina A, Curti A, Youssef A, Rapacchia G, Righetti F, Simonazzi G, et al. P33. Uterine artery Doppler and biochemical markers (PAPP-A, PlGF, sFlt-1, P-Selectin, NGAL) at 11+0 to 13+6weeks in the prediction of late (>34weeks) preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2011;1(3-4):287-8.
249. Akercan F, Cirpan T, Terek MC, Ozcakil HT, Giray G, Sagol S, et al. The immunohistochemical evaluation of VEGF in placenta biopsies of pregnancies complicated by preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet.* 2008;277(2):109-14.
250. Conti E, Zezza L, Ralli E, Caserta D, Musumeci MB, Moscarini M, et al. Growth factors in preeclampsia: a vascular disease model. A failed vasodilation and angiogenic challenge from pregnancy onwards? *Cytokine Growth Factor Rev.* 2013;24(5):411-25.
251. Lee ES, Oh MJ, Jung JW, Lim JE, Seol HJ, Lee KJ, et al. The levels of circulating vascular endothelial growth factor and soluble Flt-1 in pregnancies complicated by preeclampsia. *J Korean Med Sci.* 2007;22(1):94-8.
252. Semczuk-Sikora A, Krzyzanowski A, Kwiatek M, Semczuk M. [Maternal serum concentration of placental growth factor (PlGF) and endothelial growth factor (VEGF) in pregnancies complicated by preeclampsia]. *Ginekol Pol.* 2007;78(11):873-6.

253. Paez MC, Serrano NC, Diaz LA, Beltran MA, Ortiz R, Monterrosa A, et al. O2. Serum concentrations of angiogenic factors as predictors of severity of preeclampsia, in Colombian population. *Pregnancy Hypertens*. 2011;1(3-4):258.
254. Wender-Ozegowska E, Zawiejska A, Iciek R, Brazert J. Concentrations of eNOS, VEGF, ACE and PIGF in maternal blood as predictors of impaired fetal growth in pregnancy complicated by gestational hypertension/preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2015;34(1):17-23.
255. Weissgerber TL, Rajakumar A, Myerski AC, Edmunds LR, Powers RW, Roberts JM, et al. Vascular pool of releasable soluble VEGF receptor-1 (sFLT1) in women with previous preeclampsia and uncomplicated pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(3):978-87.
256. Benton SJ, Hu Y, Xie F, Kupfer K, Lee SW, Magee LA, et al. Angiogenic factors as diagnostic tests for preeclampsia: a performance comparison between two commercial immunoassays. *Am J Obstet Gynecol*. 2011;205(5):469 e1-8.
257. Cohen AL, Wenger JB, James-Todd T, Lamparello BM, Halprin E, Serdy S, et al. The association of circulating angiogenic factors and HbA1c with the risk of preeclampsia in women with preexisting diabetes. *Hypertens Pregnancy*. 2014;33(1):81-92.
258. Zhao M, Yin Y, Guo F, Wang J, Wang K, Chen Q. Placental expression of VEGF is increased in pregnancies with hydatidiform mole: possible association with developing very early onset preeclampsia. *Early Hum Dev*. 2013;89(8):583-8.
259. Stampalija T, Chaiworapongsa T, Romero R, Chaemsaihong P, Korzeniewski SJ, Schwartz AG, et al. Maternal plasma concentrations of sST2 and angiogenic/anti-angiogenic factors in preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013;26(14):1359-70.
260. Simmons LA, Hennessy A, Gillin AG, Jeremy RW. Uteroplacental blood flow and placental vascular endothelial growth factor in normotensive and pre-eclamptic pregnancy. *BJOG*. 2000;107(5):678-85.
261. Zhao S, Gu X, Groome LJ, Wang Y. Decreased nephrin and GLEPP-1, but increased VEGF, Flt-1, and nitrotyrosine, expressions in kidney tissue sections from women with preeclampsia. *Reprod Sci*. 2009;16(10):970-9.
262. Di Lorenzo G, Ceccarello M, Cecotti V, Ronfani L, Monasta L, Vecchi Brumatti L, et al. First trimester maternal serum PIGF, free beta-hCG, PAPP-A, PP-13, uterine artery Doppler and maternal history for the prediction of preeclampsia. *Placenta*. 2012;33(6):495-501.

263. Saleh L, Verdonk K, Danser AH, Steegers EA, Russcher H, van den Meiracker AH, et al. 8c.01: Sflt-1 and Plgf Measurements and Their Ratio for the Diagnosis and Prognosis of Preeclampsia in a High-Risk Cohort. *J Hypertens*. 2015;33 Suppl 1:e110.
264. Alvarez-Fernandez I, Prieto B, Rodriguez V, Ruano Y, Escudero AI, Alvarez FV. Role of vitamin D and sFlt-1/PIGF ratio in the development of early- and late-onset preeclampsia. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(7):1033-40.
265. Nucci M, Poon LC, Demirdjian G, Darbouret B, Nicolaides KH. Maternal serum placental growth factor isoforms 1 and 2 at 11-13, 20-24 and 30-34 weeks' gestation in late-onset pre-eclampsia and small for gestational age neonates. *Fetal Diagn Ther*. 2014;35(4):249-57.
266. Zhong Y, Tuuli M, Odibo AO. First-trimester assessment of placenta function and the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Prenat Diagn*. 2010;30(4):293-308.
267. Alasztics B, Kukor Z, Panczel Z, Valent S. [The pathophysiology of preeclampsia in view of the two-stage model]. *Orv Hetil*. 2012;153(30):1167-76.
268. Mikat B, Zeller A, Scherag A, Drommelschmidt K, Kimmig R, Schmidt M. beta-hCG and PAPP-A in first trimester: predictive factors for preeclampsia? *Hypertens Pregnancy*. 2012;31(2):261-7.
269. Skrastad RB, Hov GG, Blaas HG, Romundstad PR, Salvesen KA. A prospective study of screening for hypertensive disorders of pregnancy at 11-13 weeks in a Scandinavian population. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2014;93(12):1238-47.
270. Pilalis A, Souka AP, Antsaklis P, Daskalakis G, Papantoniou N, Mesogitis S, et al. Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler and PAPP-A at 11-14 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007;29(2):135-40.
271. Gu W, Lin J, Hou Y. [The value of maternal first and second trimester serum data of beta-hCG, PAPP-A, AFP and uE3 in the prediction of preeclampsia]. *Zhonghua fu chan ke za zhi*. 2015;50(2):101-7.
272. 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;28(1):7-10.
273. Moslemi Zadeh N, Naghshvar F, Peyvandi S, Gheshlaghi P, Ehetshami S. PP13 and PAPP-A in the First and Second Trimesters: Predictive Factors for Preeclampsia? *ISRN obstetrics and gynecology*. 2012;2012:263871.
274. Oancea MD, Costin N, Pop DM, Ciortea R, Miha D. Evaluation of serum beta-hCG and PAPP-A levels in pregnant women at risk of developing preeclampsia. *Clujul Med*. 2013;86(4):347-51.

275. Cohen JL, Smilen KE, Bianco AT, Moshier EL, Ferrara LA, Stone JL. Predictive value of combined serum biomarkers for adverse pregnancy outcomes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;181:89-94.
276. Muravska A, Germanova A, Jachymova M, Hajek Z, Svarcova J, Zima T, et al. Association of pregnancy-associated plasma protein A polymorphism with preeclampsia - a pilot study. *Clin Biochem.* 2011;44(17-18):1380-4.
277. Schulz O, Postnikov AB, Smolyanova TI, Katrukha AG, Schimke I, Jaffe AS. Clinical differences between total PAPP-A and measurements specific for the products of free PAPP-A activity in patients with stable cardiovascular disease. *Clin Biochem.* 2014;47(3):177-83.
278. Bonaca MP, Scirica BM, Sabatine MS, Jarolim P, Murphy SA, Chamberlin JS, et al. Prospective evaluation of pregnancy-associated plasma protein-a and outcomes in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(4):332-8.
279. Hanna N, Hanna I, Hleb M, Wagner E, Dougherty J, Balkundi D, et al. Gestational age-dependent expression of IL-10 and its receptor in human placental tissues and isolated cytotrophoblasts. *J Immunol.* 2000;164(11):5721-8.
280. Asvold BO, Eskild A, Vatten LJ. Human chorionic gonadotropin, angiogenic factors, and preeclampsia risk: a nested case-control study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2014;93(5):454-62.
281. Jelliffe-Pawlowski LL, Baer RJ, Currier RJ, Lyell DJ, Blumenfeld YJ, El-Sayed YY, et al. Early-onset severe preeclampsia by first trimester pregnancy-associated plasma protein A and total human chorionic gonadotropin. *Am J Perinatol.* 2015;32(7):703-12.
282. Gurbuz A, Karateke A, Mengulluoglu M, Gedikbasi A, Ozturkmen M, Kabaca C, et al. Can serum HCG values be used in the differential diagnosis of pregnancy complicated by hypertension? *Hypertens Pregnancy.* 2004;23(1):1-12.
283. Stenman UH, Tiitinen A, Alfthan H, Valmu L. The classification, functions and clinical use of different isoforms of HCG. *Hum Reprod Update.* 2006;12(6):769-84.
284. El-Baradie SM, Mahmoud M, Makhlof HH. Elevated serum levels of interleukin-15, interleukin-16, and human chorionic gonadotropin in women with preeclampsia. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada : JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada : JOGC.* 2009;31(2):142-8.
285. Manaster I, Mandelboim O. The unique properties of uterine NK cells. *Am J Reprod Immunol.* 2010;63(6):434-44.

286. Makris A, Xu B, Yu B, Thornton C, Hennessy A. Placental deficiency of interleukin-10 (IL-10) in preeclampsia and its relationship to an IL10 promoter polymorphism. *Placenta*. 2006;27(4-5):445-51.
287. Prins JR, Boelens HM, Heimweg J, Van der Heide S, Dubois AE, Van Oosterhout AJ, et al. Preeclampsia is associated with lower percentages of regulatory T cells in maternal blood. *Hypertens Pregnancy*. 2009;28(3):300-11.
288. Kovalevskaya G, Kakuma T, Schlatterer J, O'Connor JF. Hyperglycosylated HCG expression in pregnancy: cellular origin and clinical applications. *Mol Cell Endocrinol*. 2007;260-262:237-43.
289. Kalkunte S, Boij R, Norris W, Friedman J, Lai Z, Kurtis J, et al. Sera from preeclampsia patients elicit symptoms of human disease in mice and provide a basis for an in vitro predictive assay. *Am J Pathol*. 2010;177(5):2387-98.
290. Can M, Sancar E, Harma M, Guven B, Mungan G, Acikgoz S. Inflammatory markers in preeclamptic patients. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49(9):1469-72.
291. Guven MA, Coskun A, Ertas IE, Aral M, Zencirci B, Oksuz H. Association of maternal serum CRP, IL-6, TNF-alpha, homocysteine, folic acid and vitamin B12 levels with the severity of preeclampsia and fetal birth weight. *Hypertens Pregnancy*. 2009;28(2):190-200.
292. Huang LL, Su S, Awale R, Zhang XY, Zhong LL, Tang H. Expression of anti-inflammatory mediator lipoxin A4 and inflammation responsive transcription factors NF-kappa B in patients with preeclampsia. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2014;41(5):561-6.
293. Shamshirsaz AA, Paidas M, Krikun G. Preeclampsia, hypoxia, thrombosis, and inflammation. *J Pregnancy*. 2012;2012:374047.
294. Cemgil Arıkan D, Aral M, Coskun A, Ozer A. Plasma IL-4, IL-8, IL-12, interferon-gamma and CRP levels in pregnant women with preeclampsia, and their relation with severity of disease and fetal birth weight. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012;25(9):1569-73.
295. Sharma A, Satyam A, Sharma JB. Leptin, IL-10 and inflammatory markers (TNF-alpha, IL-6 and IL-8) in pre-eclamptic, normotensive pregnant and healthy non-pregnant women. *Am J Reprod Immunol*. 2007;58(1):21-30.
296. Chen Q, Stone P, Ching LM, Chamley L. A role for interleukin-6 in spreading endothelial cell activation after phagocytosis of necrotic trophoblastic material: implications for the pathogenesis of preeclampsia. *J Pathol*. 2009;217(1):122-30.
297. Walker JJ. Inflammation and preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2011;1(1):43-7.

298. Hu B, Yang J, Huang Q, Bao J, Brennecke SP, Liu H. Cyclosporin A significantly improves preeclampsia signs and suppresses inflammation in a rat model. *Cytokine*. 2016;81:77-81.
299. Naruse K, Tsunemi T, Onogi A, Koike N, Akasaka J, Oi H, et al. PP029. Genetic change of adipose tissue related to inflammation in preeclampsia: Findings under novel culture method. *Pregnancy Hypertens*. 2013;3(2):77.
300. Masuyama H, Nakatsukasa H, Takamoto N, Hiramatsu Y. Correlation between soluble endoglin, vascular endothelial growth factor receptor-1, and adipocytokines in preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(7):2672-9.
301. Cheng R, Ma JX. Angiogenesis in diabetes and obesity. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*. 2015;16(1):67-75.
302. Jia G, Martinez-Lemus LA, Sowers JR. Interaction of Adipogenesis and Angiogenesis in Dietary-Induced Obesity. *Diabetes*. 2015;64(7):2326-8.
303. Corvera S, Gealekman O. Adipose tissue angiogenesis: impact on obesity and type-2 diabetes. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(3):463-72.
304. Cao Y. Angiogenesis as a therapeutic target for obesity and metabolic diseases. *Chemical immunology and allergy*. 2014;99:170-9.
305. Herse F, Fain JN, Janke J, Engeli S, Kuhn C, Frey N, et al. Adipose tissue-derived soluble fms-like tyrosine kinase 1 is an obesity-relevant endogenous paracrine adipokine. *Hypertension*. 2011;58(1):37-42.
306. Salimi S, Farajian-Mashhadi F, Naghavi A, Mokhtari M, Shahrakipour M, Saravani M, et al. Different profile of serum leptin between early onset and late onset preeclampsia. *Dis Markers*. 2014;2014:628476.
307. Taylor BD, Ness RB, Olsen J, Hougaard DM, Skogstrand K, Roberts JM, et al. Serum leptin measured in early pregnancy is higher in women with preeclampsia compared with normotensive pregnant women. *Hypertension*. 2015;65(3):594-9.
308. Herse F, Bai Y, Staff AC, Yong-Meid J, Dechend R, Zhou R. Circulating and uteroplacental adipocytokine concentrations in preeclampsia. *Reprod Sci*. 2009;16(6):584-90.
309. Byers BD, Betancourt A, Lu F, Hankins GD, Longo M, Saade GR, et al. The effect of prepregnancy obesity and sFlt-1-induced preeclampsia-like syndrome on fetal programming of adult vascular function in a mouse model. *Am J Obstet Gynecol*. 2009;200(4):432 e1-7.



310. Gallos ID, Sivakumar K, Kilby MD, Coomarasamy A, Thangaratinam S, Vatish M. Pre-eclampsia is associated with, and preceded by, hypertriglyceridaemia: a meta-analysis. *BJOG*. 2013;120(11):1321-32.
311. Niromanesh S, Shirazi M, Dastgerdy E, Sharbaf FR, Khazaeipour Z. Association of hypertriglyceridaemia with pre-eclampsia, preterm birth, gestational diabetes and uterine artery pulsatility index. *Natl Med J India*. 2012;25(5):265-7.
312. Mori T, Shinohara K, Wakatsuki A, Watanabe K, Fujimaki A. Adipocytokines and endothelial function in preeclamptic women. *Hypertens Res*. 2010;33(3):250-4.
313. Spracklen CN, Smith CJ, Saftlas AF, Robinson JG, Ryckman KK. Maternal hyperlipidemia and the risk of preeclampsia: a meta-analysis. *Am J Epidemiol*. 2014;180(4):346-58.
314. Gonzalez-Guardia L, Yubero-Serrano EM, Rangel-Zuniga O, Marin C, Camargo A, Perez-Martinez P, et al. Influence of endothelial dysfunction on telomere length in subjects with metabolic syndrome: LIPGENE study. *Age (Dordr)*. 2014;36(4):9681.
315. Enaruna NO, Idemudia JO, Aikoriogie PI. Serum lipid profile and uric acid levels in preeclampsia in University of Benin Teaching Hospital. *Niger Med J*. 2014;55(5):423-7.
316. Baumfeld Y, Novack L, Wiznitzer A, Sheiner E, Henkin Y, Sherf M, et al. Correction: Pre-Conception Dyslipidemia Is Associated with Development of Preeclampsia and Gestational Diabetes Mellitus. *PloS one*. 2015;10(11):e0142462.
317. Siddiqui I. Maternal Serum Lipids in Women with Pre-eclampsia. *Ann Med Health Sci Res*. 2014;4(4):638-41.
318. Bodnar LM, Ness RB, Harger GF, Roberts JM. Inflammation and triglycerides partially mediate the effect of prepregnancy body mass index on the risk of preeclampsia. *Am J Epidemiol*. 2005;162(12):1198-206.
319. Alvino G, Cozzi V, Radaelli T, Ortega H, Herrera E, Cetin I. Maternal and fetal fatty acid profile in normal and intrauterine growth restriction pregnancies with and without preeclampsia. *Pediatr Res*. 2008;64(6):615-20.
320. Zhao J, Zheng DY, Yang JM, Wang M, Zhang XT, Sun L, et al. Maternal serum uric acid concentration is associated with the expression of tumour necrosis factor-alpha and intercellular adhesion molecule-1 in patients with preeclampsia. *J Hum Hypertens*. 2015.
321. Elmas O, Aliciguzel Y, Simsek T. The relationship between hypertension and plasma allantoin, uric acid, xanthine oxidase activity and nitrite, and their predictive capacity in severe preeclampsia. *J Obstet Gynaecol*. 2016;36(1):34-8.

322. Matias ML, Romao M, Weel IC, Ribeiro VR, Nunes PR, Borges VT, et al. Endogenous and Uric Acid-Induced Activation of NLRP3 Inflammasome in Pregnant Women with Preeclampsia. *PloS one*. 2015;10(6):e0129095.
323. Masoura S, Makedou K, Theodoridis T, Kourtis A, Zepiridis L, Athanasiadis A. The involvement of uric acid in the pathogenesis of preeclampsia. *Current hypertension reviews*. 2015;11(2):110-5.
324. Corominas AI, Balconi SM, Palermo M, Maskin B, Damiano AE. [Serum uric acid levels and risk of developing preeclampsia]. *Medicina (B Aires)*. 2014;74(6):462-71.
325. Mador ES, Pam IC, Isichei CO. Uric acid: A hypothetical cause of preeclampsia-eclampsia. *Niger Med J*. 2013;54(5):362-4.
326. Wu Y, Xiong X, Fraser WD, Luo ZC. Association of uric acid with progression to preeclampsia and development of adverse conditions in gestational hypertensive pregnancies. *Am J Hypertens*. 2012;25(6):711-7.
327. Johnson RJ, Kanbay M, Kang DH, Sanchez-Lozada LG, Feig D. Uric acid: a clinically useful marker to distinguish preeclampsia from gestational hypertension. *Hypertension*. 2011;58(4):548-9.
328. Agarwal V, Gupta BK, Vishnu A, Mamtatyagi, Shiprasolanki, Kiran J. Association of Lipid Profile and Uric Acid with Pre-eclampsia of Third Trimester in Nullipara Women. *J Clin Diagn Res*. 2014;8(7):CC04-7.
329. Escudero C, Bertoglia P, Munoz F, Roberts JM. [Uric acid and purine plasma levels as plausible markers for placental dysfunction in pre-eclampsia]. *Rev Med Chil*. 2013;141(7):895-902.
330. Bellomo G. Serum uric acid and pre-eclampsia: an update. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2012;10(6):701-5.
331. Pereira KN, Knoppka CK, da Silva JE. Association between uric acid and severity of pre-eclampsia. *Clin Lab*. 2014;60(2):309-14.
332. Martin AC, Brown MA. Could uric acid have a pathogenic role in pre-eclampsia? *Nature reviews Nephrology*. 2010;6(12):744-8.
333. 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;109(6):1368-74.

334. Schaarschmidt W, Rana S, Stepan H. The course of angiogenic factors in early- vs. late-onset preeclampsia and HELLP syndrome. *J Perinat Med.* 2013;41(5):511-6.
335. Plaisier M, Streefland E, Koolwijk P, van Hinsbergh VW, Helmerhorst FM, Erwich JJ. Angiogenic growth factors and their receptors in first-trimester human decidua of pregnancies further complicated by preeclampsia or fetal growth restriction. *Reprod Sci.* 2008;15(7):720-6.
336. Hentges CR, Silveira RC, Procianoy RS. Angiogenic and Antiangiogenic Factors in Preterm Neonates Born to Mothers with and without Preeclampsia. *Am J Perinatol.* 2015;32(12):1185-90.
337. Crovetto F, Figueras F, Triunfo S, Crispi F, Rodriguez-Sureda V, Dominguez C, et al. First trimester screening for early and late preeclampsia based on maternal characteristics, biophysical parameters, and angiogenic factors. *Prenat Diagn.* 2015;35(2):183-91.
338. Anderson UD, Olsson MG, Kristensen KH, Akerstrom B, Hansson SR. Review: Biochemical markers to predict preeclampsia. *Placenta.* 2012;33 Suppl:S42-7.
339. Verlohren S, Stepan H, Dechend R. Angiogenic growth factors in the diagnosis and prediction of pre-eclampsia. *Clin Sci (Lond).* 2012;122(2):43-52.
340. Hagmann H, Thadhani R, Benzing T, Karumanchi SA, Stepan H. The promise of angiogenic markers for the early diagnosis and prediction of preeclampsia. *Clin Chem.* 2012;58(5):837-45.
341. Parra-Cordero M, Rodrigo R, Barja P, Bosco C, Rencoret G, Sepulveda-Martinez A, et al. Prediction of early and late pre-eclampsia from maternal characteristics, uterine artery Doppler and markers of vasculogenesis during first trimester of pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41(5):538-44.
342. Villa PM, Hamalainen E, Maki A, Raikkonen K, Pesonen AK, Taipale P, et al. Vasoactive agents for the prediction of early- and late-onset preeclampsia in a high-risk cohort. *BMC pregnancy and childbirth.* 2013;13:110.