

UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET

Gorica S. Marković

**BIOMARKERI INFLAMACIJE I
KVALITATIVNE I KVANTITATIVNE
KARAKTERISTIKE LIPOPROTEINA VISOKE
GUSTINE U PROCENI RIZIKA ZA RAZVOJ
PREEKLAMPSIJE**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2025

UNIVERSITY IN BELGRADE

FACULTY OF PHARMACY

Gorica S. Marković

**INFLAMMATORY MARKERS AND
QUALITATIVE AND QUANTITATIVE HIGH
DENSITY LIPOPROTEIN PARTICLE
CHARACTERIZATION IN PREECLAMPSIA
RISK ASSESSMENT**

DOCTORAL DISSERTATION

Belgrade, 2025

Mentor: *Dr sc Aleksandra Stefanović, redovni profesor,*
Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:

Dr sc. Aleksandra Zeljković, redovni profesor
Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Dr sc. Daniela Ardalić, naučni saradnik
Ginekološko-akušerska klinika „Narodni Front“ u Beogradu

Dr sc. Željko Miković, redovni profesor
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Datum odbrane _____

ZAHVALNICA

Ova doktorska disertacija urađena je u Institutu za Medicinsku biohemiju Farmaceutskog fakulteta u Beogradu, u saradnji sa Ginekološko - akušerskom Klinikom „Narodni Front“ u Beogradu, pod rukovodstvom dr sc. Aleksandre Stefanović i dr sc. Daniele Ardalić

Zahvaljujem se mentoru ovog rada dr sc. Aleksandri Stefanović na pomoći prilikom dugogodišnjeg rada na ovoj doktorskoj disertaciji, na razumevanju i toplim rečima podrške, zahvaljujem se za sav trud koji je uložila u ovu disertaciju.

Zahvaljujem se prof. dr Željku Mikoviću na pomoći oko dizajniranja studije, definisanja ispitivane populacije, sprovođenja studije.

Zahvaljujem se dr sc. Aleksandri Zeljković na pomoći prilikom izrade disertacije, kao i praktičnog dela rada koji je rađen na Farmaceutskom fakultetu.

Zahvaljujem se dr sc. Danieli Ardalić na pomoći oko dizajniranja studije, sprovođenja procesa prikupljanja i obrade uzoraka, kao i svim sugestijama i savetima tokom ovog istraživanja.

Ovu doktorsku disertaciju posvećujem mojoj deci, Dušanu i Aleksi.

SAŽETAK

Hipertenzivne komplikacije u trudnoći, uključujući i preeklampsiju, predstavljaju najčešće uzročnike morbiditeta i mortaliteta, kako majke, tako i fetusa. Prema preporukama Američkog društva za ginekologiju i akušerstvo (engl. American College of Obstetricians and Gynecologists – ACOG) dijagnoza hipertenzije u trudnoći postavlja se ukoliko je sistolni pritisak ≥ 140 mmHg i/ili dijastolni pritisak ≥ 90 mmHg kod trudnica koje nisu do tada imale dijagnozu hipertenzije. Preeklampsija (PE) se dijagnostikuje sa pojavom *de novo* hipertenzije ($\geq 140/90$ mmHg) nakon 20. nedelje gestacije, sa ili bez proteinurije (≥ 300 mg/24 h), ali uz kliničke znake edema, hematoloških poremećaja, renalne, pulmonarne ili hepatične disfunkcije. Prosečna globalna incidenca PE iznosi oko 4,6%.

Prema Internacionalnom udruženju za ispitivanje hipertenzivnih oboljenja u trudnoći (engl. International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy ISSHP), rana PE nastupa pre 34. nedelje gestacije i karakteriše je teža klinička slika češće udružena sa intrauterusnim zastojem u rastu ploda (engl. Intrauterine growth restriction, IURG) i prevremenim porođajem, dok se dijagnoza kasne PE postavlja nakon 34. nedelje gestacije, karakteriše je blaža klinička slika i u većem broju slučajeva je praćena prevremenim porođajem. PE je multisistemska bolest čija etiologija i patogeneza još uvek intrigira kako stručnu, tako i naučnu javnost.

Prema NICE (The National Institute for Health and Care Excellence) preporukama, trudnica je u riziku da razvije PE ukoliko ima više umerenih ili jedan faktor visokog rizika za razvoj PE, pri čemu su faktori visokog rizika: hipertenzija ili PE u prethodnoj trudnoći, hronična hipertenzija, bolesti bubrega, dijabetes mellitus tip 1 ili 2, autoimune bolesti i višeploidne trudnoće. Faktori umerenog rizika su : prva trudnoća, starost preko 40 godina, ITM ≥ 35 kg/m², pozitivna porodična anamneza i period između trudnoća duži od 10 godina.

Skrining koji NICE i ACOG vodiči preporučuju za ranu selekciju i tretman trudnica koje su u riziku ima nisku stopu detekcije, međutim u kombinaciji sa merenjem srednjeg arterijskog pritiska i pulsatilnog indeksa krvnih sudova materice, poboljšava se stepen predikcije. FMF (The Fetal Medicine Foundation) jedini preporučuje pristup procene rizika u prvom trimestru na osnovu faktora rizika majke, ultrazvučnih merenja, merenja protoka kroz arterije materice (UtA-Pi) i merenja biohemijskih markera angiogenze (placentalnog faktora rasta-PlGF, plazma proteina A udruženog sa trudnoćom-PAPP-A). Za skrining u drugom trimestru, FMF preporučuje merenje koncentracija placentalnog solubilnog fms tirozin kinazi 1- sličan receptor (sFlt-1) i PlGF u serumu trudnica, pri čemu odnos sFlt1/PlGF ima bolju

dijagnostičku tačnost nego pojedinačne vrednosti ovih markera sa 95% senzitivnosti i 84% specifičnosti u dijagnozi PE.

U ovom istraživanju pratili smo promene koncentracija biomarkera inflamacije kroz trimestre trudnoće kod trudnica koje su, na osnovu trenutno aktuelnih preporuka i smernica od strane internacionalnih udruženja, u riziku za razvoj PE. Kako inflamacija u velikoj meri doprinosi patofiziološkoj osnovi PE, praćenje ovih markera longitudinalno od početka do kraja trudnoće moglo bi ukazati na karakteristične obrasce preko kojih inflamacija utiče na pojavu i tok bolesti u toku različitih faza gestacije.

Od rutinskih inflamatornih laboratorijskih parametara pratili smo visoko senzitivni C-reaktivni protein (hsCRP), laktat dehidrogenazu (LDH) i mokraćnu kiselinu, koji su u brojnim studijama pokazali pozitivnu korelaciju sa težinom kliničke slike u hipertenzivnim komplikacijama u trudnoći.

Od novijih markera koji se ne koriste u rutinskom laboratorijskom radu, u ovom istraživanju smo pratili koncentracije rezistina, monocitnog hemotaktičnog proteina 1 (MCP-1), heparin -vezujućeg epidermalnog faktora rasta (Hb-egf) i serumskog amiloida A (SAA). Ekspresija rezistina je regulisana mehanizmom pozitivne povratne sprege sa monocitno – makrofagnom diferencijacijom, kao i sa aktivacijom proinflamatornih medijatora tipa $TNF\alpha$, $IL1\beta$ i IL-6, koji povećavaju ekspresiju rezistina u mononuklearnim ćelijama, što ukazuje na njegovu ulogu u inflamatornim procesima. Glavna funkcija MCP-1 je vezana za aktivaciju i migraciju leukocita na mesto inflamacije, pa se stoga smatra proinflamatornim citokinom. Hb-egf je glikoprotein kojeg ekspimiraju mnoge ćelije uključujući makrofage, glatke mišićne i endotelne ćelije. Nalazi se u različitim tkivima - srcu, mozgu, plućima i skeletnim mišićima. Smatra se da Hb-egf ima značajnu ulogu u procesu angiogeneze, koju ostvaruje preko aktivacije endotelne azot oksid sintaze (eNOS) i oslobađanja NO. Sa druge strane, smatra se da inhibicijom MAPK (engl. mitogen activated protein kinase) signalnog puta Hb-egf povećava migraciju endotelnih ćelija i angiogenezu. SAA je protein akutne faze koji proizvodi prvenstveno jetra kao odgovor na inflamaciju. Njegov nivo se može značajno povećati tokom trudnoće, posebno kao odgovor na infekcije, autoimune bolesti ili druge zapaljenske procese. Povišeni nivoi SAA u trudnoći mogu ukazivati na infekciju, PE, gestacijski dijabetes melitus ili druga inflamatorna stanja. Nivoi SAA su često povišeni kod žena sa PE u poređenju sa normotenzivnim trudnicama. Ovo sugerise da bi SAA potencijalno mogao da posluži kao biomarker za otkrivanje ili praćenje ovog stanja, iako se ne koristi u rutinskoj kliničkoj praksi.

Trudnoću bez komplikacije prate brojne metaboličke promene koje dovode do izmenjenog lipidnog profila. Najizraženiji je porast koncentracije triglicerida i ukupnog holesterola, ali i holesterola

u lipoproteinskim česticama niske gustine (*eng. low density lipoprotein- LDL-C*) i slobodnih masnih kiselina. Koncentracija holesterola u lipoproteinskim česticama visoke gustine (*eng. high density lipoprotein- HDL-C*) se od drugog trimestra povećava i ostaje povišena do kraja trudnoće. Iako se smatra da je dislipidemija koja se javlja u trudnoći, adaptivna promena neophodna za pravilan rast i razvoj ploda, ona je ipak specifična i kontrolisana brojnim mehanizmima. Sastav i funkcija serumskih lipoproteina u visokorizičnim trudnoćama još uvek su nedovoljno ispitani ali je pokazano da je stepen dislipidemije u ranoj trudnoći udružen sa povećanim rizikom za razvoj PE.

U tom smislu, promene koncentracije, ali i strukture HDL čestica su važan faktor u patogenezi PE. Kardioprotektivni efekti HDL čestica se ostvaruju preko nekoliko mehanizama, međutim, antiinflamatorna, antioksidativna i antiaterogena funkcija u organizmu, zajedno sa regulacijom endotelne funkcije koja pospešuje produkciju NO i održava endotelni integritet, su najznačajnije u kontekstu trudnoće. Osim toga, HDL sadrži enzim paraoksonazu 1 (PON1) koji štiti HDL i LDL lipoproteine od oksidativnih modifikacija tako što omogućava katabolizam oksidovanih fosfolipida i holesterol estara.

Ova studija imala je za cilj razvoj prediktivnih modela kroz identifikaciju novih inflamatornih biomarkera za ranu predikciju PE, kao i karakterizaciju lipidnih abnormalnosti u PE, pre svega analizu HDL subfrakcija i njihove funkcionalnosti.

Proces selekcije trudnica sa povišenim rizikom za razvoj PE obavio se prilikom njihove prve posete radi prenatalnog pregleda, u periodu od 11+0 do 13+6 nedelje gestacije, u Ginekološko-akušerskoj Klinici „Narodni Front“. U studiji je do kraja ispraćena 91 trudnica. Broj trudnica koje su završile trudnoću a nisu razvile preeklampsiju bio je 71, dok je 20 trudnica razvilo PE. Biomarkeri od značaja za ovu studiju analizirani su kod ove grupe trudnica longitudinalnim praćenjem u prvom (11-14 ng), drugom (22-25 ng), trećem (28-32 ng) trimestru, kao i pred porođaj (37-38 ng).

Rezultati naše studije su pokazali da klinički parametri koji se koriste za procenu rizika za razvoj PE, PlGF i sFlt-1 kao i odnos sFlt-1/PLGF, nisu bili značano različiti između dve ispitivane grupe trudnica, što ide u korist teoriji da su ovi markeri bolji prediktori rane PE. Ispitivanjem rutinskih parametara inflamacije dobili smo statistički značajno više vrednosti mokraćne kiseline kod trudnice koje su razvile PE u odnosu na one koje nisu ($p < 0,05$). Od novih, specifičnih inflamatornih markera, rezistin je pokazao statistički značajno više vrednosti u PE grupi trudnica ($p < 0,001$). Rezistin se već u prvom trimestru razlikovao i može biti potencijalan prediktivni marker. MCP-1 se takođe statistički značajno razlikovao u prvom trimestru sa višim vrednostima kod PE trudnica u odnosu na VRT grupu ($p < 0,05$). Ispitivanjem lipidnog statusa, trudnice koje su razvile PE karakteriše hiperlipidemija i hipertrigliceridemija. Izmenjen je sastav HDL čestica pri čemu su PE trudnice imale veći udeo HDL 2b subfrakcija u svim tačkama ispitivanja ali bez statističke značajnosti, dok je procentualni udeo HDL 3a

subfrakcije je bio niži kod PE trudnica u odnosu na VRT. Poređenje ukupne aktivnosti enzima PON1 između dve grupe trudnica, VRT grupa je imala niže vrednosti u odnosu na PE ali bez statističke značajnosti.

Kao jedan od ciljeva ove studije jeste pravljenje modela za procenu rizika za razvoj PE. ROC analizom smo poredili modele sa parametrima koji se koriste u kliničkoj praksi sa našim, novim modelima. U nove modele smo ubacivali one parametre od značaja, koji su analizom logističke regresije pokazali statističku značajnost. Modeli koji su pored osnovnih kliničkih parametara za predikciju imali i neki od novih specifičnih inflamatornih markera pokazali su bolju prediktivnu tačnost.

Prema rezultatima našeg istraživanja možemo zaključiti da je visokorizična trudnoća stanje intenzivne inflamacije, neadekvatnog antioksidativnog odgovora, sa izmenjenim lipidnim profilom u pravcu hiperlipidemije i hipertrigliceridemije sa potencijalnim proaterogenim remodeliranjem HDL čestica, i kao takvo predstavlja osnovu za razvoj PE. Rezultati našeg istraživanja ističu rezistin i MCP-1 kao inflamatorne parametre od značaja u predikciji PE.

Ključne reči: Visokorizična trudnoća, preeklampsija, inflamacija, lipoproteinske čestice visoke gustine.

Naučna oblast: Farmacija

Uža naučna oblast: Medicinska biohemija

ABSTRACT

Hypertensive complications during pregnancy, including preeclampsia (PE), are among the most common causes of morbidity and mortality for both the mother and fetus. According to the guidelines from the American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG), the diagnosis of pregnancy-induced hypertension is made when the systolic blood pressure reaches ≥ 140 mmHg and/or diastolic blood pressure ≥ 90 mmHg in women who had not previously been diagnosed with hypertension. Preeclampsia is diagnosed when *de novo* hypertension ($\geq 140/90$ mmHg) arises after 20 weeks of gestation, with or without proteinuria (≥ 300 mg/24 h), accompanied by clinical signs such as edema, hematological disorders, and dysfunction in renal, pulmonary, or hepatic systems. The global average incidence of PE is around 4.6%.

According to the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP), early-onset preeclampsia occurs before 34 weeks of gestation and is characterized by more severe clinical manifestations, often associated with intrauterine growth restriction (IUGR) and preterm birth. Late-onset preeclampsia, diagnosed after 34 weeks of gestation, typically presents with milder symptoms and is less frequently linked to preterm delivery. Preeclampsia is a multisystemic disorder, and its etiology and pathogenesis remain a subject of ongoing interest within both clinical and scientific communities.

The National Institute for Health and Care Excellence (NICE) recommends that pregnant women at risk of developing PE should be identified based on the presence of multiple moderate risk factors or a single high-risk factor. High-risk factors include previous hypertension or preeclampsia, chronic hypertension, kidney disease, type 1 or type 2 diabetes, autoimmune diseases, and multiple pregnancies. Moderate risk factors include primigravida status, age over 40 years, body mass index (BMI) ≥ 35 kg/m², a positive family history, and a gap of more than 10 years between pregnancies.

Although individual screenings are available, both NICE and ACOG guidelines continue to recommend screening for early selection and management of pregnant women at risk. Such screenings have a low detection rate, but when combined with measurements of mean arterial pressure and the uterine artery pulsatility index (UtA-PI), the detection rate improves. The Fetal Medicine Foundation (FMF) advocates for a first-trimester risk assessment approach based on maternal factors, ultrasound measurements, uterine artery blood flow (UtA-PI), and biochemical markers of angiogenesis (placental growth factor - PlGF and pregnancy-associated plasma protein A - PAPP-A). For second-trimester

screening, FMF recommends measuring serum concentrations of soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) and PlGF, where the sFlt-1/PlGF ratio provides a more reliable diagnostic value with 95% sensitivity and 84% specificity in diagnosing PE.

This study aimed to monitor the changes in inflammatory biomarker concentrations across trimesters in pregnant women identified as being at risk for developing PE, based on current international guidelines. Given the significant role of inflammation in the pathophysiology of PE, longitudinal monitoring of these biomarkers from early to late pregnancy could provide insights into the characteristic patterns by which inflammation influences the onset and progression of the disease.

We monitored routine laboratory parameters such as high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), lactate dehydrogenase (LDH), and uric acid, all of which have shown positive correlations with the severity of hypertensive complications in pregnancy in numerous studies. Additionally, we assessed newer markers that are not yet routinely used in clinical practice, including resistin, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), heparin-binding epidermal growth factor (Hb-EGF), and serum amyloid A (SAA).

Resistin expression is regulated by a positive feedback mechanism with monocyte-macrophage differentiation and the activation of pro-inflammatory mediators such as TNF- α , IL-1 β , and IL-6, which enhance resistin expression in mononuclear cells, highlighting its role in inflammatory processes. MCP-1 is a pro-inflammatory cytokine involved in the activation and migration of leukocytes to sites of inflammation. Hb-EGF is a glycoprotein expressed by various cells, including macrophages, smooth muscle cells, and endothelial cells. It is involved in angiogenesis through the activation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and the release of nitric oxide (NO), contributing to endothelial function. SAA is an acute-phase protein produced primarily by the liver in response to inflammation and has been found to be elevated in PE compared to normotensive pregnancies, suggesting its potential as a biomarker for the detection or monitoring of this condition.

Pregnancy without complications is associated with numerous metabolic changes, including alterations in lipid profiles. The most prominent changes include an increase in triglyceride and total cholesterol levels, as well as an increase in low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and free fatty acids. On the other hand, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) concentrations increase from the second trimester and remain elevated throughout pregnancy. Although pregnancy-related dyslipidemia is considered an adaptive change necessary for fetal growth and development, it is regulated by various mechanisms. The composition and function of serum lipoproteins in high-risk pregnancies are still insufficiently studied, but it has been shown that early pregnancy dyslipidemia is associated with an increased risk of PE.

In this context, changes in the concentration and structure of HDL particles are important in the pathogenesis of PE. The cardioprotective effects of HDL particles are mediated through anti-inflammatory, antioxidative, and anti-atherogenic properties, along with the regulation of endothelial function, which promotes NO production and maintains endothelial integrity. Additionally, HDL contains the enzyme paraoxonase-1 (PON1), which protects HDL and LDL particles from oxidative modification by catalyzing the breakdown of oxidized phospholipids and cholesterol esters.

The selection of pregnant women at high risk for PE was performed during their first prenatal visit, between 11+0 and 13+6 weeks of gestation, at the Gynecological-Obstetrical Clinic "Narodni Front." A total of 91 pregnant women were followed until delivery. Of these, 71 completed their pregnancy without developing PE, while 20 women developed PE. Biomarkers relevant to this study were analyzed longitudinally at different gestational stages: first trimester (11-14 weeks), second trimester (22-25 weeks), third trimester (28-32 weeks), and pre-delivery (37-38 weeks).

Our study results showed that clinical parameters used to assess the risk of PE, such as PlGF, sFlt-1, and the sFlt-1/PlGF ratio, did not significantly differ between the two groups of pregnant women. This supports the theory that these markers are more relevant for the prediction of early-onset PE rather than late-onset PE. When examining routine inflammatory parameters, we observed significantly higher levels of uric acid in the PE group compared to the high risk pregnancy (HRP) group ($p < 0.05$). Among new, specific inflammatory markers, resistin showed statistically significantly higher values in the PE group ($p < 0.001$) and differentiated early in pregnancy, suggesting its potential as a predictive marker. MCP-1 also showed significant differences in the first trimester, with higher values in the PE group compared to controls ($p < 0.05$). Lipid analysis revealed that women who developed PE exhibited hyperlipidemia and hypertriglyceridemia. The composition of HDL particles was altered, with PE women having a higher proportion of HDL 2b subfraction, although this was not statistically significant. Additionally, the percentage of HDL 3a subfraction was lower in the PE group compared to HRP group. Comparison of PON1 enzyme activity between the two groups showed reduced values in women who did not develop PE.

One of the goals of this study was to develop a predictive model for PE risk. ROC analysis compared our new models, incorporating significant parameters identified through logistic regression, with models currently used in clinical practice. The inclusion of specific inflammatory markers significantly improved the predictive value and accuracy of these models.

In conclusion, our study suggests that high-risk pregnancies are characterized by intense inflammation, inadequate antioxidant response, and altered lipid profiles indicative of hyperlipidemia and hypertriglyceridemia, potentially leading to pro-atherogenic remodeling of HDL lipoproteins. These

factors contribute to the pathogenesis of pregnancy complications, particularly preeclampsia. The results of our research highlight resistin and MCP-1 as inflammatory parameters of significance in the prediction of PE.

Key words: High-risk pregnancy, preeclampsia, inflammation, high-density lipoprotein particles.

Scientific field: Pharmacy

Specialized scientific field: Medical Biochemistry

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. FIZIOLOŠKE PROMENE U TRUDNOĆI.....	1
1.1. Endokrinološke promene.....	2
1.2. Metaboličke promene.....	3
1.3. Kardiovaskularne promene.....	3
1.4. Hematološke promene	3
2. KOMPLIKACIJE U TRUDNOĆI.....	4
3. HIPERTENZIVNE KOMPLIKACIJE U TRUDNOĆI.....	5
3.1. Klasifikacija hipertenzivnih poremećaja u trudnoći.....	6
4. PREEKLAMPSIJA.....	7
4.1. Epidemiologija preeklampsije.....	7
4.2. Faktori rizika za razvoj preeklampsije.....	8
4.3. Faktori rizika koji se povezuju sa trudnoćom.....	8
4.4. Podela preeklampsije.....	10
5. PATOGENEZA PREEKLAMPSIJE.....	12
5.1. Placenta.....	12
5.2. Angiogeneza i vaskulogeneza.....	14
5.3. Trofoblasti.....	15
5.4. Dubina invazije trofoblasta i preeklampsija.....	15
5.5. Faze patogeneze preeklampsije.....	16
6. SKRINING NA PREEKLAMPSIJU.....	21
7. TERAPIJA PREEKLAMPSIJE.....	23
8. INFLAMACIJA U PREEKLAMPSIJI.....	24

8.1. Markeri inflamacije.....	26
9. METABOLIZAM LIPIDA U TRUDNOĆI.....	31
9.1. Dislipidemija u trudnoći.....	32
9.2. HDL čestice u trudnoći.....	34
10. AKTIVNOST ENZIMA PON1 U TRUDNOĆI.....	39
CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	40
MATERIJALI I METODE	41
1.Ispitivana populacija.....	41
2.Ispitivani parametri.....	44
3.Metode određivanja.....	45
3.1.ITM.....	45
3.2.MAP.....	45
3.3.MUtA-Pi.....	45
3.4.Biohemijski parametri.....	46
3.5.Abbott Clinical Diagnostics hematološki parametri	46
3.6.Koncentracija biohemijskih parametara koji se mogu koristiti za predikciju PE.....	46
3.7.Određivanje rezistina	46
3.8.Određivanje Hb-egf	48
3.9.Određivanje koncentracije SAA.....	50
3.10.Određivanje koncentracije MCP-1	51
3.11.Razdvajanje HDL subfrakcija	53
3.12.Određivanje HDL dijametara.....	57
3.13.Određivanje aktivnosti enzima PON1.....	59
4. Statistička obrada podataka.....	60
REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....	61

Demografske karakteristike trudnica.....	61
Indeks telesne mase, dobijanje u težini i srednji arterijski pritisak.....	63
Biohemijski i hematološki parametri.....	66
Klinički parametri za procenu rizika za razvoj PE.....	72
Inflamatorni markeri.....	73
Lipidni parametri	80
Aktivnost PON1 enzima.....	85
Analiza logističke regresije za parametre prvog trimestra udružene sa PE kao ishodom.....	87
Multivarijantna logistička regresiona analiza potencijalnih prediktora PE i modeli predikcije.....	88
DISKUSIJA.....	95
ZAKLJUČCI.....	121
LITERATURA.....	124

Skraćenice korišćene u tekstu

ABCA1- ATP vezujući kasetni transporter A1
 ACOG - American College of Obstetricians and Gynecologists
 ALT - alanin aminotransferaza
 ANOVA - analiza varijanse
 ApoA1 - apolipoprotein A1
 ART- asistirana reproduktivna tehnologija
 ATP - adenzin 5' trifosfat
 AST - aspartat aminotransferaza
 ART-Asistirana reproduktivna tehnologija
 CETP - holesterol estar transportni protein
 CI - interval pouzdanosti
 DC- dendritske ćelije
 DMSO - dimetilsulfoksid
 DTNB - 2,2'-dinitro-5,5'-ditio-benzojeva kiselina
 EDTA - etilendiamintetrasirćetna kiselina
 eNOS- endotelna azot oksid sintaza
 EL- endotelna lipaza
 FMF -Fetal Medicine Foundation
 Hb - hemoglobin
 Hb-EGF- heparin vezujući epidermalni faktor rasta

HCG- humani placenti laktogen
Hct - hematokrit
HDL - HDL lipoproteinske čestice
HDL-C- HDL holesterol
HELLP- hemoliza, povišeni enzimi jetre, niski trombociti
HL - hepatička lipaza
hsCRP - visoko senzitivni C reaktivni protein
ITM - indeks telesne mase
IUGR - intrauterini zastoj u rastu fetusa
ISSHP-Internacionalnom udruženju za ispitivanje hipertenzivnih oboljenja u trudnoći
KVB - kardiovaskularna bolest
LCAT- lecitin holesterol acil transferaza
LDL - LDL lipoproteinske čestice
LDL -C - LDL holesterol
LPL- lipoproteinska lipaza
MCH- prosečan sadržaj hemoglobina u eritocitu
MCHC - prosečna koncentracija hemoglobina u eritocitima MCV - prosečna zapremina eritrocita
MCP1- monocitni hemotakstični protein 1
MUtA-Pi- srednji pulsatilni indeks uterinih arterija
NICE-National Institute for Health and Care Excellence
NO -azotmonoksid
NK- natural killer cell (ćelije ubice)
NLA- nacionalna lipidna asocijacija
PAPP-A – plazma protein udružen sa trudnoćom
PE-preeklampsija
PLGF -placentalni faktor rasta
PPAR γ - gama receptora aktiviranog proliferatorom peroksizoma
pO₂ -parcijalni pritisak kiseonika
PON1 - paraoksonaza 1
SAA- serum amyloid A
SD - standardna devijacija
SMK-slobodne masne kiseline
sFlt-1-solubilni fragment receptora sličnom tirozinu 1
sEng-solubilni endoglin
TBARS - tiobarbiturna kiselina-reagujuće supstance
TG - trigliceridi
TMB - tetrametilbenzidin
TNF - α – tumor nekrosis faktor- α
TNF- α -tumor necrosis factor
IL-6- interleukina 6
VLDL- lipoproteini vrlo male gustine
VRT- visokorizična trudnoća

UVOD

1. FIZIOLOŠKE PROMENE U TRUDNOĆI

Trudnoća počinje formiranjem blastociste i zahteva intenzivne promene u organizmu majke kako bi se održala. Pre svega formira se novi, privremeni organ–placenta, koji drži embrion pričvršćen za zid materice i odgovorna je za snadbevanje embriona metabolitima i hormonima neophodnim za rast i razvoj. Pre trudnoće težina materice iznosi oko 70gr, dok tokom trudnoće dolazi do njene hipertrofije i dilatacije i do kraja trudnoće ovaj organ ima težinu oko 1100gr. Hipertrofija, koja je uslovljena delovanjem estrogena i progesterona, odnosi se na postojeće mišićne ćelije, ali i na stvaranje novih mišićnih ćelija, fibroznih i elastičnih vlakana, kao i formiranje novih krvnih i limfnih sudova [1].

1.1 Endokrinološke promene

Hormonski status majke ima ključnu ulogu u modulaciji metaboličkih i imunoloških promena, neophodnih za fiziološki tok trudnoće. U prvoj polovini trudnoće progesteron i estrogen su poreklom iz jajnika i nadbubrežnih žlezda majke, dok u drugoj polovini trudnoće placenta postaje glavni izvor ovih hormona [2].

Hipofiza majke se uvećava, kao i lučenje njenih hormona. Koncentracija prolaktina raste i do 10 puta, a posle porođaja lučenje prolaktina ima karakterističan pulsatilni ciklus koji reguliše proces laktacije. Humani horionski gonadotropin (HCG) sintetiše se u placenti i intenzivno se luči u toku prvog trimestra [3].

Aktivnost štitaste žlezde majke se značajno menja tokom trudnoće. Naglo povećanje nivoa HCG tokom prvog trimestra može dovesti do povećane sinteze tiroidnih hormona i posledičnog sniženja nivoa tireotropin stimulišućeg hormona (TSH), usled strukturne sličnosti sa TSH. Visok nivo estrogena indukuje povećanu proizvodnju tireoglobulina (TBG), što sve zajedno dovodi do povećanja koncentracije ukupnog tiroksina (T4) i do 50% u odnosu na negravidno stanje [4].

1.2. Metaboličke promene

Trudnoća je stanje praćeno velikim brojem metaboličkih promena, koje su neophodne za pravilan tok trudnoće, rast i razvoj fetusa i laktaciju novorođenčeta. Tokom trudnoće dolazi do različitih promena u metabolizmu ugljenih hidrata, lipida i proteina kod majke, kako bi se obezbedilo adekvatno snabdevanje fetusa nutrijentima.

Prosečno dobijanje u kilaži trudnice je oko 14kg i nastaje usled porasta materice, placente, fetusa, dojki i zapremina intra i ekstravaskularne tečnosti, a jednim delom i zbog deponovanja masti, proteina i vode [5].

Metabolizam ugljenih hidrata karakteriše blaga hipoglikemija natašte, hiperinsulinemija i periferna insulinska rezistencija [6]. Smanjena je osetljivost perifernih tkiva na insulin, a time i transfer glukoze u ista pa se javlja postprandijalna hiperglikemija. Fetus prvenstveno zavisi od glukoze kao izvora energije, ali može da koristi i druge supstrate kao što su laktat, keto kiseline, aminokiseline, masne kiseline i glikogen, kao izvore energije [6].

Proteini su u trudnoći potrebni kao strukturne komponente. Fetus dobija aminokiseline uglavnom od majke, kroz placentu i tokom trudnoće dolazi do drastičnog povećanja u koncentraciji proteina koji se koristi za fetus i fetoplacentno tkivo [7].

Serumska koncentracija albumina u krvi majke se smanjuje, dok se koncentracija globulina povećava. Placentalni laktogen i HCG inhibiraju dezaminaciju u jetri, čime sprečavaju gubitak aminokiselina i usmeravaju ih ka fetusu [7].

Metabolizam lipida u prvim nedeljama gestacije se može okarakterisati kao anaboličko stanje, sa povećanim skladištenjem masti u masnom tkivu majke, kako bi se zadovoljile feto-placentalne potrebe. Dolazi do snižavanja aktivnosti enzima hepatične lipaze (HL), porasta aktivnosti holesterol estar transportnog proteina (CETP), što za posledicu ima povećano nakupljanje triglicerida u lipoproteinskim česticama [8]. Povišene koncentracije estrogena, progesterona i laktogena, takođe povećavaju koncentraciju triglicerida i holesterola. Placenta koristi holesterol za sintezu steroidnih hormona. Drugu polovinu trudnoće prate katabolički procesi. Treći trimestar karakteriše smanjena osetljivost na insulin i povećana lipoliza triglicerida u adipocitima. Ovi procesi dovode do hiperlipidemije, pre svega do porasta koncentracije triglicerida u plazmi. Raspodela najvećeg dela triglicerida je u lipoproteinima veoma niske gustine (VLDL), ali se trigliceridi akumuliraju i u drugim frakcijama lipoproteina niske gustine (LDL) i visoke gustine (HDL) [8].

1.3. Kardiovaskularne promene

Adaptivni odgovor kardiovaskularnog sistema u trudnoći počinje od 6. nedelje gestacije, povećanjem volumena cirkulišuće krvi za oko 30–40%. Posledično se povećava i minutni volumen srca, zajedno sa povećanjem srčane frekvencije [9]. Protok plazme kroz bubrege se povećava za oko 70%, a brzina glomerularne filtracije za 50%. Povećani protok krvi se javlja u materici, dojka i bubrežima [9].

Drugi važan adaptivni mehanizam je smanjenje periferne vaskularne rezistencije, usled oslobađanja vazodilatatornih faktora (prostanglandina i azot monoksida), od strane materice. Dolazi do supresije efekta noradrenalina i angiotenzina II i pada krvnog pritiska u toku prve polovine trudnoće. Osim navedenog, dolazi i do smanjenja koloidno-onkotskog pritiska plazme za 10–15%, što olakšava transudaciju tečnosti i dovodi do rizika za nastanak perifernih edema kao i intersticijskog plućnog edema [10].

1.4. Hematološke promene

U trudnoći nastaje fiziološka hemodilucija, usled povećanog volumena plazme. Povišene koncentracije eritropoetina dovode do ubrzane eritropoeze sa padom u vrednosti hematokrita [11]. Trudnoća je stanje fiziološke hiperkoagulabilnosti, jer se organizam priprema na gubitak krvi prilikom porođaja. Rastu koncentracije protrombina, faktora VII, VIII, IX, X, dok koncentracija faktora XI i XII opada. Protrombinsko i tromboplastinsko vreme se skraćuje, dok vreme koagulacije ostaje nepromenjeno. Broj trombocita se smanjuje, kao i njihova prosečna zapremina [12].

U trudnoći raste broj leukocita (fiziološka leukocitoza) usled ubrzane leukopoeze, ali dolazi do supresije imunskog odgovora kako bi se sprečilo da organizam prepozna embrion kao strano telo i odbaci ga. Zbog ovih promena, trudnice su osetljivije na infekcije, pa trudnoća često predstavlja okidač za pojavu autoimunih bolesti [13].

2. KOMPLIKACIJE U TRUDNOĆI

Svaka trudnica nosi određeni rizik za razvoj komplikacija u trudnoći. Na rizik utiču faktori vezani za etičku i geografsku pripadnost (zemlje u razvoju imaju veću incidencu komplikacija u trudnoći), faktori rizika vezani za zdravstveno stanje majke, kao i brojni medicinski i akušerski faktori. Vrlo je važna adekvatna procena trudnica koje su u riziku da razviju neku od komplikacija, kako bi se omogućio adekvatan nadzor i nega trudnice i na taj način sprečio ili smanjio rizik za razvoj neke od komplikacija. Stav naučne i stručne javnosti je da se čak 80% komplikacija može sprečiti, uz adekvatnu stratifikaciju i nadzor trudnica u toku trudnoće ali i nakon porođaja [14].

Prema statistici rađenoj u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD), najčešće komplikacije u trudnoći su :

- Krvarenje - spada u najučestalije uzroke smrtnosti na porođaju, usled gubitka krvi i javlja se u 1% do 6% svih porođaja.
- Ektopična trudnoća - Oko 2% svih trudnoća u SAD-u su ektopične. Epidemiološki podaci su nedostupni zbog nedostatka podataka iz bolnica, ali studije su pokazale da se u proteklih 25 godina incidencija ektopične trudnoće povećala 6 puta.
- Pobačaj - Gubitak trudnoće jedan je od vodećih zdravstvenih problema, koji se javlja kod žena u fertilnom periodu. Incidencija pobačaja kod klinički prepoznate trudnoće, kreće se između 8% i 20%, dok je incidencija u razdoblju pre implantacije i rane implantacije veća i iznosi između 13% i 26%.
- Gestacijski dijabetes - Centar za kontrolu bolesti (CDC) procenjuje da je incidencija gestacijskog dijabetesa u SAD-u oko 10%. U ostalim zemljama prijavljene su stope od čak 17,8- 41,9%, prema kriterijumima Međunarodnog udruženja za proučavanje dijabetesa i trudnoće (The International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups - IADPSG) za gestacijski dijabetes.
- Gestacijska hipertenzija - Hipertenzija u trudnoći predstavlja ozbiljan problem koji ima široke društvene, epidemiološke i društveno-ekonomske posledice. Prema istraživanjima Svetske zdravstvene organizacije (SZO), broj trudnoća sa prethodno postojećom hroničnom hipertenzijom i gestacijskom hipertenzijom porastao je za 50% u periodu od 1998. (Hipertenzivne bolesti zahvataju između 7-10% svih trudnoća na globalnom nivou, pri čemu

70% tih slučajeva čine gestacijska hipertenzija i preeklampsija, dok 30% čini hronična hipertenzija.

- Preeklampsija - Američka istraživanja pokazuju da učestalost preeklampsije raste iz godine u godinu. Na primer, u periodu od 1987. do 1988. godine učestalost je iznosila 2,4%, dok je za razdoblje od 2003. do 2014. godine porasla na 2,9%. U severnim zemljama Evrope zabeležen je veći broj slučajeva preeklampsije tokom zimskih meseci. U Finskoj je učestalost preeklampsije veća na severu nego na jugu zemlje. Poseban izazov predstavlja preeklampsija koja se javlja kod žena sa već postojećom hroničnom hipertenzijom. Istraživanja pokazuju da čak 25-30% preeklampsija nastaje na temelju hronične hipertenzije, pri čemu ovaj fenomen nije povezan sa životnom dobi, rasom ili prisutnošću proteinurije u ranoj trudnoći [15,16,17,19].

Trudnice sa hroničnim bolestima i trudnice starije životne dobi imaju veći rizik za razvoj komplikacija. Prevalenca smrtnosti kod trudnica raste sa porastom godina starosti trudnice [19]. Trudnice preko 40 godina imaju i do 8 puta veći rizik za razvoj komplikacija od trudnica starosti manjoj od 25 godina [19]. Krvarenja se najčešće javljaju kod abrupcije placente, stanja kada se placenta prerano odvaja i ukoliko su obilna mogu dovesti do smrti majke i ploda [20]. Ektopične trudnoće nastaju kada se embrion razvija van materice, a javljaju se kod jedne od 50 trudnica [21]. Pobačaji se smatraju najčešćim komplikacijama (jedna trećina trudnoća), ali se veliki broj ne evidentira, posebno kad se dešavaju u ranoj trudnoći. Najčešće nastaju kao posledica hromozomskih poremećaja [22].

Gestacijski dijabetes mellitus (GDM) se definiše kao bilo koji stepen glukozne intolerancije koji se prvi put javlja u trudnoći. Razvija se kada funkcija pankreasa nije dovoljna da prevaziđe hiperglikemiju i pogađa oko 16,7% svetske populacije trudnica [23]. Faktori rizika za GDM su: makrozomija novorođenčeta u prethodnoj trudnoći, sindrom policističnih jajnika, gestacijska hipertenzija, anamneza spontanih abortusa i smrti novorođenčeta pod neobjašnjivim okolnostima, gojaznost, starost preko 25 godina i anamneza GDM u prethodnim trudnoćama. Zbog heterogenosti poremećaja koji se definiše kao hiperglikemija, SZO je 1985. godine svrstala GDM u poseban tip dijabetesa [24].

Gestacijska hipertenzija označava razvoj *de novo* hipertenzije nakon 20. nedelje gestacije, koja traje tokom trudnoće i povlači se do najviše 12 nedelja nakon porođaja [25]. Javlja se kod 6-17 % trudnica. Prevalenca razvoja PE u grupi trudnica kojima se dijagnostifikuje gestacijska hipertenzija je od 15% do čak 45% [26].

Preeklampsija je takođe *de novo* hipertenzija, koje se razvija nakon 20. nedelje gestacija ali nju prate brojni klinički znaci i simptomi kao što su proteinurija, poremećaja rada organa i sistemska disfunkcija endotela [27].

3. HIPERTENZIVNE KOMPLIKACIJE U TRUDNOĆI

Hemodinamske komplikacije u trudnoći u vidu hipertenzije, predstavljaju najčešće uzročnike morbiditeta i mortaliteta, kako majke, tako i fetusa [28]. One mogu nastati u trudnoći po prvi put ili se nadovezati na već postojeće hronične poremećaje koje trudnica ima. Hipertenzivne promene u trudnoći mogu imati različitu patogenezu kao i različito kliničko ispoljavanje [28].

Iako su hipertenzivne komplikacije u trudnoći poznate od davnina, stručna i naučna javnost je usmerena ka intenzivnom proučavanju ovih patoloških stanja, jer i dalje postoje razlike u klasifikaciji i dijagnozi pojedinih poremećaja, terapija je još uvek simptomatska a prediktivni markeri su nedovoljno osetljivi [29].

Prema preporukama Američkog društva za ginekologiju i akušerstvo (engl. American College of Obstetricians and Gynecologists – ACOG), kao i Britanskog nacionalnog instituta za izuzetnost u očuvanju zdravlja (engl. National Institute for Health and Care Excellence- NICE), dijagnoza hipertenzije u trudnoći postavlja se ukoliko je sistolni pritisak $\geq 140\text{mmHg}$ i/ili dijastolni pritisak $\geq 90\text{mmHg}$, u dva merenja u razmaku od 4h nakon 20. nedelje gestacije, kod trudnica koje nisu do tada imale dijagnozu hipertenzije [29].

Postoji više različitih tipova hipertenzije u trudnoći, ali ono što je zajedničko za sve jeste da sve nose rizik za majku i fetus (abrupcija placente, krvarenje, oštećenje organa, razvoj cerebrovaskularnih komplikacija tokom trudnoće, intrauterusni zastoj rasta ploda, kao i prevremeno rođenje). Sve su to životno ugrožavajuća stanja, koja uprkos intenzivnoj nezi i angažmanu medicinskog osoblja i dalje u velikom procentu predstavljaju uzročnike perinatalne smrti, kao i smrti majke. Rizik je utoliko veći, ako je majka i pre trudnoće imala hipertenziju, oštećenje bubrega, lupus ili neki drugi komorbiditet [30].

Hipertenzivne promene u trudnoći predstavljaju ozbiljan problem na globalnom nivou, obzirom da stepen prevalencije varira od 4-25% [31].

3.1. Klasifikacija hipertenzivnih poremećaja u trudnoći

Iako podaci o hipertenziji trudnica postoje od 2000g pre nove ere, nedavno je uspostavljena klasifikacija hipertenzivnih poremećaja u trudnoći. Kroz istoriju su se različiti tipovi hipertenzija opisivali kao „konvulzije, vrtoglavice i glavobolje tokom porođaja“, sve do 1739. godine, kada je prvi put pomenut termin eklampsija (francuski lekar Francois Boissier de Sauvages de Lacroix), kao akutni oblik konvulzija koji se razlikuje od hronične epilepsije [4], a nakon toga 1894. godine. prvi put opisano stanje trudnice sa hipertenzijom i proteinurijom, koje može biti i bez eklamptičnih napada, kada je uveden prvi put termin – preeklampsija [32].

Klasifikaciju je ranije otežavala nejasna terminologija, pri čemu se ista klinička slika definisala na različite načine [33]. Postavljanje dijagnoze preeklampsije podrazumeva tačno i precizno određivanje krvnog pritiska na standardizovan način (upotreba aparata sa živinim sfingomanometrom, umesto automatizovanih aparata za merenje pritiska), identifikovanje kliničkih znakova i simptoma na vreme i preciznu kvantifikaciju proteinurije, što je često izazov u kliničkoj praksi [27].

Iako postoje razlike u pojedinim definicijama, većina udruženja se složila oko definisanja hipertenzivnih promena, pa danas postoje četiri glavne podele hipertenzivnih poremećaja u trudnoći i to:

- Hronična hipertenzija
- Preeklampsija
- Preeklampsija superponirana na hroničnu hipertenziju
- Gestacijska hipertenzija

Ukoliko je žena i pre trudnoće imala dijagnozu hipertenzije, povišen krvni pritisak u trudnoći se klasifikuje kao hronična hipertenzija [27]. Preeklampsija se dijagnostikuje sa pojavom *de novo* hipertenzije ($\geq 140/90$ mmHg) nakon 20. nedelje gestacije, sa ili bez proteinurije (≥ 300 mg/24 h), ali uz prisustvo kliničkih znakova bolesti gde se ubrajaju: edemi, hematološki poremećaji, renalne, pulmonarne ili hepatične disfunkcije, sa ili bez neuroloških simptoma [33]. Ukoliko žena koja ima dijagnozu hronične hipertenzije u trudnoći, razvije kliničke znake i simptome preeklampsije, ova komplikacija trudnoće se klasifikuje kao preeklampsija superponirana na hroničnu hipertenziju [34]. Gestacijska hipertenzija se definiše kao hipertenzija nastala u trudnoći, kod prethodno normotenzivnih žena, sa krvnim pritiskom $\geq 140/90$ mmHg, merenim minimum dva puta u razmaku od 4h. Gestacijska hipertenzija bez težih

komplikacija se razvija nakon 20. nedelje gestacije, bez proteinurije i krvni pritisak se normalizuje nakon porođaja [25].

4. PREEKLAMPSIJA

4.1. Epidemiologija preeklampsije

Preeklampsija (PE) predstavlja hipertenzivni poremećaj u trudnoći koji pogađa na globalnom nivou 4,6% trudnica i jedan je od vodećih uzroka morbiditeta i mortaliteta majke i fetusa u celom svetu [35].

Učestalost PE je u korelaciji sa etničkom pripadnošću i rasom, najzastupljenija je kod trudnica afro-američke i latinoameričke nacionalnosti, sa oko 26% smrtnih slučajeva majki među ovom populacijom u SAD-u [36].

Rezultati novijih epidemioloških studija su pokazali najveću prevalencu morbiditeta majke i fetusa, zbog posledica PE u zemljama u razvoju (zemlje Latinske Amerike i Afrike), dok je najniža prevalenca zabeležena u Aziji [37]. Studija koju su sprovedi Chu i sar. [38]. pokazala je nižu stopu incidenca PE kod trudnica u Kini, Novom Zelandu i zemljama Azije, u poređenju sa trudnicama u Evropi.

Najzastupljeniji tip PE je PE superponirana na hroničnu hipertenziju, pri čemu čak 25-30% PE nastaje usled postojanja hronične hipertenzije [39]. Razlog ovome je pomerena starosna granica rađanja, neadekvatna ishrana, zagađenje životne sredine, stresno okruženje, sve veća incidenca gojaznosti u populaciji trudnica, kao i nedovoljna fizička aktivnost [40]. Najveći rizik kod hipertenzivnih promena su prateće komplikacije koje se javljaju intrauterinog zastoja rasta, odlublјivanje placente, bronhopulmonalne displazije, prevremenog rođenja ili perinatalne smrti [40].

4.2. Faktori rizika za razvoj preeklampsije

Do sada je identifikovano više faktora rizika za razvoj PE. Klasifikovani su kao faktori povezani sa trudnoćom, faktori povezani sa zdravstvenim stanjem majke pre trudnoće i spoljni faktori okoline.

4.2.1. Faktori rizika koji se povezuju sa trudnoćom

- Prva trudnoća

PE se generalno smatra komplikacijom trudnoće koja će se javiti kod žene kada prvi put ostane trudna. Ukoliko je žena ranije imala normotenzivne trudnoće, rizik za razvoj PE je manji. Smatra se da je za ovaj faktor rizika odgovorna imunološka maladaptacija majke na novu trudnoću, tj. da prethodna trudnoća ima zaštitnički efekat na sledeću trudnoću sa istim partnerom [41].

- Promena partnera

Brojne studije su pokazale da je veća prevalenca za razvoj PE kod ponovljene trudnoće ali sa drugim partnerom. Prema mišljenju autora, neadekvatna aktivacija T regulatornih ćelija majke može biti ključni razlog za gubitak prve trudnoće, dok u slučaju druge trudnoće sa istim partnerom majka već poseduje specifične antigen T regulatorne ćelije, što omogućava održavanje trudnoće u ranoj fazi [42,43].

- Interval između trudnoća veći od 10 godina

Prema dostupnim podacima, smatra se da ovaj interval predstavlja životni vek antigen-specifičnih T regulatornih ćelija oca, pri čemu se nakon deset godina primetno smanjuje njihova koncentracija. Obzirom na to, druga trudnoća sa istim partnerom imaće isti stepen rizika za razvoj PE kao i prva trudnoća [41].

- Asistirana reproduktivna tehnologija (ART)

Napredak u ART-u sa sobom nosi i određeni rizik za PE. Razlog povećanog rizika u ovoj grupi trudnica je u činjenici da se ovim postupcima podvrgavaju žene starije životne dobi kao i činjenici da je u ovoj grupi značajno veći procenat gojaznih trudnica. Takođe, povećanom riziku doprinosi i činjenica da određeni procenat žena koje se podvrgavaju tehnikama asistiranе reprodukcije imaju sindrom policističnih jajnika, različita patološka stanja pre trudnoće ili je pak trudnoća ostvarena pomoću doniranog reproduktivnog materijala. Sam proces embriotransfera takođe predstavlja rizik za razvoj PE. [44].

- Višeploidna trudnoća

Trudnice sa višeploidnom trudnoćom imaju 2 do 3 puta veći rizik da razviju PE u odnosu na jednoploidne trudnice. Najčešće se PE razvija u ranijem gestacijskom periodu i karakteriše je teža klinička slika. U blizanačkim trudnoćama, placenta je veća i u stanjima hipoksije proizvodi veću količinu antiangiogenih citokina. Većina blizanačkih trudnoća nastaje asistiranom reproduktivnom tehnologijom, pa je preporuka da se sve multiple trudnoće posmatraju kao visokorizične za razvoj PE, shodno tome preporuka je da se svim trudnicama daje profilaksa od 60-150 mg aspirina [44].

- Hidatidna mola

Hidatidna mola, poznata i kao "mola" ili "mola hidatidosa" je abnormalna trudnoća koja se javlja kada se placentno tkivo prekomerno razvija. Mola može biti delimična, ukoliko postoji fetalno tkivo ili potpuna ukoliko se razvija samo placentno tkivo. [44].

4.2.2. Faktori rizika vezani za opšte stanje majke pre trudnoće

- Starost majke

Rizik za PE se povećava sa povećanjem starosti trudnice, žene u kasnijim godinama imaju veći rizik za razvoj ateroskleroze koja pogađa manje krvne sudove, što doprinosi razvoju PE.

- Indeks telesne mase (ITM)

Postoji jaka korelacija između gojaznosti i rizika za razvoj PE, s obzirom na to da su povezani sa genetskom predispozicijom za hipertenziju, dijabetes melitus, insulinsku rezistenciju i stanja sa hroničnom inflamacijom [45].

- Lična ili porodična istorija PE

- Etnička i rasna pripadnost

Afroamerikanke imaju veći rizik za PE u odnosu na belu rasu, dok Azijatkinje imaju niži stepen rizika u odnosu na sve ostale rase [46].

- Komorbiditeti

Postojanje udruženih bolesti kao što su hronična hipertenzija, dijabetes melitus, oboljenja bubrega, sistemski eritemski lupus, antifosfolipidni sindrom, infekcije.

4.2.3. Faktori rizika vezani za okolinu

- Visoka nadmorska visina (osobe koje žive na većoj nadmorskoj visini, usled hipoksičnih uslova su u većem riziku da razviju PE)
- Socio-ekonomski status

Incidenca PE je veća u zemljama u razvoju, usled nedovoljne medicinske podrške, nedostatak resursa i ulaganja u ovo polje medicine, obuke medicinskih stručnjaka. Poslednjih godina, u razvijenim zapadnim zemljama se pomerila starosna granica rađanja i žene se kasnije odlučuju za roditeljstvo a postoji i tendencija generalnog povećanja incidence gojaznosti.

4.3. Podela preeklampsije

Prema Internacionalnom udruženju za ispitivanje hipertenzivnih poremećaja u trudnoći (ISSHP), PE se deli na ranu i kasnu, u zavisnosti od gestacijske nedelje kada se razvija [47].

- Rana PE (eng. early onset) se definiše kao PE koja se razvija pre 34. nedelje gestacije, usled neadekvatnog remodelovanja spiralnih arterija i posledično neadekvatne placentacije i karakteriše je teža klinička slika. Najčešće je udružena sa IUGR.
- Kasna PE (eng. late onset) se razvija nakon 34. nedelje gestacije kao posledica specifičnih faktora rizika koji su vezani za majku (godine, starost, gojaznost pre trudnoće, prisustvo hroničnih bolesti). Smatra se da je proces placentacije adekvatan, ali dolazi do smanjene perfuzije i hipoksije placentе kasnije u toku trudnoće, što posledično dovodi do manifestacije bolesti. Karakteriše je blaža klinička slika, fiziološki rast fetus i povoljniji ishodi trudnoće i za majku i za novorođenče.

Između stručnih autoriteta ne postoji jak konsenzus oko definicije rane i kasne PE. Problem sa ovakvim definicijama je to što se tačno vreme uspostavljanja dijagnoze ne može sa sigurnošću definisti i često nije klinički odmah potvrđeno. Osim toga klinički znaci PE mogu nastati u različitim oblicima i teško je klasifikovati ih kao „početak“ ili „razvoj“ PE.

Podela PE na osnovu kliničke slike:

- Blaga PE se karakteriše krvnim pritiskom $>140/90$ mmHg uz proteinuriju ili drugu komplikaciju u vidu oticanja ruku, nogu ili lica.
- Teška PE se karakteriše krvnim pritiskom $>160/110$ mmHg uz prisustvo hemolize, bubrežne insuficijencije, poremećaja funkcije jetre, bolova u gornjem delu stomaka, edema pluća, neurološkim simptomima (jaka glavobolja, vizuelni defekti) [48].
- HELLP sindrom (*engl. hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count*) može nastati kao komplikacija teške PE, koju karakteriše hemoliza, povišene aktivnosti transaminaza, i pad u broju trombocita [49].
- Eklampsija je komplikacija teške PE koja se definiše kao prisustvo konvulzija, *grand mal* napada (nevoljni trzaji tela praćeni gubitkom svesti) ili stanje kome tokom trudnoće ili posle porođaja [49].

Klinički znaci i simptomi PE su mnogobrojni, različiti i nespecifični. Povezani su sa trudnoćom, ali i drugim komorbiditetima, kao što su autoimune bolesti, gastrointestinalni poremećaji, migrena ili epilepsija. Treba, takođe imati u vidu da klasični klinički znaci PE, hipertenzija i proteinurija, dijagnostički nisu korisni kod pacijentkinja sa bolestima bubrega i već postojećom proteinurijom.

Poslednja decenija istraživanja o PE je doprinela boljem razumevanju patogeneze PE. Ono što je za sada sigurno je to da je za razvoj PE neophodna placenta, kao i da je jedini način sprečavanja životno ugrožavajućih stanja u PE, uklanjanje placente nakon čega prestaju sve kliničke manifestacije PE [50]. Obzirom na to da postoji veliki broj faktora koji povećavaju rizik za razvoj PE, smatra se da i brojni procesi koji se dešavaju imaju ključnu ulogu u njenom razvoju. Interakcije koje se dešavaju na nivou placenta-majka su ključni da li će se razviti PE, kada i kakva će biti težina kliničke slike.

5. PATOGENEZA PREEKLAMPSIJE

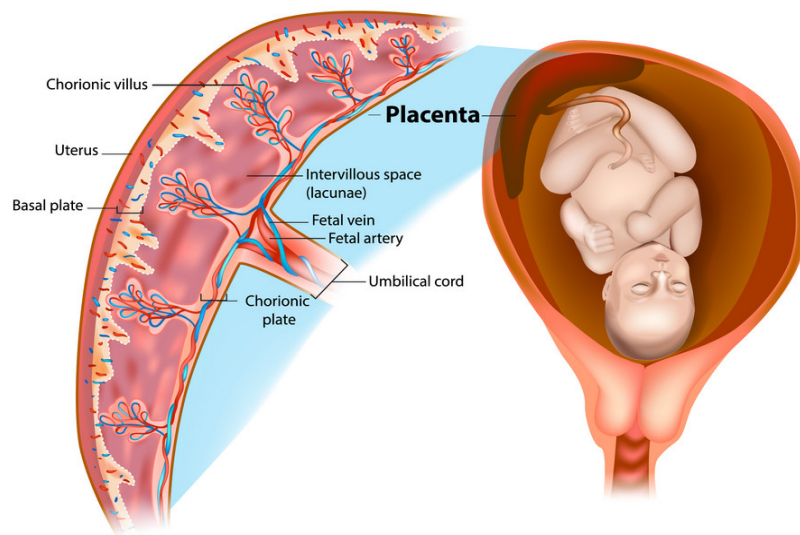
5.1. Placenta

Placenta je jedinstveni, privremeni organ, koji počinje da se razvija početkom trudnoće tj. implementacijom blastociste i formira se do četvrtog meseca trudnoće nakon čega više ne menja svoj anatomske oblik (Slika 1) [51]. Obavlja brojne metaboličke, nutritivne, endokrinološke i imunološke funkcije. Da bi proces implementacije bio uspešan, neophodna je imunotolerancija materice od strane majke i horiona sa embrionalne strane. Horionske resice ili čupice su glavna funkcionalna jedinica placente, one su okrenute ka intraviloznom prostoru i preko njih se procesom diferencijacije i fuzije formiraju trofoblastni slojevi koji obavljaju transport materija i lučenje hormona. Glavnu ulogu imaju citotrofoblastne ćelije (mononuklearne epitelne ćelije unutrašnjeg sloja trofoblasta), čijom diferencijacijom se razvijaju horionske resice [51,52].

Glukoza olakšanim transportom prolazi kroz uteroplacentalnu membranu, dok aminokiseline, vitamini, gvožđe, kalcijum i fosfor prolaze aktivnim transportom. Placenta luči hormone kao što su estrogen, gestagen, androgene, humani placentalni laktogen i HCG. Respiratorna funkcija placente ogleda se kroz procese difuzije kiseonika i ugljendioksida. Sve produkte metabolizma placenta difuzijom ekskretuje u cirkulaciju majke. Placenta takođe predstavlja štit za prolaz velikog broja bakterija, međutim virusi mogu proći ovu barijeru i ugroziti plod, što je naročito važno u prvom trimestru trudnoće dok se dešavaju procesi organogeneze, kada može doći do teških malformacija ploda [53].

Jedan deo horionskih resica je pričvršćen za zid materice i obezbeđuje mehaničku interakciju fetusa sa matericom. Ona omogućava da se na tom mestu vrši invazija određenog broja citotrofoblastnih ćelija koje dospevaju do udaljenih krajeva i učvršćuju se duboko u zid matrice i njene arterije [54].

Ono oko čega su usaglašena mišljenja naučne javnosti i šta su istraživanja potvrdila jeste da promene u procesima invazije trofoblasta direktno utiču na razvoj PE.



Slika1. *Struktura i cirkulacija placente. Preuzeto sa sajta*
https://stock.adobe.com/images/placental-structure-and-circulation/242300163?prev_url=detail

5.2. Angiogeneza i vaskulogeneza

Placenta je vaskularizovan organ sa velikim brojem krvnih sudova majke i embriona koji nastaju procesom vaskulogeneze i angiogeneze. Vaskulogeneza predstavlja proces stvaranja novih krvnih sudova iz endotelних progenitorskih ćelija angioblasta uz pomoć familije vaskularnih endotelnih faktora rasta (VEGF) i prelazak sa vaskulogeneze na procese angiogeneze [55].

Angiogeneza je proces stvaranja novih krvnih sudova iz već postojećih krvnih sudova i obuhvata migraciju endotelnih ćelija, invaziju ekstracelularnog matriksa, formiranje lumena krvnog suda regrutovanjem glatkih mišićnih ćelija [55].

Stimulatori angiogeneze su brojni citokini, hormoni i faktori rasta (VEGF, placentni faktor rasta - PlGF, Leptin, IL-8, estrogen, progesteron itd.) [56].

VEGF predstavljaju familiju citokina koja ima najviše uticaja na ove procese, obzirom da deluju na vaskularni endotel. Glavna funkcija im je stimulacija endotelne ćelijske proliferacije i indukcija vaskularne propustljivosti i permeabilnosti [57].

Receptori za VEGF imaju ekstracelularni deo, intarcelularni citoplazmatski deo koji pokazuje tirozin kinaznu aktivnost i transmembranski deo koji ih povezuje. VEGF 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 se nalaze na endotelnim ćelijama. VEGFR-1 (Flt-1) se može naći u solubilnim formama u serumu majke tokom trudnoće (sFlt-1). Smatra se da sFlt-1 receptor suprimira funkciju VEGF, tako što deluje kao inhibicioni receptor, preciznije, solubilna forma Flt-1 receptora kome nedostaju citoplazmatski i transmembranski deo se vezuje za VEGF, sprečavajući njegovo vezivanje za funkcionalno aktivan receptor [58].

VEGF sa svojim receptorima se lokalizuje u decidualnim ćelijama i citotrofoblastu, dok se od VEGF receptora jedino Flt-1 lokalizuje u ekstraviloznom trofoblastu, što ukazuje na njegov uticaj na diferencijaciju, migraciju i invaziju trofoblasta. Studije pokazuju da se sFlt-1 prvenstveno lokalizuje na sinciotrofoblastu i da lučenjem u cirkulaciju majke reguliše sistemsku vaskularnu homeostazu [59, 60].

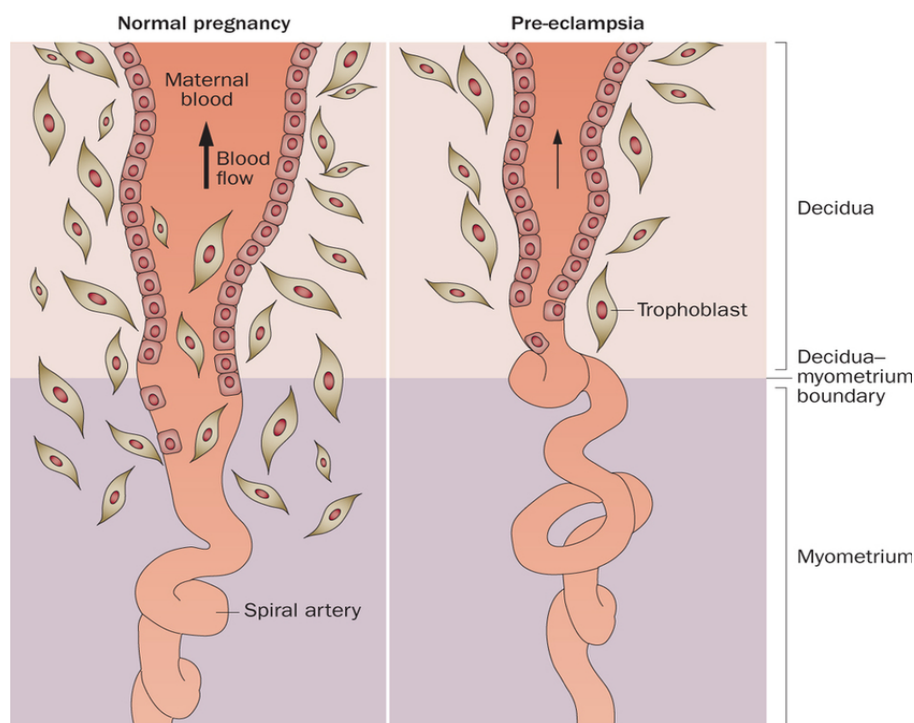
5.3. Trofoblasti

Na početku trudnoće, uteroplacentalna arterija prolazi kroz niz promena, kao što su zamena ćelija endotela i glatkih mišićnih ćelija tunike medie invazivnim trofoblastima, zatim gubitak elastičnosti, dilatacija, gubitak vazomotornih sposobnosti i kontraktilnosti. Ovim se smanjuje otpor protoka krvi majke i povećava količina krvi koja je neophodna za razvoj placente i ploda [61]. U ranom razvoju, intersticijski trofoblasti se definišu u posebnu subpopulaciju ekstraviloznih trofoblasta koji dopiru do spiralne arterije, sve do „placentnog kreveta“ (deo placente pričvršćen za matericu do kojeg trofoblasti vrše invaziju). Invazija trofoblasta nije proces koji se striktno dešava samo na početku trudnoće, već se on nastavlja, sporijim tempom i kasnije sve do kraja trudnoće. Dubina invazije trofoblasta je strogo regulisana i do sada nije otkriven ni jedan biološki mehanizam koji bi doveo do prenatrpane invazije. S druge strane, tkivo majke ima bitnu ulogu u određivanju dubine invazije. Na primer, promene na placentnom krevetu u vidu ožiljaka miometrijuma, koja sadrže više vezivnog tkiva nego glatkih mišićnih ćelija mogu u velikoj meri uticati na povećan prodor trofoblasta (carski rezovi, hiruške intervencije) za razliku od miometrijuma koji je bogat mišićnim slojem ćelija [62]. Kako prenatrpana invazija nije dobra jer nosi na sobom rizik za brojne komplikacije (placenta akreta), tako i nedovoljna invazija ima za posledicu brojne neželjene događaje, kao što su gubitak ploda, intrauterini zastoj u razvoju ploda (intra uterine growth restriction-IUGR) ili razvoj PE [63].

5.4. Dubina invazije trofoblasta i preeklampsija

Nedovoljna invazija trofoblasta u zidove spiralne arterije sprečava njenu transformaciju i širenje, pa se brzina protoka krvi kroz intravilozni prostor povećava. Brži protok krvi kroz placentu dovodi do mehaničkih oštećenja ćelija placente, menjajući joj morfologiju i funkcionalnost. Oštećenja ćelija horionskih resica stvaraju fibrinske naslage, čine deo placente na fetalnoj strani debljim, što dovodi do odvajanja resica koje su vezane za placentu i na taj način se dodatno onemogućava invazija trofoblasta. Kompletan mehanizam dotoka krvi se menja i najčešće se ispoljava razvojem IUGR [64].

Većina studija i istraživanja se zasniva na ovoj hipotezi, da u osnovi PE leži hipoksična placenta, međutim mali broj studija je to zapravo i dokazao [65].



Slika 2: Preuzeto iz: Nature Publishing Group © Moffett-King, A. et al. *Nat. Rev. Immunol.* 2, 656–663 (2002).

5.5. Patogeneza preeklampsije

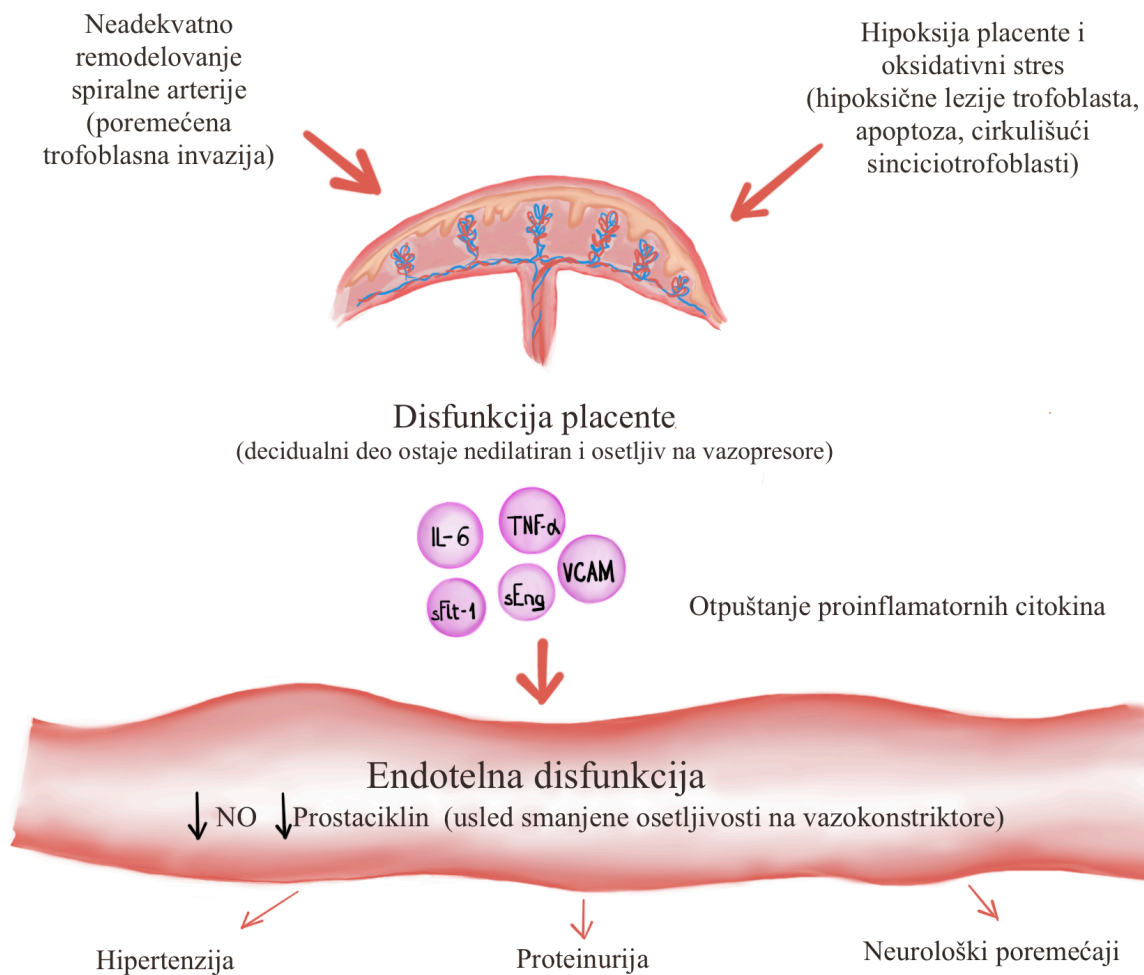
U toku ranog razvoja placente, mononuklearni trofoblasti koji dolaze u kontakt sa matericom proliferišu i diferenciraju se u sinciotrofoblaste (spoljašnji sloj) i citotrofoblaste (unutrašnji sloj) mononuklearnih ćelija. Sinciotrofoblast je u toku trudnoće odgovoran za funkcionalnu aktivnost placente. Razvoj placente zavisi od ravnoteže između proliferacije i diferencijacije trofoblasta. Parcijalni pritisak kiseonika (pO_2) je glavni regulator diferencijacije trofoblasta. Niska koncentracija kiseonika stimuliše angiogenezu i proliferaciju trofoblasta, dok visok parcijalni pritisak O_2 stimuliše diferencijaciju trofoblasta. U 8. nedelji gestacije intersticijski endovaskularni citotrofoblasti dolaze u kontakt sa spiralnim arterijama materice. Posle 10. nedelje prestaje proliferacija i kreće proces diferencijacije citotrofoblasta. To podrazumeva morfološke promene tunike medie arterija što dovodi do proširenja spiralnih, tj sada uteroplacentalnih arterija i pojačanog dovoda kiseonika, gubitka glatkih mišićnih ćelija i elastičnosti, kao i nezavisnost od autoimunog nervnog sistema (Slika 2) [66]. Danas je opšte prihvaćena činjenica da postoje dve faze u razvoju PE.

Faza I :

U osnovi rane PE leži neadekvatan proces placentacije na početku trudnoće i placentalna disfunkcija koja nastaje usled nekompletnog remodelovanja spiralnih arterija. Kao posledica, trofoblastne ćelije se dovode u stanje stresa što dovodi do oslobađanja proinflamatornih citokina u cirkulaciju majke. Rana PE je udružena sa IUGR [67]. U osnovi razvoja prve faze kasne PE leži neadekvatna intervilusna perfuzija usled maturacije placente koja prevazilazi kapacitet materice. Placenta podleže hipoperfuziji dovodeći takođe sinciotrofoblaste u stanje stresa ali u kasnijim gestacijskim nedeljama [67]. Ovo se najčešće dešava kada je placenta veća od uobičajene što se najčešće javlja kod gojaznih trudnica i kod blizanačkih trudnoća. Kasna PE obično nije udružena sa IUGR [68,69]. Oba tipa PE za posledicu imaju dalji razvoj bolesti koji se manifestuje drugom fazom koju karakteriše generalizovana vaskularna inflamacija i endotelna disfunkcija koje dovodi do pojave kliničkih znakova ove bolesti [70].

Faza II:

Hipoperfuzija, ishemične promene na placenti usled neadekvatne invazije trofoblasta ili nedovoljne prokrvljenosti iz bilo kojih razloga, stimulišu produkciju inflamatornih citokina. Inflamatorni citokini koji dospevaju u cirkulaciju majke, deluju na endotel i aktiviraju ga [71]. Endotel ima brojne mehanizme kojima štiti svoju funkciju i vrši reparaciju usled oštećenja, pa u skladu s time luči prostaglandine, trombocitne faktore rasta, selektin, fibronektin itd. Međutim, u PE intenzivna stimulacija inflamatornim citokinima dovodi do produkcije odbrambenih medijatora od strane endotela, pri čemu on reaguje vazospazmom, trombozama, intravaskularnom koagulacijom i generalizovanim gubitkom funkcije i integriteta [72]. Endotelna disfunkcija se ogleda kroz smanjenu proizvodnju prostaciklina i NO. Sistemski vaskularni otpor se povećava usled smanjene senzitivnosti na vazokonstriktore. Jedan od glavnih procesa patoloških promena koje nastaju jeste slaba perfuzija tkiva koja pogađa mozak, jetru, pluća i bubrege [72].



Slika 3: Prikaz razvoja i progresije preeklampsije. Ilustracija, autor Gorica Marković.

Smatra se da je TNF- α (tumor necrosis factor) jedan od najpotentnijih citokina koji stimuliše inflamatorne procese, usled čega vazokonstrikcija postaje dominantni proces u odnosu na vazodilataciju vazodilataciju u krvnim sudovima [73]. U cirkulaciji majke sa PE su povišene vrednosti TNF- α , interleukina 6 (IL-6), antiangiogenih faktora kao što je sFlt-1 i solubilni endoglin (sEng), dok su angiogeni faktori tipa PLGF sniženi. Endotelin-1, kao snažan vazokonstriktor je povišen, a dolazi do povećane produkcije intracelularnih i vaskularnih adhezivnih molekula (ICAM, VCAM-1) i faktora koagulacije [74].

Pojedini autori smatraju da faktori majke, kao što su hronične vaskularne bolesti, gojaznost, autoimuna oboljenja, rezistencija na insulin i hronične bolesti arterija, mogu da usporu proces

placentacije (faza 1) i da pojačaju vaskularnu osetljivost majke na placenta-otpuštajuće faktore (faza 2). Postojeća hronična inflamatorna stanja pre trudnoće mogu uticati na razvoj placente usled pojačanog inflamatornog odgovora (Slika 3) [75].

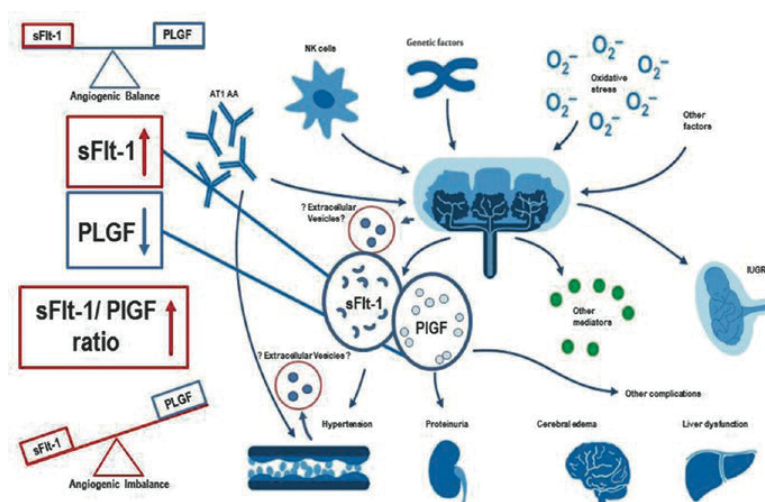
Novija saznanja idu u prilog tome da se rana i kasna PE razlikuju i po faktorima rizika i po kliničkim manifestacijama usled različitih patofizioloških mehanizama nastanka bolesti. Osim toga, činjenica je da u većini slučajeva kasne PE nema IUGR i placenta je normalno razvijena [76].

Vaskularni sistem materice u trudnoći prolazi kroz procese dilatacije, povećanje permeabilnosti i angiogeneze, kako bi obezbedio dovoljan priliv neophodnih nutrijenata i kiseonika. VEGF kao i PlGF su jedni od najbitnijih u pogledu pravilnog razvoja placente obzirom da su proteini ove familije uključeni u procese vaskulogeneze i angiogeneze. Novija saznanja o ulozi angiogenih faktora daju bolji uvid o patofiziologiji PE, pri čemu se smatra da je PE ishemično placentalno oboljenje u čijoj osnovi jeste endotelna disfunkcija [77]. Poseban fokus je na sFlt-1 receptoru koji deluje kao antagonist vezujući se za VEGF i PlGF [78].

U fiziološkoj trudnoći koncentracije sFlt-1 su niske sve do drugog trimestra, nakon čega dolazi do porasta koncentracija sa pikom između 33. i 36. nedelje gestacije [79]. Kod trudnica koje razvijaju PE, ovaj porast koncentracije se dešava mnogo ranije i najčešće je udružen sa IUGR [80]. Za razliku od sFlt-1, koncentracija PlGF u fiziološkoj trudnoći počinje da raste od 8. nedelje gestacije, sa pikom između 29.-32. nedelje gestacije, a zatim opada do pred porođaj. Kod PE, koncentracije PlGF su snižene već u prvom trimestru [81].

Na molekularnom nivou, disbalans pro-angiogenih i antiangiogenih faktora kao što su VEGF, sEng, sFlt-1 i PlGF ima direktan uticaj na placentalnu ishemiju i patogenezu PE (Slika 4) [82]. Posledično, dolazi do sniženja koncentracije slobodnog VEGF i PlGF u cirkulaciji majke, što dovodi do inhibicije njihove interakcije sa faktorima na endotelu majke i poremećaja daljeg signalnog puta [83]. Ove promene utiču na proces transformacije spiralnih arterija i menjanje endotelne morfologije u raznim tkivima, pri čemu one gube svoju funkciju [85].

Rezultati većeg broja studija su ukazali da visoke koncentracije sFlt-1 i niske vrednosti slobodnog VEGF-a i PlGF-a, kod pacijentkinja sa PE predstavljaju posledicu neadekvatne regulacije tonusa usled smanjene sinteze prostaciklina i NO [86,87]. Takođe, koncentracije sFlt-1 su 4-5 puta veće u venskoj cirkulaciji majke u odnosu na perifernu krv, što ukazuje da je glavni izvor lučenja ovog proteina placenta [88].



Slika 4: Odnos sFlt1/PLGF u patogenezi preeklampsije. Preuzeto od: Wang A, Rana S, Karumanchi SA. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology*. 2009;24:147–158

Angiogeni faktori utiču na funkciju brojnih tkiva, pa njihov disbalans objašnjava heterogenost kliničkih znakova PE.

Novija istraživanja sve više povezuju disbalans ovih cirkulišućih biomarkera sa razvijanjem sinciotrofoblastnog stresa. Takođe, veći broj studija je pokazao da se ovi parametri ne mogu koristiti u predikciji razvoja kasne PE [89]. Sve više dokaza ukazuje na to da je kod kasne PE put razvoja placentalne disfunkcije tvz. unutrašnji put, tj. da materica ne doprema dovoljno krvi za adekvatan razvoj placente. Placenta takođe dolazi u stanje hipoperfuzije i stresa, ali za razliku od rane PE ovo se dešava u kasnijim gestacijskim nedeljama [90,91].

6. SKRINING NA PREEKLAMPSIJU

Jedan od osnovnih ciljeva, kako internacionalnih, tako i nacionalnih strategija u istraživanju PE, vezan je za što bolju procenu rizika za razvoj ove komplikacije u trudnoći. Procena rizika se smatra izuzetno značajnom, jer adekvatan nadzor, praćenje i profilaksa mogu u velikoj meri sprečiti komplikacije i loš ishod trudnoće. Na osnovu trenutno važećih preporuka internacionalnih autoriteta (ACOG, NICE), danas se u kliničkoj praksi rizik za razvoj PE procenjuje na osnovu tradicionalnih indikatora koji su vezani za demografske karakteristike i medicinsku istoriju majke [92]. Opšti skrining trudnica na razvoj PE se ne preporučuje. Prema preporukama ACOG faktori rizika za razvoj PE su: PE u prethodnoj trudnoći, višeploidne trudnoće, bolesti bubrega, autoimune bolesti, dijabetes 1 ili 2, hronična hipertenzija, starost trudnice preko 40 godina, ITM $\geq 30 \text{ kg/m}^2$, pozitivna porodična anamneza, period između trudnoća veći od 10 godina i trudnoća ostvarena tehnikama asistiranе reprodukcije [92,93]. Prema preporukama NICE, trudnica je u riziku da razvije PE ukoliko ima više umerenih ili jedan faktor visokog rizika za razvoj PE. Faktori visokog rizika uključuju hipertenziju ili PE u prethodnoj trudnoći, hroničnu hipertenziju, bolesti bubrega, dijabetes 1 ili 2, autoimune bolesti i višeploidne trudnoće. Faktori umerenog rizika su: prva trudnoća, starost preko 40 godina, ITM $\geq 35 \text{ kg/m}^2$, pozitivna porodična anamneza i period između trudnoća duži od 10 godina [92,94]. Trudnice koje se na osnovu ovih preporuka nalaze u riziku od razvoja PE su pod pojačanim medicinskim nadzorom tokom trudnoće, u cilju pravovremenog reagovanja i što dužeg održavanja trudnoće, jer je porođaj još uvek jedini efikasan tretman PE.

Poslednjih decenija veliki broj istraživanja bavi se ispitivanjem različitih biohemijskih markera u cilju procene njihovog značaja u patogenezi PE, kao i njihovog potencijala u predviđanju rizika za razvoj ovog stanja. Najveći broj tih istraživanja ističe značaj angiogenih i antiangiogenih faktora, kao i plazma proteina-A vezanog za trudnoću (pregnancy-associated plasma protein A - PAPP-A) u PE, ali budući da pojedinačna primena ovih markera nije pokazala zadovoljavajuću dijagnostičku tačnost, uglavnom se koriste u kombinaciji sa ostalim faktorima rizika koji su vezani sa demografskim karakteristikama i medicinskom istorijom majke [95]. Udruženje za fetalnu medicinu, (engl. Fetal Medicine Foundation - FMF), predlaže korišćenje algoritma koji predstavlja kombinaciju faktora rizika majke sa ultrazvučnim parametrima (pulsatilni indeks uterinih arterija - UtA-Pi) i biohemijskim markerima (PIGF, PAPP-A) za procenu rizika u prvom trimestru [95,96]. Za skrining u drugom trimestru, FMF preporučuje merenje koncentracija placentalnog sFlt-1 i PIGF u serumu trudnica, pri čemu odnos sFlt1/PIGF ima bolju dijagnostičku vrednost nego pojedinačne vrednosti ovih markera [97].

Međutim, važno je naglasiti da uprkos razvoju više algoritama koji se koriste u proceni rizika za razvoj PE, nijedan nije pokazao zadovoljavajuću dijagnostičku tačnost. Dodatni problem predstavlja činjenica da ne postoji dovoljno podataka o proceni negativnih efekata koji proizilaze iz slabe osetljivosti prognostičkih algoritama, a koji su vezani pre svega za izazivanje anksioznog stanja kod trudnice kojoj je saopšteno da se nalazi u visokom riziku od razvoja PE, kao i visokih troškova koji prate njihovu kliničku i laboratorijsku evaluaciju. Takođe, meta-analize koje su ispitivale predložene algoritme pokazuju da je jedno od glavnih ograničenja heterogenost u dizajnim studija, što takođe onemogućava donošenje finalnih zaključaka [98,99].

Nove mogućnosti automatizovanih merenja parametara PlGF i sFlt-1, omogućavaju njihovu rutinsku upotrebu. Nedavno uvedene smernice NICE ukazuju da odnos sFlt-1/PlGF značajno pomaže u odlučivanju o daljem kliničkom lečenju, ne kao pojedinačni parametar, već u kombinaciji sa kliničkim simptomima i klasičnim dijagnostičkim parametrima, visinom krvnog pritiska i proteinurijom. Odnos sFlt-1/PlGF je koristan za razlikovanje pacijenata sa kratkoročnim rizikom za neželjeni ishod PE [100].

Ukoliko je odnos sFlt-1/PlGF nizak, smatra se da u kraćem vremenskom periodu (1 nedjelja) neće doći do razvoja PE, dok visok odnos („cut off“ vrednost je 85) ukazuje na visok rizik od razvoja PE u narednom periodu (2-4 dana) [100]. Iako je odnos sFlt-1/PlGF koristan za procenu rizika za razvoj rane PE i dalje ostaje problem terapije PE koja ne postoji, a jedino rešenje je prevremeni porođaj. Takođe, nedostaje dovoljno podataka o ekonomskoj koristi od upotrebe odnosa sFlt-1/PlGF u rutinskoj kliničkoj praksi. Naročito, s obzirom na to da niske doze aspirina obezbeđuju efikasan preventivni tretman, treba promovisati dalje ispitivanje kliničkih i ekonomskih koristi skrininga u prvom trimestru za PE [101,102].

7. TERAPIJA PREEKLAMPSIJE

Terapija PE predstavlja veliki izazov u kliničkoj praksi, s obzirom na to da su studije na trudnicama vrlo ograničene i da još uvek postoje nerazjašnjeni mehanizmi nastanka pojedinih komplikacija u PE. Pošto se klinički znaci razvijaju nakon placentalne ishemije, teško je predvideti slabu placentaciju. Terapija se i dalje bazira na potencijalnom sprečavanju abnormalne placentacije [103]. Primarni cilj terapije PE je što duže održavanje trudnoće. Ovo se mora balansirati sa progresijom bolesti i voditi računa da se stanje majke ne pogorša dok se trudnoća prolongira, kako bi prevremeni porođaj bio sa što manje komplikacija. Trenutni fokus kliničara i istraživača u oblasti ciljane terapije usmeren je na vaskularnu endotelnu disfunkciju, koja se smatra ključnim faktorom u patogenezi PE. Istraživači smatraju da disbalans između prostaciklina i tromboksana A₂ igra centralnu ulogu u razvoju kliničkih manifestacija PE. U svetlu ovih saznanja, sprovedene su studije koje su ispitivale efikasnost niskih doza aspirina u smanjenju rizika od PE, imajući u obzir činjenicu da aspirin deluje kao inhibitor tromboksana A₂ [104]. Rezultati brojnih studija su prikazani u meta analizama gde se pokazalo da primena niskih doza aspirina pre 16 nedelje gestacije u blagoj meri redukuje nastanak PE (relativan rizik [RR], 0.81; 95% CI, 0.66–0.99), ali da se značajno smanjuje razvoj teško komplikovanih PE (RR, 0.47; 95% CI, 0.26–0.83) i IUGR (RR, 0.56; 95% CI, 0.44–0.70) [105].

Preporuke ACOG udruženja nalažu da sve trudnice koje imaju bar jedan visok rizik za razvoj PE ili dva ili više umerenih faktora rizika, treba da primaju niske doze aspirina (81mg/dan) kao profilaksu, počevši od 12. do 28. nedelje gestacije. Ukoliko žena razvije PE bez težih komplikacija nakon 37 nedelje gestacije, preporuka je da se indukuje porođaj pre nego što započne bilo kakva terapija. Ukoliko trudnica razvije PE sa težim kliničkim znacima, preporučuje se uključivanje magnezijum sulfata kao prevenciju razvoja konvulzija i eklampsije [106].

8. INFLAMACIJA U PREEKLAMPSIJI

Prilikom procesa koncepcije, da bi se trudnoća održala, neophodno je da ćelije imunog sistema majke (*natural killer cell*- NK ćelije, makrofage, T ćelije, dendritske ćelije -DC) spreče odbacivanje ploda. Pojedini autori smatraju da je u osnovi patogeneze PE imunološka netolerancija majke na embrion u kombinaciji sa nedovoljno razvijenom placentom, slabom invazijom trofoblasta i neadekvatnim remodelovanjem arterija [107].

Uloga imunog sistema na početku trudnoće je da antigen-prezentujuće ćelije (DC, makrofage), uzimaju debris trofoblasta ili fetalnih ćelija i prezentuju fetalni antigen T i B limfocitima majke. Aktivirane T ćelije se diferenciraju u Th1 ćelije, koje su zadužene za ćelijski imuni odgovor i odbacivanje ploda i u Th2 ćelije, koje su uključene u humoralni imuni odgovor, indukovanje i održavanje trudnoće. Tokom fiziološke trudnoće, više su zastupljene Th2 ćelije koje luče brojne citokine (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 i IL-13), koji suprimiraju imuni odgovor Th1 ćelija, koje bi aktivacijom IL-2, TNF- β i interferona - γ (INF- γ) napali fetus i trofoblaste. Smatra se da u PE ima više Th1 ćelija u odnosu na Th2, što dovodi do pojačanog lučenja inflamatornih citokina, izazivajući hroničnu inflamaciju [108]. Takođe, u fiziološkoj trudnoći je naglašen urođeni imuni odgovor sa aktivacijom makrofaga i monocita [109].

Dokazano je da su monociti više stimulisani u fiziološkoj trudnoći u perifernoj krvi i da proizvode više Th1 citokina kao što je IL12, u odnosu na negravidno stanje, što govori da trudnoća, iako je stanje inflamacije niskog intenziteta, lako može da poremeti odnos Th1/Th2 citokina i uvede ženu u stanje jače inflamacije [110]. Kako u PE postoji prenaplašeni imuni i inflamatorni odgovor, uz produkciju brojnih inflamatornih citokina, izmenjenu funkciju monocita i NK ćelija, aktivaciju granulocita i proaterogenih medijatora, pojedini autori smatraju da je u osnovi patogeneze PE neadekvatna kompenzacija inflamacije niskog intenziteta, bilo da u osnovi leži poremećen metabolički profil, hronične bolesti ili bilo koja druga stanja sa određenim stepenom inflamacije [111].

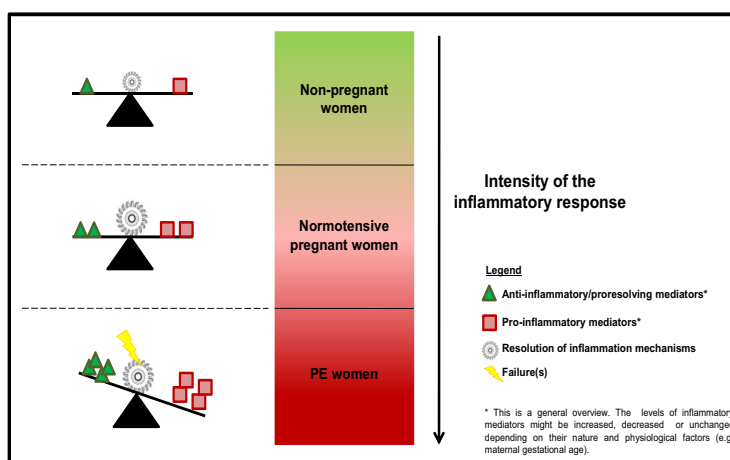
S obzirom na to da se PE češće javlja u prvoj trudnoći, u trudnoćama koje su ostvarene sa drugim partnerom, kada je period kontakta sa semenom tečnošću kratak (korišćenje kontraceptivnih sredstava pre začeća), kada je period između trudnoća duži od 10 godina, kod trudnoća ostvarenih tehnikama asistirane reprodukcije, inseminacije sa spermom donora, sve ovo ukazuje na to da je za trudnoću bez komplikacija, sa adekvatnom implantacijom, placentacijom i razvojem fetusa, ključni faktor imunološko prilagođavanje majke na novonastalo fetoplacentalno tkivo [112,113].

Inflamatorni sistem u fiziološkoj trudnoći je izuzetno osetljiv i izbalansiran, ali različiti faktori mogu poremetiti ovu ravnotežu i dovesti do povećanog stvaranja Th1 ćelija umesto Th2 ćelija. Ovim se

aktivira kaskada inflamatornih citokina koji promovišu inflamatorne procese. Fiziološka trudnoća jeste stanje koje karakteriše inflamacija niskog intenziteta, ali se kao pitanje nameće kada i zbog čega nastaje inflamacija jačeg stepena [110,114]. Fokus studija koje se bave istraživanjem imunološkog disbalansa kao mogućeg faktora uticaja na razvoj PE ukazuju na moguće nove pristupe lečenju PE. Neophodna su dalja ispitivanja kako različite komponente imunološkog sistema pojedinačno utiču na razvoj i progresiju PE, kako bi se poboljšali ishodi trudnoća kod trudnica sa PE.

Svaki proces od početka trudnoće, implantacije embriona i invazije trofoblasta prati određeni stepen inflamacije. Akutna inflamacija koja se javlja na početku trudnoće ima faze aktivacije i rezolucije. U procesu rezolucije intenzivnija je produkcija antiinflamatornih u odnosu na proinflamatorne citokine [115]. Za to su zaduženi brojni medijatori, inhibitori aktivacije leukocita, indukcija apoptoze neutrofila od strane makrofaga, što dovodi do smanjenja inflamatornog odgovora. Čak se dešava i promena uloge makrofaga kroz promenu proinflamatornih (M1) u antiinflamatorni fenotip (M2) koji učestvuje u reparaciji tkiva [116]. Ukoliko ovaj proces rezolucije nije uspešan, inflamacija prelazi u hroničnu i vodi ka oštećenju tkiva (Slika 5). Ovo se dešava ukoliko postoji disbalans u produkciji pro i antiinflamatornih faktora. Novije hipoteze vezane za patogenezu PE ukazuju na to da urođeni imuni odgovor, koji je inače strogo regulisan kod normotenzivne trudnoće, kao i stečeni imuni odgovor koji se modifikuje kako bi se održala trudnoća i povećala tolerancija na fetus, se razlikuju u PE u poređenju sa fiziološkom trudnoćom.

Smatra se da je urođeni imuni odgovor više aktiviran, a stečeni nedovoljno regulisan kod PE [117]. Takođe, postoje dokazi da je predominantan fenotip makrofaga u PE M1 [118]. Prema tome, zaključak je da u PE dolazi do jače, slabo kontrolisane inflamacije još na samom početku, pre razvoja druge faze bolesti.



Slika 5: Inflamacija u preeklmpsiji. Preuzeto od Resolution of inflammation pathways in preeclampsia-a narrative review.

8.1. Markeri inflamacije

Praćenje koncentracije pojedinih biomarkera inflamacije tokom visokorizičnih trudnoća može nam dati uvid u smer promene njihove koncentracije i na taj način objasniti ulogu inflamacije u razvoju komplikacija u trudnoći. Inflamacija leži u osnovi patofiziološkog mehanizma nastanka PE, a praćenjem ovih markera može se ispitati njihova potencijalna primena u algoritmima za procenu rizika za razvoj PE. Pri tome, važno je naglasiti da su procesi inflamacije prisutni na samom početku trudnoće, pa je njihova primena u algoritmima u prvom trimestru opravdana.

Od rutinski dostupnih markera visoko senzitivni C-reaktivni protein (hsCRP), laktak dehidrogenaza (LDH) i mokraćna kiselina pokazali su kroz brojne studije povezanost sa razvojem PE [119].

hsCRP je reaktant akutne faze koji se sintetiše u jetri pod kontrolom mnogih citokina. Smatra se da ima značajnu ulogu u procesima fagocitoze apoptotičnih ćelija i da ne predstavlja samo marker inflamacije, jer ne učestvuje samo u aktivaciji komplementa, već aktivno učestvuje u nastanku inflamatorne vaskulopatije [120].

Rezultati studija su pokazali da su povišene koncentracije hsCRP-a povezane sa PE pre ispoljavanja kliničkih simptoma [121]. Funkcionalna uloga hsCRP-a u PE još uvek nije razjašnjenja, ali meta analiza je pokazala snažnu korelaciju hsCRP-a sa porastom ITM-a u PE, kao jednim od glavnih faktora rizika za razvoj PE, kao i značajnu korelaciju između nivoa hsCRP-a i incidence PE. Takođe istraživanja su pokazala da je nivo hsCRP u serumu značajno viši kod trudnica sa PE u poređenju sa normotenzivnim trudnicama [122,123]. Pored toga, Mohan Lal Meena i saradnici [124] su pokazali da hsCRP korelira i sa težinom kliničke slike PE, te da su visoke koncentracije hsCRP-a udružene sa teškom formom PE.

hsCRP se može koristiti kao potencijalni biomarker predikcije PE. Identifikovana je granična vrednost hsCRP-a od 77,6 mg/L, koja može ukazivati na veći rizik za razvoj PE [123]. Povišeni nivoi hsCRP-a kod PE odražavaju osnovni inflamatorni proces i endotelnu disfunkciju povezanu sa ovim stanjem. Praćenje nivoa hsCRP može pomoći u ranoj dijagnozi PE [124].

LDH je intracelularni enzim koji kovertuje piruvat u laktat u procesu glikolize. Stanje hipoksije koje se javlja u PE pospešuje glikolizu i povećeva aktivnost LDH u trofoblastima, kao i gensku ekspresiju u placenti [125]. Visoka aktivnost LDH u cirkulaciji majke usled povrede vaskularnog endotela, poremećaja rada jetre, bubrega, pluća, nervnog i sistema koagulacije, može biti koristan marker za otkrivanje nastanka mogućih komplikacija u PE. Vrednosti LDH iznad 600 U/L mogu ukazivati na pojavu hemolize kod PE [126]. Brojna istraživanja su potvrdila da je nivo LDH značajno povišen u PE

i udružen sa komplikacijama poput eklampsije, HELLP sindroma, diseminovane intravaskularne koagulopatije i letalnim perinatalnim ishodom [127].

Mokraćna kiselina predstavlja završni produkt metabolizma purina i nezavistan je faktor rizika za pojavu kardiovaskularnih bolesti pogotovo kod žena [128]. Serumske koncentracije mokraćne kiseline su povišene kod gojaznih pacijenata sa metaboličkim sindromom [129].

Tokom trudnoće, rast i razvoj placente i fetusa utiču na metabolizam purina, ali u fiziološkoj trudnoći, koncentracija mokraćne kiseline opada zbog hemodilucije do 20. nedelje gestacije, da bi se u trećem trimestru postepeno povećavala usled smanjenog klirensa, a na kraju trudnoće dostigla vrednosti koje su prisutne kod zdravih, negravidnih žena [130]. U PE, koncentracije mokraćne kiseline su povišene već u prvom trimestru, što je posledica renalne vazokonstrikcije i smanjenog klirensa, kao i zbog oslobađanja fetalne DNK u cirkulaciju majke. Ova DNK se metaboliše i dodatno oslobađa mokraćnu kiselinu [131]. Treba uzeti u obzir da na koncentraciju mokraćne kiseline mogu uticati volumen krvi, protok kroz bubrege i nivo estrogena, zbog čega je važno odrediti pravo vreme uzorkovanja, kako bi se pravilno interpretirali dobijeni rezultati [132].

Pretpostavlja se da mokraćna kiselina u PE dovodi do inhibicija produkcije azot- monoksida (NO) u endotelnim ćelijama, koji je neophodan za proces trofoblastne invazije i migracije. Time mokraćna kiselina utiče ne samo na placentalnu vaskularizaciju, već i na pojačanu vazokonstrikciju kod trudnica [131].

Smatra se da mokraćna kiselina indukuje inflamaciju, oksidativni stres, endotelnu disfunkciju i stimuliše oslobađanje proinflamatornih citokina u cirkulaciju [133]. Hiperurikemija korelira sa težinom kliničke slike PE, prevremenim porođajem i malom težinom fetusa za gestacijsku nedelju, te može biti koristan biomarker za procenu rizika, posebno u kombinaciji sa drugim markerima [134].

Kontinuirano i sveobuhvatno istraživanje specifičnih inflamatornih markera u PE predstavlja obećavajući put ne samo za razvoj preciznijih, osetljivijih i pouzdanijih dijagnostičkih algoritama i prognostičkih testova koji bi omogućili ranu identifikaciju rizičnih trudnica, već i za dublje razumevanje kompleksne i višeslojne patogeneze ovog ozbiljnog poremećaja trudnoće, što bi dugoročno moglo voditi razvoju inovativnih, personaliziranih i ciljanih terapijskih i preventivnih pristupa.

Adipokini (ili adipocitokini) su citokini koje primarno sekretuje masno tkivo kao biološki aktivne supstance. Adipokini su ćelijski signalni proteini koji regulišu ili moduliraju različite biološke procese u ciljnim organima, uključujući mozak, jetru, mišiće, srce, krvne sudove, pankreas i imuni sistem [135].

Adipokini su uključeni u brojne procese: modulaciju korišćenja energije i regulaciju apetita, metabolizam lipida i glukoze, osetljivost na insulin, funkciju endotelних ćelija, inflamaciju, angiogenezu, regulaciju krvnog pritiska, hemostazu, patogenezu metaboličkog sindroma i ateroskleroze [136].

Adipokini mogu imati proinflamatorna i antiinflamatorna svojstva, održavajući ravnotežu između sistemskog metabolizma i imunološke funkcije. Antiinflamatorni adipokini stimuliraju polarizaciju makrofaga ka M2 tipu, koji inhibira inflamatorne reakcije, dok proinflamatorni podstiču polarizaciju makrofaga ka M1 tipu, koji pokreće inflamatornu kaskadu [137]. U stanjima koja prate inflamaciju niskog intenziteta, kao što su gojaznost, metabolički sindrom i trudnoća, ova ravnoteža je pomerenjena ka povećanoj produkciji proinflamatornih citokina [138]. Rezultati većeg broja studija su potvrdile povišene vrednosti proinflamatornih adipokina, kao što su leptin, rezistin i visfatin, kod trudnica koje su riziku da razviju PE [139].

Rezistin je relativno skoro otkriven adipokin koji pripada grupi proteina bogatih cisteinom, poznatih kao rezistinu slične molekule (*RELMs-resistin like molecules*) i ima tendenciju da cirkuliše kao oligomer, koji je biološki aktivan [140]. Novija istaživanja su dokazala da je rezistin najviše ekspimiran u koštanoj srži, a ne u adipocitima, kako se u ranije smatralo [140]. Pored toga, ekspimiran je i u trofoblastnim ćelijama placente, pankreasa i sinovijalne tečnosti [141,142,143]. Prva saznanja o rezistinu povezivala su ga sa insulinskom rezistencijom, međutim, novije studije su pokazale da rezistin može da otpočne proinflamatorne reakcije u „in vitro“ i „in vivo“ uslovima. Ekspresija gena za rezistin regulisana je mehanizmom pozitivne povratne sprege sa monocitno-makrofagnom diferencijacijom, kao i sa aktivacijom proinflamatornih medijatora tipa $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL}1\beta$, IL-6 , koji povećavaju ekspresiju gena za rezistin u mononuklearnim ćelijama, što ukazuje na njegovu ulogu u inflamatornim procesima [144]. Rezistin ispoljava svoju funkciju prvenstveno kroz aktivaciju sekrecije $\text{TNF}\alpha$ i IL-12 u makrofagima i monocitima, te se stoga može klasifikovati kao marker inflamacije [145]. Ekspresija gena za rezistin u humano placenti prvi put je dokazana od strane Yura i saradnika 2003.godine, u studiji koja je pokazala da humana placenta proizvodi rezistin, srazmerno rastu placente [143].

Nivo rezistina u fiziološkim trudnoćama u prvom i drugom trimestru ostaje relativno konstantan, da bi u trećem trimestru njegova koncentracija počela da raste [146]. S obzirom na to da rezistin poreklom iz adipocita ne menja svoju ekspresiju u toku trudnoće, smatra se da je produkcija od strane placente glavni razlog povišenih vrednosti rezistina u cirkulaciji majke [147].

Ne postoji veliki broj studija koje su se bavile ispitivanjem rezistina u trudnoći, pogotovo one koje su se bavile regulacijom rezistina u trudnoćama povezanim sa komplikacijama poput gestacijskog dijabetesa, PE i IUGR. Rezultati studije Song Y. i saradnika prikazali su da se kod trudnica koje su razvile PE koncentracije rezistina u cirkulaciji značajno povećavaju u odnosu na fiziološku trudnoću [148]. Slično tome, studija Seol i sar. [149] prikazala je povišene vrednosti rezistina kod trudnica sa PE u odnosu na zdrave trudnice, kao i u odnosu na negravidne žene.

S obzirom na to da rezistin promoviše inflamatorne efekte i stimuliše sintezu TNF- α , smatra se da ima ulogu u prenatraženom inflamatornom odgovoru majke, koji je udružen sa PE [150].

Monocitni hemotaktični protein 1 (MCP -1) je hemokin koji se proizvodi u raznim tipovima ćelija, uključujući makrofage, monocite, limfocite i ćelije endotela. Glavno mesto njegove produkcije je masno tkivo i uglavnom ga proizvode makrofage [151]. Osnovna funkcija MCP-1 je aktivacija i regrutovanje leukocita na mesto inflamacije, pa se stoga smatra proinflamatornim citokinom. Studije su dokazale da se geni za MCP-1 ekspimiraju u decidui, miometriju, kao i u placenti [152].

Produkcija MCP-1 se povećava tokom trudnoće, pa se smatra da ima ulogu u modulaciji imunog odgovora na lokalnom nivou perifernih leukocita i time utiče na procese angiogeneze, apoptoze, proliferacije i diferencijacije [153,154]. Pretpostavlja se da MCP-1 ima udeo u regulaciji trofoblastne invazije i uticaj na njen razvoj i funkciju kroz aktivaciju makrofaga u decidui [155].

Rezultati studija su pokazale povišene vrednosti MCP-1 kod trudnica sa PE, u porođenju sa fiziološkom trudnoćom, udružene sa pojačanim stepenom inflamacije [156].

Osim toga, povišene vrednosti MCP-1, koje su prikazali Maus U i saradnici [157], povezuju se sa endotelnom disfunkcijom. Studija je prikazala da je kod trudnica koje su u riziku da razviju PE, povišena ekspresija MCP-1 od strane decidualnih ćelija placent, što stimuliše oslobađanje TNF- α od strane decidue, što zajedno dovodi do apoptoze ekstraviloznih trofoblasta i smanjena invazije trofoblasta [158]. Slični rezultati su prikazani u studiji Arafah S. i saradnika [159], gde je ekspresija gena za MCP-1 u cirkulaciji i placenti bila značajno veća kod trudnica sa PE u odnosu na zdrave trudnice.

Heparin-vezujući epidermalni faktor rasta (Hb-egf) je glikoprotein koji ekspimiraju mnoge ćelije, uključujući makrofage, glatke mišićne i endotelne ćelije [160]. Nalazi se u različitim tkivima, u srcu, mozgu, plućima i skeletnim mišićima i ima ključnu ulogu u procesu angiogeneze. To postiže aktivacijom endotelne azot oksid sintaze (eNOS) i oslobađanjem NO, dok se, sa druge strane, smatra da inhibicijom MAPK signalnog puta Hb-egf povećava migraciju endotelnih ćelija i angiogenezu [161]. U trudnoći, Hb-egf je u prvom trimestru akumuliran u trofoblastima [162]. Istraživanja na miševima su pokazala da može da inicira molekulske i ćelijske promene prilikom formiranja decidue, kao i da inhibira apoptozu [163,164]. Ovaj protein indukuje nastanak invazivnog fenotipa trofoblasta iz blastocista kod trudnica, čime doprinosi održavanju trofoblasta [165]. Rezultati prethodnih studija su pokazali da je nivo Hb-egf kod trudnica sa PE izuzetno nizak [166]. Smatra se da su niske koncentracije Hb-egf u korelaciji sa stepenom oksidativnog stresa i endotelne disfunkcije. U ranom gestacijskom razvoju, snižen Hb-egf može da prekine ili oteža komunikaciju stem ćelija trofoblasta i diferencijaciju ka ekstraviloznom tipu,

što možda ima ključnu ulogu u patogenezi PE i IUGR. Konzistentna deficijencija placentalne ekspresije Hb-egf, koja je zapažena u PE, kao i zavisnost ćelijskih mehanizama od funkcije Hb-egf, ukazuje na to da ovaj protein može imati vrlo važnu ulogu u patogenezi PE [167]. Ipak njegova uloga u PE nije u potpunosti istražena.

Serumski amilod A (SAA) je protein akutne faze čija koncentracija varira u zavisnosti od opšteg stanja pacijenta, prisustva bolesti, inflamatornih procesa, kao i od terapije. SAA je senzitivni marker inflamacije koji se koristi u evaluaciji pacijenata sa transplantiranim organima, kao marker kojim se može vršiti procena rizika za odbacivanje transplantanta u kombinaciji sa CRP-om [168].

Sintezu SAA u jetri stimulišu IL-1, IL-6 i TNF- α . U cirkulaciji se vezuje za lipoprotein visoke gustine –(HDL), istiskujući apolipoprotein A1 (ApoA1), tako da SAA ima ulogu u kontroli i razvoju reakcije akutne faze, ali i u modifikaciji metabolizma lipida [169,170]. SAA se značajno eksprimira u adipocitima i korelira sa ITM [169,170,171,172]. Uloga SAA u razvoju ateroskleroze obuhvata stimulaciju hemotakse monocita i neutrofila, kao i stimulaciju produkcije proinflamatornih citokina [171]. Proaterogeni efekti SAA ostvaruju se i kroz modulaciju funkcije HDL čestice. Inkorporacija SAA u HDL smanjuje kapacitet preuzimanja holesterola i antiinflamatornu funkciju ovih lipoproteinskih čestica [173,170].

U trudnoći, koncentracija SAA se razlikuje u odnosu na negravidno stanje usled pojačanog lučenja hormona, povećanja adipoznog tkiva i prisustva inflamacije niskog intenziteta koji prati trudnoću [174]. Osim toga, studija koju su sprovedi Gan i saradnici [175] pokazala je da SAA sintetiše i placenta.

U PE može se očekivati da je koncentracija SAA u plazmi trudnice viša u odnosu na fiziološku trudnoću usled pojačanog sistemskog inflamatornog odgovora, poremećaja endotelne funkcije i posledično pojačanog otpuštanja proinflamatornih citokina TNF- α , IL-6 i IL-8, koji dovode do povećane produkcije i oslobađanja SAA od strane hepatocita [176]. Rezultati prethodnih studija koje su se bavile proučavanjem SAA u PE nisu konzistentni. Asharaf H. i saradnici su pokazali da su vrednosti SAA kod trudnica sa PE bile statistički značajno veće u odnosu na fiziološku trudnoću [176]. Međutim, Mohammed i saradnici [175] nisu dobili značajnu razliku u vrednostima SAA između trudnica sa PE i kontrolne grupe. Neophodna su dodatna ispitivanja promene koncentracije SAA u trudnoćama sa PE, kao i njegove uloge u inflamatornim procesima u PE.

9. METABOLIZAM LIPIDA U TRUDNOĆI

Metabolizam lipida trudnice menja se postepeno tokom trudnoće, u skladu sa razvojem ploda. Akumulacija lipida i hiperlipidemija su najizraženije promene u metabolizmu lipida u trudnoći. Glavni energetski supstrat za fetus je glukoza, koja ima najveći stepen prometa kroz placentu procesom olakšane difuzije. Za razliku od glukoze, slobodne masne kiseline (SMK) i glicerol se u manjoj meri transportuju kroz placentu, pri čemu je transport kompleksan i zavisi od receptora i enzima na trofoblastima. Za optimalan razvoj fetusa neophodno je unošenje adekvatne količine glukoze, aminokiselina i masnih kiselina ishranom majke, ali je takođe neophodna i funkcionalna placenta [177].

Placenta metaboliše lipide majke u slobodne masne kiseline kako bi ćelije trofoblasta mogle da ih preuzmu i dalje koriste za rast i razvoj fetusa. U prvoj polovini trudnoće, hiperfagija trudnice obezbeđuje dovoljne količine lipida. U drugoj polovini trudnoće, kada preovladavaju katabolički procesi, dolazi do razvoja insulinske rezistencije. Pojačana lipoliza dovodi do hiperlipidemije, odnosno hipertrigliceridemije. Najveći deo triglicerida nalazi se u cirkulaciji u VLDL (lipoproteinska čestica vrlo niske gustine), ali i u drugim frakcijama, kao što su LDL (lipoproteinska čestica niske gustine) i HDL [177]. Koncentracija triglicerida u lipoproteinima veća je kod trudnica nego kod negravidnih žena. Trigliceridi cirkulacije majke predstavljaju glavni izvor masnih kiselina za fetus. Povećana dostupnost lipida, zajedno sa progresivnim povećanjem transporta kroz placentu tokom trudnoće, zadovoljava rastuće potrebe fetusa za energijom i nutrijentima, naročito tokom neurološkog razvoja [178].

Transport lipida kroz placentu odvija se tako što trigliceridi u lipoproteinima hidrolizuju do slobodnih masnih kiselina, pod dejstvom lipaza koje su eksprimirane na placenti. Lipoproteinska lipaza (LPL) hidrolizuje trigliceride iz hilomikrona, VLDL i HDL u najvećoj meri. Aktivnosti LPL i endotelne lipaze (EL) su povišene pred kraj trudnoće u odnosu na prvi trimestar, što ukazuje na pojačan transport SMK krajem trudnoće, usled povećane potrebe fetusa za istim. SMK zatim prolaze kroz placentu delimično difuzijom, a veći deo preko proteina nosača. U fetalnoj cirkulaciji, SMK su vezane za albumin ili u obliku hilomikrona, a u jetri se esterifikuju do triglicerida i oslobađaju u vidu fetalnog VLDL-a [179].

U trećem trimestru trudnoće, aktivan transport i metabolizam lipida postaju vrlo važni, jer fetus u ovom periodu dobija značajne koncentracije polinezasićenih masnih kiselina kao i polinezasićenih dugolančanih masnih kiselina koje su potrebne za razvoj nervnog sistema. Poremećaj metabolizma lipida direktno utiče na intrauterini razvoj. Nedostatak esencijalnih masnih kiselina može dovesti do kongenitalnih malformacija i kognitivnih poremećaja, kao i do prekomernog ili restriktivnog

intrauterinog rasta. Uloga placente u transportu lipida zavisi od homeostaze lipida trudnice, a dislipidemija može imati epigenetski uticaj na metaboličke i kardiovaskularne poremećaje ploda kasnije u životu [180].

U fetalnom razvoju, holesterol ima ulogu u formiranju ćelijskih membrana, signalnim putevima, kao i u sintezi steroidnih hormona i vitamina D. Egzogeni izvor fetalnog holesterola dolazi iz krvotoka majke i transportuje se preko žumančane kese. Ovaj izvor holesterola dominira sve dok fetalna jetra ne započne *de novo* sintezu holesterola, koji tada postaje glavni endogeni izvor [181].

Lipoproteini ulaze u ćelije sinciotrofoblasta endocitozom putem receptora (receptor za LDL, VLDL receptor, receptor čistač klase A-*scavenger receptor* i drugi). U ćelijama, lipoproteini se transportuju u lizosome, gde se uz pomoć lizozomalnih hidrolaza oslobađaju steroli. Na bazolateralnoj fetalnoj strani trofoblasta, oni prolaze kroz ćelije trofoblasta i endotelne ćelije i ulaze u fetalnu cirkulaciju. Najveći deo sterola prenosi se HDL i LDL česticama, a u manjoj meri VLDL-om. Glavni transporter holesterola je HDL čestica, koja za razliku od HDL-a kod odraslih, ima više apolipoproteina E, a niže vrednosti apoA1 [181].

9.1. Dislipidemija u trudnoći

Napredovanjem trudnoće menja se lipidni profil trudnice, koji obuhvata drastičan porast vrednosti triglicerida, umeren porast holesterola, holesterola u LDL česticama (LDL-C) i SMK. Ovakav lipidni profil je u svim drugim metaboličkim stanjima praćen i smanjenom koncentracijom holesterola u HDL česticama (HDL-C) i definiše se kao proaterogen lipidni profil. Međutim, u trudnoći, umesto smanjene koncentracije HDL-C zabeležen je njegov porast. Vrednosti HDL-C počinju da rastu od drugog trimestra, što je glavni razlog zbog kojeg ovakav lipidni profil specifičan za trudnoću nije aterogen, već protektivan [182].

Dislipidemija u trudnoći je udružena sa razvojem GDM, gestacijskom hipertenzijom i PE [183]. Abnormalne koncentracije lipida u trudnoći predstavljaju značajan faktor u patogenezi PE. Rezultati prethodnih istraživanja ukazuju da dislipidemija doprinosi razvoju PE kroz mehanizme povezane sa endotelnom disfunkcijom i povišenim oksidativnim stresom. Hipertrigliceridemija pomera odnos LDL subklasa ka manjim, gušćim česticama koje su podložnije oksidativnoj modifikaciji. Studije su pokazale da u PE visok nivo LDL-C ostaje u cirkulaciji majke i do tri godine nakon porođaja, što predstavlja faktor rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti [183].

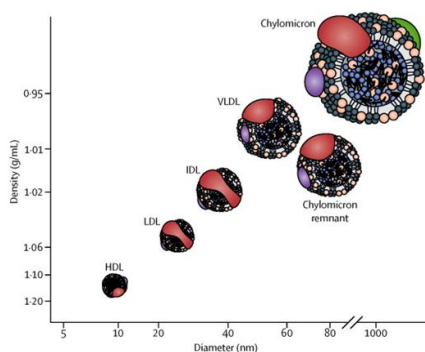
Produkti lipidne peroksidacije koji nastaju u stanju dislipidemije u trudnoći takođe imaju ulogu u patogenezi PE. Placente PE trudnica su pokazala postojanje patoloških lezija, nekroze zidova arterija, agregacije trombocita i lipida u makrofagama (penaste ćelije) [184]. Decidualno tkivo takođe sadrži visoke koncentracije lipidnih peroksida. Ove nalaze potvrđuje činjenica da odmah nakon porođaja i uklanjanja decidualnog tkiva, oporavak od PE postaje ubrzan [184].

Ispitivanje lipidnog profila u PE je novo polje istraživanja, jer uvid u lipidni status može doprineti boljem razumevanju ovog sindroma. Meta-analize koje su upoređivale žene sa istorijom PE u trudnoći sa ženama koje nisu imale komplikacije, pokazale su da su PE trudnice tokom trudnoće imale povišene vrednosti ukupnog holesterola i triglicerida, a snižene vrednosti HDL-C [185]. Pored toga, dokazano je da žene sa istorijom PE imaju duplo veći rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti kasnije u životu [186].

Nacionalna lipidna asocijacija (NLA) Sjedinjenih Američkih Država daje preporuku za rutinsku proveru lipidnog statusa trudnica na početku trudnoće [187]. Iako skrining na dislipidemiju još uvek ne postoji, identifikovanje trudnica sa prethodnom kardiovaskularnom bolešću, porodičnom hiperholesterolemijom ili hipertrigliceridemijom od ključne je važnosti kako bi se omogućio multidisciplinarni lekarski pristup. Perinatalni period, kada žena najčešće posećuje lekara, predstavlja priliku za skrining lipidnog statusa i prevenciju komplikacija, dovođenjem vrednosti lipida u preporučene opsege. NLA kroz svoje edukativne programe radi na podizanju svesti o PE i udruženim kardiovaskularnim rizikom, edukaciji kliničara o važnosti praćenja lipidnog profila kod žena sa istorijom PE, kao i promociji preporuka za redovne kontrole kardiovaskularnog zdravlja nakon trudnoće s PE [188].

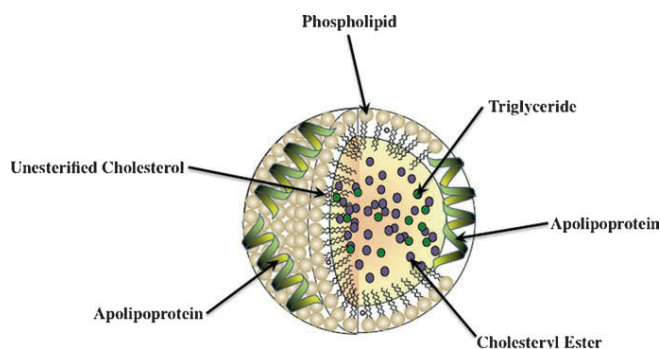
9.2. HDL čestice u trudnoći

Lipoproteini plazme su makromolekule sačinjene od kompleksa lipida, uključujući holesterol, trigliceride i fosfolipide, kao i apolipoproteine [189]. Lipoproteini se klasifikuju prema gustini, veličini čestica, elektroforetskoj pokretljivosti ili afinitetu prema različitim absorbensima. (Slika 6).



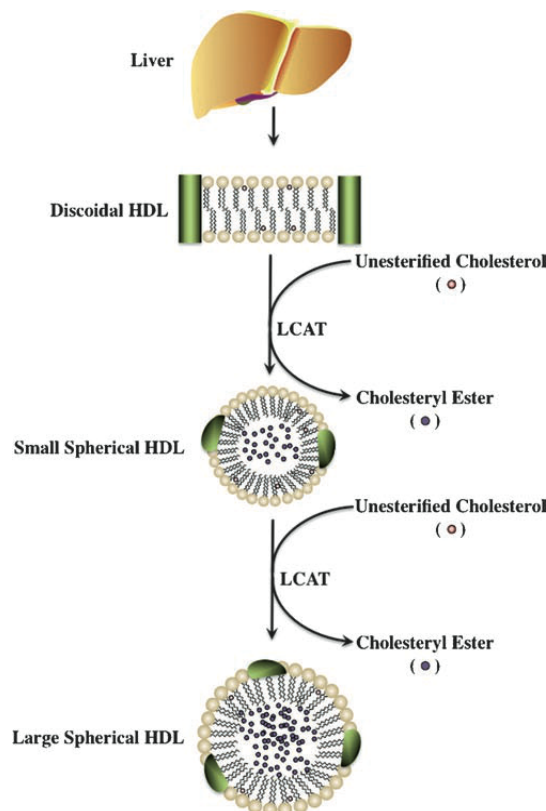
Slika 6: Heterogenost lipoproteinskih čestica. Preuzeto od Ridker, 2014.

HDL čestica se sintetiše zajedno sa ApoA1, koji je sastavni proteinski deo HDL čestice. Pored ApoA1, HDL čestica u manjoj meri sadrži i ApoA 2, ApoE, ApoC i brojne druge apolipoproteine. Lipidnu frakciju čini oko 200 vrsta lipida koje ulaze u sastav ove čestice, a među njima su najzastupljeniji fosfolipidi, sfingolipidi, estri holesterola, slobodan holesterol i trigliceridi (Slika 7). Takođe, za HDL česticu su vezani i brojni enzimi, hormoni, vitamini preko kojih se vrši međućelijski transfer [190].



Slika 7: Sastav HDL čestice. *High Density Lipoproteins, Dyslipidemia, and Coronary Heart Disease* by Ernst J. Schaefer, Ernst J. Schaefer

HDL čestica se stvara u jetri i intestinumu, prvo u vidu nascentne čestice siromašne lipidima, da bi u procesu sazrevanja preuzimala fosfolipide i slobodan holesterol uz pomoć adenozin 5'-trifosfat vezujućeg kasetnog transportera A1 (ATP-binding cassette transporter A1 – ABCA1) i prelazi u diskoidnu HDL česticu. Još jedan enzim koji utiče na sazrevanje HDL čestice je lecitin holesterol aciltransferaza (engl. *Lecithin Cholesterol Acyltransferase, LCAT*), koja omogućava esterifikaciju holesterola [191]. Hidrofobni estri holesterola premeštaju se u središte HDL čestice stvarajući sferičnu strukturu (Slika 8).



Slika 8: Sazrevanje HDL čestice. *High Density Lipoproteins, Dyslipidemia, and Coronary Heart Disease* by Ernst J. Schaefer, Ernst J. Schaefer

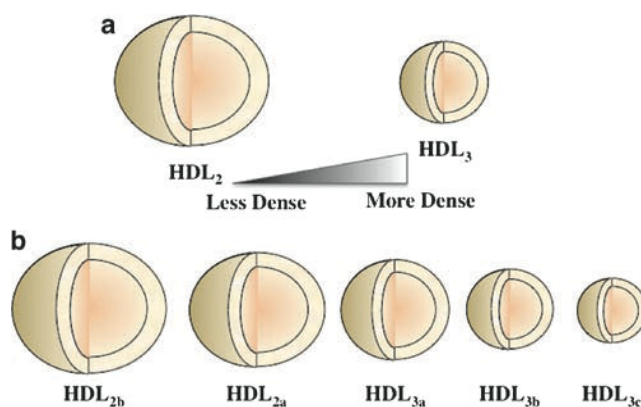
LCAT vrši esterifikaciju holesterola, a estri holesterola se pomeraju u jezgro čestice zbog svoje nepolarnosti, što omogućava čestici dalji rast ka okruglim HDL 3 česticama, a na kraju i ka HDL 2, velikim sfernim česticama. Zrela HDL čestica može dalje preuzimati holesterol ATP zavisnim transportom [192]. Zrela HDL čestica transportuje holesterol u obliku estera do jetre preko SR-B1 receptora ili ga menja za trigliceride sa lipoproteinskim česticama koje sadrže ApoB, posredstvom CETP-a. HDL čestice bogate trigliceridima, pod uticajem hepatične i endotelne lipaze, podležu lipolitičkim modifikacijama i katabolizuju se u jetri i bubrezima [192].

HDL čestice u cirkulaciji prisutne su u više različitih subfrakcija koje se međusobno razlikuju po veličini i sadržaju lipida i proteina [194]. Ove različite subfrakcije HDL čestica razlikuju se po svojim fizičko-hemijskim i metaboličkim svojstvima. Metodom elektroforeze izvršena je podela na osnovu veličine, pri čemu se dve klase HDL čestica razdvajaju na pet subklasa: HDL2b (9,7 - 12 nm), HDL2a (8,8 - 9,7 nm), HDL3a (8,2 - 8,8 nm), HDL3b (7,8 - 8,2 nm) i HDL3c (7,2 - 7,8 nm) (Slika 9) [193].

Iako ne postoji standardna metoda klasifikacije subfrakcija HDL čestica zbog različitih metoda razdvajanja koje se mogu koristiti, generalno je prihvaćeno da su HDL čestice čiji je dijametar $> 8,8\text{nm}$ velike HDL 2 čestice, dok su čestice čiji je dijametar $\leq 8,8\text{ nm}$ HDL 3, male HDL čestice [194].

HDL 3 čestice mogu nastati i konverzijom HDL 2 čestica na više načina. Prvo, delovanjem CEPT enzima, pri čemu HDL 2 prenosi estere holesterola na lipoproteine niske gustine (LDL i VLDL) u zamenu za trigliceride, čime nastaju manje, gušće HDL 3 čestice. Zatim, dejstvom hepatične i endotelne lipaze, vrši se hidroliza triglicerida na HDL 2 česticama, kao i preko SR-B1 receptora u jetri i reproduktivnim organima, gde HDL 2 čestice mogu predavati estere holesterola, smanjujući se i prelazeći u HDL 3 česticu [192].

HDL 3 čestice podstiču reverzni transport holesterola preuzimanjem holesterola sa periferije, čime postaju veće HDL 2 čestice. Zbog toga se kod zdravih osoba smatra da HDL 3 čestice imaju veći protektivni kapacitet od HDL 2 čestica. U stanjima hipertrigliceridemije dolazi do prelaska triglicerida sa VLDL na HDL 2 čestice, u zamenu za holesterol estere, čime se veličina HDL 2 čestica smanjuje i one postaju manje i gušće HDL 3 čestice. Iako su ove čestice manje, obogaćene su trigliceridima i nisu ateroprotektivnije. Porast koncentracije ovih HDL 3 čestica povezan je sa povećanim rizikom od kardiovaskularnih bolesti i predstavlja posledicu strukturnih i funkcionalnih modifikacija HDL 2 čestica, a ne *de novo* sinteze malih HDL 3 čestica bogatih proteinima koje bi imale ateroprotektivne funkcije. [192].



Slika 9. Raspodela subfrakcija HDL čestica na osnovu a) veličine i b) sastava

Kardioprotektivni efekti HDL čestica ostvaruju se preko nekoliko mehanizama: antiinflamatorne, antioksidativne i antiaterogene funkcije u organizmu, koje zajedno sa regulacijom endotelne funkcije,

koja pospešuje produkciju NO i održava endotelni integritet, predstavljaju najznačajnije aspekte u kontekstu trudnoće [194].

HDL čestice ispoljavaju svoja antiaterogena svojstva kroz proces reverznog transporta holesterola, preuzimajući holesterol iz perifernih ćelija i makrofaga u intimi arterija i transportujući ga do jetre, gde se konvertuje u žučne kiseline i delimično izlučuje iz organizma [195]. Antioksidativna svojstva HDL čestica ogledaju se u inaktivaciji lipidnih hidroperoksida uz učešće ApoA1. Osim toga, HDL sadrži enzim paraoksonazu 1 (PON1) koji štiti HDL i LDL od oksidativnih modifikacija, omogućavajući katabolizam oksidovanih fosfolipida i holesterol estara [196]. HDL poseduje i anti-inflamatorna svojstva, koja ostvaruje smanjenjem migracije monocita usled redukcije ekspresije adhezivnih molekula na endotelnim ćelijama, čime utiče na imuni odgovor i sekreciju proinflammatoryh citokina [196]. S obzirom na izuzetno heterogenu strukturu HDL čestica, veliki broj studija se bavio ispitivanjem antiaterogenog potencijala pojedinačnih HDL subfrakcija. Iako rezultati studija nisu u potpunosti konzistentni, generalni zaključak je da sama veličina HDL čestica nije adekvatan pokazatelj antiaterogenog kapaciteta. Iako su rezultati većine studija ukazali da male HDL 3 čestice, koje su siromašnije lipidima, imaju veću sposobnost preuzimanja holesterola iz perifernog tkiva u procesu reverznog transporta holesterola i sa tog aspekta imaju veći antiaterogeni potencijal, one su takođe podložnije strukturnim i funkcionalnim promenama u stanjima dislipidemije, inflamacije i oksidativnog stresa, što za posledicu ima gubitak antiaterogenih svojstava [196].

Rezultati prethodnih studija pokazali su da u fiziološkoj trudnoći dolazi do prasta koncentracije holesterola u HDL česticama. Smatra se da ovo povećanje ima zaštitnu ulogu na funkcionisanje endotela majke. Sa druge strane, rezultati studija su pokazali da u PE izostaje ovo povećanje koncentracije holesterola u HDL česticama [197].

Sastav i funkcija lipoproteina u visokorizičnim trudnoćama još uvek su nedovoljno istraženi, ali je pokazano da je stepen dislipidemije u ranoj trudnoći udružen sa povećanim rizikom za razvoj PE [198]. U tom smislu, promene koncentracije, ali i strukture HDL čestica su posebno interesantne.

Ekspresija ApoA1, kao glavnog apolipoproteina na HDL čestici, prolazi kroz značajne promene tokom trudnoće. Tokom rane trudnoće, ApoA1 je ključan za transport holesterola, dok placenta luči ApoA1 kako bi pomogla u održavanju homeostaze holesterola majke i fetusa. Za razliku od prvog trimestra, nivoi ApoA1 se značajno povećavaju tokom kasne gestacije. Ovaj porast je zabeležen i u krvi i u tkivu placente kod žena koje su razvile PE. Posebno, povišeni nivoi ApoA1 tokom kasne trudnoće pozitivno koreliraju sa povišenim sistolnim krvnim pritiskom, što ukazuje na potencijalnu vezu sa stepenom težine PE. Studije su pokazale da je placentna sekrecija ApoA1 pretežno usmerena ka cirkulaciji majke, u odnosu na fetalnu cirkulaciju [199]. Iako ApoA1 nije pouzdan prediktor za razvoj

PE, njegovi povišeni nivoi mogu ukazivati na ozbiljnost bolesti i mogu poslužiti kao osnova za strategije lečenja. S obzirom na njegove fluktoacije tokom trudnoće, posebno njegovo povećanje tokom kasne gestacije, ApoA1 može poslužiti kao biomarker za praćenje zdravlja majke [200].

U stanjima hipertrigliceridemije, HDL čestice bivaju obogaćene trigliceridima uz gubitak estara holesterola, što menja odnos ovih lipidnih komponenti u jezgru HDL čestica. Ovo dovodi do konformacionih promena na proteinima koji se nalaze na HDL česticama, što direktno smanjuje kapacitet za reverzni transporta holesterola, kao i antioksidativni i antiinflamatorni potencijal ovih čestica. Međutim, iako se veliki broj studija bavio proučavanjem promene strukture i funkcionalnosti HDL čestica u patološkim stanjima koje karakteriše hipertrigliceridemija, iznenađujuće je da za sada nije bilo studija koje su se bavile ovom temom u kontrktu patologije trudnoće. Ispitivanje PON1 kao sastavnog dela HDL čestica je ključno za procenu funkcionalnosti ovih čestica. Rezultati studija su uglavnom pokazali da je aktivnost enzima PON1 snižena u PE. Međutim, analiza povezanosti aktivnosti enzima PON1 sa veličinom lipoproteinskih čestica, kao i povezanost sa faktorima rizika za razvoj PE, još uvek nije dovoljno istražena. Zbog svega navedenog, može se zaključiti da je za ispitivanje uloge HDL čestica u PE neophodan je integrativan pristup, koji podrazumeva ispitivanje sastava i strukture samih čestica, pored rutinskog određivanje koncentracije HDL-C.

10. AKTIVNOST ENZIMA PON1 U TRUDNOĆI

PON1 pripada grupi enzima za čiju aktivnost je neophodan kalcijum. Postoje 3 izoenzima: PON1, PON2 i PON3, pri čemu su PON1 i PON3 cirkulišući izoenzimi, dok je PON2 intracelularni [201]. PON1 je dobio ime po najčešće korišćenom nefiziološkom supstratu paraoksonu, metabolitu organofosforog insekticida parationa. PON1 hidrolizuje aromatične estre i lactone, kao i nervne otrove i pesticide. Aktivnost PON1 predstavlja jednu od najznačajnijih antioksidativnih komponenti HDL-a, jer sprečava oksidativnu modifikaciju LDL čestica, sprečava stvaranje slobodnih radikala i vrši hidrolizu oksidovanih lipida [202]. Aktivnost PON1 je najveća u HDL3 subpopulaciji lipoproteina, a snižena aktivnost PON1 je povezana sa oboljenjima koja uključuju endotelnu aktivaciju i disfunkciju, dijabetes i kardiovaskularne bolesti [203].

Studije koje su se bavile ispitivanjem PON1 u trudnoći dale su nekonzistentne rezultate. Studija koju su sprovedi Ardalić i saradnici pokazala je da aktivnost PON1 u fiziološkoj trudnoći opada sa napredovanjem trudnoće, usled slabljenja antioksidativnog odbrambenog sistema tokom trudnoće [204].

Sa druge strane, Huen i saradnici su pokazali da je tokom trudnoće, posebno u drugoj polovini, aktivnost PON1 povišena kao odgovor na stanje povećanog oksidativnog stresa [205]. Jiang i saradnici pratili su longitudinalne promene parametara oksidativnog stresa kod trudnica koje su zatrudnele uz pomoć ART tehnologije u poređenju sa onima koje su zatrudnele prirodnim putem i za obe grupe su dobili da se aktivnost PON1 smanjuje sa napredovanjem trudnoće [206].

U PE, genska ekspresija PON1 na placenti se ne menja u odnosu na fiziološku trudnoću, dok rezultati istraživanja aktivnosti PON1 u cirkulaciji trudnica sa PE prikazuju povišene, snižene ili nepomenjene vrednosti u poređenju sa fiziološkom trudnoćom [208,209,210].

Razlog za nekonzistentnost u rezultatima studija koje su istraživale PON1 jeste to što se aktivnost PON1 može odrediti različitim metodama, pomoću različitih supstrata (paraoksonazne, arilesterazne, ili laktonazne aktivnosti PON1). Različite metode određivanja aktivnosti PON1 nemaju iste specifične dijagnostičke karakteristike i nisu jednako osetljive kod svih patoloških stanja. Do sada nije definisan supstrat koji bi se univerzalno koristio u istraživanjima, što otežava poređenje rezultata.

CILJEVI ISTRAŽIVANJA

- Longitudinalno praćenje promena koncentracije markera inflamacije (hsCRP, mokraćne kiseline, LDH, rezistina, MCP1, Hb-egf i SAA) u 4 tačke tokom trudnoće (sredina prvog trimestra, sredina drugog trimestra, sredina trećeg trimestra i neposredno pre porođaja) u visokorizičnim trudnoćama sa i bez razvoja PE.
- Ispitivanje razlika u koncentraciji inflamatornih markera između trudnica koje su bile u riziku i nisu razvile PE i trudnica koje su razvile PE u sve 4 tačke ispitivanja.
- Longitudinalno ispitivanje kvalitativnih i kvantitativnih karakteristika HDL čestica (dijametar čestica, raspodela subfrakcija, aktivnost PON1, određivanje aktivnosti enzima PON1 na razdvojenim HDL subfrakcijama) kod trudnica koje su bile u riziku i nisu razvile PE i trudnica koje su razvile PE. Ispitivanje razlika u kvalitativnim i kvantitativnim karakteristikama HDL čestica u sve 4 tačke.
- Ispitivanje povezanosti svih analiziranih markera sa tradicionalnim faktorima rizika za razvoj PE.
- Evaluacija značaja svakog pojedinačnog biomarkera za procenu rizika za razvoj PE.
- Formiranje različitih modela za procenu rizika za razvoj PE i provera njihovih prediktivnih potencijala.
- Upoređivanje dijagnostičke tačnosti modela od značaja.

MATERIJALI I METODE

1. Ispitivana populacija

Studija je dizajnirana kao longitudinalna u periodu trajanja od 01.06.2016 do 31.08.2018 godine. Proces selekcije trudnica sa povišenim rizikom za razvoj PE obavljao se prilikom njihove prve posete radi prenatalnog pregleda, u periodu od 11+0 do 13+6 nedelje gestacije (ng), u Ginekološko-akušerskoj Klinici „Narodni Front“ u Beogradu. Uz anamnezu i merenje srednjeg arterijskog pritiska, gestacijska starost i doplerska merenja određivana su ultrazvučnim pregledom.

Sve trudnice su dale pismeni pristanak za učešće u studiji, koju je odobrio Etički odbor Ginekološko akušerske Klinike-GAK „Narodni Front“, kao i Etički komitet za biomedicinska istraživanja Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (broj odluke: 24/55-6).

Kriterijum za uključivanje u studiju je podrazumevao postojanje unapred utvrđenih faktora rizika prema NICE preporukama [211], gde su trudnice koje su imale ili jedan visok ili dva ili više umerenih faktora rizika bile uključene u studiju. Kriterijumi za isključivanje iz studije su bili pobačaj ili intrauterina smrt fetusa, prisustvo hromozomskih aneuploidija kao i utvrđivanje strukturnih anomalija fetusa, akutno infektivno oboljenje u bilo kojoj od tačaka uzorkovanja, višepodna trudnoća, istorija malignih bolesti pre trudnoće.

Faktori visokog rizika:

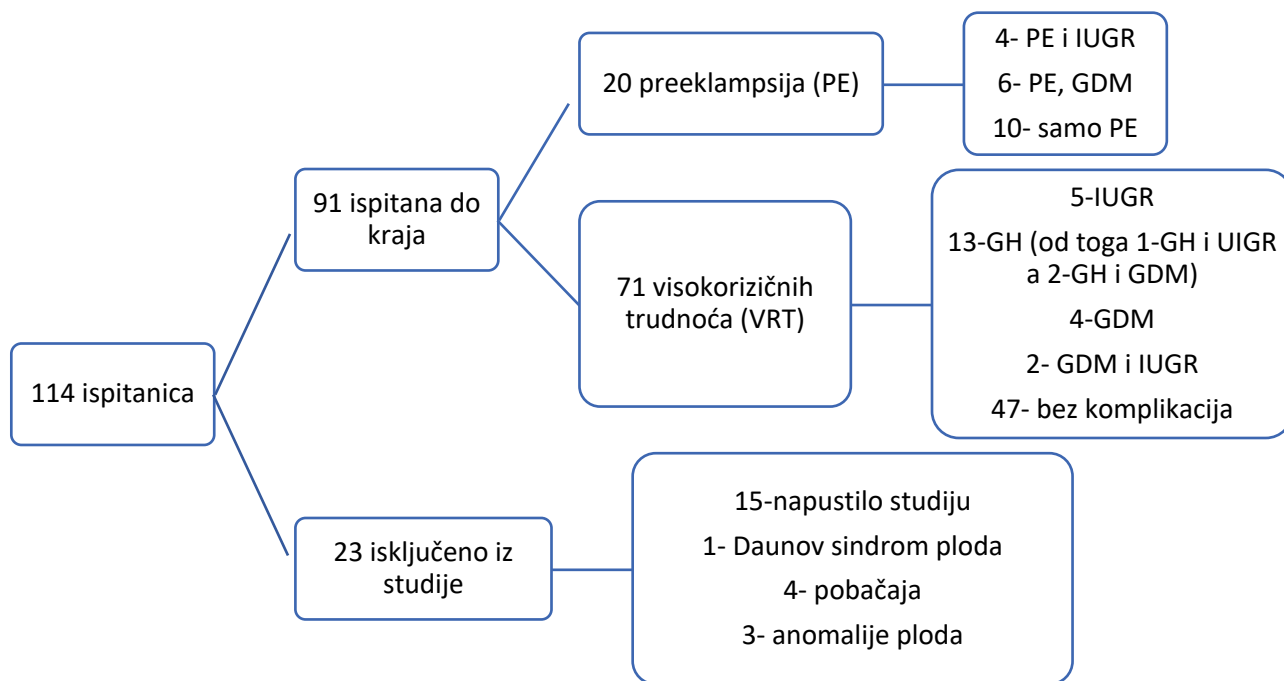
- PE u prethodnoj trudnoći
- hipertenzija u prethodnoj trudnoći
- hronična hipertenzija
- hronične bolesti bubrega,
- dijabetes melitus tip 1 ili 2
- autoimune bolesti (sistemski eritemski lupus, antifosfolipidni sindrom)
- trombofilije (mutacije faktora V koagulacije, mutacije faktora II protrombin gena, deficit antitrombina III, deficit proteina C ili S)
- patološki protok kroz uterine arterije

Faktori umerenog rizika:

- prva trudnoća
- starost trudnice preko 40 god.
- indeks telesne mase (ITM) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$
- pozitivna porodična anamneza
- period između dve trudnoće duži od 10 godina.

Dijagnoza PE se postavlja u skladu sa ACOG smernicama, pojavom hipertenzije praćene proteinurijom, ili bez proteinurije ali sa pratećim kliničkim znacima poremećaja rada organa (porast koncentracije kreatinina, povećana aktivnost amino transferaza praćen bolom u epigastrijumu, neurološke promene, gubitak vida, glavobolje, konvulzije, trombocitopenije, hemoliza, IUGR, patološki protok kroz uterine arterije) [212].

U studiju je uključeno 114 trudnica koje su bile u riziku da razviju PE. 91 trudnica (godina 32.2 ± 5.31) je ispraćena do kraja trudnoće. Od ukupnog broja ispitanica 15 je odustalo od učešća u studiji, 1 trudnica je isključenja zbog detektovanja Daunovog sindroma, 4 trudnice su isključene usled pobačaja, dok su 3 trudnice imale prekid trudnoće zbog anomalija ploda. Od ukupno 91 trudnice koje su praćene do porođaja, 20 je razvilo PE do kraja trudnoće PE, od toga 10 trudnica je razvilo samo PE, 4 je razvilo PE i IUGR, dok je 6 trudnica razvilo PE i gestacijski dijabetes melitus (GDM). Broj trudnica koje su završile trudnoću a nisu razvile PE bio je 71. Od toga 13 trudnica je razvilo gestacijsku hipertenziju (GH) a među njima 1 pored GH i IUGR, a 2 pored GH i GDM. Zatim, 5 trudnica je razvilo samo IUGR, a 4 samo GDM. Ostalih 47 trudnica završile su trudnoće bez komplikacija iako su bile u riziku za razvoj PE (Slika 10).



Slika 10. Šematski prikaz broja ispitanica u studiji

Biomarkeri od značaja za ovu studiju su analizirani kod obe grupe trudnica longitudinalnim praćenjem u prvom (11-14 ng), drugom (22-25 ng), trećem (28-32 ng) trimestru, kao i pred porođaj (37-38 ng).

Uzorkovanje krvi je bilo nakon 12h gladovanja, sa po jednom epruvetom za dobijanje seruma i EDTA plazme (Becton, Dickinson and Company, New Jersey, USA). Zatim su se uzorci centrifugirali, izdvojili u alikvote i čuvali na -80°C do vremena izvođenja analiza.

2. Ispitivani parametri

Antropometrijski parametri: starost, visina, težina, ITM, dobijanje u težini, sistolni i dijastolni pritisak (SBP i DBP), određivanje srednjeg arterijskog pritiska (MAP).

Ultrazvučni parametri: određivanje gestacijske starosti ploda i protoci kroz arterije materice, srednja vrednost pulsatilnog indeksa uterinih arterija (MUtA-Pi).

Biohemijski parametri: za određivanje glukoze, ukupnih proteina, albumina, gvožđa, ukupan bilirubin, aspartat aminotransferaze (AST), alanin aminotransferaze (ALT), ureje, kreatinina, mokraćne kiseline, LDH, hs-CRP, triglicerida, ukupnog holesterola, HDL-C, LDL-C, ApoA1.

Hematološki parametri: određeni su na hematološkom brojaču Cell-Dyn 1800 (Abbott Diagnostics, Illinois, USA: broj leukocita, apsolutni broj neutrofila, apsolutni broj limfocita, apsolutni broj monocita, broj eritrocita, broj trombocita, hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), zapremina eritrocita (MCV), prosečna količina hemoglobina u eritrocitu (MCH), prosečna koncentracija hemoglobina u eritrocitima (MCHC). Indeksi hematoloških markera : NLR (odnos neutrofila/limfocit), PLR (odnos trombocita/limfocita) i LMR (odnos limfocita/monocita).

Koncentracija biohemijskih parametara koji se mogu koristiti za predikciju PE: PLGF, sFlt-1.

Koncentracije specifičnih inflamatornih markera: Određivanje rezistina, MCP-1, Hb-egf i SAA.

Parametri proširenog lipidnog statusa: razdvajanje HDL subfrakcija, određivanje dijametra HDL čestica, određivanje ukupne aktivnosti enzima PON1 kao i na razdvojenim HDL subfrakcijama.

3. Metode određivanja

3.1. ITM

Od antropometrijskih podataka, trudnicama je merena težina i visina, pri čemu se računao indeks telesne mase:

$$ITM = \frac{tešina(kg)}{kvadrat\ visine\ (m^2)}$$

3.2. MAP

Srednji arterijski pritisak (MAP) je meren na standardizovan način automatskim meračem Beurer BM 85 (Beurer GmbH, Ulm, Germany) [213]. Merenja su ponavljana najmanje dva puta i računane su srednje vrednosti pritiska na obe ruke, pri čemu se dobijala srednja vrednost pritiska na osnovu formule:

$$MAP = dijastolni\ pritisak + \frac{sistolni\ pritisak - dijastolni\ pritisak}{3}$$

3.3. MUtA-Pi

Ultrazvučno određivanje starosti ploda se vršilo na osnovu datuma poslednje menstruacije, uz korekciju merene dužine teme-trtica (crown-rump length – CRL). MUtA-Pi prema standardima FMF za analizu uteroplacentalne cirkulacije, merena je u prvom trimestru. Na osnovu vrednosti Pi leve i desne uterine arterije računala se srednja vrednost pulsatilnog indeksa arterija [214].

3.4. Biohemijski parametri

Za određivanje biohemijskih parametara: glukoza, ureja, kreatinin, gvožđe, bilirubin, mokraćna kiselina, albumin, proteini, AST, ALT, LDH, hsCRP, trigliceridi, ukupan holesterol, HDL-C, LDL-C ApoA1, korišćeni su Beckman Coulter komercijalni testovi na analizatoru Olympus AU480 (Beckman Coulter, California, USA).

3.5. Hematološki parametri

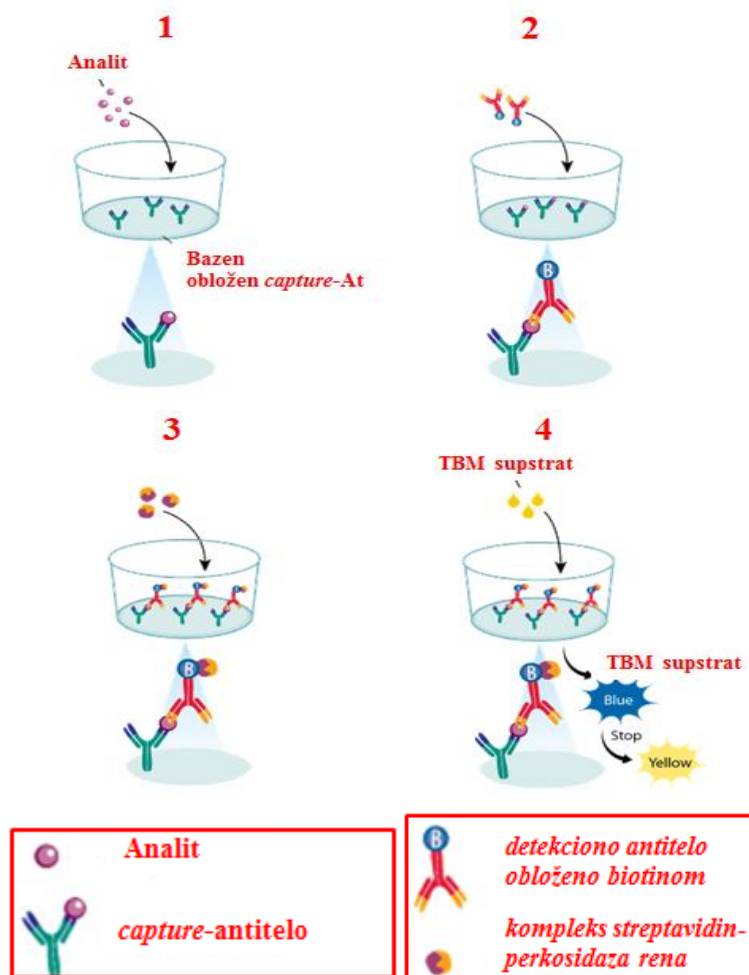
Određeni su na hematološkom brojaču Cell-Dyn 1800 (Abbott Diagnostics, Illinois, USA).

3.6. Koncentracija biohemijskih parametara koji se mogu koristiti za predikciju PE

Koncentracije parametara PlGF i sFlt1 su određivane sa ThermoFisher komercijalnim testovima na imunohemijskom analizatoru Kryptor Compact Plus (ThermoFisher Scientific BRAHMS, Hennigsdorf, Germany).

3.7. Određivanje rezistina

Merenje koncentracije rezistina u uzorcima plazme rađeno je ELISA sendvič testom (enzimski imunoesej, eng. enzyme linked immunosorbent assay, DY1990, R&D Systems, Abingdon, UK /Minneapolis, USA) prema proceduri proizvođača. Priprema ploče podrazumeva oblaganje ELISA ploče sa specifičnim anti-rezistin antitelima i inkubaciju tokom noći. Ploču je potrebno držati dalje od direktne svetlosti. Nakon toga, višak nevezanih antitela se ispira, bazeni ploče se blokiraju 1% rastvorom goveđeg serumskog albumina (BSA) i u bazene se dodaju redom standardi rezistina, slepa proba (reagens diluent, 1% BSA) i uzorci plazme odgovarajućeg razblaženja, koji se vezuju za imobilisana antitela na ploči. Ploča se zatim inkubira 2 sata na sobnoj temperaturi, a za to vreme smatra se da su vezani svi proteini u uzorku i standardu. Zatim se ploča ispira i u bazene se dodaje novo monoklonsko detekciono anti-rezistin antitelo, obloženo biotinom. Nakon još jedne dvočasovne inkubacije, ploča se ponovo ispira i dodaje se kompleks streptavidin-peroksidaza rena koji se vezuje za detekciono antitelo interakcijom biotin-streptavidin, pri čemu inkubacija traje 20 minuta. Nakon ispiranja, dodaje se supstrat 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB) sa vodonik-peroksidom, koji peroksidaza rena uz pomoć vodonik-peroksida oksiduje do plavo obojenog 3,3',5,5'-tetrametillbenzidin dimina (Slika 11). Reakcija se zaustavlja nakon 20 minuta dodatkom 2N sumporne kiseline što dovodi do promene boje rastvora iz plave u žutu. Intenzitet boje koji se meri na 450 nm je proporcionalan koncentraciji vezanog rezistina.



Slika 11. Princip ELISA testa. Preuzeto sa <https://ruo.mbl.co.jp/bio/e/support/method/elisa.html>

Koncentracija rezistina je izračunata metodom standardne krive. Za izradu standardne krive za merenje koncentracije rezistina u plazmi korišćeni su liofilizovani standardi proizvođača, koji su rekonstituisani u 1% BSA reagensu i razblaženi do radnih koncentracija prema uputstvu proizvođača. Radne koncentracije standarda za rezistin su bile: 500 ng/L, 250 ng/L, 125 ng/L, 62,5 ng/L, 31,25 ng/L. Kao slepa proba korišćen je 1% rastvor BSA. Svi standardi su nanošeni u duplikatu.

Analizi uzoraka je prethodilo ispitivanje nepreciznosti metode unutar i između serija. Koeficijent varijacije (Kv) unutar serije za rezistin je određen tako što je u pulu humane plazme 20 puta izmerena koncentracija rezistina u seriji na jednoj ploči i iznosio je 8,6%, dok je Kv između serija određen tako što je u pulu humane plazme određena koncentracija rezistina 10 puta na tri različite ploče u toku tri

dana i iznosio je 14,5%. Za određivanje koncentracije rezistina, uzorci plazme su razblaženi 80 puta sa reagens diluentom. Svi uzorci su nanošeni u duplikatu.

3.8. Određivanje Hb-egf

Hb-egf je određivan ELISA „sendvič“ metodom proizvođača R&D Systems (Human HB-egf DuoSet ELISA DY259B R&D Systems, Minneapolis, SAD). Za pravljenje standardne krive nanošena su razblaženja standarda u reagensu za rastvaranje (od 1,70-125,0 ng/L). Za detekciju je korišćeno po 100 µL detekcionih antitela (biotinom obeležena kozja antitela koja su prethodno rastvorena u reagensu za rastvaranje) a očitavanje apsorbanca vršeno je na 450 nm na ELISA čitaču (sa korekcijom na 540 nm).

Elisa ploča se prvo oblaže sa 100 mL rastvora anti Hb-egf antitela ploča se prekriva i inkubira preko noći na sobnoj temperaturi. Zatim se aspirira višak tečnosti iz bazenčića i ploča se ispira puferom za pranje, ponavljajući proces dva puta za ukupno tri pranja. Posle ispiranja ploče su blokirane dodatkom po 300 µL reagensa za rastvaranje (1% goveđi serum albumin u fosfatnom puferu) u svaki bazen i inkubirane na sobnoj temperaturi najmanje 1 sat vremena, pokrivene parafilmom i folijom zaštićene od svetlosti. Posle još jednog seta od 3 ispiranja puferom za ispiranje, ploče su spremne za dodavanje uzoraka.

Svi uzorci su rađeni u duplikatu a pipetirano je 100 µL uzorka po bazenu. Dodatno su postavljene slepa proba (sam reagens za rastvaranje) i razblaženja standarda (od 0,109-7,0 µg L) koji su korišćeni za pravljenje standardne krive. Koeficijent varijacije unutar serije i između serija za Hb-egf je određen na isto način kao i za rezistin i iznosio je 10,4% unutar serije i 18,3% između serija.

Prvo se sipa po 100 mL uzorka ili standarda u rastvor za diluciju u svakom bunarčiću ploče. Ploča se prekriva parafilmom i inkubira 2 sata na sobnoj temperaturi. Zatim se ploča aspirira i ispira istim postupkom kao i kod pripreme ploče. Dodaje se 100 mL razblaženog detekcionog antitela u svaki bunar. Pokrije se novim parafilmom i inkubira 2 sata na sobnoj temperaturi. Ponovi se aspiracija i ispiranje ploče dva puta. Nakon toga se dodaje 100 mL radnog rastvora streptavidin-HRP u svaki bunar. Pokrije se ploča i inkubira 20 minuta na sobnoj temperature, zaštićeno od direktne svetlosti. Opet se aspirira i ispira ploča dva puta, posle čega se dodaje 100 mL rastvora supstrata u svaki bunar. Inkubira se 20 minuta na sobnoj temperature da bi se na kraju dodao stop rastvor 50ml i izmešao. Ploča se odmah čita

na 450 nm. Ako je dostupna korekcija talasne dužine, meri se na 540 nm ili 570 nm. Ako korekcija talasne dužine nije dostupna, oduzima se na 540 nm ili 570 nm od očitavanja na 450 nm. Ovo oduzimanje povećava osetljivost metode na ploči. Očitavanja napravljena direktno na 450 nm bez korekcije mogu biti veća i manje tačna.

3.9. Određivanje koncentracije SAA

Koncentracija SAA je određena komercijalnim testom Human SAA ELISA Kit, (Abcam, United Kingdom) koji je zasnovan na principu sendvič imunoeseja.

Elisa ploča je obložena anti SAA antitelima, a višak se ispira i bazeni se blokiraju blokiraju sa 1% rastvorom goveđeg serumskog albumina. Zatim se na ploču dodaju standardi, uzorci i slepa proba. Ploča se prekriva i inkubira 90 minuta na 37°C. Ploča se ispira sa puferom za ispiranje dva puta. Zatim se dodaju detekciona antitela obložena biotinom u svaki bazenčić. Ploča se ponovo prekriva i inkubira na 60 minuta na temperaturi od 37°C. Nakon vezivanja antitela ploča se ispira tri puta, dodavanjem pufera za ispiranje u svaki bazenčić. Nakon toga se dodaje radni rastvor streptavidina u svaki bazenčić. Ploča se prekriva i inkubira 30 minuta na temperaturi od 37°C. Sledi ispiranje pet puta, dodaje se supstrat 3,3',5,5'- tetrametilbenzidin (TMB) sa vodonik-peroksidom kako bi se detektovala enzimska reakcija. Prekriva se ploča i inkubira na temperaturi od 37°C 10-20min zaštićena od svetlosti. Nakon završene reakcije i bojenja rastvora u plavo, dodaje se reagens za zaustavljanje reakcije u svaku bazenčić i boja postaje žuta. Apsorbance se čitaju na 450nm. Rekombinantni humani SAA standard je rekonstituisan prema uputstvu proizvođača (300 ng/mL). Razblaživanjem primarnog standarda je dobijena serija sekundarnih standarda korišćena za izradu kalibracione krive. Koeficijent varijacije unutar serije i između serija za SAA je određen na isto način kao i za rezistin i iznosio je 6,9% unutar serije i 12,5% između serija.

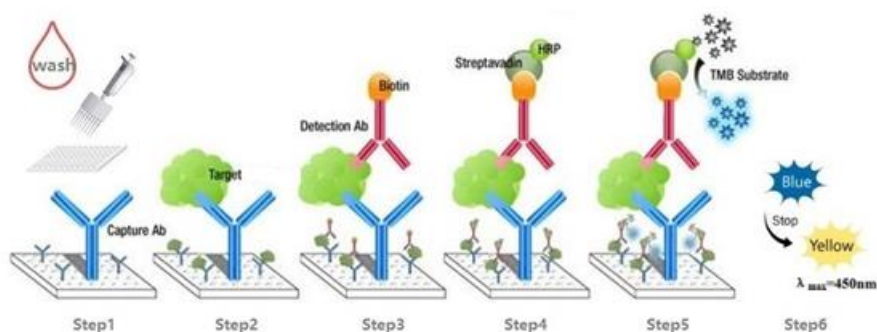
3.10. Određivanje koncentracije MCP-1

Koncentracija MCP-1 je određena komercijalnim testom Human MCP-1 ELISA Kit, (Wuhan Fine Biotech Co, Kina) koji je zasnovan na principu sendvič imunoeseja, pri čemu se ploča oblaže sa anti MCP-1 antitelima, a za detekciju se koriste biotinom obložena konjugovana anti MCP-1 antitela (Slika 12).

Prvo se dodaje po 100 μ L slepe probe, standarda i uzoraka u odgovarajuće bazenčiće. Prekrivena ploča se inkubira 90 min na temperaturi od 37°C. Nakon što se analit iz uzoraka vezao za antitela na ploči, ploča se ispira tri puta sa wash puferom, nako čega se dodaje po detekciono antitelo obloženo biotinom. Ploča se zatim inkubira 60 min. na temperaturi od 37°C. Posle inkubacije ploča se ponovo ispira istim postupkom. Sledeći korak je dodavanje radnog rastvora streptavidina u svaki bazenčić. Sledi inkubacija 30 minuta na temperaturi od 37°C i ponovljeno ispiranje pet puta.

Zatim se dodaje TMB supstrat, prethodno inkubiran na 37°C i ploča se inkubira na temperaturi od 37°C 10-20 minuta zaštićena od svetlosti. Mikročitač se zagreva 15min i pusti se očitavanje. Nakon bojenja ploča se ne ispira već se dodaje stop rastvor istim redosledom kao i TMB rastvor, pri čemu se boja odmah menja u žutu. Apsorbancije se čitaju na talasnoj dužini od 450nm.

Računanje rezultata se vrši tako što se od srednje vrednosti čitanja duplikata standarda, uzorka i kontrole na 450nm oduzme slepa proba. Formira se logistička kriva sa četiri parametara na koju se unosi svaka tačka čitanja standarda na Y osu u odnosu na koncentraciju na X osi. Koeficijent varijacije unutar serije iznosio je 7,1%, dok je koeficijent varijacije između serija 12,5.



Slika 12. Princip određivanja koncentracije MCP-1. Preuzeto sa sajta <https://www.antibodies.com/catalog/elisa-kits/rat-mcp-1-elisa-kit-a101754>

3.11. Razdvajanje HDL subfrakcija

Metoda vertikalne elektroforeze je korišćenja za razdvajanje HDL subfrakcija. Elektroforeza je rađena na poliakrilamidnom gradijent gelu od 3 do 31%, pri čemu se čestice razdvajaju po veličini i naelektrisanju, dejstvom jednosmerne struje [215]. Izlivanje gelova i procedura elektroforeze su rađeni po principu metode dr Davida Rainwater i saradnika [216]. Uz podršku dr. Rainwater-a i njegovog tima iz Laboratorije za genetiku lipoproteina iz San Antonia u Teksasu (Department of Genetics, Southwest Foundation for Biomedical Research, San Antonio, USA), ova metoda je implementirana na Katedri za medicinsku biohemiju Farmaceutskog fakulteta u Beogradu [217]. Gradijent gelovi su pripremani koristeći sistem za izlivanje Hoefer SE 675 (Amersham Pharmacia Biotech, Vienna, Austria). Sistem se sastoji od staklenih ploča (dimenzije 16x18 cm), plastičnih spacer-a (debljine 1,5 mm) i češljica kojima se formira 15 mesta na gelu za nanošenje uzoraka. Potreban koncentracioni gradijent postiže se mešanjem akrilamida u Tris puferu (pH 8,3) različitih koncentracija. Reagensi potrebni za pripremu gelova su: tris pufer, pH 8,3 (90 mmol/L Tris, 80 mmol/L borna kiselina i 2,5 mmol/L Na₂-EDTA), rastvor akrilamida 3% (28,8 g/L akrilamid i 1,2 g/L bis-akrilamid), rastvor akrilamida 31% (292,5 g/L akrilamid i 17,05 g/L bis-akrilamid), APS (amonijum-persulfat) rastvor (100 mg/1mL Tris pufera), TEMED (tetrametilen-diamid).

Pre početka rada pripremiti rastvore monomera koji se degaziraju i čuvaju na 4°C, dok se radni rastvori pripremaju *ex tempore*. Hemijska polimerizacija se izvodi dodavanjem 79 µL APS-a i 63 µL TEMED-a u 140 mL 3% rastvora akrilamida, zatim 487 µL APS-a i 13,8 µL TEMED-a u 70 mL 31% rastvora akrilamida. Kako bi postigli ravnomerno slaganje slojeva prilikom izlivanja, povećava se gustina monomera tako što se dodaje 70% rastvora glicerola (100mL/L rastvora 31% akrilamida).

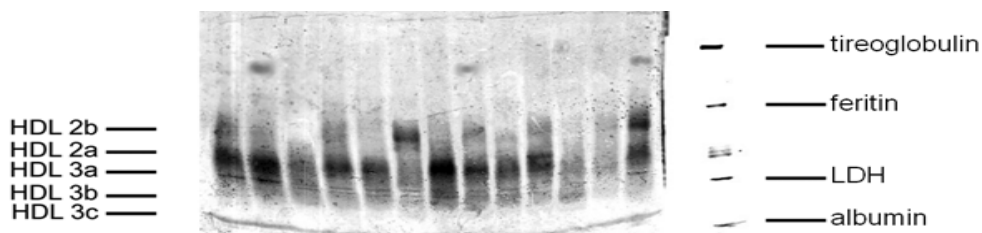
Gelovi se izlivaju u četiri kalupa na ravnoj površini i formira se 12 segmenata kako bi se razdvojio gradijent gel. Kontrolisano mešanje monomera i pravilno formiranje gradijenta postiže se uz pomoć dve peristaltičke pumpe Masterflex L/S (Cole Parmer Instrumental Company, Vernon Hills, IL, USA), čiji rad kontroliše softver Masterflex Linkable Instrument ControlSoftware (WinLIN) istog proizvođača. Gradijent se formira pri ukupnom protoku od 12 mL/min, , na sobnoj temperaturi, odozdo na gore. Zatim se dodaje Tris pufer i gelovi se polimerizuju u toku noći na sobnoj temperaturi. Gelovi se zatim ispiraju destilovanom vodom i konzervišu u Tris puferu u koji je dodat Na-azid a zatim čuvaju na 4°C do izvođenja elektroforeze.

Gradijent-gel elektroforeza

Prilikom elektrofororetskog razdvajanja koristili smo vertikalnu kadu Hoefer SE 600 Ruby (Amersham Pharmacia Biotech, Vienna, Austria). Elektroforeza se izvodi pri temperaturi od 8°C u Tris puferu (pH 8,35). Gelovi se aktiviraju na 290 V 50 minuta pre nanošenja uzoraka, a da bi se poboljšala gustina uzorka mešaju se sa 0,1% rastvora bromfenol-plavog u 40% rastvoru saharoze. Na gel se nanosi 25 µL smeše a paralelno sa uzorcima, u posebne trake na gelu se postavljaju standardi. Uslovi u kojima se izvodi elektroforeza su: 60 V (13 minuta), 170 V (20 minuta), 300 V (20h). Za kalibraciju gelova se koriste standardi proteina velike molekulske mase (Amersham Pharmacia Biotech, Vienna, Austria) koji sadrže proteine poznatog dijametra i na osnovu regiona u kojem se zadržavaju koriste se kao kalibratori za veličinu HDL subfrakcija, a to su: tireoglobulin -17,0 nm, ferritin-12,2 nm, LDH -8,4 nm, albumin - 7,1 nm. Kada se elektroforeza završi gelovi se fiksiraju sat vremena u 10% rastvoru trihlorsirćetne kiseline, nakon čega sledi ispiranje u 45% rastvoru etanola (1h) i bojenje Sudan black B rastvorom (Merck, Darmstadt, Germany) više sati (u toku noći). Zatim se vrši odbojavanje sa etanolom preko noći, nakon čega se opet fiksira sa 10% trihlorsirćetnom kiselinom. Ispiranje se vrši destilovanom vodom i boji sa 0,75% rastvorom boje - Coomassie brilliant blue (G-250, Sigma, St. Louis, MO, USA) u smeši etanola, sirćetne kiseline i vode (zapreminski odnos 3:1:8). Obojeni gelovi stoje preko noći u TRIS puferu da bi se vratili na prvobitni oblik i veličinu.

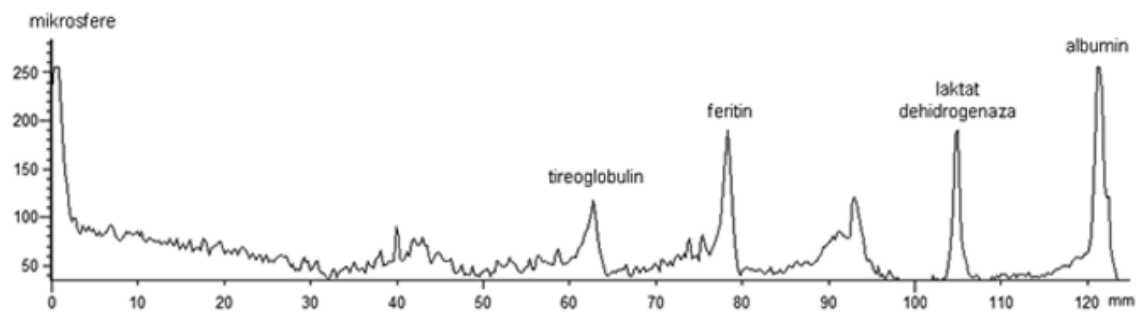
Skeniranje gelova i određivanje HDL subfrakcija

Gelovi se skeniraju Image Scanner-III (Amersham Pharmacia Biotech, Vienna, Austria) primenom programa Magic Scan software (version 4,6- UMAX Data Systems, Inc), po transmisivnom modelu, na 300 dpi. Analizu radi program - Image Quant software (version 5.2;1999; Molecular Dynamics). Prvo se određuje dominantni HDL dijametar (HDL 2 ili HDL 3) prema najistaknutijem piku denzitometrijskog skena. Relativni udeo svake subfrakcije određuje se merenjem površine ispod odgovarajućeg pika. Na slici 13 je prikazan izgled gela sa razdvojenim subfrakcijama i standardima koji se koriste za kalibraciju.



Slika 13. Izgled gela sa razdvojenim HDL subfrakcijama
Kalibracija metode

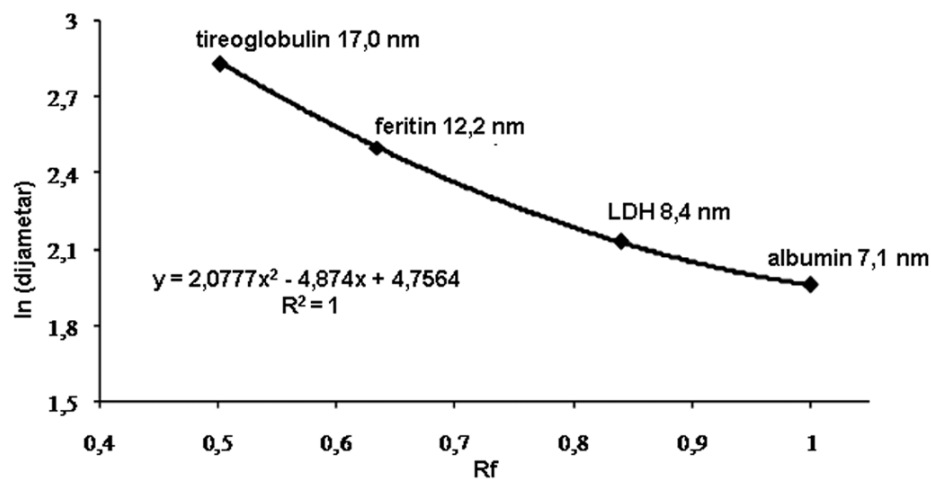
Kalibracija gelova se vrši tako što se postavljaju standardi poznate mase i veličine. Svakom standardu se meri migraciona daljina i preračunava vrednost relativne daljine (Rf) koje su u inverznom odnosu sa dijametrom (Slika 14).



Slika 14. Denzotometrijski profil proteinskih standarda

Albumin ima najmanji dijametar i njegova Rf je 1, a Rf vrednosti ostalih markera se računaju u odnosu na migracionu daljinu albumina. Kalibraciona kriva se dobija iz date jednačine (Slika 15):

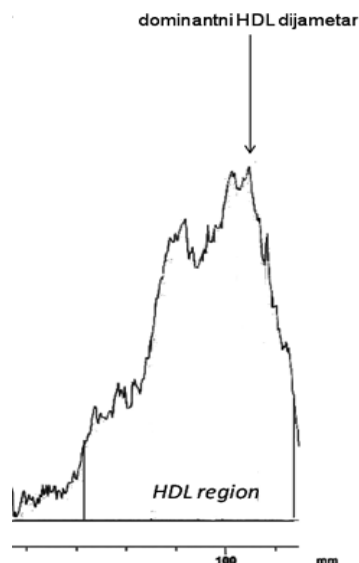
$$\ln(\text{dijametar}) = a \cdot Rf^2 + b \cdot Rf + c$$



Slika 15. Kalibraciona kriva za HDL region

3.11.1. Određivanje HDL dijametara

Dominantni HDL dijametar odgovara veličini HDL čestice sa najzastupljenijim pikom u HDL regionu (Slika 16).



Slika 16. Denzitometrijski profil razdvojenih HDL čestica.

Izmerene migracione daljine koje odgovaraju dominantnim HDL dijametrima se unose u regresionu jednačinu kalibracione krive, uz pomoć koje se računaju vrednosti dominantnih HDL dijametara:

$$\text{dominantni HDL dijametar (nm)} = e^{(a \cdot Rf^2 + b \cdot Rf + c)}$$

Ispitanice sa dominantnim HDL dijametrom većim od 8,8 nm se definišu kao nosioci HDL2 fenotipa, dok su osobe sa dominantnim dijametrom koji je manji ili jednak 8,8 nm definisani kao nosioci HDL3 fenotipa.

Određivanje procentualnog dela HDL subfrakcija

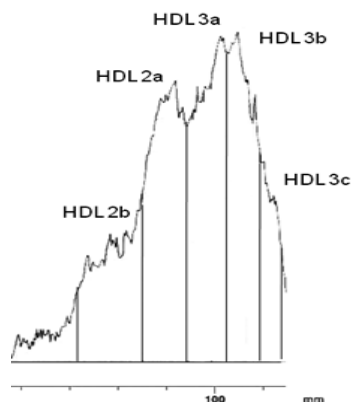
HDL subfrakcije se klasifikuju na osnovu dijametra čestica na:

- HDL 2b (9,7-12,0 nm)
- HDL 2a (8,8-9,7 nm)
- HDL 3a (8,2-8,8 nm)
- HDL 3b (7,8-8,2 nm)

- HDL 3c (7,2-7,8 nm)

Procentualni udeli subfrakcija se definišu na osnovu udela koji regioni koji odgovaraju već poznatim dijametrima čestica zauzimaju u ukupnoj površini denzitometrijskog skena. Površina ispod pika je srazmerna relativnom udelu (%) subfrakcije u odnosu na ukupan HDL profil.

Na slici 17 je prikazan denzitometrijski profil sa označenim HDL subfrakcijama.



Slika 17. Denzitometrijski profil sa obeleženim HDL subfrakcijama

3.12. Određivanje aktivnosti enzima PON1

Određivanje PON1 aktivnosti prema paraoksonu kao supstratu se zasniva na brzini razgradnje supstrata (paraoksonazna, POazna aktivnost) po metodi Richter-a i Furlong-a [215]. Delovanjem enzima na supstrat paraokson, nastaje obojeni p-nitrofenol. Brzina reakcije prati se kinetički na 405 nm, što je maksimum apsorbance p-nitrofenoksidnog anjona, u koji prelazi p-nitrofenol u baznim uslovima reakcije.

Paraoksonazna aktivnost određivana je na automatskom analizatoru ILab 300+, nakon optimizacije originalne metode u laboratoriji Instituta za medicinsku biohemiju Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu [218].

Priprema rastvora: Radni pufer-100ml TRIS-HCL pufera čiji je pH 8,5 i 2ml CaCl rastvoriti do 800ml destilovane vode. Zatim dodati 116 g NaCl u rastvor i čuvati na sobnoj temperaturi. Diluent pufer-U 800 mL destilovane vode doda se 10 mL 1mol/L TRIS-HCl pufera čiji je pH 8,5 i 2 mL 1 mol/L rastvora CaCl₂, sve se dopuni sa destilovanom vodom do 1000 mL i čuva na sobnoj

temperaturi. Zasićeni rastvor NaOH-rastvor koncentracije 2 mol/L se koristi za dekontaminaciju korišćenog posuđa i razgradnju preostalog paraoksone. Paraokson supstrat 1,2 mmol/L- 12,9 µL paraoksone rastvori se u 50 mL radnog pufera i promešati.

Najpre se 4 µL razblaženog seruma (diluent puferom u odnosu 1:10) pomeša se sa 400 µL rastvora paraoksone i meri promena apsorbance na 405 nm u toku 3 min. Paraoksonazna aktivnost se izražava kao µmol stvorenog p-nitrofenola/min/L ili kao U/L.

4. Statistička analiza

Kolmogorov-Smirnov testom je ispitan tip raspodele kontinuiranih podataka i shodno tome prikazivani su kao srednje vrednosti i standardne devijacije ($\bar{x} \pm SD$) ukoliko su sledili normalnu raspodelu; kao geometrijske srednje vrednosti i intervali pouzdanosti (CI) ukoliko su nakon logaritmovanja sledile normalnu raspodelu i kao medijane i interkvartilni rasponi ukoliko ni nakon logaritamske transformacije nisu sledile normalnu raspodelu. Kategorički podaci su prikazani kao apsolutne frekvence.

Utvrđivanje postojanja razlike između dva merenja parametara koji slede normalnu raspodelu rađeno je Studentovim- t testom, a parametara koji ne slede normalnu raspodelu neparametarskim Mann-Whitney testom. Longitudinalno praćenje promene vrednosti parametara tokom trudnoće rađeno je analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom. Za ispitivanje korelacije između različitih parametara koji su određivani u studiji, korišćena je Spearmanova neparametarska korelaciona analiza. Multipla regresiona analiza je korišćena za identifikaciju nezavisnih faktora uticaja na pojedine promenljive. Kategorički podaci su testirani Chi-kvadrat testom.

Univarijantna binarna logistička regresiona analiza je korišćena za procenu povezanosti ispitivanih parametara sa razvojem PE. Ispitivanje diskriminativnih sposobnosti parametara koji su se pokazali kao značajni, testirana je sa Receiver Operating Characteristics (ROC) analizom. Pojam "Area Under the Curve" (AUC) se odnosi na meru efikasnosti klasifikacijskog modela. ROC kriva predstavlja grafički prikaz performansi modela klasifikacije za sve moguće pragove odlučivanja. AUC je površina ispod te ROC krive i daje kvantitativnu vrednost koja izražava sposobnost modela da razlikuje pozitivan

ishod (PE) od negativnog (VRT). Kriterijumi za dijagnostičku tačnost na osnovu AUC vrednosti su [219]:

- Perfektna tačnost (AUC = 1): Model ima savršenu sposobnost da razlikuje između grupa i nikada ne pravi greške.
- Odlična tačnost (AUC između 0.9 i 1): Model ima veoma visok kapacitet za razlikovanje između grupa i ima minimalne greške. Iako nije savršen, još uvek je vrlo pouzdan za dijagnostičke svrhe.
- Dobra tačnost (AUC između 0.8 i 0.9): Model je dobar i može se koristiti za pouzdano razlikovanje grupa, iako postoje neki slučajevi u kojima bi mogao da pogreši. I dalje je koristan u dijagnostici.
- Zadovoljavajuća tačnost (AUC između 0.7 i 0.8): Model daje solidne rezultate, ali postoji veća verovatnoća da dođe do grešaka, te bi trebalo obratiti pažnju na dodatnu analizu i eventualno poboljšanje modela.
- Slaba tačnost (AUC između 0.6 i 0.7): Model je samo marginalno bolji od slučajnog pogađanja. Klasifikacija nije pouzdana i model verovatno neće biti koristan u ozbiljnim dijagnostičkim situacijama. Potrebno je dodatno poboljšanje.
- Nepouzdan model (AUC ispod 0.6): Model ne daje nikakvu vrednost u prepoznavanju pogođenih grupa i treba ga izbegavati. U tom slučaju, bolje je koristiti alternativne metode ili razviti novi model.

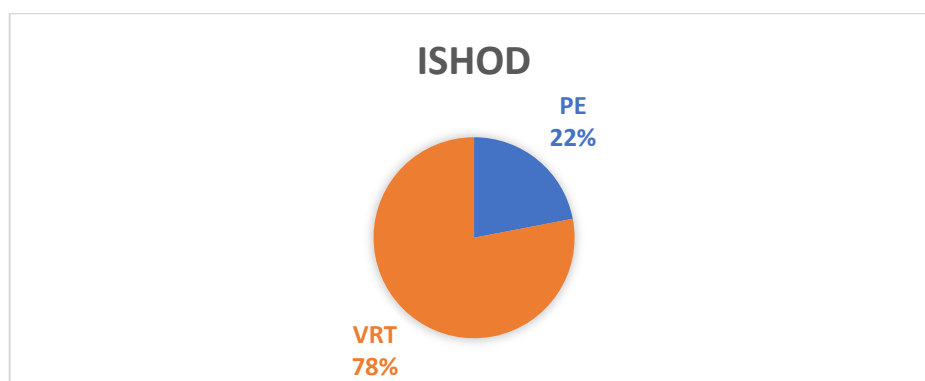
Nakon primene multivarijantne binarne logističke regresione analize za testiranje kreiranih modela. Površina ispod krive bila je mera tačnosti ispitivanih modela u identifikovanju trudnica koje su razvile PE. Minimalni uslov za postojanje statistički značajne razlike je bio kada je verovatnoća (p, nivo značajnosti) bila manja ili jednaka 0,05.

Statistička analiza se vršila sledećim statističkim programima: SPSS/ PAWS Statistics verzije 18.0 i MedCalc verzije 11.4 softvera.

REZULTATI ISTRAŽIVANJA

1. Demografske karakteristike trudnica

U ovom istraživanju učestvovalo je ukupno 91 trudnica. Od ukupnog broja ispitanica, 20 (22,0%) je razvilo preeklampsiju (PE), a 71 (78,0%) nije razvila PE iako je bila u riziku (visoko rizična trudnoća-VRT) (Slika 18).



Slika 18 - Distribucija ispitanica prema ishodu

U Tabeli 1 su prikazane osnovne demografske karakteristike ispitivanih grupa trudnica (Tabela 1). Nije uočena statistički značajna razlika u starosti ispitanica ($p=0,394$). ITM je bio statistički značajno viši u PE, dok nije uočena statistički značajna razlika u upotrebi vitamina pre trudnoće kao ni u učestalosti pušenja pre trudnoće između dve ispitivane grupe trudnica (Tabela 1). Takođe, raspodela trudnica sa brojem faktora visokog i umerenog rizika se nije značajno razlikovala u ispitivanim grupama.

Tabela 1. Demografske karakteristike ispitivanih grupa trudnica

Ispitivana karakteristika	VRT (N=71)	PE (N=20)	P
Starost (godine)	32±5.56	33.15±4.26	0.394
ITM (kg/m ²)	24.1±4.73	26,6±4,36	0,03
Upotreba vitamina pre trudnoće	23(31%)	5(25%)	0,527
Aktivan pušački status	22(31%)	9 (45%)	0,243
Faktor visokog rizika za PE	65(91,5%)	18(94,7%)	1,00
Faktor umerenog rizika za PE	21(29,6%)	8(42,1%)	0,407
Razvoj intrauterinog zastoja rasta	8(11,2%)	4(20%)	0,157
Razvoj gestacijske hipertenzije	13	-	
Razvoj gestacijskog dijabetesa	8(11,2%)	6(30%)	0,073

Podaci su prikazani kao srednja vrednost±standardna devijacija ili kao apsolutne frekvencije, poređene Studentovim t testom ili hi-kvadrat testom.

2. Indeks telesne mase, dobijanje u težini i srednji arterijski pritisak

U Tabeli 2 prikazane su promene u ITM-u, dobijanju u težini u procentima, kao i u parametrima krvnog pritiska u celoj ispitivanoj populaciji trudnica. Statistički značajne razlike između posmatranih tačaka u vremenu prikazane su u Tabeli 2. Rezultati ispitivanja su pokazali da ITM kao i procenat dobijanja u težini, statistički značajno rastu kako trudnoća odmiče što je bio i očekivan rezultat. Vrednosti SBP su bile statistički značajno niže u drugom i trećem trimestru u poređenju sa prvim, a zatim se u tački pre porođaja uočio statistički značajan porast (Tabela 2). Isti trend promene je uočen i za vrednosti DBP

(Tabela 2). U drugom trimestru je uočen statistički značajan pad MAP- a u odnosu na prvi trimestar, a zatim je uočen trend porasta MAP-a do kraja trudnoće (Tabela 2).

Tabela 2: Longitudinalne promene ITM-a, procenta dobijanja na težini i parametara krvnog pritiska u celoj grupi trudnica

	I trimestar (N=91)	II trimestar (N=91)	III trimestar (N=91)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=91)	P
Nedjelja gestacije	12,8±0,8	23,3±0,8	29,7±1,3	36,8±0,9	
ITM, kg/m ²	25,5(24,5-26,5)	26,3(26,1-28,2) ^{a*}	26,8(27,3-29,5) ^{a*, b*}	28,6(28,8-30,9) ^{a*, b* c*}	<0,001
Dobijanje u težini %	4,0(2,7-4,3)	7,0(6,2-7,7) ^{a*}	5,0(4,1-5,2) ^{b*}	5,0(3,9-5,3) ^{b*}	<0,001
SBP, mmHg	115,5(111,2-117,3)	111,0(108,4-114,2) ^{a*}	111,0(110,5-116,5) ^{b*}	116,5(114,2-120) ^{b*, c*}	<0,001
DBP, mmHg	73,5 (47,5-100)	71 (0,9-98) ^{a*}	72,5 (56,5-102) ^{b*}	77 (57,5-105,5) ^{a* b* c*}	<0,001
MAP, mmHg	87,8(84,9-89,65)	84 (81,7-86,45) ^{a*}	85,17(84,2-88,56) ^{b*}	90,5(88,2-92,64) ^{a* b* c*}	<0,001

Rezultati su prikazani kao geometrijska srednja vrednost i 95- ti interval pouzdanosti. Poređenje nalizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.. a-statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestra * P<0.001 , &P<0.05.

U Tabeli 3 prikazane su longitudinalne promene ITM-a, procenta dobijanja u težini i parametara krvnog pritiska kod u dve ispitivane grupe trudnica. Kod trudnica sa VRT vrednosti ITM rastu tokom cele trudnoće, pri čemu su vrednosti u drugom trimestru statistički značajno veće u odnosu na prvi trimestar, zatim su u trećem trimestru značajno veće u odnosu na prvi i drugi, dok se vrednosti u tački pred porođaj značajno razlikuju u odnosu na sve prethodne tačke merenja (p<0,001). Procenat dobijanja u težini kod VRT ima značajan porast u drugom trimestru u odnosu na prvi, zatim opada sa značajno nižim vrednostima u trećoj i četvrtoj tački merenja u odnosu na drugu (p<0,001). Kod trudnica sa VRT nije došlo je do statistički značajne promene vrednosti SBP tokom trudnoće (p=0,328), dok se DBP

značajno raste pred porođaj u odnosu na drugi trimestar ($p < 0,05$), a MAP je u drugom trimestru kod iste grupe trudnica bio značajno niži u odnosu na prvi trimestar, a zatim se uočio rast sa značajno višim vrednostima pred porođaj u odnosu na drugi i treći trimestar ($p < 0,001$). Kod trudnica sa PE došlo je do statistički značajnog porasta vrednosti ITM tokom trudnoće pri čemu je vrednost u trećem trimestru bila značajno viša u odnosu na prvi, kao i vrednost pred porođaj u odnosu na sve ostale tačke merenja ($p < 0,05$). Kod ovih trudnica nije došlo je do statistički značajne promene vrednosti procentualnog dobijanja u težini tokom trudnoće ($p = 0,075$), kao ni do statistički značajne promene vrednosti SBP i DBP tokom trudnoće ($p < 0,119$; $0,189$), ali je statistički značajan porast vrednosti MAP zabeležen tokom trudnoće ($p < 0,001$). U grupi PE pred kraj trudnoće MAP je bio značajno veći u odnosu na prvi, drugi i treći trimestar.

Poređenjem vrednosti parametara između dve grupe trudnica uočena je statistički značajna razlika u vrednostima ITM-a, pri čemu je grupa PE imala veće vrednosti u odnosu na VRT u prvom i trećem trimestru, kao i pred porođaj ($p < 0,05$). Osim toga, vrednosti SBP i DBP su bile statistički veće kod PE grupe u prvom, trećem trimestru i pred porođaj. MAP je očekivano bio viši kod PE u odnosu na VRT grupu u svakoj tački merenja ($p < 0,001$).

Tabela 3. Longitudinalni prikaz ITM-a, procenta dobijanja u težini i parametara krvnog pritiska kod VRT i PE grupe ispitanica

VRT	I trimestar (N=71)	II trimestar (N=71)	III trimestar (N=71)	37 nedjelja gestacije (N=71)	P
Nedjelja gestacije	12.8±0.8	23.3±0.8	29.7±1.3	36.8±0.9	
ITM, kg/m ²	24.9(23.7-26.1)	26.8(25.7-27.9) ^{a**}	28.0(26.9-29.1) ^{a**,b**}	29.3(28.2-30.5) ^{a**,b**,c**}	<0.001
Dobijanje u težini %	3.4(2.4-4.3)	7.4(6.6-8.1) ^{a**}	4.5(3.9-5.1) ^{b**}	4.4(3.8-5.0) ^{b**}	<0.001
SBP, mmHg	113.1(109.6-116.5)	110.3(107.1-113.5)	111.8(108.7-114.9)	114.3(111.4-117.1)	0.328
DBP, mmHg	72.5(69.9-75.1)	69.0(66.1-71.9)	71.2(69.3-73.2)	75.3(73.2-77.5) ^{b*}	<0.05
MAP, mmHg	85(83.44-88.86)	82,2(79,88-85.34) ^{a*}	82,5(82.54-86.78) ^{b*}	88,7(86.05-90.42) ^{b, c*}	<0.001
PE	I trimestar (N=20)	II trimestar (N=20)	III trimestar (N=20)	37 nedjelja gestacije (N=20)	P
Nedjelja gestacije	12.6±0.4	23.3±0.8	29.7±1.2	36.5±0.8	
ITM, kg/m ²	27.5(25.5-29.5) ^{d#}	28.7(26.8-30.5)	30.4(28.6-32.2) ^{a*,d#}	31.8(29.9-33.7) ^{a**,b**,c**,d#}	<0.05
Dobijanje u težini %	3.9(2.4-5.5)	6.4(4.4-8.5)	4.1(2.8-5.4)	5.1(3.2-7.0)	0.708
SBP, mmHg	119.3(112.9-125.6) ^{d##}	115.6(109.1-122.2)	121.9(114.6-129.2) ^{d#}	126.3(119.9-134.8) ^{d##}	0.119
DBP, mmHg	79.1(75.6-82.7) ^{d#}	76.0(71.7-80.3) ^{d#}	78.9(73.9-84.0) ^{d#}	82.9(78.1-87.8) ^{d#}	0.189
MAP, mmHg	92(88.17-96.61) ^{d#}	91,4(85.28-94.30) ^{d#}	93,6(88.47-99.69) ^{d##}	96,7(92.61-103.73) ^{d#, ^{a*, b*, c*}}	0.001

Rezultati su prikazani kao geometrijska srednja vrednost i 95- ti interval pouzdanosti. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom * $p < 0.05$ ** $p < 0.001$ a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestra, d- statistički značajna razlika od VRT grupe za isti trimester (nivo značajnosti HRG # $p < 0.05$, ## $p < 0.001$).

3. Biohemijski i hematološki parametri

U tabeli 4 prikazane su longitudinalne promene osnovnih biohemijskih parametara u celoj grupi trudnica. Biohemijski parametri su pokazali očekivani trend promena tokom trudnoće (Tabela 4). Proteini su bili u padu od početka do kraja trudnoće, sa značajnom razlikom u drugom trimestru u odnosu na prvi ($p<0,001$), kao i pred porođaj u odnosu na prvi i drugi trimestar ($p<0,001$; $p<0,05$). Glukoza je imala približne vrednosti u svim trimestrima, bilirubin i gvožđe su takođe bili u padu od samog početka trudnoće do trećeg trimestra, sa statistički nižim vrednostima drugom i trećem trimestru u odnosu na prvi ($p<0,001$; $p<0,001$), da bi pred porođaj krenuli da rastu. Ostali parametri nisu pokazali statistički značajnu razliku tokom svih tačaka merenja (Tabela 4).

Tabela 4. Longitudinalne promene osnovnih biohemijskih parametara u celoj grupi trudnica

	I trimestar (N=91)	II trimestar (N=91)	III trimestar (N=91)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=91)	P
Nedjelja gestacije	12,8±0,8	23,3±0,8	29,7±1,3	36,8±0,9	
Glukoza, mmol/L	4,8(4,73-4,95)	4,69(4,51-4,86)	4,92(4,64-5,21)	4,56(4,33-4,79)	0,220
Proteini, g/L	66,8(65,9-67,7)	63,3(62,4-64,1) ^{a*}	62,5(61,7-63,3) ^{a*}	61,6(61,7-62,3) ^{a*b&}	<0,001
Kreatinin, μmol/L	56,8(55,2-58,5)	55,3(53,8-56,8)	55,2(53,8-56,6)	58,5(56,8-60,2) ^{b&,c&}	0,078
Bilirubin, umol/L	7,6 (7.12-8.48)	6 (5.4-6.43) ^a	5,8 (5.4-6.2) ^a	6,9 (6.30-7.33) ^{b,c}	<0,001
Gvožđe, umol/L	19,8(18.42-21.33)	14,8(13.76-16.49) ^a	12,5 (11.42-13.87) ^a	14,6 (12.045-15.77) ^a	<0,001
Urea, mmol/L	2,84(2,71-2,98)	2,68(2,54-2,82)	2,65(2,48-2,81) ^{a&}	2,74(2,57-2,91)	0,226
AST, IU/L	17,2(16,5-19,1)	18,5(16,3-20,7)	17,8(16,5-19,1)	18,4(17,3-19,4)	0,255
ALT, IU/L	16,7(14,9-18,5)	19,4(15,3-23,5)	16,9(14,7-19,2)	14,8(13,2-16,4)	0,389

Rezultati su prikazani kao geometrijska srednja vrednost i 95- ti interval pouzdanosti. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestra. * $P<0.001$, & $P<0.05$

U Tabeli 5 su prikazane razlike u osnovnim biohemijskim parametrima između dve ispitivane grupe u četiri definisane tačke merenja. U VRT grupi proteini su u drugom trimestru bili statistički značajno niži u odnosu na prvi ($p<0,001$) i zadržali su taj trend do kraja trudnoće. Kreatinin, bilirubin i gvožđe u VRT grupi su bili statistički značajno niži u drugom trimestru u odnosu na prvi ($p<0,002$; $p<0,001$; $p<0,001$). U PE grupi koncentracije proteina su opadale od početka trudnoće, sa statistički značajnom razlikom u drugom trimestru u odnosu na prvi ($p<0,001$). Koncentracija kreatinina je u drugom i trećem trimestru bila niža u odnosu na prvi ($p=0,002$) da bi se pred kraj trudnoće ponovo vratila na istu vrednost kao u prvom trimestru. Koncentracije bilirubina i gvožđa su u drugom trimestru bile statistički značajno niže u PE grupi u odnosu na prvi trimestar ($p<0,001$), pri čemu se koncentracija bilirubina pred kraj trudnoće vratila na približnu vrednost kao u prvom trimestru, dok je koncentracija gvožđa pred kraj trudnoće i dalje bila statistički značajno niža u odnosu na prvi trimestar ($p<0,001$).

Trudnice koje su razvile PE imale su više koncentracije glukoze tokom cele trudnoće u odnosu na VRT trudnice, pri čemu je u drugom trimestru razlika bila statistički značajna ($p<0,05$). Uočena je i značajna razlika u koncentraciji ureje pred porođaj u grupi trudnica koje su razvile PE ($p<0,05$).

Tabela 5. Longitudinalne promene osnovnih biohemijskih parametara u VRT i PE

VRT	I trimestar (N=71)	II trimestar (N=71)	III trimestar (N=71)	37 nedjelja gestacije (N=71)	P
Glukoza, mmol/L	4,6 (4.61-4.90)	4,5 (4.38-4.72) ^{a*}	4,6 (4.52-5.27) ^{b*}	4,4 (4.24-4.80) ^{b*}	0,019
Proteini, g/L	66 (65.73-67.82)	63 (62.45-64.37) ^{a**}	62 (61.72-63.50) ^{a**}	62 (60.92-62.71) ^{a**}	<0,001
Kreatinin, μ mol/L	57 (54.47-58.32)	55 (53.56-57.0) ^{a*}	55 (53.38-56.45) ^{a*}	57 (56.48-60.40) ^{b*c*}	0,002
Bilirubin, μ mol/L	7,6 (7.91-9.48)	6 (5.90-7.04) ^{a**}	6 (6.10-7.27) ^{a**}	7,1 (7.09-8.41) ^{b**c**}	<0,001
Gvozdje, μ mol/L	19,6 (18.84-22.05)	14,7(14.17-16.91) ^{a**}	11,9 (12.54-16.12) ^{a**}	14,2 (13.36-17.11) ^{a**}	<0,001
Urea, mmol/L	2,7 (2.65-2.98)	2,7 (2.56-2.88)	2,6 (2.42-2.77)	2,5 (2.47-2.81)	0,057
AST, IU/L	17 (16.06-18.03)	16 (16.18-21.68)	17 (16.31-19.43)	18 (17.21-19.58)	0,903
ALT, IU/L	13 (14.15-18.11)	15 (14.77-24.92)	13 (14.14-19.61)	12 (12.82-16.81)	0,235

PE	I trimestar (N=20)	II trimestar (N=20)	III trimestar (N=20)	37 nedjelja gestacije (N=20)	P
Glukoza, mmol/L	4,85 (4.55-5.40)	4,8 (4.63-5.58) ^{d#}	4,9 (4.69-5.52)	4,7 (4.35-5.02)	0,157
Proteini, g/L	67 (65.17-68.73)	62,5 (60.99-65.11) ^{a*}	62,5 (60.12-63.88) ^{a**}	60 (59.06-62.34) ^{a**b*}	<0,001
Kreatinin, µmol/L	58,5 (55.12-61.88)	59 (52.15-59.55)	57 (52.98-59.72)	56,5 (55.01-62.79)	0,368
Bilirubin, µmol/L	8,05 (6.98-9.92)	5,55 (5.13-6.89) ^{a**}	5,5 (5.03-7.26) ^{a**}	6,1 (5.69-7.70)	<0,001
Gvozdje, µmol/L	23,3 (18.40-26.63)	23,3 (14.21-18.13)	12,9 (19.77-16.82) ^{a**}	15,1 (10.61-28.62) ^{a*}	0,002
Urea, mmol/L	3 (2.69-3.19)	2,45 (2.20-2.91)	2,6 (2.43-3.18)	3,05 (2.61-3.58) ^{d#}	0,035
AST, IU/L	17,5 (16,5-19,1)	17 (15.09-20.41)	17 (15.56-19.34)	18 (16.0-20.50)	0,324
ALT, IU/L	17 (14.83-22.77)	14,5 (13.43-22.97)	15 (14.07-20.53)	13 (12.61-17.19)	0,196

Rezultati su prikazani kao geometrijska srednja vrednost i 95- ti interval pouzdanosti. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom * $p<0.05$ ** $p<0.001$

a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestra, d-statistički značajna razlika od VRT grupe za isti trimester (nivo značajnosti [#] $p<0.05$, ^{##} $p<0.001$)

U Tabeli 6 su prikazane longitudinalne promene hematoloških parametara u celoj grupi trudnica sa statistički značajnim razlikama između posmatranih tačaka u vremenu. Ispitivanjem hematoloških parametara kod svih trudnica, primećen je porast u ukupnom broju leukocita sa pikom u trećem trimestru ($p<0,001$), da bi pred porodaj vrednosti blago opale, ali i dalje sa statistički značajnom razlikom u odnosu na prethodne trimestre. Leukocitarna formula prati istu tendenciju, sa najvećim udelom granulocita, koji takodje imaju pik u trećem trimestru. Eritrociti sa hemoglobinom su u padu od početka trudnoće, što je i očekivano, kao i eritrocitni indeksi od kojih je hematokrit ima najnižu vrednost u trećem trimestru u odnosu na prvi ($p<0,001$). Broj trombocita je od početka trudnoće bio u padu pri čemu je pred porođaj bili najniži sa statistički značajnom razlikom u odnosu na prethodne trimestre.

Tabela 6. Longitudinalne promene osnovnih hematoloških parametara u ispitivanoj populaciji trudnica tokom trudnoće

KKS	I trimestar (N=91)	II trimestar (N=91)	III trimestar (N=91)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=91)	P
Leukociti, $\times 10^9$	8,7 $\pm$ 1,7	9,8 $\pm$ 2,1 ^a	10,3 $\pm$ 2,2 ^{a,b#}	9,8 $\pm$ 2,2 ^{a,c#}	<0,001
Limfociti $\times 10^9$	2,0 $\pm$ 0,5	2,1 $\pm$ 0,5	2,1 $\pm$ 0,5 ^{a#,b#}	2,2 $\pm$ 0,5 ^{a#,b#}	0,004
Monocit $\times 10^9$	0,46 $\pm$ 0,17	0,57 $\pm$ 0,28 ^a	0,56 $\pm$ 0,16 ^a	0,57 $\pm$ 0,16 ^a	<0,001
Granulociti $\times 10^9$	6,19 $\pm$ 1,56	7,22 $\pm$ 1,88 ^a	7,62 $\pm$ 1,96 ^{a,b#}	7,01 $\pm$ 1,93 ^{a,c#}	<0,001
Eritrociti $\times 10^{12}$	4,19 $\pm$ 0,31	3,85 $\pm$ 0,29 ^a	3,84 $\pm$ 0,3 ^a	3,99 $\pm$ 0,31 ^{a,b,c}	<0,001
Hemoglobin, g/L	125,1 $\pm$ 8,4	116,6 $\pm$ 7,5 ^a	115 $\pm$ 8,6 ^{a,b#}	118,1 $\pm$ 10,2 ^{a,c}	<0,001
Hematokrit, %	37,9 $\pm$ 3,1	35,9 $\pm$ 2,1 ^a	35,7 $\pm$ 2,5 ^a	36,5 $\pm$ 2,9 ^{a,b#,c#}	<0,001
MCV, fL	91,3 $\pm$ 5,5	93,4 $\pm$ 5 ^a	93,1 $\pm$ 5,2 ^a	91,6 $\pm$ 6 ^{b,c}	<0,001
MCH,pg	30 $\pm$ 1,9	30,4 $\pm$ 1,8 ^{a#}	30 $\pm$ 2 ^b	29,7 $\pm$ 2,2 ^{b,c#}	<0,001
MCHC, g/L	328 $\pm$ 7,6	325,3 $\pm$ 8,2 ^{a#}	322,4 $\pm$ 8,8 ^{a,b#}	323,7 $\pm$ 8,4 ^a	<0,001
Trombociti, $\times 10^9$	249,5 $\pm$ 59,2	242,2 $\pm$ 57,7 ^{a#}	240,9 $\pm$ 61 ^{a#}	230,1 $\pm$ 62,1 ^{a,b#,c#}	<0,001

Podaci su prikazani kao srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestra: #p<0,05

U Tabeli 7 su prikazane longitudinalne promene hematoloških parametara kod dve grupe ispitanica (Tabela 7). U VRT grupi ukupan broj leukocita je rastao od početka trudnoće, sa pikom u trećem trimestru (p<0,001) u odnosu na prvi trimestar, da bi pred porođaj pao ali i dalje sa statistički značajnom razlikom u odnosu na prvi trimestar (p<0,001). Posmatrajući leukocitarnu formulu, apsolutan broj limfocita, monocita i granulocita prati isti trend rasta od početka trudnoće. Granulociti imaju najviše vrednosti u trećem trimestru statistički značajno različite (p<0,001) u odnosu na prvi trimestar, dok monociti i limfociti imaju pik vrednosti pred kraj trudnoće, statistički značajno veći u odnosu na prvi trimestar (p<0,001) (Tabela 7). Broj eritrocita u VRT grupi je bio niži u drugom trimestru u odnosu na prvi (p<0,001) i zadržao istu vrednost u toku trećeg trimestra da bi pred kraj trudnoće porastao ali je ostao statistički značajno niži u odnosu na prvi trimestar (p<0,05). Vrednosti hemoglobina i hematokrita su bile niže u drugom i trećem trimestru, sa statistički značajnom razlikom u odnosu na prvi trimestar

($p < 0,001$), da bi pred kraj trudnoće vrednosti ovih parametara porasle ali su i dalje bile statistički značajno niže u odnosu na prvi trimestar ($p < 0,05$). Eritrocitni parametri MCV i MCH su u drugom i trećem trimestru bili statistički značajno viši u odnosu na prvi trimestar ($p < 0,001$), a zatim se pred kraj trudnoće vratili na približnu vrednost kao u prvom trimestru. Vrednost MCHC je bila značajno niža u drugom trimestru u odnosu na prvi ($p < 0,05$), nastavila sa padom u trećem trimestru, statistički značajno različitom u odnosu na prvi trimestar ($p < 0,001$). Vrednosti trombocita u VRT grupi su padali od početka trudnoće, sa najnižom vrednošću pred kraj trudnoće, sa statistički značajnom razlikom u odnosu na prvi trimestar ($p < 0,05$) (Tabela 7). U PE grupi ukupan broj leukocita je pratio isti trend kao i u VRT grupi, sa najvišim vrednostima u trećem trimestru, statistički značajno višim u odnosu na prvi ($p < 0,001$). Monociti su rasli u PE grupi u drugom trimestru sa značajnom razlikom u odnosu na prvi trimestar ($p < 0,05$) i zadržali su približnu vrednost do kraja trudnoće (Tabela 7). Granulociti su u drugom trimestru bili statistički značajno viši u odnosu na prvi trimestar, da bi kasnije njihova vrednost padala, pa je pred kraj trudnoće bila statistički značajno niža u odnosu na drugi trimestar ($p < 0,05$) (Tabela 7). Eritrociti i hematokrit su padali od početka trudnoće sa najnižom vrednošću u trećem trimestru, značajno različitom u odnosu na prvi trimestar ($p < 0,001$). Hemoglobin je takođe padao od početka trudnoće i pred kraj trudnoće bio značajno niži u odnosu na prvi trimestar. MCV je pratio isti trend kao i u VRT grupi, sa porastom vrednosti u drugom trimestru u odnosu na prvi ($p > 0,05$) i padom pred kraj trudnoće. Trombociti u PE su imali približne vrednosti tokom cele trudnoće (Tabela 7).

Daljom analizom poređenja hematoloških parametara između grupe nismo dobili statistički značajne razlike osim za hematokrit i MCV koji su se u prvom trimestru razlikovali između grupa i bili statistički značajno viši u PE grupi ($p < 0,012$, $p < 0,048$). Pored njih, PLT su pokazali statistički značajno više vrednosti kod grupe koja je razvila PE u svim trimestrima u odnosu na VRT grupu ($p < 0,001$).

Tabela 7. Longitudinalne promene hematoloških parametara u VRT i PE

VRT	I trimestar (N=71)	II trimestar (N=71)	III trimestar (N=71)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=71)	P
Leukociti, x10 ⁹	8,5±1,8	9,7±2,3 ^a	10,3±2,3 ^{a,b#}	9,9±2,2 ^a	<0,001
Limfociti x10 ⁹	2,0±0,5	2,1±0,5	2,1±0,4 ^{a#}	2,2±0,5 ^{a#,b#}	0,002
Monocit x10 ⁹	0,46±0,18	0,57±0,31 ^a	0,57±0,16 ^a	0,58±0,17 ^a	<0,001
Granulociti x10 ⁹	6,04±1,57	7,05±1,97 ^a	7,58±2,04 ^{a, b#}	7,05±1,89 ^{a,c#}	<0,001
Eritrociti x10 ¹²	4,17±0,31	3,85±0,3 ^a	3,85±0,29 ^a	4±0,32 ^{a,b,c}	<0,001
Hemoglobin, g/L	124,1±7,3	116,2±7,5 ^a	115,1±8,5 ^a	118,2±10 ^{a,c#}	<0,001
Hematokrit, %	37,5±3	35,7±2,1 ^a	35,7±2,4 ^a	36,4±2,9 ^{a#,b#,c#}	<0,001
MCV, fL	90,7±5,5	93,1±5,3 ^a	93±5,6 ^a	91,4±6,5 ^{b,c}	<0,001
MCH,pg	29,8±2	30,3±1,9 ^{a#}	30±2,2 ^{b#}	29,7±2,4 ^{b#,c#}	0,002
MCHC, g/L	328,7±6,8	325,6±7,7 ^{a#}	322,4±9 ^{a, b#}	324,4±8,3 ^a	<0,001
Trombociti, x10 ⁹	241,4±54,2	234,4±54,1	231,9±58,9 ^{a#}	222,2±57,9 ^{a#,b#,c#}	0,003
PE	I trimestar (N=20)	II trimestar (N=20)	III trimestar (N=20)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=20)	P
Leukociti, x10 ⁹	9,3±1,5	10,4±1,5 ^a	10,4±2 ^{a#}	9,5±2,3 ^{b#,c#}	0,001
Limfociti x10 ⁹	2,1±0,5	2,0±0,4	2,1±0,5	2,1±0,5	0,802
Monocit x10 ⁹	0,46±0,11	0,56±0,15 ^{a#}	0,53±0,16 ^{a#}	0,53±0,16 ^{a#}	0,043
Granulociti x10 ⁹	6,72±1,45	7,85±1,4 ^a	7,76±1,71 ^{a#}	6,87±2,09 ^{b#,c#}	<0,001
Eritrociti x10 ¹²	4,23±0,31	3,85±0,26 ^a	3,82±0,31 ^a	3,96±0,3 ^{a#,c#}	<0,001
Hemoglobin, g/L	128,5±10,8	118,3±7,2 ^a	118,3±7,2 ^{a, b#}	117,6±11,4 ^{3 a#}	<0,001
Hematokrit, %	39,5±3 ^{d#}	36,4±2,1 ^a	35,7±2,9 ^a	36,6±3,3 ^{a#, c#}	<0,001
MCV, fL	93,5±4,8 ^{d#}	94,8±3,6 ^{a#}	93,6±3,4 ^{b#}	92,4±4,1 ^{b#,c#}	0,050
MCH,pg	30,4±1,8	30,8±1,4	30±1,5 ^{b#}	29,7±1,6 ^{b#}	0,024
MCHC, g/L	325,2±9,7	324,5±9,8	322,2±8,5	321,1±8,3	0,467
Trombociti, x10 ⁹	277,6±68,2 ^{d#}	269,6±62,9 ^{d#}	272,6±59,1 ^{d#}	257,8±70 ^{d#}	0,192

Podaci su prikazani kao srednja vrednost±standardna devijacija. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures)sa Bonferroni-jevom korekcijom. a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestra, d-statistički značajna razlika u odnosu na VRT grupu za isti trimester. #p<0,05

1. Klinički i biohemijski parametri za procenu rizika za razvoj PE

U ovoj studiji su određeni u prvom trimestru i klinički i biohemijski markeri koji se u kliničkoj praksi koriste kao markeri za procenu rizika za razvoj PE. Vrednosti ovih parametara su prikazani u Tabeli 8. MPiAut se nije razlikovao između ispitivanih grupa, takođe vrednosti PLGF se nisu značajno razlikovale, dok su vrednosti sFlt-1 bile niže u PE grupi u na početku trudnoće ali bez statističke značajnosti (0,398). Upoređivanjem odnosa sFlt-1/PLGF između dve grupe na početku trudnoće, nismo dobili statistički značajnu razliku (0,334).

Tabela 8. Vrednosti MPiAut, PLGF, sFlt-1T, sFlt-1/PLGF u prvom trimestru

Parametri	I trimestar (N=91)	I trimestar (N=71) VRT	I trimestar (N=20) PE	P
MPiAut	2,03 (1,91-2,16)	2.1 (1.84-2.41)	2.4 (1.64-3.65)	0,095
PLGF (pg/ml)	36,96 (33,41-40,50)	33.9 (30.8-37.4)	32.9 (27.6-39.3)	0,544
sFlt-1(pg/ml)	1381,9 (1246,4-1517,4)	1306.8 (1185.9-1440.2)	1168.8 (976.5-1398.9)	0,398
sFlt-1/PLGF	42,65 (37,5-47,8)	38.5 (33.99-43.64)	35.5 (29.16-43.13)	0,334

Rezultati su prikazani kao geometrijska srednja vrednost i 95- ti interval pouzdanosti. Vrednosti parametara su poređene korišćenjem Studentovog t testa.

2. Inflamatorni markeri

U Tabeli 9 su prikazani markeri inflamacije koji se rutinski određuju u biohemijskim laboratorijama u celoj grupi ispitivanih trudnica u 4 tačke određivanja. Uočeno je da koncentracija mokraćne kiseline statistički značajno raste tokom cele trudnoće ($p < 0.001$). Koncentracija hsCRP-a se nije statistički značajno razlikovala između trimestra u celoj ispitivanoj grupi trudnica (Tabela 9). Uočen je statistički značajan porast aktivnosti LDH u drugom trimestru u odnosu na prvi, vrednosti su ostale značajno povišene i u trećem trimestru a zatim je u tački pre porođaja uočen statistički značajan porast aktivnosti u odnosu na sve prethodne ispitivane tačke trudnoće (Tabela 9).

Tabela 9. Longitudinalne promene rutinskih markera inflamacije u ispitivanoj populaciji trudnica

	I trimestar (N=91)	II trimestar (N=91)	III trimestar (N=91)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=91)	P
Mokraćna kiselina, $\mu\text{mol/L}$	197,1(188,9-205,3)	213,9(206,1-221,8) ^{a*}	224,9(215,8-234,2) ^{a*,b,&}	270,5(257,6-283,4) ^{a*,b*, c*}	<0,001
LDH, IU/L	134 (96-233)	138 (73-298) ^{a*}	144 (82-314) ^{a*}	154 (93-254) ^{a, b*, c*}	<0,001
hsCRP, mg/L [#]	4,26(3,55-5,12)	4,67(3,86-5,64)	4,32(3,62-5,17)	4,4(3,63-5,34)	0,313

Podaci su prikazani kao aritmetička sredina i 95- ti interval pouzdanosti. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

#- Kod parametara koji ne prate normalnu raspodelu rezultati su poređeni Mann-Whitney testom. a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestra.

* $P<0.001$, & $P<0.05$

U Tabeli 10 su prikazane longitudinalne promene inflamatornih markera kod dve grupe ispitanica (Tabela 10). U VRT grupi, koncentracije mokraćne kiseline i LDH su konstantno rasle od početka do kraja trudnoće, sa statistički značajno višim vrednostima pred kraj trudnoće, u odnosu na prvi, drugi i treći trimestar ($p<0,001$). Za razliku od ovih parametara, hsCRP je imao približne vrednosti tokom cele trudnoće (0,234) (Tabela 10). U PE grupi je jedino mokraćna kiselina pratila isti trend promena kao i u VRT grupi, sa konstantnim porastom od početka trudnoće i pikom pred kraj trudnoće, statistički značajno višim u odnosu na prvi drugi i treći trimestar ($p<0,001$). Vrednosti LDH i hsCRP se nisu značajno menjale tokom trudnoće u PE grupi (0,572; 0,222). Poređenjem između grupa, dobili smo statistički značajno više vrednosti mokraćne kiseline u prvom i drugom trimestru kao i pred porođaj ($p<0,05$), dok je u trećem trimestru razlika bila najveća ($p<0,001$) kod trudnica koje su razvile PE u odnosu na VRT grupu (Tabela 10).

Tabela 10. Longitudinalne promene rutinskih markera inflamacije u VRT i PE

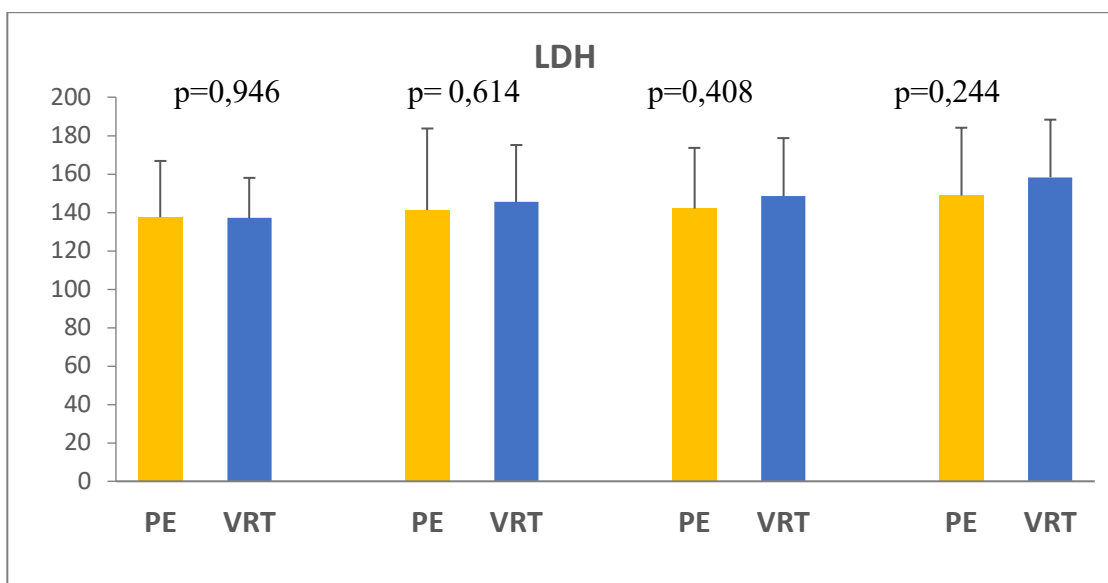
VRT	I trimestar (N=71)	II trimestar (N=71)	III trimestar (N=71)	37 nedjelja gestacije (N=71)	P
Mokraćna kiselina, $\mu\text{mol/L}$	189 (181.48-198.32)	205 (199.22-216.18) ^a	218(207.1-225.72) ^{a,b,&}	261 (248.45-274.74) ^{a,b,c}	<0,001
LDH, IU/L	135 (132.12-141.99)	139 (138.33-139.0) ^{a&}	145 (141.27-155.60) a#, b	156 (150.91-165.12) a&b&,c&	<0,001
hsCRP, mg/L [#]	4.08(3.29-5.05)	4,52(3,58-5,69)	4,02(3,24-4,99)	4,3 (5.09-9.8)	0,234
PE	I trimestar (N=20)	II trimestar (N=20)	III trimestar (N=20)	37 nedjelja gestacije (N=20)	P
Mokraćna kiselina, $\mu\text{mol/L}$	208(203.32-242.08)d#	225,5 (215.23-232.06)d#	252 (233.11-277.79) ^{a&,b,& d#}	283,5 (267.63-336.67) ^{a,b,c d#}	<0,001
LDH	131 (123.72-151.18)	131,5 (121.26-161.04)	134,5 (127.20-156.80)	146,5 (132.24-165.26)	0,572
hsCRP, mg/L [#]	4.98(3.55-6.99)	5,23(3,98-6,89)	5,57(4,27-7,29)	5,0 (3.76-7.16)	0,222

Podaci su prikazani kao aritmetička sredina i 95- ti interval pouzdanosti. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

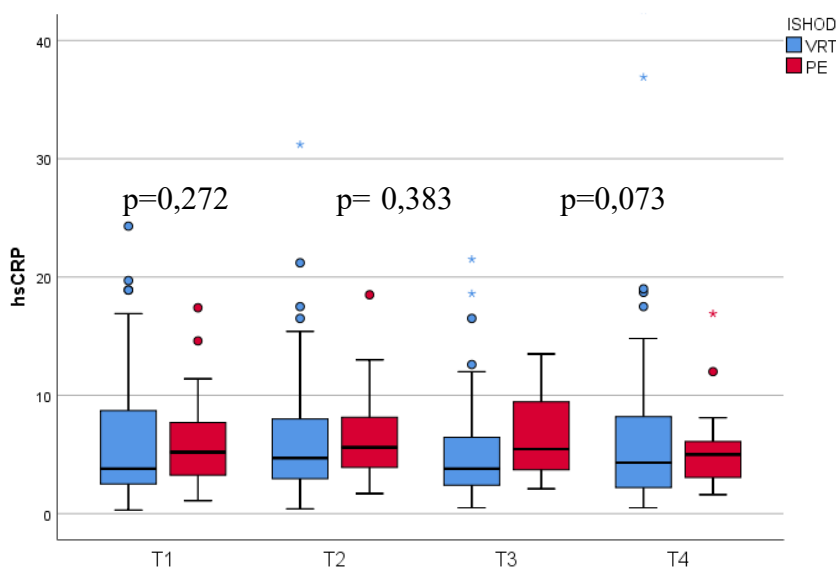
#- Kod parametara koji ne prate normalnu raspodelu rezultati su poređeni Mann-Whitney testom i podaci su prikazani kao geometrijska srednja vrednost i 95- ti interval pouzdanosti. a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestra.

& $P<0.05$

Poređenjem vrednosti LDH i hsCRP između PE i VRT nismo dobili značajnu razliku ni u jednom trimestru (Slika 19 i 20).



Slika 19. Poređenje LDH između PE i VRT grupe kroz



Slika 20. Poređenje hsCRP kroz trimestre kod PE i VRT

Daljom analizom ispitivali smo longitudinalne promene hematoloških indeksa u celoj grupi trudnica (Tabela 11). Odnos neutrofila i limfocita (NLR) je rastao sa napredovanjem trudnoće i dostigao pik u trećem trimestru sa statistički značajnom razlikom u odnosu na prvi trimestar kod svih trudnica ($p<0,001$). Odnos trombocita i limfocita (PLR) je od početka trudnoće opadao i pred kraj trudnoće bio statistički značajno niži u odnosu na prvi ($p<0,001$), drugi ($p<0,001$) i treći trimestar ($p<0,001$). Odnos limfocita i monocita (LMR) je u drugom trimestru bio statistički značajno niži u odnosu na prvi kod svih trudnica ($p<0,001$) i zadržao je približne vrednosti do kraja trudnoće (Tabela 11).

Tabela 11. Longitudinalne promene hematoloških indeksa koji predstavljaju markere inflamacije u celoj grupi trudnica

	I trimestar (N=91)	II trimestar(N=91)	III trimestar (N=91)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=91)	P
NLR	3,16±1,05	3,64±1,04 ^a	3,68±1,07 ^a	3,3±0,95 ^{b,c#}	<0,001
PLR	126,4±36,2	123,6±36,5	117±35,3 ^{a#,b#}	107,9±31,4 ^{a,b,c}	<0,001
LMR	4,64±1,23	3,97±1,12 ^a	4,05±1,14 ^a	4,02±1,03 ^a	<0,001

Podaci su prikazani kao srednja vrednost±standardna devijacija. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestral.

[#] $P<0.05$

Upoređivanjem odnosa parametara krvne slike između ispitivanih grupa (Tabela 12), u VRT grupi NLR je rastao u drugom i trećem trimestru u odnosu na prvi, da bi pred porođaj opao u odnosu na drugi i treći trimestar. PLR je u trećem trimestru bio statistički značajno niži u odnosu na prvi i drugi trimestar ($p=0,05$), dok je pred porođaj imao najnižu vrednost u odnosu na sva tri trimestra ($p=0,001$). LMR u VRT grupi u drugom trimestru pao sa značajnom razlikom u odnosu na prvi i zadržao približne vrednosti do kraja trudnoće ($p<0,001$). U PE grupi, NLR je bio statistički značajno viši u drugom trimestru u poređenju sa prvim ($p=0,05$), zatim se uočio pad u trećem trimestru i pred porođaj se vratio na istu vrednost kao u prvom trimestru ali statistički značajno nižom u odnosu na drugi trimestar ($p<0,001$). PLR je padao od početka trudnoće i u svakoj tački ispitivanja bio niži od prethodne, ali bez statističke značajnosti ($p=0,195$). LMR u PE grupi je u drugom trimestru pred porođaj bio statistički značajno niži u odnosu na prvi trimestar. Poređenjem parametara između VRT i PE grupe jedino je PLR

u trećem trimestru i pred porođaj bio statistički značajno viši kod PE trudnica u odnosu na VRT ($p=0,008$; $p=0,005$)

Tabela 12. Longitudinalne promene hematoloških indeksa u VRT i PE

VRT	I trimestar(N=71)	II trimestar(N=71)	III trimestar(N=71)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=71)	P
NLR	3.1±1.01	3,53±1,02 ^a	3,64±1,09 ^{a#}	3.3±0.91 ^{b#,c#}	<0,001
PLR	122.5±32.2	119,7±35,6	111,8±33,6 ^{a#,b#}	102.9±29.35 ^{a,b,c#}	<0,001
LMR	4.6±1.29	4±1,17 ^a	4±1,16 ^a	3.9±0.99 ^a	<0,001
PE	I trimestar(N=20)	II trimestar(N=20)	III trimestar (N=20)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=20)	P
NLR	3.4±1.10	4,02±1,06 ^{a#}	3,84±1,05	3.4±1.11 ^{b#}	<0,001
PLR	139.3±45.3	137,1±37,1	135±36,1 ^{d#}	124.8±32.76 ^{d#}	0,195
LMR	4.6±1.08	3,88±0,95 ^{a#}	4,22±1,09	4.2±1.13 ^{a#}	0,028

Podaci su prikazani kao srednja vrednost±standardna devijacija. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestral.

[#] $P<0.05$

U Tabeli 13 su prikazane promene koncentracija specifičnih inflamatornih markera tokom trudnoće u celoj grupi ispitanica. Rezultati istraživanja ukazuju da je došlo do značajnog porasta vrednosti rezistina tokom ispitivanog perioda ($p<0,001$). Vrednosti Hb-egf su kod svih ispitanica bile vrlo niske, u prvom trimestru većina ispod opsega merne linearnosti, zatim su u drugom trimestru rasle kod pojedinih trudnica, da bi dostigle pik u trećem trimestru sa statistički značajnom razlikom u odnosu na prvi ($p<0,001$). MCP-1 je u prvom trimestru bio statistički značajno viši u odnosu na kraj trudnoće, tj pred porođaj ($p<0,05$). SAA od početka trudnoće rastao, sa statistički značajnom razlikom u drugom trimestru u odnosu na prvi ($p<0,05$), kao i u trećem trimestru u odnosu na drugi trimestar ($p<0,001$). Nakon toga, zabeležen je pad vrednosti SAA sa značajno nižom vrednostima u odnosu na drugi ($p<0,05$) i treći trimestar ($p<0,001$). Vrednosti SAA pred kraj trudnoće su bile približne onima na početku trudnoće, u celoj grupi ispitanica (Tabela 13).

Tabela 13. Longitudinalne promene u koncentraciji rezistina, Hb-egf, MCP-1 i SAA u celoj grupi trudnica

	I trimestar(N=91)	II trimestar(N=91)	III trimestar(N=91)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=91)	P
Rezistin, ng/ml	24,32(22,33-26,31)	37,34(33,75-40,92) ^a	32,44(29,69-35,18) ^a	34,39(30,94-37,83) ^a	<0,001
Hb-egf ^{**}	<7,8 (<7,8-125,1)	9,3 (<7,8-69,7) ^{a*}	10,2 (<7,8-117,1) ^a	8,2 (<7,8-99) ^{a*}	<0,001
MCP-1 [§]	267 (239-296)	183(160-206,9) ^a	299,5(260,3-341) ^b	224,1(195-252) ^{c*}	<0,001
SAA ^{**}	34,1 (2,4-129,5)	40,9(6,7 – 280,3) ^{a*}	127(59,3 – 402,3) ^{a,b}	25,3 (1,5-129,5) ^{b*,c}	<0,001

Podaci su prikazani kao aritmetička sredina i 95- ti interval pouzdanosti.

§ Podaci su prikazani kao geometrijska sredina i 95- ti interval pouzdanosti

Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

a- statistički značajna razlika od I trimestra,

**Podaci su prikazani kao medijane±min-max. Kod parametara koji ne prate normalnu raspodelu rezultati su poređeni Mann-Whitney testom.

*p<0,05

U Tabeli 14 prikazane su longitudinalne promene u koncentraciji rezistina, Hb-egf, MCP-1 i SAA u dve ispitivane grupe trudnica. U VRT grupi došlo je do statistički značajne promene vrednosti rezistina u drugom trimestru u odnosu na prvi. Došlo je do značajnog porasta vrednosti rezistina tokom ispitivanog perioda (p<0,001). Nakon toga, rezistin je u trećem trimestru i pred kraj trudnoće bio malo niži u odnosu na drugi trimestar ali i dalje sa statistički značajno većim vrednostima u odnosu na prvi trimestar (p<0,001). Hb-egf u VRT grupi je rastao od drugog trimestra, sa pikom u trećem i značajno višim vrednostima u odnosu na prvi trimestar (p<0,05), nakon čega je njegova vrednost bila u padu pred porođaj ali bez statistički značajne razlike (Tabela 14). U VRT grupi MCP-1 je bio statistički niži u drugom trimestru u odnosu na prvi (p<0,001), da bi u trećem trimestru porastao sa značajnom razlikom u odnosu na drugi trimestar (p<0,05), a zatim pred porođaj opet pao sa značajnom razlikom u odnosu na prvi i drugi trimestar (p<0,05). Vrednosti SAA u VRT grupi su rasle u drugom (p<0,001) i trećem trimestru (p<0,001) sa značajnom razlikom u odnosu na prvi, da bi se pred porođaj vratile na približne vrednosti kao u prvom trimestru (Tabela 14). U grupi PE nije došlo je do statistički značajne promene vrednosti rezistina tokom trudnoće (p<0,113). U PE grupi zabeležen je porast koncentracije Hb-egf u drugom trimestru a potom, pad sve do kraja trudnoće, ali razlika nije bila statistički značajna (p<0,183). Vrednosti koncentracije MCP-1 u PE grupi su pratile isti trend kao i u VRT grupi. U drugom trimestru su bile statistički značajno niže u odnosu na prvi (p<0,001), u trećem trimestru statistički značajno više

u odnosu na drugi trimestar ($p<0,05$) i pred porođaj opet značajno niže u odnosu na treći trimestar ($p<0,05$). SAA u PE grupi je u trećem trimestru bio statistički značajno viši u odnosu na prvi i drugi ($p=0,001$; $p=0,05$) da bi pred kraj porođaj pao sa značajnom razlikom u odnosu na treći trimestar ($p<0,001$). Poređenjem ovih parametara između dve grupe ispitanica, rezistin je pokazao statistički značajno više vrednosti u PE grupi u prvom trimestru ($p<0,001$). Ne postoji statistički značajna razlika u vrednostima Hb-egf između PE i VRT ni u jednoj tački merenja. Poređenjem između grupa, u prvom trimestru MCP-1 bio statistički značajno viši ($p=0,05$), kao i pred porođaj ($p=0,05$) u odnosu na VRT grupu. Poređenjem između grupa, SAA nije pokazao statistički značajnu razliku ni u jednoj tački merenja.

Tabela 14. Longitudinalne promene u koncentraciji rezistina, Hb-egf, MCP-1 i SAA u VRT i PE

VRT	I trimestar(N=71)	II trimestar(N=71)	III trimestar(N=71)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=71)	P
Rezistin, ng/ml	22,42(20,54-24,30)	37,33(33,21-41,46) a*	32,59(29,38-35,79) ^{a*}	34,46(30,52-38,39) ^{a*}	<0,001
Hb-egf**	<7,8 (<7,8-125,1)	9,1 (<7,8-69,7)	11 (<7,8-117,1) ^{a*}	8,4 (<7,8-99)	<0,001
MCP-1 [§] , pg/ml	248,8(221,2-276,4)	179,87(152,4-207,2)a	288,3(241,2-335,3) ^{b*}	207,5(178,4-236,5) a*,b*	<0,001
SAA**	34,75 (2,44-129,54)	43,7(10,08-280,3) a	128,6(59,3-402,3) a, b	25,55 (1,89 – 129,54) ^{b, c}	<0,001
PE	I trimestar(N=20)	II trimestar(N=20)	III trimestar(N=20)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=20)	P
Rezistin, ng/ml	31,05(25,57-36,55) ^{d#}	37,34(29,48-45,21)	31,31(26,3-41,93)	34,13(26,34-41,93)	0,113
Hb-egf**	<7,8 (<7,8-21,9)	10,6 (<7,8-26,9)	9 (<7,8-40,7)	8 (<7,8-48,4)	0,183
MCP-1 [§] , pg/ml	333,2 (263,1-403,3) ^{d#}	194,85(139,7-247,7) a	330 (266,1-395,8) ^{b*}	262,8(205,7-319,8) ^{a*, b*} d#	<0,001
SAA**	28,83 (5,2 – 126,52)	32,19(6,7-280,3)	113,3(65,0-230,9) ^{a, b*}	23,81 (1,54 – 101,4) c	<0,001

Podaci su prikazani kao aritmetička sredina i 95- ti interval pouzdanosti.

**Podaci su prikazani kao medijane±min-max.

§ Podaci su prikazani kao geometrijska sredina i 95- ti interval pouzdanosti.

Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

Kod parametara koji ne prate normalnu raspodelu rezultati su poređeni Mann-Whitney testom

a- statistički značajna razlika od I trimestra,

* $p<0,05$. d# $p<0,001$

3. Parametri lipidnog statusa

U Tabeli 15 su prikazani rezultati analize parametara lipidnog profila u celoj grupi trudnica. Rezultati su pokazali kontinuirani porast ukupnog holesterola i triglicerida tokom trudnoće, sa značajno višim vrednostima na kraju trudnoće u odnosu na prvi trimestar. Takođe, vrednosti su u trećem trimestru veće nego u drugom i u tački pre porođaja su veće nego u trećem trimestru (Tabela 15). HDL-C značajno raste u drugom i trećem trimestru, nakon čega blago opada ali i dalje su vrednosti statistički značajno više u poređenju sa prvim trimestrom ($p < 0,05$). LDL-C značajno raste u drugom trimestru u odnosu na prvi kod svih trudnica, nakon čega u trećem trimestru i pred porođaj zadržava približne vrednosti, takođe statistički značajno više u odnosu na prvi trimestar (Tabela 15).

Tabela 15. Longitudinalne promene u parametrima lipidnog profila u celoj grupi trudnica

	I trimestar(N=91)	II trimestar(N=91)	III trimestar(N=91)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=91)	P
Holesterol, mmol/L	5,35(5,14-5,56)	6,79(6,51-7,06) ^a	7,25(6,94-7,56) ^{a, b}	7,42(7,09-7,75) ^{a, b}	<0,001
Trigliceridi, mmol/L	1,33(1,23-2,6)	1,95(1,82-2,08) ^a	2,44(2,28-2,6) ^{a, b}	3,05(2,86-3,26) ^{a, b, c}	<0,001
LDL-C, mmol/L	1,79(1,7-1,88)	2,08(1,99-2,16) ^a	2,02(1,91-2,12) ^a	1,96(1,86-2,06) ^{a*}	0,014
HDL-C, mmol/L	2,91(2,73-3,08)	3,78(3,53-4,02) ^a	4,07(3,79-4,35) ^{a, b*}	4,02(3,73-4,32) ^a	<0,001
ApoA1, g/L	1,95 (1,87-2,01)	2,31(2,22-2,38) ^a	2,29 (2,20-2,37) ^a	2,25(2,17-2,34) ^a	<0,001

Rezultati su prikazani kao geometrijska srednja vrednost i 95- ti interval pouzdanosti. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestra. * $P < 0,05$

U Tabeli 16 su prikazane promene parametara lipidnog profila u dve ispitivane grupe trudnica tokom trudnoće. Kod ispitanica koje nisu razvile PE vrednosti triglicerida su rasle u toku cele trudnoće i bile više sa statistički značajnom razlikom (Tabela 16). Ukupni holesterol, kao i HDL-C i LDL-C su takođe bili u konstantnom porastu sa statistički značajnom razlikom u drugom, trećem trimestru, kao i pred porođaj u odnosu na prvi trimestar (Tabela 16). ApoA1 je rastao sa statistički značajno višim vrednostima u drugom, trećem trimestru i pred porođaj u odnosu na prvi trimestar. U PE grupi ukupan

holesterol je rastao od početka trudnoće i pred porođaj je bio statistički značajno viši u odnosu na prvi trimestar (Tabela 16). Porast triglicerida kod PE je bio najizraženiji obzirom da je u svakom trimestru porast bio statistički značajan u odnosu na prethodni, kao i pred porođaj u odnosu na treći trimestar (Tabela 16). Zabeležen je statistički značajan porast LDL-C u drugom trimestru u PE grupi u odnosu na prvi, kao i pred porođaj u odnosu na prvi trimestar (Tabela 16). HDL-C kod ove grupe je rastao tokom trudnoće, ali za razliku od VRT grupe ovaj porast nije bio statistički značajan ni u jednoj tački merenja (Tabela 16). ApoA1 u PE grupi je rastao sa statistički značajnom razlikom u drugom i trećem trimestru, kao i pred porođaj u odnosu na prvi trimestar (Tabela 16).

Poređenjem parametara lipidnog profila u različitim tačkama ispitivanja između dve ispitivane grupe trudnica, uočeno je da su samo vrednosti triglicerida statistički značajno više kod PE grupe u svim trimestrima ($p < 0,001$), dok u ostalim ispitivanim parametrima nije uočena statistički značajna razlika između VRT i PE (Tabela 16).

Tabela 16. Longitudinalne promene u parametrima lipidnog profila u VRT i PE

VRT	I trimestar(N=71)	II trimestar(N=71)	III trimestar(N=71)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=71)	P
Holesterol, mmol/L	5.3(5.1-5.6)	6.8(6.5-7.1) ^{a**}	7.3(6.9-7.7) ^{a**,b*}	7.4(7.1-7.8) ^{a**,b*}	<0.001
Trigliceridi, mmol/L	1.27(1.17-1.38)	1.86(1.72-2.01) ^{a**}	2.32(2.16-2.51) ^{a**,b**}	2.92(2.71-3.14) ^{a**,b**,c**}	<0.001
LDL-C, mmol/L	2.9(2.7-3.1)	3.8(3.5-4.1) ^{a**}	4.2(3.9-4.5) ^{a**b*}	4.1(3.8-4.4) ^{a**}	<0.001
HDL-C, mmol/L	1.77(1.68-1.85)	2.11(2.02-2.21) ^{a**}	2.02(1.92-2.12) ^{a**}	1.96(1.84-2.09) ^{a**}	<0.05
ApoA1,g/L	1.94(1.86-2.02)	2.31(2.23-2.39) ^{a**}	2.27(2.18-2.37) ^{a**}	2.23(2.13-2.32) ^{a**}	<0.001
PE	I trimestar(N=20)	II trimestar(N=20)	III trimestar(N=20)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=20)	P
Holesterol, mmol/L	5.4(5.1-5.8)	6.7(6.2-7.3) ^{a*}	7.0(6.4-7.6) ^{a**}	7.3(6.6-7.9) ^{a**}	<0.001
Trigliceridi, mmol/L	1.52(1.28-1.82) ^{d#}	2.25(1.94-2.62) ^{a*,d#}	2.85(2.52-3.21) ^{a**,b*,d#}	3.55(3.11-4.04) ^{a**,b**,c**,d#}	<0.001
LDL-C, mmol/L	2.8(2.47-3.09)	3.6(3.09-4.14) ^{a*}	3.5(2.92-4.15)	3.6(2.81-4.4) ^{a*}	<0.05
HDL-C, mmol/L	1.88(1.59-2.17)	1.95(1.76-2.15)	1.99(1.67-2.32)	1.94(1.78-2.09)	0.650
ApoA1,g/L	1.97(1.81-2.13)	2.28(2.08-2.48) ^{a**}	2.32(2.16-2.49) ^{a**}	2.34(2.15-2.53) ^{a**}	<0.001

Rezultati su prikazani kao geometrijska srednja vrednost i 95- ti interval pouzdanosti. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestral, d-statistički značajna razlika u odnosu na VRT grupu za isti trimestar. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$. # $p < 0.05$, ## $p < 0.001$

U Tabeli 17 su prikazane vrednosti HDL dijametara kod svih trudnica merene u četiri tačke ispitivanja, kao i raspodela subfrakcija HDL čestica u celoj ispitivanoj grupi trudnica. Dominantan dijametar HDL čestice se nije menjao u toku trudnoće (Tabela 17). Subfrakcija HDL 2b je rasla sa statistički značajnom razlikom u drugom trimestru ($p < 0,001$) u odnosu na prvi i zadržala je slične vrednosti do kraja trudnoće. Udeli HDL 2a i HDL 3a subfrakcija su u drugom i trećem trimestru značajno bile niže u odnosu na prvi trimestar, dok ostale subfrakcije nisu pokazale značajne razlike u vrednostima tokom trudnoće.

Tabela 17. Longitudinalne promene u HDL dijametri, raspodeli HDL subfrakcija u celoj grupi trudnica

	I trimestar(N=91)	II trimestar(N=91)	III trimestar(N=91)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=91)	P
Dominantan HDL dijametar,nm	10,9 (10.63-10.91)	10,8 (10.65-10.92)	10,8 (10.6-10.8)	10,8 (10.67-10.91)	0,433
HDL 2b, %	48,5 (45,9-51,1)	51,8 (49,12-54,4) ^a	51,7 (49,46-54,34) ^a	51,3 (49,08-53,7) ^{a&}	<0,001
HDL 2a, %	19,7 (18,97-20,52)	18,7 (17,96-19,44) ^a	18,6 (18,09-19,31) ^a	18,9 (18,16-19,57)	<0,001
HDL 3a, %	13,8 (13,15-14,47)	12,8 (12,16-13,43) ^a	12,7(11,97-13.27) ^a	12,8 (12,05-13,50) ^{a&}	<0,001
HDL 3b, %	8,6 (7,86-9,31)	8,4 (7,63-9,08)	8,8 (7,92-8,26)	8,6 (7,94-9,26)	0,159
HDL 3c%	8,2 (6,79-9,6)	8,3 (6,77-9,90)	8,1 (6,92-9,23)	8,4 (6,99-9,77)	0,452

Rezultati su prikazani kao geometrijska srednja vrednost i 95- ti interval pouzdanosti. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestral. * $P < 0.001$ & $P < 0.05$

Tabela 18 prikazuje rezultate ispitivanja longitudinalnih promena u dijametri HDL čestica i raspodeli subfrakcija HDL čestica u ispitivanim grupama trudnica. U VRT grupi nije uočena statistički značana promena u veličini dominantnog dijametara tokom trudnoće ($p = 0,265$). U ovoj grupi je HDL 2b subfrakcija bila statistički značajno viša u drugom trimestru u odnosu na prvi i do kraja trudnoće je zadržala slične vrednosti ($p < 0,05$). HDL 3a subfrakcija je u istoj grupi bila niža u drugom trimestru u odnosu na prvi ali bez statističke značajnosti, dok se raspodela ostalih subfrakcija trudnica nije značajno

menjala u toku trudnoće (Tabela 18). U PE grupi trudnica nije uočena značajna promena u veličini dominantnog HDL dijametra tokom trudnoće ($p=0,319$). Procentualni udeo HDL 2b subfrakcija je rastao u drugom trimestru trudnoće u odnosu na prvi ($p=0,059$), dok je procentualni udeo HDL 3a subfrakcije opadao u drugom trimestru trudnoće u odnosu na prvi i ostao smanjen do kraja trudnoće (Tabela 18). Poređenjem parametara između ispitivanih grupa, procentualni udeo HDL 2a subfrakcije je bio niži kod PE trudnica u odnosu na VRT, sa statistički značajnom razlikom u drugom trimestru ($p<0,05$). Procentualni udeo HDL 2b subfrakcija je bio viši kod PE trudnica u svim tačkama ispitivanja ali razlika nije postigla statističku značajnost (Tabela 18).

Tabela 18. Longitudinalne promene u HDL dijametri, raspodeli HDL subfrakcija u VRT i PE

VRT	I trimestar(N=71)	II trimestar(N=71)	III trimestar(N=71)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=71)	P
Dominantan HDL dijametar,nm	10.52(10.30-10.74)	10.48(10.24-10.72)	11.5(9.48-13.5)	10.58(10.38-10.78)	0.265
HDL 2b, %	47.77(44.6-50.95)	50.83(47.61-54.04) a*	50.57(47.63-53.5) ^{a*}	50.63(48.08-53.18) a*	<0.05
HDL 2a, %	19.82(18.89-20.75)	18.79(17.91-19.69)	19.0(18.26-19.75)	19.16(18.43-19.79)	0.273
HDL 3a, %	13.83(13.05-14.61)	12.99(12.21-13.78)	12.81(12.09-13.70)	12.82(12.03-13.74)	0.062
HDL 3b, %	8.7(8.72-9.58)	8.64(7.79-9.49)	8.95(8.04-9.86)	8.76(8.03-9.49)	0.677
HDL 3c%	8.56(6.78-10.34)	8.76(6.86-10.67)	8.48(7.09-9.87)	8.59(6.97-10.21)	0.915
PE	I trimestar(N=20)	II trimestar(N=20)	III trimestar(N=20)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=20)	P
Dominantan HDL dijametar,nm	10.42(9.94-10.89)	10.49(10.09-10.89)	10.64(10.29-10.98)	10.69(10.39-10.99)	0.319
HDL 2b, %	49.59(45.16-54.02)	53.79(49.16-58.43)	55.61(51.14-60.08)	53.8(48.77-59.01)	0,059
HDL 2a, %	19.68(18.43-20.93)	18.32(17.29-19.36)	17.42(16.46-18.38) d#	18.1(16.01-20.19)	0.148
HDL 3a, %	14.32(12.97-15.67)	12.66(11.51-13.81) a*	12.01(10.71-13.3) ^{a*}	12.56(11.26-13.86) a*	<0.05
HDL 3b, %	8.53(7.34-9.72)	7.78(6.38-9.18)	8.04(6.89-9.18)	8.09(6.67-9.52)	0.635
HDL 3c%	7.89(5.96-9.81)	7.47(4.94-9.99)	6.93(4.78-9.08)	7.35(4.95-9.75)	0.569

Rezultati su prikazani kao srednje vrednosti i 95- ti interval pouzdanosti. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

* $p < 0.05$ ** $p < 0.001$ a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestra, d- statistički značajna razlika u odnosu na VRT grupu za isti trimester ([#] $p < 0.05$, ^{##} $p < 0.001$)

4. Aktivnost PON1 enzima

Tabela 19 prikazuje longitudinalne promene u PON1 aktivnosti i PON1 aktivnosti na HDL subfrakcijama u celoj grupi trudnica. Rezultati studije su pokazali da nije došlo do značajne promene u aktivnosti enzima PON1 na različitim subfrakcijama HDL-a tokom trudnoće u celoj grupi ispitivanih trudnica, dok je aktivnost enzima PON1 značajno porasla u drugom i trećem trimestru u odnosu na prvi ($p<0,001$) i ostala značajno viša i pred porođaj u odnosu na prvi trimestar ($p<0,05$).

Tabela 19. Longitudinalne promene u PON1 aktivnosti i PON1 aktivnosti na HDL subfrakcijama u celoj grupi trudnica

	I trimestar (N=91)	II trimestar(N=91)	III trimestar(N=91)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=91)	P
PON1, U/L&	546 (460-631)	663,1(547-779) ^a	671,4(556,9-785,9) ^a	588,3(481-695,6) ^{a#}	<0,001
PON1-HDL2b	44 (41.68-45.81)	44 (42.18-44.23)	43,6 (41.84-44.16)	43,7 (42.3-45.65)	0,866
PON1-HDL2a	23 (21.2-23.12)	22,9 (21.0-22.93)	23,3 (20.48-23.84)	23,6 (21.13-24.85)	0,417
PON1-HDL3a	13,5(13.07-13.90)	13,4 (12.9-14.1)	13,2 (12.80-13.86)	13,1 (12.7-13.9)	0,345
PON1-HDL3b	8,3 (7.9-9.1)	8,5 (8.1-9.2)	8,5 (8.057-9.16)	8,5 (8.05-8.65)	0,529
PON1-HDL3c	11,2 (9.58-12.51)	11,3 (10.07-12.3)	11,4 (10.19-12.66)	11,1 (9.69-12.16)	0,891

& Rezultati su prikazani kao geometrijske srednje vrednosti i 95- ti interval pouzdanosti. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

a- statistički značajna razlika od I trimestra ·[#] $p<0.05$

Poređenje ukupne aktivnosti enzima PON1 kao i aktivnosti na pojedinačnim HDL subfrakcijama između dve grupe trudnica je prikazano u Tabeli 20. Longitudinalnim praćenjem aktivnosti PON1 u VRT grupi trudnica dobili smo statistički značajan porast vrednosti u trećem trimestru u odnosu na prvi, dok su vrednosti PON1 u PE grupi bile slične, bez uočenih statistički značajnih razlika u promenama tokom cele trudnoće (Tabela 20). Trudnice koje nisu razvile PE imale su niže vrednosti PON1 aktivnosti, sa statistički značajnom razlikom u prvom i trećem trimestru, kao i pred kraj trudnoće u odnosu na PE grupu (Tabela 20). Posmatrajući pojedinačne subfrakcije HDL čestice, PON1 aktivnost na HDL 2b čestici je bila statistički značajno niža u PE grupi u prvom trimestru u odnosu na VRT grupu ($p<0,05$).

Tabela 20. Longitudinalne promene u PON1 aktivnosti i PON1 aktivnosti na HDL subfrakcijama u VRT i PE grupi

VRT	I trimestar (N=71)	II trimestar (N=71)	III trimestar (N=71)	37 nedjelja gestacije, pred porođaj (N=71)	P
PON1, U/L ^{&}	347(283.9-424.0)	418.7(335.1-523.1)	449.3(373.3-540.7) ^{a#}	369.1(299.7-454.6)	<0.05
PON1-HDL2b	44,8 (43,1-46,4)	44,2 (42,6-45,6)	44,2(42,6-45,7)	43,9 (42,7-45,1)	0,635
PON1-HDL2a	22,5 (21,4-23,6)	22,7 (21,2-24,1)	22,8 (21,4-24,3)	23,4 (21,9-24,8)	0,414
PON1-HDL3a	13,4 (12,7-14,0)	13,4 (12,7-14,0)	13,1 (12,5-13,7)	13,3 (12,7-13,9)	0,739
PON1-HDL3b	8,3 (7,7-8,8)	8,6 (8,1-9,1)	8,5 (7,9-9,1)	8,5 (7,9-9,1)	0,592
PON1-HDL3c	11,1 (9,9-12,2)	11,2 (10,1-12,3)	11,4 (10,3-12,4)	10,9 (9,9-11,9)	0,598
PE	I trimestar (N=20)	II trimestar (N=20)	III trimestar (N=20)	37 nedjelja gestacije, (N=20)	P
PON1, U/L ^{&}	599.9(473.7-759.7) ^{d#}	612.8 (451.9-830.9)	684.6 ^{d#} (502.3-933.1)	642.7 (449.8-918.2) ^{d#}	0.592
PON1-HDL2b	41,8 (39,1-44-5) ^{d#}	43,6 (40,5-46,6)	42(39,1-44,9)	43,2 (40,7-45,5)	0,301
PON1-HDL2a	24,3 (21,8-26,8)	23,7 (21,1-26,3)	24,8 (21,7-27,8)	24,3 (21,5-26,9)	0,670
PON1-HDL3a	14 (12,9-14,9)	13,1(12,0-14,1) ^{a#}	13,4 (12,5-14,3)	12,6 (11,6-13,5) ^{a#, c#}	0,012
PON1-HDL3b	8,2 (7,5-8,9)	8,3 (7,3-9,2)	8,6 (7,7-9,4)	8,3 (7,5-9,1)	0,689
PON1-HDL3c	11,6 (9,9-13,4)	11,4 (9,3-13,4)	11,3 (8,9-13,6)	11,7 (9,8-13,6)	0,857

[&] Rezultati su prikazani kao geometrijska srednja vrednost i 95- ti interval pouzdanosti [#] $p < 0.05$. Poređenje analizom varijanse za ponovljena merenja (ANOVA repeated measures) sa Bonferroni-jevom korekcijom.

a- statistički značajna razlika od I trimestra, b- statistički značajna razlika od II trimestra, c- statistički značajna razlika od III trimestral, d-statistički značajna razlika u odnosu na VRT grupu za isti trimestar.

5. Univarijantna binarna logistička regresiona analiza

Parametri koji su pokazali statistički značajnu razliku između dve ispitivane grupe trudnica u prvom trimestru su dalje ispitivani kao potencijalni prediktori PE kao ishoda trudnoće metodom univarijantne binarne logističke regresione analize (Tabela 21). Rezultati analize su kao značajne prediktore izdvojili: mokraćnu kiselinu, rezistin, MCP-1, trigliceride i PON1 (Tabela 21).

Tabela 21. Univarijantna binarna logistička regresiona analiza za parametre prvog trimestra

Nezavisna varijable (I trimestar)	B	p	OR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
LDH	0,001	0,945	1,00	0,98	1,02
Mokraćna kiselina	0,023	0,002	1,02	1,01	1,04
hsCRP	0,008	0,858	1,01	0,92	1,11
Rezistin	0,101	0,001	1,11	1,04	1,18
SAA	0,002	0,857	1,00	0,98	1,02
MCP-1	0,005	0,015	1,01	1,00	1,01
Hb-egf	-0,008	0,579	0,99	0,96	1,02
Trigliceridi	0,803	0,050	2,23	0,98	5,07
PON1	0,001	0,035	1,00	1,00	1,00
ApoA1	0,371	0,632	1,45	0,32	6,63
HDL	0,751	0,216	2,12	0,65	6,95
HDL dijametar	-0,163	0,528	0,85	0,51	1,41
HDL 2b	0,013	0,556	1,01	0,97	1,06
HDL 2a	-0,021	0,762	0,98	0,86	1,12
HDL 3a	0,043	0,597	1,04	0,89	1,22
HDL 3b	-0,015	0,842	0,99	0,85	1,14
HDL 3c	-0,009	0,814	0,99	0,92	1,07

6. Multivarijantna binarna logistička regresiona analiza

Parametri od značaja su dalje ispitivani multivarijantnom logističkom regresionom analizom. U model logističke regresije uključeni su klinički i demografski parametri koji se koriste u proceni rizika za razvoj PE zajedno sa parametrima koji su pokazali značajnost univarijantnom analizom. Prediktori PE koji su u modelima univarijantne logističke regresije bili statistički značajni, na nivou značajnosti od 0,05 uključivani su u model za procenu rizika za razvoj PE.

U tabeli 22 prikazan je osnovni model (Model 1) u kome su prikazani tradicionalni demografski i klinički parametri koji se koriste u proceni rizika za razvoj PE.

Tabela 22. Model 1 (osnovni)

Nezavisna varijabla	B	p	OR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Starost	0,074	0,159	1,076	0,972	1,192
ITM	0,087	0,121	1,091	0,977	1,217
PIGF	-0,011	0,543	0,989	0,953	1,026
MPAiut	-0,737	0,145	0,479	0,178	1,290
MAP	0,040	0,146	1,040	0,986	1,097

Tabela 23 predstavlja Model 2 gde je tradicionalnim markerima dodat rezistin koji je zadržao značajnost i u multivarijantnom modelu ($p = 0,002$).

Tabela 23. Model 2

Nezavisna varijabla	B	p	OR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Starost	0,064	0,260	1,066	0,954	1,192
ITM	0,114	0,068	1,121	0,992	1,267
PIGF	-0,014	0,448	0,986	0,951	1,022
MPAiut	-0,687	0,224	0,503	0,166	1,523
MAP	0,045	0,139	1,046	0,985	1,111
Rezistin	0,109	0,002	1,115	1,042	1,194

U Tabeli 24 prikazan je Model 3 gde je tradicionalnim parametrima dodat MCP-1 koji je takođe ostao značajan prediktor i u multivarijantnom modelu ($p = 0,009$).

Tabela 24. Model 3

Nezavisna varijabla	B	p	OR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Starost	0,096	0,091	1,101	0,985	1,231
ITM	0,053	0,388	1,054	0,935	1,189
PIGF	-0,008	0,697	0,992	0,956	1,031
MPAiut	-0,958	0,083	0,384	0,130	1,135
MAP	0,053	0,081	1,055	0,994	1,120
MCP-1	0,006	0,009	1,006	1,001	1,010

U Tabeli 25 prikazan je Model 4 gde je tradicionalnim parametrima dodata mokraćna kiselina koja je takođe ostala značajan prediktor i u multivarijantnom modelu ($p=0,020$).

Tabela 25. Model 4

Nezavisna varijabla	B	p	OR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Starost	0,088	0,120	1,092	0,977	1,220
ITM	0,021	0,756	1,021	0,864	1,167
PIGF	-0,010	0,593	0,990	0,956	1,026
MPAiut	-0,834	0,123	0,434	0,156	1,253
MAP	0,033	0,258	1,033	0,976	1,094
Mokraćna kiselina	0,020	0,020	1,020	1,003	1,038

U Tabeli 26 prikazan je Model 5 gde su tradicionalnim parametrima dodate vrednosti triglicerida ali one nisu pokazale statističku značajnost kao prediktor u multivarijantnom modelu ($p=0,240$).

Tabela 26. Model 5

Nezavisna varijabla	B	p	OR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Starost	0,072	0,176	1,075	0,968	1,194
ITM	0,061	0,311	1,063	0,945	1,196
PIGF	-0,014	0,473	0,986	0,949	1,024
MPAiut	-0,747	0,140	0,474	0,176	1,276
MAP	0,040	0,150	1,041	0,986	1,098
Trigliceridi	1,595	0,240	1,812	0,672	4,886

U Tabeli 27 prikazan je Model 6 gde je tradicionalnim parametrima dodat enzim PON-1 koji je nije ostao značajan prediktor i u multivarijantnom modelu ($p=0,196$).

Tabela 27. Model 6

Nezavisna varijabla	B	p	OR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Starost	0,075	0,165	1,077	0,970	1,197
ITM	0,077	0,177	1,080	0,966	1,209
PIGF	-0,010	0,567	0,990	0,956	1,025
MPAiut	-0,637	0,204	0,529	0,198	1,413
MAP	0,032	0,267	1,032	0,976	1,091
PON1	0,001	0,196	1,001	1,000	1,002

U Tabeli 28 prikazan je Model 7 gde su tradicionalnim parametrima dodati rezistin i MCP-1, pri čemu su oba parametra pokazala statistički značajnu prediktivnu vrednost ($p=0,003$; $p=0,016$) u multivarijantnom modelu.

Tabela 28. Model 7

Nezavisna varijabla	B	p	OR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Starost	0,090	0,156	1,095	0,966	1,240
ITM	0,072	0,294	1,074	0,940	1,228
PIGF	-0,012	0,511	0,988	0,952	1,025
MPAiut	-0,946	0,132	0,388	0,113	1,328
MAP	0,059	0,083	1,061	0,992	1,135
Rezistin	0,106	0,003	1,112	1,037	1,193
MCP-1	0,006	0,016	1,006	1,001	1,011

U Tabeli 29 prikazan je Model 8 gde su tradicionalnim parametrima dodati rezistin i mokraćna kiselina, pri čemu su oba parametra pokazala statistički značajnu prediktivnu vrednost u multivarijantnom modelu ($p=0,003$ i $p=0,038$).

Tabela 29. Model 8

Nezavisna varijabla	B	p	OR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Starost	0,079	0,208	1,082	0,957	1,223
ITM	0,053	0,480	1,055	0,910	1,223
PIGF	-0,009	0,646	0,991	0,956	1,028
MPAiut	-0,751	0,207	0,472	0,147	1,513
MAP	0,032	0,325	1,032	0,969	1,099
Rezistin	0,104	0,003	1,109	1,036	1,188
Mokraćna kiselina	0,020	0,038	1,020	1,001	1,040

U Tabeli 30 prikazan je Model 9 gde su tradicionalnim parametrima dodati mokraćna kiselina i MCP-1. Ovi parametri su takođe pokazali značajnu prediktivnu vrednost u multivarijantnom modelu ($p=0,041$ i $p=0,018$).

Tabela 30. Model 9

Nezavisna varijabla	B	p	OR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Starost	0,102	0,088	1,108	0,985	1,246
ITM	-0,021	0,790	0,979	0,840	1,142
PIGF	-0,004	0,839	0,996	0,961	1,033
MPAiut	-1,113	0,061	0,329	0,102	1,055
MAP	0,045	0,154	1,046	0,983	1,113
Mokraćna kiselina	0,020	0,041	1,020	1,001	1,039
MCP-1	0,006	0,018	1,006	1,001	1,010

U Tabeli 31 prikazan je Model 10 gde su tradicionalnim parametrima dodati rezistin, mokraćna kiselina i MCP-1. Prilikom kombinacije ovih parametara, rezistin je ostao statistički značajan predictor ($p=0,005$) kao i MCP-1 ($p=0,031$), dok se mokraćna kiselina nije pokazala kao statistički značajan prediktor u ovom multivarijantnom modelu ($p=0,083$).

Tabela 31. Model 10

Nezavisna varijabla	B	p	OR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Starost	0,091	0,166	1,095	0,963	1,246
ITM	0,002	0,979	1,002	0,847	1,186
PIGF	-0,006	0,757	0,994	0,958	1,032
MPAiut	-1,060	0,107	0,346	0,095	1,259
MAP	0,045	0,194	1,046	0,997	1,121
Rezistin	0,101	0,005	1,106	1,031	1,187
MCP-1	0,006	0,031	1,006	1,001	1,011
Mokraćna kiselina	0,019	0,083	1,019	0,998	1,040

U Tabeli 32 prikazana je procena dijagnostičke tačnosti ispitivanih modela izražena preko AUC vrednosti. Rezultati ROC analize (Grafik 1) su pokazali da osim Modela 4 koji ima zadovoljavajuću dijagnostičku tačnost, svi ostali ispitivani modeli imaju dobru dijagnostičku tačnost.

Tabela 32. Rezultati ROC analize koja razdvaja preeklampsiju od visokorizične trudnoće

Model	AUC	95%CI	SE	p-vrednost
Model 2	0,826	0,731 - 0,898	0,056	<0,001
Model 3	0,801	0,691 – 0,911	0,056	<0,001
Model 4	0,794	0,687 – 0,900	0,054	<0,001
Model 7	0,849	0,733 – 0,964	0,059	<0,001
Model 8	0,860	0,722 – 0,948	0,045	<0,001
Model 9	0,820	0,712 – 0,928	0,055	<0,001
Model 10	0,868	0,768 – 0,968	0,056	<0,001

Model 2: Starost, ITM, PlGF, MPaiUt, MAP, Rezistin

Model 3: Starost, ITM, PlGF, MPaiUt, MAP, MCP-1

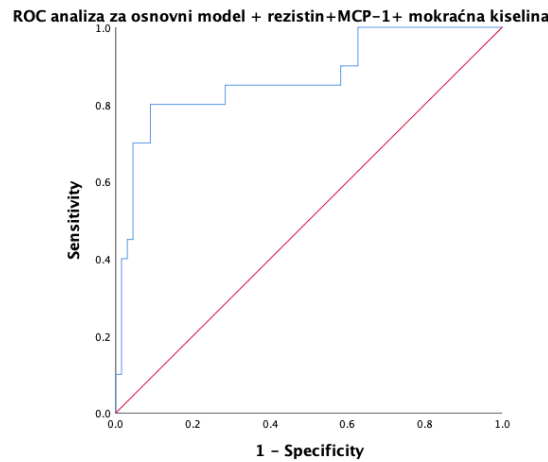
Model 4: Starost, ITM, PlGF, MPaiUt, MAP, Mokraćna kiselina

Model 7: Starost, ITM, PlGF, MPaiUt, MAP, Rezistin, MCP-1

Model 8: Starost, ITM, PlGF, MPaiUt, MAP, Rezistin, Mokraćna kiselina

Model 9: Starost, ITM, PlGF, MPaiUt, MAP, Mokraćna kiselina, MCP-1

Model 10: Starost, ITM, PlGF, MPaiUt, MAP, Rezistin, MCP-1, Mokraćna kiselina



Grafik 1: ROC analiza za Model 10

Sledeći korak u ovoj studiji bio je poređenje dijagnostičkih tačnosti ispitivanih modela. Rezultati analize su pokazali da ne postoji statistički značajna razlika u dijagnostičkoj tačnosti ispitivanih modela (Tabela 33). Rezultati naše studije ukazuju da određivanjem inflamatornih markera dolazi do poboljšanja tačnosti modela za procenu rizika za razvoj PE. Za našu ispitivanu populaciju, naš **Model 10** se pokazao kao najbolji. Poređenjem AUC vrednosti naših modela sa različitim inflamatornim markerima, ne dobija se statistički značajna razlika među modelima, što znaci da ubacivanjem nekog od novih specifičnih markera inflamacije u osnovni model predikcije, ne dolazi do statistički značajnije boljeg razdvajanja, odnosno procene rizika trudnica koje su u riziku da razviju PE u odnosu na one koje neće razviti PE (Tabela 33).

Tabela 33. Poređenje AUC vrednosti modela

Poređenje modela	AUC	AUC	P
Model 2: Model 3	0,826	0,801	0,693
Model 2: Model 4	0,826	0,794	0,593
Model 2: Model 7	0,826	0,849	0,354
Model 2: Model 8	0,826	0,860	0,243
Model 2: Model 9	0,826	0,820	0,978
Model 2: Model 10	0,826	0,868	0,159
Model 3: Model 4	0,801	0,794	0,752
Model 3: Model 7	0,801	0,849	0,260
Model 3: Model 8	0,801	0,860	0,245
Model 3: Model 9	0,801	0,820	0,478
Model 3: Model 10	0,801	0,868	0,091
Model 4: Model 7	0,794	0,849	0,339
Model 4: Model 8	0,794	0,860	0,153
Model 4: Model 9	0,794	0,820	0,292
Model 4: Model 10	0,794	0,868	0,119
Model 7: Model 8	0,849	0,860	0,813
Model 7: Model 9	0,849	0,820	0,545
Model 7: Model 10	0,849	0,868	0,334
Model 8: Model 9	0,860	0,820	0,382
Model 8: Model 10	0,860	0,868	0,539
Model 9: Model 10	0,820	0,868	0,179

AUC vrednosti poredene DeLong testom (MedCalc, 1988)

DISKUSIJA

Ova studija je dizajnirana kao longitudinalna, u kojoj su analizirani antropometrijski, biohemijski i hematološki parametri od početka trudnoće do pred porođaj. Pratili smo koncentracije inflamatornih markera, kao i kvalitativne i kvantitativne karakteristike HDL čestica u visokorizičnim trudnoćama sa posebnim osvrtom na PE. Takođe, studija uključuje razvoj modela za procenu rizika za razvoj PE i verifikaciju njihove kliničke tačnosti. Trudnice koje su, na osnovu NICE kriterijuma, bile u riziku da razviju PE, uključene su u studiju [211]. Prilikom prve posete, procenjen je individualni rizik i napravljen plan za dalje praćenje i preglede. Od ukupnog broja ispitanica ($n=91$) 20 je razvilo PE, odnosno 22%, što odgovara podacima globalne incidencije hipertenzivnih poremećaja u trudnoći [35]. Prema najnovijim istraživanjima, globalna incidencija hipertenzivnih poremećaja u trudnoći kreće se u rasponu od 4% do 25%, dok je incidencija PE oko 4,6%. Ova incidencija varira u zavisnosti od regiona i veća je u zemljama u razvoju. Zabrinjavajuće je to što se incidencija povećava svake godine, čak i u razvijenim zemljama [220].

Procenat žena koje nisu imale aktivan pušački status, kao i žena koje su koristile vitaminsku suplementaciju, nije bio statistički značajno različit između PE i VRT trudnica (Tabela 1). Rezultati naše studije pokazali su da je ITM pre trudnoće bio statistički značajno viši u grupi trudnica koje su razvile PE (Tabela 1). Visok ITM pre trudnoće, naročito gojaznost, povećavaju rizik za razvoj PE što su potvrdili rezultati brojnih studija [221]. Smatra se da je visok ITM udružen sa razvojem metaboličkog sindroma, koji se karakteriše insulinskom rezistencijom, povećanim koncentracijama triglicerida, nižim koncentracijama HDL-C i blagom inflamacijom [222]. Ove promene imaju za posledicu narušavanje metaboličke i inflamatorne homeostaze, koje su neophodne za fiziološki tok trudnoće [222]. Daljom analizom podataka u obe ispitivane grupe trudnica, uočen je statistički značajni porast ITM-a kako je trudnoća napredovala, što je bio i očekivani rezultat (Tabela 2). Posmatrajući razliku između dve ispitivane grupe u krvnom pritisku, dobili smo statistički značajno povišene vrednosti SBP, DBP kao i MAP-a kod PE grupe, što je u skladu sa osnovnim karakteristikama PE [15].

Analizom biohemijskih parametara kod trudnica koje su u riziku da razviju PE, koncentracije proteina su bile u padu tokom cele trudnoće, kod svih trudnica, što je očekivano usled efekta hemodilucije [223]. U fiziološkoj trudnoći očekuje se anemija i pad koncentracije gvožđa, što su naši

rezultati i potvrdili (Tabela 4). Koncentracija glukoze u celoj grupi nije se značajno menjala tokom trudnoće, ali poređenjem biohemijskih parametara između dve ispitivane grupe, ustanovljeno je da je kod trudnica sa PE glukoza u drugom trimestru bila značajno viša u odnosu na VRT grupu (Tabela 5). Ovo je u skladu sa konačnim ishodom trudnoća u ispitivanim grupama, pri čemu je čak 30% trudnica sa PE razvilo i GDM (Tabela 1). GDM i PE dele zajedničke faktore rizika, uključujući gojaznost, prekomereno povećanje gestacijske težine i starost majke. Studija sprovedena u Nemačkoj [224] pokazala je da žene sa GDM imaju povećan rizik za razvoj PE, što je u skladu sa rezultatima istraživanja iz Kanade [225].

Koncentracija ureje u celoj grupi ispitanica nije se značajno menjala tokom trudnoće (Tabela 4), ali poređenjem između grupa pred porođaj, bila je statistički značajno viša u PE grupi u odnosu na VRT grupu (Tabela 5). Smatra se da je u PE brzina glomerularne filtracije smanjena, što utiče na porast koncentracije ureje kod ovih trudnica, za razliku od fiziološke trudnoće, kada je brzina filtracije povećana usled vazodilatacije bubrežnih arterija [226].

Naši rezultati su u skladu sa rezultatima studije, koja je pokazala da je nivo ureje u serumu značajno povećan kod trudnica koje su razvile PE u odnosu na trudnice sa fiziološkom trudnoćom. Takođe, rezultati iste studije su pokazali da nivo kreatinina u serumu trudnica sa PE nije bio značajno povećan u odnosu na trudnice sa fiziološkom trudnoćom, što se slaže sa rezultatima naše studije. (Tabela 5) [227].

Hematološki parametri kod svih trudnica značajno su se menjali tokom trudnoće. Dobili smo statistički značajan porast u ukupnom broju leukocita, kao i pad u broju eritrocita i trombocita u drugom trimestru u odnosu na prvi, a ovaj trend se nastavio do pred porođaj (Tabela 6). Ovo je očekivan rezultat, obzirom da su brojne studije prikazale korelaciju visokih leukocita, niskih eritrocita i trombocita sa incidencom razvoja PE [228].

PE često dovodi do povišenog hematokrita, što ukazuje na veću koncentraciju eritrocita zbog smanjenog volumena plazme. Vrednost hematokrita iznad normalnog opsega (tipično 36%-44% za žene koje nisu trudne) može biti znak PE [229]. U teškim slučajevima, broj eritrocita može biti niži nego kod normotenzivnih trudnoća, što odražava složenu interakciju dinamike volumena plazme i potencijalne hemolize. Trudnice sa PE često imaju povišen broj leukocita, sa vrednostima koje su obično veće od onih koje se nalaze u normotenzivnim trudnoćama. Povećanje iznad $10 \times 10^9/L$ posebno je primećeno kao faktor rizika za kasnu PE [230]. Osim toga, PE može dovesti do smanjenja broja trombocita, što je

kritičan marker za procenu težine stanja, a izrazito niski trombociti mogu ukazivati na tešku PE ili HELLP sindrom [230].

Daljim poređenjem vrednosti hematoloških parametara između dve ispitivane grupe dobili smo u prvom trimestru značajnu razliku u vrednostima hematokrita, MCV-a i trombocita, pri čemu su PE trudnice imale više vrednosti u odnosu na VRT grupu za sve navedene parametre (Tabela 7). U drugom i trećem trimestru, kao i pred porođaj, trombociti su bili značajno viši u PE grupi u odnosu na VRT grupu. Povišen broj trombocita kod PE grupe je neočekivan, s obzirom na to da su niski trombociti jedan od osnovnih karakteristika kliničke slike PE. Poznato je da trudnoća dovodi do prokoagulantnog stanja i smanjuje nivo antikoagulanata u organizmu. [231]. Kod PE može doći do povećanog stvaranja trombocita, što je posledica kompenzatornog mehanizma izazvanog povećanom aktivacijom i trošenjem trombocita [231].

Meta analiza koja je obuhvatila oko 200.000 trudnica sa PE pokazala je da je u trudnoći sa PE došlo do značajnog povećanja faktora aktivacije trombocita, dok nije primećena povećana agregacija trombocita [232]. Kako do sada nijedna studija nije ispitivala stepen adhezije trombocita, smatramo da bi dalja istraživanja trebalo, između ostalog, da se fokusiraju na ispitivanje funkcije trombocita u PE, posebno na adheziju trombocita [232]. Ovo je takođe važno zbog činjenice da su porodilje sa PE u većem riziku od razvoja komplikacija koje se javljaju nakon trudnoće, kao što su hipertenzija, ishemijska bolest srca, moždani udar i venska tromboembolija [183].

Upoređivali smo osnovne kliničko-biohemijske parametre koji se tradicionalno koriste u proceni rizika za nastanak PE između dve grupe trudnica u prvom trimestru. Neravnoteža u faktorima oslobođenim iz placente i endotela majke (sFlt-1 i PlGF) povezana je sa početkom razvoja PE [233]. Iako su brojne studije pokazale da su ovi parametri efikasni u predviđanju ranog razvoja PE, rezultati naše studije nisu pokazali značajne razlike između ispitivanih grupa (Tabela 8). Ovakav rezultat može se objasniti činjenicom da se angiogeni i antiangiogeni faktori dovode u vezu sa patogeneзом rane PE, dok je predmet ovog istraživanja bila kasna PE [234].

U našoj studiji, nivoi PlGF-a bili su niži u VRT grupi u odnosu na PE grupu, ali ove razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 8). Uprkos trenutnim dokazima koji sugerišu PlGF kao snažan prediktor, posebno kada se kombinuje sa sFlt-1, u ovoj studiji to nije potvrđeno. Kao i kod PlGF-a, sFlt-1 samostalno možda nije pouzdan prediktor u ovoj populaciji, iako je njegova kombinacija sa PlGF-om smatrana efikasnom u drugim studijama. Odnos sFlt-1 i PlGF smatra se jednim od najboljih trenutnih

prediktora PE. Međutim, u ovoj studiji nije bilo značajne razlike u ovom odnosu između grupa na početku trudnoće.

Kliničkim istraživanjima se došlo do zaključka da odnos sFlt-1/PlGF iznad 38 može ukazivati na veći rizik od PE, ali njegova pozitivna prediktivna vrednost je relativno niska, oko 36,7% za dijagnostikovanje PE u roku od četiri nedelje. To znači da mnoge žene sa povišenim odnosom neće zaista razviti ovo stanje [235]. Na taj odnos mogu uticati i druga stanja povezana sa trudnoćom, kao što je akutna masna jetra u trudnoći, što može dovesti do povišenih nivoa sFlt-1 nezavisno od PE, što komplikuje tumačenje rezultata [235]. Osim toga, postoji potreba za ponovljenim merenjima, jer pojedinačna merenja možda neće dati potpunu sliku, a promene u odnosu sFlt-1/PlGF tokom vremena mogu biti informativnije u pogledu rizika od razvoja PE. Prediktivna vrednost sFlt-1/PlGF odnosa je prvenstveno ispitivana za žene između 20 i 36 nedelja gestacije, ograničavajući njegovu primenljivost van ovog gestacijskog raspona [235]. Ovi parametri ne bi trebali da zamene standardne dijagnostičke pristupe za PE. Još jedan ograničavajući faktor predstavlja varijabilnost ovih parametara u zavisnosti od populacije, što može uticati na njihovu generalizaciju i pouzdanost [236].

Veliki broj istraživanja poslednjih decenija značajno je rasvetlio patofiziološke mehanizme PE. PE podrazumeva hroničnu aktivaciju imunog sistema majke, koja se manifestuje povišenim nivoom proinflammatoryh citokina uz smanjenje mogućnosti imunoregulacije usled produženog inflamatornog odgovora [117]. Rezultati velikog broja studija ukazuju na povećanje koncentracije različitih markera inflamacije u PE i naglašavaju značaj dodatnog ispitivanja ovih parametara u cilju bolje kliničke i laboratorijske evaluacije trudnica sa rizikom za razvoj ove komplikacije trudnoće. Takođe, potrebno je dalje istraživanje kako bi se otkrili specifični mehanizmi putem kojih inflamatorni markeri doprinose patogenezi PE, a time i identifikovale potencijalne terapijske mete. Identifikacija specifičnih markera povezanih sa razvojem PE može doprineti razvoju novih dijagnostičkih alata i preventivnih mera.

Rezultati ove studije pokazali su da postoje značajne razlike u koncentracijama inflamatornih markera između trudnica sa rizikom koje su razvile PE i onih koje nisu. Trudnice sa PE imale su povišene koncentracije hsCRP, mokraćne kiseline, rezistina, MCP-1 tokom sva četiri merenja u trudnoći (Tabela 10). Ovi nalazi ukazuju da inflamacija igra ključnu ulogu u patogenezi PE i da se njeni markeri mogu koristiti za procenu rizika.

Studija Sayyed i saradnika [237] je pokazala da je koncentracija hsCRP-a značajno veća kod trudnica sa PE u odnosu na fiziološku trudnoću, kao i da stepen povećanja korelira sa težinom kliničke

slike PE. Rezultati studije Hamedeh i saradnika [222] ukazali su da vrednosti hsCRP-a veće od 15 mg/L kod trudnica zahtevaju uvođenje terapije aspirinom u cilju sprečavanja razvoja PE. Sve ispitanice su imale slične vrednosti koje se nisu menjale tokom trudnoće, što je i očekivano, s obzirom na to da su sve bile u riziku od razvoja PE. Poređenjem grupa, trudnice koje su razvile PE imale su više koncentracije hsCRP u odnosu na VRT grupu, ali bez statističke značajnosti, što se slaže sa rezultatima prethodnih istraživanja.

U fiziološkoj trudnoći, nivo mokraćne kiseline se snižava i do 35% usled hemodilucije, povećanog protoka krvi kroz bubrege i povišenog stepena glomerularne filtracije, da bi kasnije u trudnoći nivo rastao kao posledica fetalne produkcije, smanjenog stepena vezivanja za albumin i smanjenog klirensa [238]. U PE, porast koncentracije mokraćne kiseline nastaje usled smanjene ekskrecije i javlja se pre proteinurije [239,240]. Corominas i saradnici [240] smatraju da mokraćna kiselina, usled interakcije sa proinflamatornim citokinima, učestvuje u patogenezi PE i intenzivira process inflamacije. Studija Mulle i saradnika [241] pokazala je da porast nivoa mokraćne kiseline nakon 20. nedelje može imati dijagnostički potencijal. Naime, ovi autori smatraju da povećanje koncentracije mokraćne kiseline koje je manje od gornje granice referentnog intervala pomnoženog sa 1,5 predstavlja kriterijum kojim se kod trudnice može isključiti PE [242]. Praćenje mokraćne kiseline u prvom trimestru nema prediktivni značaj, ali u drugom i trećem trimestru pomaže u selektovanju trudnica koje nisu u riziku za razvoj PE i one kojima je neophodan dalji monitoring [243].

Rezultati naše studije pokazali su statistički značajan porast u koncentraciji mokraćne kiseline tokom cele trudnoće kod svih trudnica (Tabela 10). Poređenjem vrednosti između dve grupe ispitanica, dobili smo statistički značajnu razliku u svim trimestrima, kao i pred porođaj (Tabela 11). Trudnice koje su razvile PE imale su više koncentracije mokraćne kiseline u odnosu na VRT grupu, što potvrđuje hipoteze prethodnih istraživanja da je mokraćna kiselina dobar prognostički marker za razvoj PE.

Aktivnost LDH je nespecifičan parametar inflamacije i kao takav nema značaja u proceni rizika za razvoj PE. Međutim, rezultati nekih studija ukazali su da je aktivnost LDH u pozitivnoj korelaciji sa težinom kliničke slike PE [244]. Takođe, rezultati studije Qublan i saradnika [245] pokazali su da se visoke vrednosti LDH mogu dovesti u vezu sa nižom telesnom masom novorođenčadi. Osim toga, vrednosti LDH iznad 800IU/L koreliraju sa brojnim komplikacijama koje prate PE, kao što su eklampsija i abrupcija placente [254], dok vrednosti preko 1400IU/L ukazuju na postojanje rizika za letalni ishod

kod majke [246]. Naši rezultati nisu pokazali značajan porast koncentracija LDH u celoj grupi trudnica, a pređenjem grupa nismo dobili statistički značajnu razliku u koncentracijama LDH (Tabela 10 i 11).

Određivanje odnosa hematoloških markera predstavlja nov pristup u proceni inflamatornog stanja pacijenata. Odnos trombocita i limfocita (PLR) specifičnije opisuje promene u broju trombocita i limfocita usled akutnih inflamatornih i protrombotičkih stanja. Vrednost PLR kao inflamatornog markera povećava se kada se njegove promene u vrednosti tumače zajedno sa drugim komplementarnim hematološkim indeksima, posebno odnosom neutrofila i limfocita (NLR), koji daje dodatne informacije o aktivnosti bolesti, prisustvu neutrofilne inflamacije i infektivnim komplikacijama. Studije koje su ispitivale ove markere u PE ukazale su da su ovi parametri povišeni u PE u poređenju sa fiziološkom trudnoćom, dok je studija koju su sprovedli Sitotaw i saradnici pokazala da ovi markeri koreliraju sa stepenom težine kliničke slike u PE kao i sa konačnim ishodom [247].

Odnos limfocita i monocita (LMR) je hematološki indeks koji odražava ravnotežu između imunološkog odgovora i inflamatornih procesa u telu. Kod PE često postoji značajna promena u profilima imunih ćelija, uključujući limfocite i monocite. Rezultati prethodnih studija su pokazali da na LMR može uticati težina PE, pri čemu su niži odnosi primećeni u težim slučajevima u poređenju sa blagim slučajevima PE [248,249]. Razumevanje ovih indeksa u kontekstu PE moglo bi doprineti boljoj stratifikaciji rizika i razvoju strategija praćenja trudnica koje su u riziku za PE. Ovo bi moglo uključivati rutinsko praćenje hematoloških parametara kao deo prenatalne nege [249].

Naši rezultati su pokazali značajne promene u vrednostima ovih indeksa tokom trudnoće kod svih ispitanica. NLR je statistički značajno rastao do trećeg trimestra, dok su PLR i LMR statistički značajno opadali sve do trećeg trimestra kod svih trudnica (Tabela 11). Poređenjem između ispitivanih grupa, nismo dobili statistički značajnu razliku (Tabela 12). Glavna ograničenja studija koje su ispitivale ove parametre su preanalitičke greške, neadekvatna standardizacija laboratorijskih merenja i neodgovarajući izbor ispitanika. Pored toga, hematološki paramteri su demografski zavisni od rase, ishrane, geografskog položaja [250]. Meta analiza ovih parametara je istakla njihovu korisnu upotrebu u određivanju stepena težine kliničke slike kod PE [251].

Rezistin je marker inflamacije koji je slabo je ispitivan u patologijama trudnoće. Dokazano je da su koncentracije rezistina povišene u fiziološkoj trudnoći u odnosu na negravidno stanje usled povećane produkcije iz placente [252]. Osim toga, trudnoća je inflamatorno stanje koje je prati porast masnog

tkiva, koje u velikoj meri produkuje rezistin [252]. Međutim studija Y Song-a i saradnika [253] je pokazala da u PE placenta i adipozno tkivo nisu glavni izvor produkcije rezistina, već se smatra da je rezistin povišen usled aktivacije monocita. Rezultati studija koje su proučavale promenu koncentracije rezistina tokom trudnoće nisu konzistentni. Chen i saradnici [253] su uočili porast koncentracije rezistina u trećem trimestru fizioloških trudnoća, dok je kod trudnica koje su razvile PE porast uočen već u drugom trimestru. Naša studija je jedina koja je pratila promene koncentracije rezistina tokom visokorizičnih trudnoća, a naši rezultati pokazuju da se kod trudnica sa PE beleži porast koncentracije rezistina već u prvom trimestru i to pre kliničkih znakova PE (Tabela 14). Slično našim rezultatima i studija Seola i saradnika [254] pokazala je da su povišene vrednosti rezistina između 11. i 13-te nedelje gestacije udružene sa razvojem PE.

S obzirom na to da su naše ispitanice bile u riziku za razvoj PE, već posle prvog trimestra su imale porast vrednosti serumskog rezistina. Ova statistički značajna razlika u nivoima rezistina između prvog i drugog trimestra navela nas je da ispitamo da li postoji porast koncentracije rezistina u trudnoći sa rizikom od razvoja PE, odvojeno od trudnica koje su razvile PE. Rezultati naše studije su pokazali da je došlo do povećanja nivoa rezistina u drugom trimestru u obe grupe, ali je samo povećanje u VRT grupi trudnica bilo statistički značajno (Tabela 13). U ovoj grupi nivo rezistina nakon drugog trimestra održava se na sličnom nivou do kraja trudnoće (Tabela 13). Povećanje koncentracije rezistina u drugom trimestru u grupi sa PE nije bilo statistički značajno, iako su same koncentracije dostigle sličan nivo kao u trudnoći sa rizikom za razvoj PE, što ukazuje da je nivo rezistina bio visok već na početku trudnoće. Dalje, ispitali smo da li je ova visoka koncentracija rezistina u prvom trimestru trudnoće u serumu trudnica kod kojih je razvijena PE statistički različita od one u trudnoći sa rizikom za razvoj PE. Potvrdili smo naše pretpostavke, nivo rezistina je bio značajno viši na samom početku trudnoće kod žena koje su razvile PE u odnosu na grupu sa rizikom za razvoj PE (Tabela 14). Naši rezultati ukazuju na to da povećane koncentracije rezistina u prvom trimestru trudnoće mogu biti indikator povećanog rizika za razvoj PE. Slično našoj studiji, Nanda i saradnici su pokazali da je povišen serumski rezistin u prvom trimestru povezan sa povećanim rizikom od razvoja PE [255]. Takođe su pokazali da se povišeni nivoi koncentracije rezistina javljaju pre kliničkih manifestacija PE. Ovi rezultati ukazuju na to da je rezistin kao inflamatorni marker uključen u proces patogeneze PE.

MCP-1 je prvenstveno hemotaktični faktor koji privlači i aktivira monocite na mesto inflamacije, indukujući adheziju leukocita na endotelne ćelije i promovišući transendotelnu migraciju [256]. Ekspresija MCP-1 je pokazana u gestacijskim tkivima majke, kao što su decidua i miometrijum, kao i

embrionalnim tkivima, uključujući horion i placentu [257]. Sinteza MCP-1 se povećava tokom fiziološke trudnoće, a još više tokom porođaja, što sugerise da MCP-1 može igrati ulogu sve značajniju ulogu kako trudnoća odmiče, lokalno modulišući imuni sistem na nivou perifernih leukocita [258]. Glavni izvor MCP-1 su monociti i makrofage. Dokazana je uloga MCP-1 u razvoju Th2 ćelija i aktivaciji promotora IL-4 gena [259]. Rezultati studije koju su sprovedi Katabuchi i saradnici [260] sugerisu da je u PE nivo MCP-1 povišen, jer ga dodatno proizvode makrofage koji se infiltriraju u endotel krvnih sudova. Nekoliko studija je pokazalo da MCP-1 protein utiče na polarizaciju makrofaga i njihovo preusmeravanje ka M1 tipu, koji je proinflamatoran, u odnosu na M2, koji otpušta antiinflamatorne citokine [261]. Kod trudnica sa PE, uočeno je dominantno prisustvo M1 tipa makrofaga, što ukazuje na ulogu MCP-1 proteina u inflamatornim procesima zastupljenim u PE [261]. Zabeležene su povišene koncentracije MCP-1 u prvom trimestru u poređenju sa krajem trudnoće, što sugerise da njegova uloga ima ključnu važnost na početku trudnoće, kada se odvija najveći broj procesa na koje može da utiče (Tabela 14). Pojedini autori smatraju da u procesu implementacije blastociste, MCP-1 može doprineti nedovoljnoj invaziji trofoblasta [263]. Upoređivanjem koncentracija MCP-1 u prvom trimestru između VRT i PE grupe trudnica, naši rezultati su pokazali značajno više koncentracije MCP-1 kod trudnica sa PE u odnosu na VRT grupu, što opravdava njegovo dalje ispitivanje u cilju predikcije rizika za razvoj PE. Rezultati studije su pokazali da je kod PE trudnica koncentracija MCP-1 proteina značajno povišena kao posledica delovanja M1 genotipa makrofaga, koji je takođe, i u ovoj studiji bio dominantniji u odnosu na M2 kod trudnica sa PE [264].

Hb-egf ima bitnu ulogu u trudnoći jer je uključen u proces proliferacije, migracije i invazije ekstraviloznih trofoblastnih ćelija [265,266]. U dostupnoj naučnoj literaturi, Hb-egf se često analizira u vidu ekspresije gena u tkivu placente, pri čemu rezultati istraživanja ukazuju na povećanu koncentraciju Hb-egf u citotrofoblastnim i mezenhimalnim ćelijama, što potvrđuje njegovu ulogu promotora rasta placente [267,268]. Kod trudnica sa PE zabeležene su niske vrednosti ovog proteina u krvi majke [269]. Rezultati naše studije su u skladu sa prethodnim istraživanjima, naime kod većine ispitivanih trudnica, vrednosti Hb-egf bile su ispod vrednosti mernog opsega tokom cele trudnoće (Tabela 14). Međutim, Lala i saradnici [266] smatraju da placentalni doprinos Hb-egf u krvotok majke nije u potpunosti razjašnjen, odnosno da snižena genska ekspresija ne mora nužno da znači da je njegova koncentracija u cirkulaciji snižena. Hb-egf je aktiviran u ranoj fazi trudnoće pod uticajem embriona, što sugerise da blastocista šalje signal ćelijama endometrijuma, kako bi se pripremile za adekvatan razvoj i rast embriona [269]. Od drugog trimestra beleži se porast u koncentraciji sa pikom u trećem trimestru (Tabela 14). Promene u koncentraciji Hb-egf u obe grupe trudnica tokom trudnoće sledile su isti tok.

Studija Charkiewicz i saradnika [270] koja je ispitala trudnice sa PE, dobila je povišene vrednosti Hb-egf u odnosu na zdrave trudnice. Ovi rezultati su neočekivani s obzirom na do sada poznate funkcije Hb-egf, ali ono što je interesantno jeste da je Hb-egf uključen i u procese apoptoze, pa se može uzeti u obzir njegova uloga u procesu apoptoze u PE i objasniti porast koncentracije Hb-egf kod naših ispitanica [271].

SAA je pozitivan reaktant akutne faze čija se sinteza u jetri povećava do 1000 puta u inflamaciji [272]. U cirkulaciji se vezuje u kompleks sa HDL česticama, prevashodno sa HDL 3 lipoproteinom, istiskujući glavni apolipoprotein, ApoA1 [273]. SAA ima ulogu u kontroli i razvoju reakcije akutne faze, koja uključuje modulaciju imunskog odgovora, uticaj na sekreciju različitih citokina, antibakterijsko delovanje i promene u metabolizmu lipida [274]. Osim kod stanja akutne inflamacije, koncentracija SAA je povišena i kod stanja praćenih hroničnom inflamacijom [275]. Uloga SAA u razvoju aterosklerotskih komplikacija obuhvata višestruke mehanizme, kao što su stimulacija hemotakse monocita i neutrofila, stimulacija produkcije proinflamatornih citokina, kao i posredan uticaj na stabilnost aterosklerotskog plaka [275]. Proaterogeni efekti SAA se ostvaruju i kroz modulaciju funkcije HDL čestice. Inkorporacija SAA u HDL smanjuje kapacitet preuzimanja holesterola i antiinflamatornu funkciju ovih lipoproteinskih čestica [275].

Studije koje su sprovedi Kristensen [276] i Mohammed [176] bavile su se proučavanjem uloge SAA u PE i nisu dale konzistentne rezultate. Kristensen je prikazao niže vrednosti SAA kod PE u odnosu na kontrolnu grupu, dok Mohammed nije dobio statistički značajnu razliku između PE i kontrolne grupe. Rezultati naše studije su pokazali porast u koncentraciji SAA od početka trudnoće, sa pikom u trećem trimestru, nakon čega je koncentracija statistički značajno opala pred kraj trudnoće u celoj grupi trudnica (Tabela 13). U VRT grupi koncentracija je pratila isti trend, sa pikom u trećem trimestru i padom vrednosti pred porođaj, sa statistički značajnom razlikom u odnosu na sve ostale tačke određivanja. U PE grupi, koncentracija SAA takođe bila u piku u trećem trimestru, sa padom pred porođaj i značajno nižim vrednostima u odnosu na treći trimester (Tabela 14). Poređenjem između grupa, koncentracije SAA u PE bile su približne ili niže u svakoj tački merenja u odnosu na VRT grupu, ali bez statističke značajnosti (Tabela 14).

Rezultati naše studije se poklapaju sa studijom Kristensena koja je prikazala da trudnice sa PE imaju niže vrednosti SAA u odnosu na zdrave trudnice [276]. Studija koja je dobila više vrednosti SAA kod PE trudnica u odnosu na kontrolne grupe ali bez statističke značajnosti, govori u prilog tome da je PE kao inflamatorni sindrom praćena porastom ovog inflamatornog markera [276]. Takođe, Can i

saradnici [277] su prikazali da visoke vrednosti SAA pozitivno koreliraju sa stepenom težine PE, kao i sa MAP i hsCRP-om. S obzirom na to da kod naših trudnica vrednosti SAA rastu do trećeg trimestra, a zatim naglo padaju pred porođaj, ovo podržava pretpostavku da je SAA marker akutne inflamacije koji ipak ne reaguje istim intenzitetom u slučaju hronične inflamacije.

Najnovije studije daju oprečne rezultate i mišljenja o antioksidativnom kapacitetu HDL čestice usled povišene koncentracije SAA. Iako je pokazano da je antioksidativni kapacitet HDL smanjen u brojnim patološkim stanjima, smatra se da na njega ne utiče SAA. Jaiaraman i saradnici [278] su pokazali da visok nivo SAA na HDL-u zapravo ometa oksidaciju lipoproteina i da blaga oksidacija HDL čestice koja sadrži SAA dovodi do oslobađanja SAA koji ispoljava antioksidativne efekte. Rezultati više studija takođe ukazuju na antioksidativni efekat SAA [279,280]. U inflamatornim stanjima pri povišenim vrednostima SAA, povećana je antioksidativna aktivnost HDL čestice [281,282]. Vezivanjem SAA za HDL česticu u akutnoj inflamaciji, povećava se njegova stabilnost i smanjuje koncentracija slobodnog SAA u cirkulaciji koji ima proinflamatornu aktivnost.

Metabolizam lipida tokom trudnoće karakterišu različite faze, pod uticajem hormonskih fluktuacija i metaboličkih zahteva. U prvom i drugom trimestru trudnoće dolazi do povećanja mase masnog tkiva zbog pojačane lipogeneze i hiperfagije stimulisane hormonima progesteronom i estrogenom. Ova anabolička faza priprema majku za zadovoljavanje energetske potrebe fetusa u razvoju. Povećava se osetljivost na insulin, promovišući sintezu masnih kiselina i povećavajući aktivnost lipoproteinske lipaze (LPL), što olakšava uzimanje masnih kiselina iz cirkulišućih lipoproteina bogatih trigliceridima. Kasna trudnoća je faza koju karakteriše mobilizacija lipida. U trećem trimestru, metabolizam lipida prelazi u kataboličko stanje, gde postoji povećana lipoliza da bi se obezbedilo dovoljno energije za fetus koji raste. Ova faza je obeležena smanjenom sintezom masnih kiselina u masnom tkivu i smanjenom aktivnošću LPL, što dovodi do povišenih nivoa triglicerida u cirkulaciji majke [179]. Kako napreduje trudnoća, razvija se blaga insulinska rezistencija, kao fiziološka adaptacija kako bi se obezbedio stalni tok glukoze prema fetusu. Međutim, nakon toga, insulinska rezistencija i sklonost ka hipoglikemiji dovode do povećane lipolize. To znači da organizam majke koristi više lipide kao izvor energije, dok glukozu i amino kiseline čuva za fetus. Placenta omogućava transport glukoze, aminokiselina i ketonskih tela do fetusa, ali ne i lipida, osim slobodnih masnih kiselina. Ako pankreasna funkcija nije adekvatna tokom trudnoće i ne proizvodi dovoljno insulina, to može dovesti do razvoja gestacijskog dijabetesa (GDM) [179].

Ukupni holesterol i trigliceridi mogu značajno da rastu tokom trudnoće. Trigliceridi mogu da porastu i do četiri puta tokom fiziološke trudnoće, dok je porast holesterola može biti do 50% [183]. Povećanje vrednosti triglicerida u plazmi nastaje usled porasta broja VLDL lipoproteinskih čestica. U trudnoći raste aktivnost CETP-a, pri čemu dolazi do razmene triglicerida za ester holesterola između VLDL i LDL ili HDL čestica, što dovodi do povećanog nakupljanja triglicerida u LDL i HDL česticama [183]. Sa napredovanjem trudnoće, insulinska rezistencija i porast estrogena dovode do hiperlipidemije. U negravidnom stanju, hiperlipidemija podrazumeva porast koncentracije triglicerida, LDL-C i smanjenje HDL-C, pa se ovakav lipidni profil smatra aterogenim. S obzirom na to da fiziološka trudnoća uzrokuje porast koncentracije HDL-C, ovakav lipidni profil se ne može smatrati aterogenim [283]. Placenta ima bitnu ulogu u metabolizmu lipida, pretvarajući cirkulišuće lipide majke u slobodne masne kiseline koje ćelije trofoblasta mogu preuzeti. Ovaj proces podržava energetske potrebe fetusa i doprinosi proizvodnji hormona neophodnih za održavanje trudnoće. Sposobnost placente da reguliše transfer lipida je od vitalnog značaja, posebno u uslovima kao što je PE, gde dislipidemija majke može povećati akumulaciju fetalne masti [284].

Smatra se da dislipidemija ima ključnu ulogu u patogenezi PE, sa značajnim implikacijama na zdravlje majke i fetusa. U većini slučajeva, fiziološke promene u lipidima tokom trudnoće ne zahtevaju specifično lečenje, ali je važno da trudnice imaju redovne kontrole lipidnog profila, posebno ako imaju druge faktore rizika za kardiovaskularne bolesti [284]. Dalja istraživanja su neophodna kako bi se istražili osnovni mehanizmi i potencijalne terapijske intervencije usmerene na metabolizam lipida u PE. Trudnice sa PE obično pokazuju aterogenu dislipidemiju, koju karakterišu povišeni trigliceridi i smanjeni nivoi HDL-C [285]. Kod PE, HDL čestica ima smanjen kapacitet za efluks holesterola, čime se smanjuje njena funkcionalnost. Povećana aktivnost hepatične lipaze i smanjena aktivnost lipoprotein lipaze doprinose povišenim nivoima triglicerida, dok poremećen klirens dovodi do dalje akumulacije lipida. Pored toga, pojačana regulacija gama receptora aktiviranog proliferatorom peroksizoma (PPAR γ) sugerise mehanizam za povećano uzimanje i skladištenje masnih kiselina. Rani i kasni oblici PE povezani su sa budućim kardiovaskularnim rizicima zbog promena u metabolizmu lipida [285].

U našoj studiji zabeležen je konstantan porast u koncentraciji holesterola i triglicerida kod svih trudnica (Tabela 15). Vrednosti su se statistički značajno razlikovale u svakoj tački merenja u odnosu na prethodni trimestar (Tabela 15). Studije koje su upoređivale vrednosti holesterola i triglicerida kod trudnica sa PE u odnosu na zdrave trudnoće takođe su pokazale značajno više vrednosti kod trudnica sa PE [286]. Rezultati meta-analize [287] koja je obuhvatila 22 studije pokazali su da trudnice sa povišenim

trigliceridima u trećem trimestru imaju duplo veći rizik za razvoj PE, a ukoliko se kombinuju sa ITM, godinama majke i paritetom, rizik je i do četiri puta viši u odnosu na trudnice sa nižim vrednostima triglicerida. Takođe je predloženo da se određivanje triglicerida vrši između 28. i 32. nedelje gestacije, kako bi mogli koristiti kao prediktivni marker [288]. Postoje i mišljenja da hipertrigliceridemija može biti direktno uključena u patogenezu hipertenzivnih poremećaja u trudnoći, podstičući smanjenu vaskularizaciju placente, što dovodi do razvoja endotelne disfunkcije [289]. Rezultati naše studije su pokazali da je koncentracija LDL-C u drugom trimestru bila statistički značajno veća u odnosu na prvi trimestar i zadržala je približne vrednosti do kraja trudnoće (Tabela 15). U našoj studiji, sve trudnice su imale zabeležen porast u koncentraciji HDL-C od početka trudnoće do trećeg trimestra, sa značajnom razlikom u drugom trimestru u odnosu na prvi, kao i značajno višim vrednostima u trećem trimestru u odnosu na drugi. Pred kraj trudnoće, koncentracije HDL-C su bile najveće sa značajnom razlikom u odnosu na prvi trimestar (Tabela 15). U skladu sa HDL holesterolom, rasla je i koncentracija ApoA1 lipoproteina, pri čemu su u drugom trimestru vrednosti bile statistički značajno više u odnosu na prvi i ovaj trend se zadržao do kraja trudnoće. ApoA1 je ključan protein u strukturi HDL čestice, a nivoi HDL-C i ApoA1 su korelisani tokom trudnoće, što znači da kako raste nivo HDL-a, tako raste i koncentracija ApoA1. Ovo je indikator da su oba faktora usklađena u cilju poboljšanja kardiovaskularnog zdravlja trudnice. Povećanje HDL-C i ApoA1 tokom trudnoće takođe može doprineti smanjenju rizika od razvoja kardiovaskularnih bolesti u postpartalnom periodu. Ovaj proces je podržan hormonskim promenama, naročito povećanjem estrogena, koji stimuliše sintezu ApoA1. Kao rezultat toga, HDL čestice postaju efikasnije u transportu holesterola iz perifernih krvnih sudova [290].

Daljom analizom ispitivali smo razlike u vrednostima lipidnih parametara između dve ispitivane grupe. Rezultati su pokazali da se vrednosti triglicerida razlikuju kod trudnica koje su razvile PE u odnosu na one koje nisu. Vrednosti triglicerida bile su statistički značajno više već u prvom trimestru, što ukazuje na njihov prediktivni potencijal (Tabela 16). Ove razlike u vrednostima triglicerida nastavile su da se javljaju u svakoj tački merenja. Još jedan razlog zbog čega treba određivati i pratiti nivo triglicerida u toku trudnoće koja je u riziku od PE jeste povećan rizik za kardiovaskularne bolesti (KVB) kasnije nakon trudnoće. Bellamy i saradnici su prikazali da trudnice koje su imale PE imaju povećan rizik za KVB, venski tromboembolizam, infarkt, hipertenziju i smrt [287].

Pri fiziološkim uslovima, endotel kapilara je otporan na adheziju leukocita, ali u prisustvu inflamatornih citokina aktivira se i izbacuje na površinu adhezivne molekule koji privlače monocite. MCP-1 je jedan od ključnih citokina u ovom procesu. Ove procese inhibira HDL čestica zahvaljujući

njenoj jedinstvenoj strukturi i kompoziciji. U stanjima produžene inflamacije, HDL može da iscrpi svoje ateroprotektivne i antiinflamatorne sposobnosti i kao takva postane disfunkcionalna. U prilog tome, studije su pokazale da pacijenti, iako imaju povišene koncentracije HDL-C, imaju KVB [291]. U odgovoru na akutnu inflamaciju, HDL prolazi drastične modifikacije u strukturi i sastavu, pre svega menja se koncentracija ApoA1 i aktivnost PON1 enzima [292]. Takođe, HDL postaje obogaćen oksidovanim fosfolipidima i proinflamatornim proteinima, kao što su SAA i ceruloplazmin. Posledica svega ovoga je smanjena sposobnost HDL čestice da vrši efluks holesterola i sprečava oksidaciju LDL-a [293]. U prilog tome, studije su pokazale da davanje terapije koja je značajno povećava nivo HDL-C u plazmi nije pokazalo poboljšanje kardiovaskularnih komplikacija kod pacijenata. Ove studije ukazuje na to da je kvalitet HDL čestice bitniji od kvantiteta [294].

Rezultati prethodnih studija su pokazali da je koncentracija HDL-C niža u PE u poređenju sa fiziološkom trudnoćom [295]. Istraživanja pokazuju izostanak očekivanog porasta HDL-C u PE, usled izmenjenog metabolizma holesterola, koji se karakteriše povećanom sintezom i smanjenim markerima apsorpsije unutar HDL čestice [295]. Ovo ukazuje na poremećaj u metaboličkim putevima koji regulišu sastav HDL čestice. Ključni proteini povezani sa HDL funkcijom, ApoA-I i LCAT, nalaze se u nižim koncentracijama kod trudnica sa PE. Ovi proteini su neophodni za sazrevanje HDL-a i efluks holesterola, što ukazuje na oštećenu funkcionalnost HDL čestica u ovom stanju. Sposobnost HDL-a da podstiče efluks holesterola iz perifernih tkiva je ugrožena u PE. Ovo oštećenje može doprineti povećanju kardiovaskularnih rizika uočenih posle porođaja [296].

Smanjena aktivnost enzima uključenih u metabolizam HDL, kao što je PON1, dodatno pogoršava ovu disfunkciju. Dislipidemijsko stanje povezano sa PE ne utiče samo na zdravlje majke, već može imati i implikacije na razvoj fetusa. Povišeni nivoi cirkulišućih lipida mogu uticati na funkciju placente i metabolizam lipida fetusa, potencijalno dovodeći do štetnih ishoda [297].

Rezultati naše studije su pokazali da je u VRT grupi zabeležen porast HDL-C krajem prvog i početkom drugog trimestra (Tabela 16), što je u skladu sa rezultatima prethodnih istraživanja koja su pokazala da u fiziološkoj trudnoći krajem prvog trimestra dolazi do porasta koncentracije HDL-C [295]. U PE grupi nije zabeležen porast u koncentraciji HDL-C (Tabela 16). Kako je poznato da HDL ima ateroprotektivne funkcije i kako se više koncentracija HDL-C tradicionalno povezuju sa manjim rizikom za razvoj kardiometaboličkih bolesti, povećanje koncentracije HDL-C tokom trudnoće se može smatrati specifičnom karakteristikom dislipidemije u trudnoći koja je ne čini aterogenom [295]. Promene u

metabolizmu lipida u PE, koje dovode do povišenih vrednosti triglicerida i nedovoljnog povećanja koncentracije HDL-C mogu imati ulogu u razvoju endotelne disfunkcije u PE [295]. Ispitivanje strukture i funkcije HDL čestica u proceni rizika od kardiovaskularnih bolesti je detaljno proučavana poslednjih godina, ali postoje veoma ograničeni podaci o HDL česticama u PE. HDL čestice pokazuju raznolikost u svojoj strukturi, sastavu i funkcionalnosti, uključujući njihove različite uloge u transportu lipida, antioksidativnom kapacitetu, antiinflamatornim karakteristikama i hemostazi [298]. Kako HDL pospešuje reparaciju endotela kroz inhibiciju inflamacije i stvaranje slobodnih radikala, smatra se da HDL čestica deluje kao modifikator na uzročnom putu do PE.

Prethodna istraživanja su pokazala da je određivanje sastava i funkcionalnosti HDL superiornije u odnosu na jednostavno merenje nivoa HDL-C za procenu kardiovaskularnog rizika [299]. Kontush [300] je istakao važnost određivanja dominantnog HDL dijametra i profila distribucije HDL čestica za poboljšanje predviđanja kardiovaskularnog rizika. Opšte je prihvaćeno da je u stanjima hipertrigliceridemije, kao što je PE, smanjena veličina HDL čestica povezana sa povećanim rizikom za razvoj KVB [301]. Naime, pokazano je da povišena aktivnost CETP u stanjima hipertrigliceridemije izaziva obogaćivanje HDL čestica trigliceridima, koje posle hidrolize, postaju manjeg dijametra i manje efikasne u pogledu kardiovaskularne zaštite [302]. U skladu sa prethodnim, veći udeo malih HDL 3 čestica u uslovima povezanim sa visokim kardiovaskularnim rizikom je posledica strukturne i funkcionalne modifikacije HDL 2 čestica, pre nego posledica većeg udela malih HDL 3 čestica bogatih proteinima.

Rezultati naše studije nisu pokazali značajnu promenu u dominantnom HDL dijametru u celoj grupi trudnica (Tabela 17). Otkrili smo da se tokom VRT, relativni udeo velikih HDL 2b čestica značajno povećava u drugom trimestru i ostaje visok do porođaja (Tabela 18). Ovo povećanje velikih HDL 2b čestica može biti posledica hiperlipidemije, hormonskog uticaja, pogotovo estrogena, kao kompenzatorni mehanizam koji ima ulogu da zaštiti trudnicu od komplikacija u trudnoći [301]. Aktivnost PON1 enzima koji je prisutan u HDL česticama igra ključnu ulogu u zaštiti od oksidativnog stresa i ateroskleroze i može biti povezana sa promenama u HDL česticama, uključujući povećanje aktivnosti u prisustvu visokih koncentracija triglicerida. Neki istraživači su pokazali da povećanje triglicerida može biti povezano sa povećanom aktivnošću PON1, kao adaptivni odgovor organizma. Dakle, kada HDL 2b čestice postanu bogate trigliceridima, PON1 aktivnost može biti povećana, jer enzim pokušava da neutralizuje oksidativne supstance.

Sulaiman i saradnici i [303] zneli su interesantnu hipotezu prema kojoj se pojačana sinteza novih HDL čestica javlja kao kompenzacioni mehanizam koji ima za cilj da zaštiti funkciju vaskularnog endotela u fiziološkoj trudnoći. U svetlu ovog zapažanja, mogli bismo spekulirati da bi se uočeno povećanje malih HDL 3 čestica u studijama koje su se bavile ispitivanjem fiziološke trudnoće moglo objasniti kao *de novo* sinteza HDL čestica koje su male, bogate proteinima i imaju veći potencijal za reverzni transport holesterola i veću ateroprotektivnu funkciju. U VRT grupi ovaj adaptivni mehanizam nije primećen, što takođe može da objasni činjenicu da skoro polovinu ovih trudnoća karakteriše razvoj nekih komplikacija.

Rezultati našeg prethodnog istraživanja su pokazali da se tokom nekomplikovane trudnoće proporcije manjih, gušćih HDL 3b i 3c čestica, značajno povećavaju, što je praćeno smanjenjem udela HDL 2a subklase [302]. Slično tome, Alvarez i saradnici [304] prikazali su smanjenje HDL 2a i povećanje HDL 3c subklasa u trećem trimestru, dok istraživanje Silliman i saradnika [305] ukazuje na to da u fiziološkim trudnoćama dolazi do povećanja velikih HDL 2 čestica. Remodeliranje HDL čestica tokom trudnoće je objašnjeno kao pomeranje subklasa ka manjim, gušćim, trigliceridima bogatim i manje potentnim česticama u smislu ateroprotekcije [306]. Posmatrajući PE grupu, naši rezultati su pokazali smanjen udeo HDL 3a subklase u drugom trimetru u odnosu na prvi trimestar i do kraja trudnoće su zadržali sličnu vrednost (Tabela 18). Poređenjem između grupa, jedino se udeo HDL 2a subklase pokazao statistički značajno niži u PE grupi u poređenju sa VRT grupom u trećem trimestru. Obzirom da se u VRT grupi udeo HDL 2a značajno smanjivao od početka trudnoće, u PE grupi je smanjenje ove subklase još izraženije, što ukazuje na smanjen kapacitet HDL čestice kao ateroprotektivne.

PON1 je esteraza povezana sa HDL-om koja metaboliše oksidovane lipide unutar LDL čestica, a niže aktivnosti PON1 su povezane sa većim rizikom za razvoj KVB [307]. Takođe, PON-1 određuje kapacitet HDL-a da stimuliše proizvodnju NO i da omogući vazodilataciju. Rezultati studija koje su pratile PON1 aktivnost u trudnoći su nekonzistentni, ali je opšte prihvaćeno da se aktivnost PON1 povećava tokom trudnoće, kao dodatni adaptivni mehanizam u uslovima povećanog formiranja slobodnih radikala, što je karakteristično za trudnoću [308]. Rezultati naše studije su pokazali porast u aktivnosti PON1 enzima od početka do kraja trudnoće kod svih trudnica (Tabela 19). Posmatrajući VRT grupu, ovaj porast u trećem trimestru u odnosu na prvi je bio statistički značajan, dok se kod PE grupe zabeležio blagi porast u aktivnosti PON1 u trećem trimestru u odnosu na prvi, ali bez statističke značajnosti (Tabela 20). Ono što je interesantno jeste da je već u prvom trimestru, poređenjem PON1 aktivnosti između PE grupe i VRT grupe, aktivnost ovog enzima je bila značajno veća kod PE (Tabela

20). Literaturni podaci koji se bave ispitivanjem PON1 u PE uglavnom se odnose na PON1 aktivnosti poređene između zdravih trudnica i trudnica sa PE u vreme postavljanja dijagnoze, kada je stepen oksidativnog stresa veliki a markeri antioksidativne zaštite istrošeni. Rezultati studija su uglavnom pokazali da je PON1 aktivnost snižena kod trudnica sa PE, uz objašnjenje da smanjeni antioksidativni kapacitet i povećana peroksidacija lipida mogu da podstaknu oštećenje vaskularnog endotela i biti faktor koji doprinosi razvoju preeklampsije. Oni su pretpostavili da je aktivnost PON 1 bila niža u ranoj fazi trudnoće koja je kasnije razvila PE, pokazujući smanjenu sposobnost antioksidativne zaštite [309,310].

Osim toga, studija koju su sprovedi Genc i saradnici [311] pokazuje da se genska ekspresija za PON1 kod trudnica sa PE ne menja u odnosu na zdrave trudnice, a studija Açıkgöz i saradnika [112] je prikazala povišene vrednosti PON1 enzima kod PE trudnica u odnosu na zdrave trudnice.

Rezultati naše studije potvrđuju prethodno pomenuta istraživanja i navode nas na zaključak da PON1 može biti regulisan i pre razvoja PE kao deo zaštitnog odgovora. Ovo povećanje u aktivnosti PON1 enzima može biti odgovor na intenzivan oksidativni stress. Pogotovo u prvom trimestru, značajno veća aktivnost PON1 kod trudnica koje su kasnije razvile PE možda ukazuje na postojanje povišenog oksidativnog stresa već na početku trudnoće, pre pojave bilo kojih kliničkih manifestacija. Rezultati naše studije su u skladu sa rezultatima studije Baker i saradnika, [313] koji su takođe dobili statistički značajno povišene aktivnosti PON1 enzima kod PE trudnica u odnosu na normotenzivne, objašnjavajući da nekonzistentni rezultati koji se dobijaju u različitim studijama ukazuju na neophodnost daljih istraživanja uloge ovog enzima u patogenezi PE.

Ispitivanje distribucije PON1 na različitim HDL subfrakcijama nije dovoljno istraživano, a rezultati dosadašnjih studija uglavnom povezuju veću količinu enzima na malim HDL3 česticama [314]. Naši rezultati su pokazali da je PON1 aktivnost u celoj grupi trudnica bila najveća na HDL 2b subfrakciji, ali se nije menjala u toku trudnoće među ispitanicama, dok je najniža aktivnost bila na HDL 3b subfrakciji, takođe bez promena u toku trudnoće (Tabela 19). Ovi nalazi se slažu sa studijom koja podržava hipotezu da, iako se PON1 uglavnom nalazi na HDL 3 česticama, u stanjima intenzivne inflamacije struktura i funkcija HDL čestica se menja, a sa njima i PON1 aktivnost [315]. Tako je preraspodela PON1 enzima bila više zastupljena na HDL 2b česticama u stanjima povišene inflamacije i oksidativnog stresa. Pošto se malo zna o distribuciji PON1 unutar HDL subklasa, potrebne su dodatne studije da bi se potvrdile takve pretpostavke [315]. Pored toga, Meisinger i saradnici [316] su pokazali da u stanjima jake inflamacije, što se ogleda u visokim koncentracijama hsCRP i drugih inflamatornih

markera, aktivnost PON1 može biti oslabljena, odnosno dolazi do gubitka funkcionalnosti HDL čestica. Na osnovu gore navedenog, promene u aktivnosti PON1 mogu biti rezultat remodeliranja HDL-a i pomeranja PON1 između HDL čestica tokom inflamacije. Ipak, ovaj proces može uključivati i druge faktore, kao što su oksidativni stres i dislipidemija [317]. Posmatrajući VRT i PE grupu, aktivnost PON1 je bila takođe najveća na HDL 2a subklasi čestica, a najmanja na HDL 3b subklasi čestica kod obe grupe ispitanica. Tokom trudnoće, u VRT grupi nije došlo do promene u aktivnosti na svim subklasama HDL čestica. U PE grupi, aktivnost PON1 na HDL 3a subklasi je u drugom trimestru bila je statistički značajno niža u odnosu na prvi trimestar (Tabela 20), da bi nastavila da pada i pred porođaj, kada je bila statistički značajno niža u odnosu na prvi i treći trimestar (Tabela 20). Ovi rezultati se slažu sa teorijom PE kao inflamatorne komplikacije, u kojoj se troše antioksidativni i antiinflamatorni kapaciteti PON1 enzima.

Apolipoproteini imaju bitnu ulogu u metabolizmu lipoproteina. ApoA1 sadrži hidrofobne i hidrofilne regione koji stabilizuju strukturu lipoproteina i deluje kao kofaktor za enzime uključene u metabolizam lipida. Pored toga, ApoA1 posreduje u modifikaciji i apsorpciji lipida, delujući kao ligand za receptore lipoproteina na površini ćelije [318]. ApoA1 se smatra nosačem PON1 na HDL čestici, dok mu PON1, za uzvrat pojačava stabilnost, čime ostvaruje svoju antioksidativnu funkciju [319]. U procesu reverznog transporta holesterola, ApoA1 pomaže efluks holesterola iz tkiva i deluje kao kofaktor za LCAT. Njegova antiaterogena uloga se ogleda i kroz stabilizaciju prostaciklina. Antiinflamatornu ulogu ostvaruje kroz procese inhibicije migracije imunih ćelija, sprečavajući hemotaksu makrofaga, aktivaciju monocita i produkciju citokina [320].

Placenta ima sposobnost da sintetiše i luči određene lipoproteine, uključujući ApoA1, pri čemu su količine koje trofoblasti stvaraju jednaki ili čak veći u odnosu na količinu ApoA1 koje proizvode hepatociti [321]. ApoA1 sintetisan od strane placente reguliše homeostazu holesterola majke i fetusa, što znači da placenta igra bitnu ulogu u metabolizmu holesterola. U trudnoći, povišene vrednosti ApoA1 pospešuju reverzni transport holesterola ka cirkulaciji majke, što sugerije da ApoA1 pomaže u održavanju odgovarajućeg nivoa holesterola kod majke, dok istovremeno obezbeđuje potrebnu dostupnost za potrebe fetusa [322].

Nedavne studije su prikazale povišene vrednosti ApoA1 kod trudnica koje su razvile PE kao komplikaciju. U prvom i drugom trimestru koncentracije ApoA1 se ne menjaju značajno, ali u trećem trimestru značajno rastu, zajedno sa krvnim pritiskom. Sprovedene studije su ustanovile da je ekspresija ApoA1 značajno povišena kako u plazmi, tako i u placenti trudnica sa PE tokom kasne trudnoće. Ova

elevacija ApoA1 u kasnoj gestaciji potencijalno je povezana sa patofiziologijom PE i mogla bi reflektovati težinu oboljenja, a ne služiti kao prediktivni biomarker. ApoA1 inhibira proliferaciju i invaziju trofoblasta, procese esencijalne u razvoju placente, dok njegovu ekspresiju reguliše transkripcioni faktor PPAR γ 12 [322].

Naša studija je pokazala da porast HDL holesterola prati i porast ApoA1 lipoproteina, zajedno sa PON1 aktivnošću kod svih trudnica. ApoA1 nije pokazao razliku u koncentraciji između ispitivanih grupa, ali je pokazao statistički značajan porast u drugom trimestru u odnosu na početak trudnoće kod svih trudnica. Ovo se poklapa sa studijom koja je ispitivala potencijal ApoA1 kao prediktora PE i dobila pojačanu ekspresiju za ApoA1 u placenti i u plazmi trudnica koje su razvile PE [319].

Trenutno postoji nekoliko različitih vodiča za procenu rizika za razvoj PE, kao što su NICE i ACOG, koji pružaju detaljne smernice koje se fokusiraju na prevenciju, pravovremenu dijagnozu, odgovarajuće lečenje i postporođajnu brigu o ženama sa PE. Prema NICE smernicama, trudnicama koje su u riziku savetuje se da uzimaju 75-150 mg/d aspirina počev od 12 nedelje gestacije pa sve do porođaja, dok prema ACOG smernicama, profilaksa je 81mg/d aspirina između 12 i 28 nedelje gestacije, a najbolje pre 16. nedelje [323,324].

Model koji preporučuju ACOG i NICE u suštini tretira svaki faktor rizika kao poseban skrining test i onda sabira osetljivost testa i stopu lažno pozitivnih. Rezultati su pokazali da skrining na PE zasnovan na NICE i ACOG smernicama ima nezadovoljavajuće performanse, pošto preporuka NICE-a ima osetljivost od 41% za ranu i 34% za kasnu PE, sa stopom lažno pozitivnih od 10%. Skrining zasnovan na preporuci ACOG-a iz 2013.godine ima osetljivost svega 5% i 2% za ranu i kasnu PE, odnosno, sa stopom lažno pozitivnih od 0,2% [325].

Iako smernice nude standardizovane protokole, svaka trudnoća je jedinstvena, pa je važno uzeti u obzir individualne rizike i karakteristike žene. Smernice mogu biti previše generalne u nekim slučajevima, pa bi dodatna personalizacija u pristupu mogla doprineti cilju bolje predikcije. Osim toga, manje su primenljive u različitim zdravstvenim sistemima ili kod žena sa niskim socioekonomskim statusima i pristupom zdravstvenoj zaštiti. Stoga bi smernice mogle biti bolje prilagođene različitim kontekstima i potrebama populacija sa manje resursa. Smernice za lečenje teške PE i eklampsije uglavnom se oslanjaju na labetalol i magnezijum sulfat, ali istraživanja o novim terapijskim opcijama, kao što su antiinflamatorni lekovi ili pravovremeno kontrolisanje lipidnog statusa trudnice, te dovođenje lipidnih parametara u okvire fizioloških vrednosti pre trudnoće, predstavljaju savremen pristup u

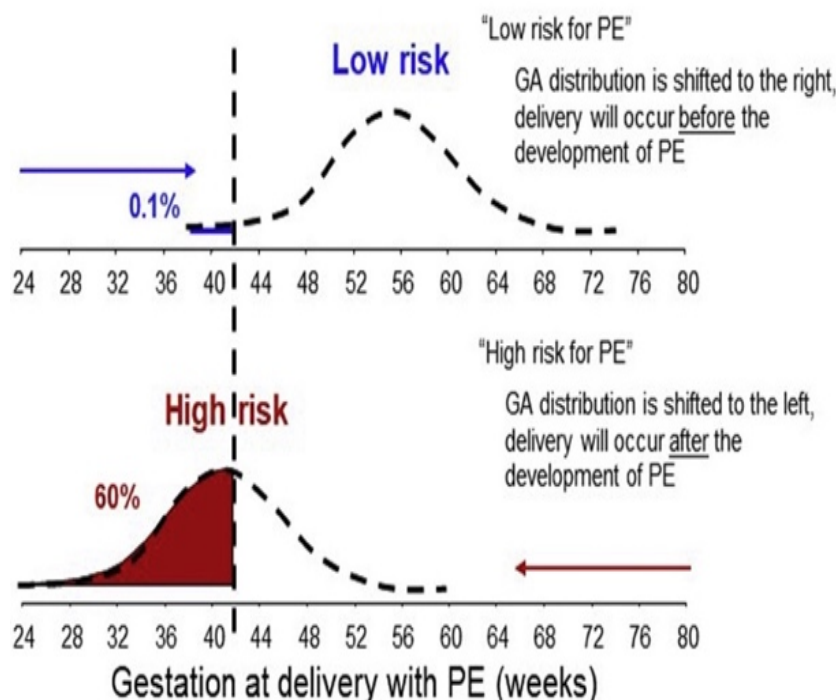
prevenciji i praćenju PE. Još jedan nedostatak je to što obe smernice koriste binarni pristup (visok/nizak rizik) umesto kontinuirane procene rizika, niti koriste prednost modernih matematičkih modela i mašinskog učenja. S obzirom na to da je PE dinamična bolest koja se stalno proučava, neophodno je da se smernice unaprede sa novim saznanjima i praksama u budućnosti.

Algoritam Fetalne medicinske fondacije (FMF): Ovaj model, korišćenjem logističke regresije kombinuje faktore majke, MAP, UtA-PI, kao i nivoe PIGF i sFlt-1 u krvi trudnice kako bi predvideo rizik od rane pojave PE. Ovakav pristup omogućava individualnu procenu rizika [326].

FMF model za procenu rizika za razvoj PE može biti unapređen integracijom novih biomarkera, inflamatornih ili metaboličkih. Osim toga, unapređenje ultrazvučne procene, kao što su subplacentarna perfuzija i evaluacija strukture i volumena placente, predstavlja smer u kome treba da se razvijaju novi modeli. Akcenat je pre svega na personalizovanom pristupu procene rizika za razvoj PE, odnosno razvoj algoritama koji su prilagođeni etničkim grupama, kao i na razvoju preciznijih modela za različite tipove PE (rana, kasna, sa ili bez IURG). Još jedna od mogućnosti je primena veštačke inteligencije za razvoj dinamičkih modela koji mogu ažurirati procenu rizika tokom trudnoće, korišćenjem pristupa velikoj bazi podataka koji integriše različite izvore kliničkih podataka.

Naša studija stavlja akcenat na longitudinalno praćenje biomarkera tokom trudnoće, umesto jednokratnog merenja. Naredna istraživanja trebalo bi da prate brzinu promene vrednosti biomarkera koji su od značaja za procenu rizika za razvoj PE, kao i da odrede personalizovane referentne opsege za svaku trudnicu pojedinačno.

Modeli zasnovani na Bajesovoj teoremi: Ovi modeli koriste Bajesovu teoremu kako bi izračunali *a priori* rizik od PE na osnovu prisutnih faktora rizika kod majke, a zatim uključuju dodatne biomarkere ili dopler indekse kako bi unapredili procenu rizika [327]. U osnovi ovog modela leži teorija da bi svaka trudnica razvila PE, kada bi trudnoća trajala neograničeno vreme (Slika 5). Rizik se stoga preračunava na osnovu kompeticije vremenskog termina porođaja i vremena nastanka PE. U zavisnosti od faktora rizika prisutnih kod majke, varijabli i anamnestičkih podataka, Gausova kriva gestacijske starosti na porođaju u odnosu na PE pomera se desno ukoliko je trudnica u niskom riziku za razvoj PE (većina trudnoća će imati porođaj pre nastanka PE) ili ulevo ukoliko je u visokom riziku, što znači da će PE nastati pre porođaja [328].



Slika 5. Kompetitivni model za procenu rizika. GA, Gaussian; MoM, multiples of the median; PE, preeclampsia. Chaemsaitong. First trimester preeclampsia screening and prediction. Am J Obstet Gynecol 2022.

Jedan od ciljeva našeg istraživanja bio je evaluacija potencijala ispitivanog pojedinačnog biomarkera za procenu rizika za razvoj PE. Istraživanje proučava povezanost ovih markera sa poznatim faktorima rizika za PE i procenjuje njihov potencijal u proceni rizika za razvoj PE.

U cilju predviđanja PE na osnovu laboratorijskih parametara u prvom trimestru trudnoće, urađena je univarijantna binarna logistička regresiona analiza. Prediktivne vrednosti parametara prikazane u Tabeli 22 ukazuju na mogućnost njihovog korišćenja za procenu rizika za razvoj PE. Ovi parametri mogu doprineti boljem razumevanju patofiziologije PE i unapređenju strategija za ranu detekciju trudnica pod rizikom. Rezultati naše studije izdvojili su koncentracije rezistina, MCP-1, mokraćne kiseline, PON1 i triglicerida u prvom trimestru kao značajno povezane sa razvojem PE (Tabela 22).

Daljom analizom, statistički značajni prediktori ispitivani su u multivarijantnom logističkom regresionom modelu. Parametri koji su se pokazali statistički značajni za predikciju PE bili su dodavani u modele predikcije jedan po jedan, zajedno sa tradicionalnim parametrima predikcije koji se koriste u kliničkoj praksi. Svi modeli su pokazali statističku značajnost u proceni rizika, pri čemu su modeli sa inflamatornim parametrima doveli do značajnog poboljšanja tačnosti procene rizika za razvoj PE.

Rezistin pokazuje značajan potencijal kao biomarker za procenu rizika od PE, s obzirom na njegovu snažnu statističku značajnost i veličinu efekta. Meta-analiza je potvrdila vrednost rezistina kao prediktivnog markera za razvoj PE, pogotovo ako se koristi u multi-markerske modele predikcije [329].

MCP-1 je bio statistički značajan u prvom trimestru, pokazujući više nivoa kod pacijentkinja koje su razvile PE u poređenju sa VRT grupom. Analizom logističke regresije takođe se pokazao statistički značajan kao prediktor (Tabela 25). Studija Marte i saradnika [330] prikazala je značajno više vrednosti MCP-1 kod trudnica sa PE u odnosu na kontrolnu grupu, ali su neophodna dalja istraživanja koja bi potvrdila naše rezultate i izdvojila MCP-1 kao prediktivni marker za razvoj PE.

Porast koncentracije MCP-1 kod PE ukazuje na njegov potencijal kao biomarker u prediktivnim modelima za dijagnozu ili praćenje progresije bolesti. Međutim, rezultati studija o njegovim nivoima pokazuju nekonzistentnost. Neke studije prikazale su značajno povišene vrednosti MCP-1 kod žena sa PE u poređenju sa fiziološkim trudnoćama [331]. Nasuprot tome, druge studije nisu utvrdile značajne razlike [332]. Ova nekonzistentnost otežava integraciju MCP-1 u pouzdane prediktivne modele. Prema istraživanju Garcie i saradnika [332] koji su razvili model za predikciju PE koristeći kombinaciju angiogenih faktora i inflamatornih biomarkera, uključujući MCP-1, pokazano je da kombinovani pristup daje veću prediktivnu vrednost nego pojedinačni biomarkeri. Slično tome, Cui i saradnici su ispitali ulogu MCP-1 u prediktivnim algoritmima za rani skrining PE, naglašavajući potrebu za standardizacijom vremena uzorkovanja i kontrolom faktora kao što je IUGR, koji mogu značajno uticati na performanse modela [333].

Mokraćna kiselina je takođe pokazala statističku značajnost u našem multivarijantnom logističkom regresionom modelu (Tabela 26). Ovo ukazuje da svako povećanje mokraćne kiseline za jednu standardnu devijaciju povećava rizik za razvoj PE dva puta. Iako je veličina efekta manja u poređenju sa rezistinom, njena statistička značajnost podržava njen potencijal kao biomarkera. Studija koju su sprovedli Ryu i saradnici utvrdila je da prag mokraćne kiseline u serumu od 377,7 $\mu\text{mol/L}$ može predvideti nisku porođajnu težinu bebe i druge neželjene fetalne ishode kod žena sa PE, pokazujući osetljivost od 58% i specifičnost od 95%. Ovo sugerise da praćenje nivoa mokraćne kiseline može biti ključno za identifikaciju trudnoća sa rizikom od komplikacija [334].

Povišene vrednosti koncentracije mokraćne kiseline kod PE trudnica mogu se delimično objasniti time da u PE, usled aktivacije vaskularnog endotela majke i prisustva oksidativnog stresa, dolazi do povećane produkcije reaktivnih kiseoničnih radikala, što dovodi do kompenzatornog povećanog lučenja

mokraćne kiseline, koja u ulozi čistača slobodnih radikala kiseonika ograničava oksidativni stres [335]. Međutim, povišene koncentracije mokraćne kiseline formiraju kristale, stimulišući makrofage na produkciju IL-6 i TNF- α , kao i direktno stimulišući proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih ćelija u PE [336].

Evaluacija potencijala pojedinačnih biomarkera i njihova kombinacija u proceni rizika za PE pokazala je da oni imaju dobru prediktivnu vrednost. Razvoj modela za procenu rizika koji se temelji na ovim biomarkerima predstavlja inovativni aspekt našeg istraživanja. Postojeći modeli se prvenstveno oslanjaju na kliničke faktore rizika i merenja krvnog pritiska u ranoj trudnoći. Integracijom inflamatornih markera moguće je ponuditi precizniju stratifikaciju rizika. Ovaj multi-markerski pristup bi mogao poboljšati rane strategije predikcije i intervencije, potencijalno poboljšavajući ishode za majku i fetus.

U cilju ocene diskriminativne sposobnosti ispitivanih laboratorijskih parametara u postavljanju dijagnoze PE, konstruisane su ROC krive i izračunate AUC vrednosti za one parametre čije su vrednosti na početku trudnoće bile statistički značajno različite u grupi koja je razvila PE u odnosu na VRT grupu (Tabela 32).

Koristeći ove parametre, pokušali smo da napravimo modele koji bi najbolje izdvajali trudnice koje su u riziku od razvoja PE. Korišćenjem ROC analize, dobili smo značajno bolje prediktivne vrednosti modela u odnosu na već postojeće. Model 2, koji pored osnovnih parametara koji se koriste u kliničkoj praksi za procenu rizika za razvoj PE, sadrži i rezistin, ima AUC vrednost 0,826 (Tabela 32), dok Model 3, koji sadrži pored osnovnih parametara i MCP-1, ima AUC vrednost 0,801. Oba modela imaju statističku značajnost ($p < 0,001$) i dobru dijagnostičku tačnost. Daljim ispitivanjem kombinacije parametara koji će ući u model za procenu rizika, Model 10 se pokazao kao najprecizniji, sa AUC vrednošću od 0,868 (Tabela 32).

Kao što smo i naveli u rezultatima naše studije, rezistin i MCP-1 su se pokazali kao najsnažniji potencijalni biomarkeri za procenu rizika za PE na temelju ove studije. U nastavku ćemo analizirati naše rezultate pri čemu ćemo ih porediti sa već poznatim faktorima rizika za razvoj ove komplikacije u trudnoći:

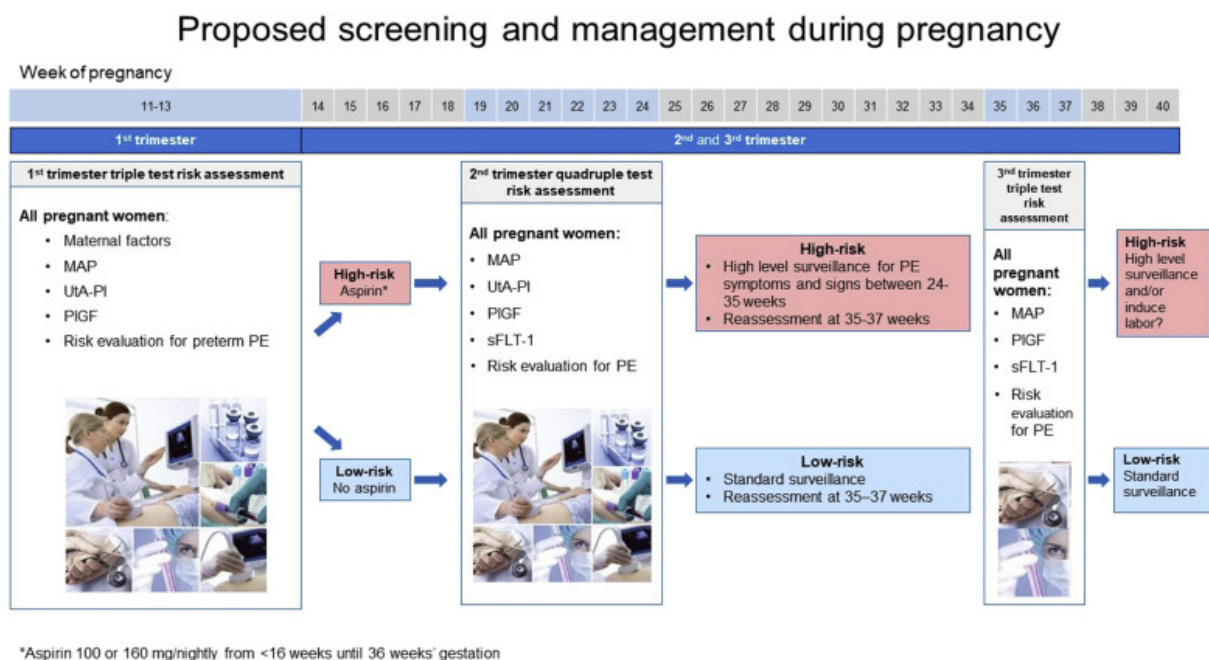
Rezistin - Povišeni nivoi rezistina povezani su s insulinskom rezistencijom i metaboličkim sindromom i stanjima sa hroničnom inflamacijom, koji su dobro poznati faktori rizika za PE. Ovi nalazi podržavaju rezistin kao obećavajući biomarker za PE. Kod gojaznih trudnica, koncentracije rezistina su povišene, a efekat drugih adipokina se pojačava, što doprinosi metaboličkom disbalansu. Rezistin ima

proinflamatorno dejstvo, stimuliše produkciju TNF- α , IL-6 i drugih citokina, povećava ekspresiju adhezivnih molekula u endotelnim ćelijama (VCAM-1, ICAM-1) i pojačava inflamatorni odgovor, koji je ključan u patogenezi PE. Rezistin direktno utiče na endotelnu funkciju smanjenjem produkcije NO, povećava oksidativni stres u vaskularnom sistemu i narušava angiogenezu, koja je neophodna za pravilnu placentaciju. Placentalna insuficijencija, kao jedna od ključnih faktora rizika, povezana je sa povišenim vrednostima rezistina. Rezistin doprinosi apoptozi trofoblasta i placentalnoj hipoksiji. Kod trudnica sa hipertenzijom, rezistin smanjuje elastičnost arterija, pojačava vaskularnu reaktivnost i direktno doprinosi razvoju PE.

MCP-1 - Inflamatorni procesi igraju ključnu ulogu u patogenezi preeklampsije. Povišeni nivo MCP-1, koji je marker inflamacije, u skladu je s ovim patofiziološkim mehanizmima. Gojaznost i metabolički poremećaji povezani su sa povišenim koncentracijama MCP-1. Adipozno tkivo proizvodi povećane nivoe MCP-1, koji stimuliše infiltraciju masnog tkiva makrofagima, čime doprinosi hroničnoj inflamaciji. Kod gojaznih trudnica, povišen MCP-1 dodatno pojačava metaboličku inflamaciju, što predstavlja faktor rizika za PE. MCP-1 doprinosi endotelnoj disfunkciji, koja je karakteristična za hipertenziju. Aktivira makrofage u vaskularnom zidu, pojačavajući lokalni inflamatorni odgovor i pojačava vaskularnu reaktivnost i remodelovanje krvnih sudova. Povišene vrednosti MCP-1 prisutne su kod pacijentkinja sa dijabetesom, gde doprinosi insulinskoj rezistenciji kroz inflamaciju u masnom tkivu. Kod pacijentkinja sa lupusom i drugim autoimunim bolestima, MCP-1 je hronično povišen. Pojačava Th1 imuni odgovor koji je karakterističan za autoimune bolesti i doprinosi vaskularnom i tkivnom oštećenju kod ovih trudnica. MCP-1 je povišen u uslovima oksidativnog stresa, koji predstavlja faktor rizika za PE. Hipoksija indukuje ekspresiju MCP-1 u placentalnom tkivu i doprinosi oksidativnom oštećenju endotela kroz aktivaciju inflamatornih ćelija.

Dug je put od odabira markera predikcije do formiranja modela za procenu rizika, a potom i njegove upotrebe u kliničkoj praksi. Ovaj proces zahteva eksternu validaciju modela, kontinuiranu kontrolu kvaliteta, kao i procenu efikasnosti i uticaj na ishod trudnoće, kako za majku, tako i za novorođenče (Slika 6). Za sada je jedini model koji je prošao internu i eksternu validaciju FMF-ov tzv. "tripl test", koji je kao takav prihvaćen od strane Internacionalne Federacije za Ginekologiju i Akušerstvo (FIGO) [337]. Optimalna granična (cutoff) vrednost za FMF tripl test za PE je 1:100, prema željenoj FPR, koja ne mora biti niska. Naime, uključivanje aspirina trudnicama koje pripadaju kategoriji lažno pozitivnih prilikom skrininga na PE nije štetno, u poređenju s izostankom terapije kod trudnica koje imaju stvarni rizik [356]. Obzirom da još uvek ne postoje preporuke za opšti skrining populacije,

primena ovih testova je ograničena, pa je neophodno uložiti veliki trud i edukaciju usmeriti na važnost blagovremenog tretmana trudnica. Međutim, ovaj skrining nije efikasan za kasnu PE, što predstavlja još jednu potvrdu da se mehanizam razvoja kasne PE razlikuje [367]. Kasna PE se karakteriše blažom formom, ali ipak predstavlja najveći broj slučajeva, pa samim tim ima najveći uticaj na zdravstveni sistem. Osim toga, niske doze aspirina nisu efikasne u sprečavanju kasne PE, što ide u korist hipoteze da u osnovi ne dolazi do poremećaja na nivou placente, zbog čega profilaksa aspirinom ne pomaže.



Slika 6: Procena rizika za preeklampsiju na osnovu FMF smernica.

Preuzeto: Chaemsaitong. First trimester preeclampsia screening and prediction. Am J Obstet Gynecol 2022.

Zaključak je da procena rizika na osnovu postojećih preporuka NICE i ACOG treba dalje da se usmeri na individualni pristup svakoj trudnici, uzimajući u obzir njene faktore rizika i bolesti iz anamneze. Na osnovu ovih faktora, trebalo bi pratiti određene parametre koji će biti uključeni u algoritam modela za predikciju. Prediktori bi trebalo da budu pacijent-specifični, odnosno model za predikciju treba biti prilagođen pojedincu. Izazov u ovom pristupu je što prevalenca bolesti, karakteristike populacije (nizak ili visok rizik, rasa, visina) i varijacije u izboru biomarkera utiču na efikasnost skrining testa. Stoga, podaci iz studije sprovedene na specifičnoj populaciji moraju biti validirani na drugim populacijama. To je put razvoja modela koji će moći da se primeni na širu populaciju. Na kraju, neophodno je napraviti podelu rizika na osnovu stepena težine kliničke slike PE.

Naša studija je dala značajne rezultate, na osnovu kojih je preporuka da model za procenu rizika od razvoja PE trebalo bi da uključuje rezistin ili MCP-1 kao specifične markere inflamacije.

ZAKLJUČCI

Primarni ciljevi našeg istraživanja bili su ispitivanje prediktivnog potencijala različitih hematoloških i biohemijskih parametara, kao i analiza njihovih međusobnih odnosa, u proceni rizika od razvoja preeklampsije kod trudnica koje su pod visokim rizikom. Razumevanje dinamike ovih markera može značajno doprineti ranom otkrivanju i prevenciji komplikacija.

- Jedno od najznačajnijih rezultata istraživanja jeste rezistin, inflamatorni marker čija ekspresija raste u trudnoći kao i produkcija od strane placente i makrofaga. Kod svih trudnica koncentracija rezistina je rasla u toku trudnoće ali je kod onih koje su završile trudnoću bez komplikacija porast bio značajan, dok je kod trudnica koje su razvile PE već na početku trudnoće bio visok i porast nije bio značajan. Značajno više koncentracije rezistina u prvom trimestru trudnica sa PE u odnosu na trudnice koje su iznale trudnoću bez komplikacija ukazuje na njegovu prediktivnu vrednost.
- MCP-1 je takođe bio statistički značajno viši u prvom trimestru kod trudnica koje su razvile PE, što dodatno opravdava ispitivanje inflamatornih markera u hipertenzivnim komplikacijama u trudnoći.
- Ostali tradicionalni i manje specifični marker inflamacije su potvrdili već prikazivane rezultate, a to je da se kod trudnica sa PE beleže povišene vrednosti hsCRP-a, LDH kao i mokraćne kiseline. Hiperurikemija je često povezana s hipertenzijom i renalnom disfunkcijom, ključnim patofiziološkim mehanizmima u PE.
- Promene lipidnih parametara tokom visokorizične trudnoće karakteriše značajan porast koncentracije holesterola i triglicerida tokom celog perioda gestacije. HDL-C dostiže maksimalnu vrednost u drugom trimestru nakon čega blago opada do kraja trudnoće. LDL-C značajno raste tokom cele trudnoće. Vrednosti ApoA1 prate promene HDL-holesterola. Izmenjen lipidni profil tokom trudnoće u pravcu hiperlipidemije ukazuje da

trudnoća može imati proaterogeni potencijal. Specifičnost dislipidemije u trudnoći koja je razvila PE je nedostatak porasta koncentracije HDL-C koji ima ateroprotektivno dejstvo.

- Tokom visokorizičnih trudnoća ne dolazi do značajne promene u veličini HDL čestica. U relativnom udelu pojedinih subklasa postoji značajno povećanje zastupljenosti većih HDL 2b čestica, uz istovremeno sniženje zastupljenosti veće HDL 3a subklase ali bez statističke značajnosti kod trudnica koje nisu razvile PE.
- Kod trudnica koje su razvile PE kao komplikaciju zabeležili smo porast u procentnoj zastupljenosti HDL 2b subklase HDL čestica ali bez statističke značajnosti, dok je pad u zastupljenosti HDL 3a subklase HDL čestica od početka do kraja trudnoće bio statistički značajan.
- Aktivnost enzima PON1 raste od početka trudnoće sa pikom u trećem trimestru a onda kreće da pada pred porođaj. Vrednosti PON1 aktivnosti u grupi koje je razvila PE su bile značajno veće u odnosu na trudnice koje nisu razvile PE već u prvom trimestru. Ovo ukazuje da povećana aktivnost PON1 može biti deo zaštitnog odgovora na povišeni oksidativni stres koji prethodi razvoju PE. U prilog tome su rezultati koji pokazuju koncentracije ApoA1 enzima. Kod svih trudnica došlo je do porasta u koncentraciji ApoA1 enzima, od početka pa do pred porođaj.
- Rezistin i MCP-1 su identifikovani kao najjači potencijalni biomarkeri za procenu rizika od PE na osnovu ove studije.
- Procena potencijala pojedinačnih biomarkera i njihovih kombinacija u proceni rizika od PE pokazala je da oni imaju dobru prediktivnu vrednost. Naša studija prikazuje modele za procenu rizika za razvoj PE, što je novina u naučno istraživačkoj oblasti u ovom polju. Upoređujući sa postojećim modelima koji koriste kliničke faktore rizika i merenje krvnog pritiska u ranoj trudnoći naš model je prikazao precizniju stratifikaciju rizika. Ovaj

pristup sa primenom inflamatornih markera mogao bi poboljšati rano predviđanje i strategije intervencije.

- Dalja istraživanja bi trebalo da se fokusiraju na validaciju ovih nalaza u različitim populacijama. Takva istraživanja mogu dovesti do razvoja prediktivnih modela i ciljanih terapija za PE, na kraju poboljšajući ishode zdravlja majke i fetusa. Istraživanje interakcije između markera upale i karakteristika HDL-a moglo bi otkriti nove terapijske ciljeve i poboljšati strategije ranog otkrivanja. Unapređivanjem našeg razumevanja ovih biomarkera, ova studija stvara put za efikasnije strategije upravljanja i prevencije PE, značajno doprinoseći polju medicine majke i fetusa.

LITERATURA

- [1] Soma-Pillay P, Nelson-Piercy C, Tolppanen H, et al; Physiological changes in pregnancy. Cardiovasc J Afr. 2016 Mar-Apr;27(2):89-94. doi: 10.5830/CVJA-2016-021.
- [2] Tulchinsky D & Hobel CJ. Plasma human chorionic gonadotropin, estrone, estradiol, estriol, progesterone, and 17 alphahydroxyprogesterone in human pregnancy. 3. Early normal pregnancy. American Journal of Obstetrics & Gynecology 1973; 117: 884–893.

- [3] Ekinçi EI, Torkamani N, Ramchand SK, Churilov L, Sikaris KA, Lu ZX, Houlihan CA. Higher maternal serum prolactin levels are associated with reduced glucose tolerance during pregnancy. *J Diabetes Investig.* 2017 Sep;8(5):697-700
- [4] Chan SY, Vasilopoulou E & Kilby MD. The role of the placenta in thyroid hormone delivery to the fetus. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism* 2009; 5: 45–54.
- [5] Weight management before, during and after pregnancy; NICE Public Health Guideline (July 2010)
- [6] Şengül Ö, Dede S. Maternal and Fetal Carbohydrate, Lipid and Protein Metabolisms. *EUR J GEN MED.* 2014;11(4):299-304
- [7]. Larque E, Ruiz-Palacios M, Koletzko B. Placental regulation of fetal nutrient supply. *Curr Opin Clin Nutr Matab Care* 2013;16(3):292-7.
- [8]. Butte NF. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1256S–61S.
- [9] Oakley C, Wames C, eds. Heart disease in pregnancy. London: Blackwell; 2007
- [10] Nelson-Piency C. Handbook of obstetric medicine. 3rd ed. London: Informa Healthcare; 2006.
- [11] Thornburg KL, Jacobson SL, Giraud GD, Morton MJ. Hemodynamic changes in pregnancy. *Semin Perinatol.* 2000 Feb;24(1):11-4
- [12] [Fu M, Liu J, Xing J, et al](#); Reference intervals for coagulation parameters in non-pregnant and pregnant women. *Sci Rep.* 2022 Jan 27;12(1):1519. doi: 10.1038/s41598-022-05429-y.
- [13] Q. Kang, W. Li, N. Yu, *et al.* Predictive role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in preeclampsia: a meta-analysis including 3982 patients. *Pregnancy Hypertens*, 20 (2020), pp. 111-118.
- [14]. [Four in 5 pregnancy-related deaths in the U.S. are preventable](#). Centers for Disease Control and Prevention. Accessed 02/07/2023.
- [15] Visconti K, Zite N. hCG in ectopic pregnancy. *Clin Obstet Gynecol.* 2012;55(2):410.
- [16] Wang X, Chen C, Wang L, Chen D, Guang W, French J. Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study. *Fertil Steril* 2003;79(3):577-84.
- [17] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33371325/> , dostupno 30.4.2023.
- [18] Kaaja R, Kinnunen T, Luoto R. Regional differences in the prevalence of preeclampsia in relation to the risk factors for coronary artery disease in women in Finland. *Eur Hear J.* 2005;26(1):44-50.
- [19]. [Maternal Mortality Rates in the United States, 2020](#). Centers for Disease Control and Prevention. Accessed 02/07/2023..... Ralston ER, Smith P, Chilcot J, Silverio SA, Bramham K. [Perceptions of risk in pregnancy with chronic disease: A systematic review and thematic synthesis](#). *PLoS One.* 2021 Jul 19;16(7):e0254956.
- [20] Oyelese Y, Ananth CV. Placental abruption. *Obstet Gynecol.* 2006 Oct;108(4):1005-16.

- [21] [Complications of Pregnancy](#). Johns Hopkins Medicine. Accessed 02/06/2023. [18].
- [22] Regan L, Rai R. Epidemiology and the medical causes of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2000 Oct;14(5):839-54.
- [23] International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Recommendations on Diagnosis and Classification of Hyperglycemia
- [24] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2012; 35(Suppl. 1): S64–S71.
- [25] Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:S1–22. (Level III)
- [26] Wallis AB, Saftlas AF, Hsia J, Atrash HK. *Am J Hypertens*. 2008 May;21(5):521-6. Epub 2008 Mar 13.
- [27]. Secular trends in the rates of preeclampsia, eclampsia, and gestational hypertension, United States, 1987-2004.
- [28] Weissgerber TL, Turner ST, Mosley TH, Kardia SLR, Hanis CL, Milic NM, et al. Hypertension in pregnancy and future cardiovascular event risk in siblings. *J Am Soc Nephrol*. 2016;27:894–902.
- [29] Webster K, Fishburn S, Maresh M, Findlay SC, Chappell LC; Guideline Committee. Diagnosis and management of hypertension in pregnancy: summary of updated NICE guidance. *BMJ*. 2019 Sep 9;366:15119.
- [30] Podymow, T., & August, P. (2007). *Hypertension in Pregnancy. Advances in Chronic Kidney Disease, 14(2), 178–190*.
- [31] Ananth C, Keyes K, Wapner R. Pre-eclampsia rates in the United States, 1980–2010: age-period-cohort analysis. *BMJ*. 2013;347:f6564.
- [32] Chesley LC. History and epidemiology of preeclampsia-eclampsia. *Clin Obstet Gynecol*. 1984;27(4):801-20.
- [33] 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 ≥ 15 mm Hg to a level < 90 mm Hg in association with proteinuria? *Am J Obstet Gynecol*. 2000;183(4):787-92.
- [34] 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.
- [35] Yang Y, Le Ray I, Zhu J, Zhang J, Hua J, Reilly M. Preeclampsia Prevalence, Risk Factors, and Pregnancy Outcomes in Sweden and China. *JAMA Netw Open*. 2021 May 03;4(5):e218401

- [36] Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstet Gynecol.* 2020 Jun;135(6):e237-e260.
- [37] Osungbade KO, Ige OK. Public health perspectives of preeclampsia in developing countries: implication for health system strengthening. *J Pregnancy.* 2011;2011:481095.
- [38] Chu H, Ramola R, Jain S, Haas DM, Natarajan S, Radivojac P. Using Association Rules to Understand the Risk of Adverse Pregnancy Outcomes in a Diverse Population. *Pac Symp Biocomput.* 2023;28:209-220.
- [39] Nakagawa K, Lim E, Harvey S, Miyamura J, Juarez DT. Racial/Ethnic Disparities in the Association Between Preeclampsia Risk Factors and Preeclampsia Among Women Residing in Hawaii. *Matern Child Health J.* 2016 Sep;20(9):1814-24.
- [40] Aluli NE, Reyes PW, Tsark J. Cardiovascular disease disparities in native Hawaiians. *J Cardiometab Syndr.* 2007;2(4):250–253
- [41] Saito S, Sakai M, Sasaki Y, Nakashima A, Shiozaki A. Inadequate tolerance induction may induce pre-eclampsia. *J Reprod Immunol.* 2007 Dec;76(1–2):30–9.
- [42] Robillard PY, Dekker G, Chaouat G, Husley TC, Saftlas A. Epidemiological studies on primipaternity and immunology in preeclampsia—a statement after twelve years after work- shops. *J Reprod Immunol.* 2011;89:104–17.
- [43] Rowe JH, Ertelt JM, Xin L, Way SS. Pregnancy imprints regulatory memory that sustains anergy to fetal antigen. *Nature.* 2012;490(7418):102–6.
- [44] Wang Y, Wu N, Shen H. A Review of Research Progress of Pregnancy with Twins with Preeclampsia. *Risk Manag Healthc Policy.* 2021
- [45] Garmendia ML, Zamudio C, Araya M, Kain J. Association between prepregnancy obesity and metabolic risk in Chilean premenopausal women 10 y postpartum. *Nutrition.* 2017;38:20–7.
- [46] Yang J, Pearl M, DeLorenze GN, Romero R, Dong Z, Jelliffe-Pawłowski L, et al. Racial- ethnic differences in midtrimester maternal serum levels of angiogenic and antiangiogenic factors. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215:359.e1–9.)
- [47] Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2013;122(5):1122–31.
- [48] Tranquilli AL, Dekker G, Magee L, Roberts J, Sibai BM, Steyn W, et al. The classification, diagnosis and management of the hypertensive disorders of pregnancy: a revised statement from the ISSHP. *Pregnancy Hypertens.* 2014;2:97–104.
- [49] Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2013 Nov;122(5):1122-1131.

- [50] George EM, Granger JP. Recent insights into the pathophysiology of preeclampsia. *Expert Rev Obstet Gynecol*. 2010;5(5):557-66.
- [51] Faber JJ, Anderson DF. The placenta in the integrated physiology of fetal volume control. *Int J Dev Biol*. 2010;54(2-3):391.
- [52] Adamson SL, Morrow RJ, Bull SB, Langille BL. Vasomotor responses of the umbilical circulation in fetal sheep. *Am J Physiol*. 1989 May;256(5 Pt 2):R1056-62.
- [53] Plečas D, Stanimirović B, Stanković A, Vasiljević M, (2006) *Ginekologija i akušerstvo*. Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.
- [54] Mladenović d, bogdanović Z, Mihajlović A, *Ginekologija i akušerstvo sa negom*. Zavod za udžbenike, Beograd.
- [55] Wulff C, Weigand M, Kreienberg R, Fraser HM. Angiogenesis during primate placentation in health and disease. *Reproduction*. 2003;126(5):569-77.
- [56] Steinberg G, Khankin EV, Karumanchi SA. Angiogenic factors and preeclampsia. *Thromb Res*. 2009;123:S93-S9.
- [57] Faber JJ, Anderson DF. The placenta in the integrated physiology of fetal volume control. *Int J Dev Biol*. 2010;54(2-3):391.
- [58] e Falco S. The discovery of placenta growth factor and its biological activity. *Exp Mol Med*. 2012;44(1):1-9.
- [59] 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.
- [60] Murakami M, Zheng Y, Hirashima M, Suda T, Morita Y, Oechara 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.
- [61] 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.
- [62] Peter Kaufmann, Simon Black, Berthold Huppertz, Endovascular Trophoblast Invasion: Implications for the Pathogenesis of Intrauterine Growth Retardation and Preeclampsia, *Biology of Reproduction*, Volume 69, Issue 1, 1 July 2003, 1–7
- [63] Jauniaux E, Collins SL, Jurkovic D, Burton GJ. Accreta placentation: a systematic review of prenatal ultrasound imaging and grading of villous invasiveness. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215:712–21.

- [64] Jauniaux E, Greenwold N, Hempstock J, Burton GJ. Comparison of ultrasonographic and Doppler mapping of the intervillous circulation in normal and abnormal early pregnancies. *Fertil Steril*. 2003;79:100–6.
- [65] Burton GJ, Woods AW, Jauniaux E, Kingdom JC. Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta*. 2009;30:473–82.
- [66] Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension*. 2008;51:970–5.
- [67] Josip Đelmiš. Razvoj posteljice. *Gynaecol Perinatol* 2019; 28:20–26
- [68] Vulic M. Etiologija preeklampsije. *Gynaecol Perinatol* 2019;28:13–16
- [69] Staff AC, Redman CWG. The Differences Between Early- and Late-Onset Pre-eclampsia. *Comprehensive Gynecology and Obstetric*. 2018; 157–172.
- [70] Redman CW, Sargent IL, Staff AC. IFPA Senior Award Lecture: making sense of pre-eclampsia—two placental causes of preeclampsia? *Placenta*. 2014;35(Suppl):S20–S5.
- [71] Bilano VL, Ota E, Ganchimeg T, Mori R, Souza JP. Risk factors of pre-eclampsia/eclampsia and its adverse outcomes in low- and middle-income countries: a WHO secondary analysis. *PLoS One*. 2014;9(3): e91198
- [72] Lamarca B. Endothelial dysfunction. An important mediator in the pathophysiology of hypertension during pre-eclampsia. *Minerva Ginecol*. 2012;64(4):309-20.
- [73] 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.
- [74] 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.
- [75] De Alwis, N., Binder, N. K., Beard, S., Kaitu'u-Lino, T. J., Tong, S., Brownfoot, F., & Hannan, N. J. (2020). *Novel approaches to combat preeclampsia: From new drugs to innovative delivery*. *Placenta*. doi:10.1016/j.placenta.2020.08.022
- [76] 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.
- [77] Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol*. 1989;161:1200–4.

- [78] Maynard SE, Min J-Y, Merchan J, Lim K-H, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension,
- [79] Stepan H, Galindo A, Hund M, Schlembach D, Sillman J, Surbek D, Vatish M. Clinical utility of sFlt-1 and PlGF in screening, prediction, diagnosis and monitoring of pre-eclampsia and fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2023 Feb;61(2):168-180.
- [80] Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, KF Y, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004;350:672–83. <https://doi.org/10.1056/>
- [81] Wang A, Rana S, Karumanchi SA. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology*. 2009;24(3):147-58.
- [82] 56. Lam C, Lim K-H, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension*. 2005;46(5):1077-85.
- [83] Maynard SE, Karumanchi SA, editors. *Angiogenic factors and preeclampsia*. Semin Nephrol; 2011: Elsevier.
- [84] 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.
- [85] Lyall F, Robson SC, Bulmer JN. Spiral artery remodeling and trophoblast invasion in pre- eclampsia and fetal growth restriction: relationship to clinical outcome. *Hypertension*. 2013;62(6):1046–54.
- [86] Redman CW, Sargent IL, Staff AC. IFPA Senior Award Lecture: making sense of pre- eclampsia—two placental causes of preeclampsia? *Placenta*. 2014;35(Suppl):S20–S5.
- [87] Faber JJ, Anderson DF. The placenta in the integrated physiology of fetal volume control. *Int J Dev Biol*. 2010;54(2-3):391.
- [88] Nelson DB, Ziadie MS, McIntire DD, Rogers BB, Leveno KJ. Placental pathology suggesting that preeclampsia is more than one disease. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2014;210(1):66–e1.
- [89] Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Liberman TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA: Excess placental soluble FMS-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003;111:649–658
- [90] Hayakawa S, Fujikawa T, Fukuoka H, et al. Murine fetal resorption and experimental pre-eclampsia are induced by both excessive Th1 and Th2 activation. *J Reprod Immunol*. 2000;47:121–38.

- [91] Prefumo F. Uterine artery Doppler and sFlt-1/PlGF ratio: prognostic value in early-onset preeclampsia. 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;43:488-9.
- [92] ACOG. First-trimester risk assessment for early-onset preeclampsia. Committee opinion No. 638. *ObstetGynecol.* 2015;126:e25–27.
- [93] ACOG Committee on Practice Bulletins--Obstetrics. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol.* 2002;99:159–67.
- [94] Webster K, Fishburn S, Maresh M, Findlay SC, Chappell LC; Guideline Committee. Diagnosis and management of hypertension in pregnancy: summary of updated NICE guidance. *BMJ.* 2019 Sep 9;366:l5119.
- [95] Akolekar R, Syngelaki A, Poon L, et al. Competing risks model in early screening for preeclampsia by biophysical and biochemical markers. *Fetal Diagn Ther.* 2013;33:8–15.
- [96] Akolekar R, Syngelaki A, Sarquis R, Zvanca M, Nicolaides KH. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. *Prenat Diagn.* 2011;31:66–74.
- [97] Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennstrom M, et al. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med.* 2016;374:13-22.
- [98] De Kat, AC, Hirst J, Woodward M, Kennedy S, Peters, SA. Prediction models for preeclampsia: A systematic review. *Pregnancy Hypertension.* 2019;16:48–66.
- [99] S. Thangaratinam, J. Allotey, N. Marlin, et al., Development and validation of Prediction models for Risks of complications in Early-onset Pre-eclampsia (PREP): a prospective cohort study, *Health Technol. Assess.* 2017;18:1–100
- [100] Stepan H, Herraiz I, Schlembach D, Verlohren S, Brennecke S, Chantraine F, Klein E, Lapaire O, Llurba E, Ramoni A, Vatish M, Wertaschnigg D, Galindo A. Implementation of the sFlt-1/PlGF ratio for prediction and diagnosis of pre-eclampsia in singleton pregnancy: implications for clinical practice. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Mar;45(3):241-6.
- [101] Karumanchi SA. Angiogenic factors in preeclampsia: from diagnosis to therapy. *Hypertension.* 2016;67(6):1072–9.
- [102] Schiff E, Peleg E, Goldenberg M, Rosenthal T, Ruppin E, Tamarkin M, et al. The use of aspirin to prevent pregnancy-induced hypertension and lower the ratio of thromboxane A2 to prostacyclin in relatively high risk pregnancies. *N Engl J Med* 1989;321:351–6. (Level I)
- [103]

- [104] Roberge S, Nicolaides K, Demers S, Hyett J, Chaillet N, Bujold E. The role of aspirin dose on the prevention of preeclampsia and fetal growth restriction: systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2017; 216:110–20.e6. (Systematic Review and Meta-Analysis)
- [105] Rolnik DL, Nicolaides KH, Poon LC. Prevention of preeclampsia with aspirin. *Am J Obstet Gynecol*. 2022 Feb;226(2S):S1108-S1119. doi: 10.1016/j.ajog.2020.08.045. Epub 2020 Aug 21. PMID: 32835720.
- [106] Gestational hypertension and preeclampsia. ACOG Practice Bulletin No. 222. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2020;135:e237–60.
- [107] Hayakawa S, Fujikawa T, Fukuoka H, et al. Murine fetal resorption and experimental preeclampsia are induced by both excessive Th1 and Th2 activation. *J Reprod Immunol*. 2000;47:121–38.
- [108] Saito S, Sakai M. Th1/Th2 balance in preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2003;59:161–73.
- [109] Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180:499–506.
- [110] 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.
- [111] Javandoust Gharehbagh F, Soltani-Zangbar MS, Yousefzadeh Y. Immunological mechanisms in preeclampsia: A narrative review. *J Reprod Immunol*. 2024 Aug;164:104282
- [112] 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.
- [113] Zhang J. Partner change, birth interval and risk of pre-eclampsia: a paradoxical triangle. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2007;21 Suppl 1:31-5.
- [114] 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.
- [115] Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol*. 2005;6(12):1191–7.
- [116] Headland SE, Norling LV. The resolution of inflammation: principles and challenges. *Semin Immunol*. 2015;27(3):149–60.
- [117] Schminkey DL, Groer M. Imitating a stress response: a new hypothesis about the innate immune system's role in pregnancy. *Med Hypotheses*. 2014;82(6):721–9.
- [118] LiM, PiaoL, ChenCP, WuX, YehCC, MaschR, et al. Modulation of decidual macrophage polarization by macrophage colony-stimulating factor derived from first-trimester decidual cells: implication in preeclampsia. *Am J Pathol*. 2016;186(5): 1258–66.

- [119] Resolution of inflammation pathways in preeclampsia-a narrative review. *Immunol Res.* 2017 Aug;65(4):774-789
- [120] 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.
- [121] Mohaupt MG. C-reactive protein and its role in preeclampsia. *Hypertension.* 2015 Feb;65(2):285-6.
- [122] Rebelo F, Schlüssel MM, Vaz JS, Franco-Sena AB, Pinto TJ, Bastos FI, Adegboye AR, Kac G. C-reactive protein and later preeclampsia: systematic review and meta-analysis taking into account the weight status. *J Hypertens.* 2013;31:16–26
- [123] Kusuma, A. A. N. J., Darmayasa, I. M., Widiyanti, E. S., & Maharta, I. G. B. A. (2024). High C-Reactive Protein Serum Levels as a Risk Factor for Preeclampsia. *European Journal of Medical and Health Sciences*, 6(4), 9–14.
- [124] Dr. Mohan Lal Meena, Dr. Kusum Meena, Dr. BS Meena, Dr. Chitra Gidwani. Serum C - reactive protein in normal pregnancy and preeclampsia- a comparative study. *Int J Clin Obstet Gynaecol* 2019;3(2):141-145.
- [125] Kay HH, Zhu S, Tsoi S. Hypoxia and lactate production in trophoblast cells. *Placenta* 2007;28:854-860.
- [126] Tompkins MJ, Thiagarajah S. HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count) syndrome: the benefit of corticosteroids. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:304-309.
- [127] Jaiswar SP, Gupta A, Sachan R, Natu SN, Shaili M. Lactic dehydrogenase: a biochemical marker for preeclampsia-eclampsia. *J Obstet Gynaecol India.* 2011 Dec;61(6):645-8. doi: 10.1007/s13224-011-0093-9. Epub 2012 Jan 4.
- [128] Kim JY, Seo C, Pak H, Lim H, Chang TI. Uric Acid and Risk of Cardiovascular Disease and Mortality: A Longitudinal Cohort Study. *J Korean Med Sci.* 2023 Sep;38(38):e302.
- [129] Sapart E, Faria M, Dierckx S, Durez P and Fonseca JE (2022) Editorial: Risk factors for Rheumatoid Arthritis and pre-Rheumatoid Arthritis. *Front. Med.*
- [130] Liu, L. *et al.* Dose–response association between serum uric acid levels and incident hypertension: A systematic review and meta-analysis of 17 prospective cohort studies of 32 thousand participants. *Acta Cardiol.* **15**, 1–6 (2020).
- [131] Colmenares-Mejia, C.C., Quintero-Lesmes, D.C., Bautista-Niño, P.K. *et al.* Uric acid and risk of pre-eclampsia: results from a large case–control study and meta-analysis of prospective studies. *Sci Rep* **13**, 3018 (2023)

- [132] Nakagawa, T., Kang, DH. & Johnson, R.J. An elevation in serum uric acid precedes the development of preeclampsia. *Hypertens Res* **46**, 809–811 (2023).
- [133] Bainbridge SA, Roberts JM. Uric acid as a pathogenic factor in preeclampsia. *Placenta*. 2008;29:67–72.
- [134] Chen Q, Lau S, Tong M, Wei J, Shen F, Zhao J, et al. Serum uric acid may not be involved in the development of preeclampsia. *J Hum Hypertens*. 2016;30:136–140
- [135] Fasshauer M., Blüher M. Adipokines in Health and Disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 2015;36:461–470.
- [136] Metz S., Huang L.O., Kilpeläinen T.O. Genetic Variation, Adipokines, and Cardiometabolic Disease. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2020;52:33–39. doi: 10.1016/j.coph.2020.04.006
- [137] Ohashi K., Parker J.L., Ouchi N., Higuchi A., Vita J.A., Gokce N., Pedersen A.A., Kalthoff C., Tullin S., Sams A., et al. Adiponectin Promotes Macrophage Polarization toward an Anti-Inflammatory Phenotype. *J. Biol. Chem.* 2010;285:6153.
- [138] Yao J., Wu D., Qiu Y. Adipose Tissue Macrophage in Obesity-Associated Metabolic Diseases. *Front. Immunol.* 2022;13:977485. doi: 10.3389/fimmu.2022.977485.
- [139] [J Matern Fetal Neonatal Med.](#) Author manuscript; available in PMC 2021 Jun 24.
Published in final edited form as: [J Matern Fetal Neonatal Med. 2020 Aug; 33\(16\): 2812–2817.](#)
- Bawah, A.T., Yeboah, F.A., Nanga, S. *et al.* Serum adipocytokines and adiposity as predictive indices of preeclampsia. *Clin Hypertens* **26**, 19 (2020)
- [140] Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, Macphee CH, Smith SA. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;300:472–476.
- [141] Minn AH, Patterson NB, Pack S, Hoffmann SC, Gavrilova O, Vinson C, Harlan DM, Shalev A. Resistin is expressed in pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;310:641–645.
- [142] McTernan CL, McTernan PG, Harte AL, Levick PL, Barnett AH, Kumar S. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. *Lancet* 2002;359:46–47.
- [143] Yura S, Sagawa N, Itoh H, Kakui K, Nuamah MA, Korita D, Takemura M, Fujii S. Resistin is expressed in the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:1394–1397.
- [144] Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, VidalPuig A, Considine RV, O'Rahilly S. Resistin/Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes*. 2001;50:2199–220V2.

- [145] Silswal N, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyay S, Ghosh S, Ehtesham NZ. Human resistin stimulates the pro-inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-12 in macrophages by NFkappaBdependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;334:1092–1101.
- [146] Chen D, Dong M, Fang Q, He J, Wang Z, Yang X. Alterations of serum resistin in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Clin. Sci. (Lond.)* 2005;108:81–84.
- [147] Yura S, Sagawa N, Itoh H, et al., Resistin is expressed in the human placenta, *J Clin Endocrinol Metab*. 88 (2003) 1394–1397.
- [148] Song Y, Gao J, Qu Y, Wang S, Wang X, Liu J. Serum levels of leptin, adiponectin and resistin in relation to clinical characteristics in normal pregnancy and preeclampsia. *Clin Chim Acta*. 2016 Jul 1;458:133-7.
- [149] Seol HJ, Oh MJ, Yeo MK, Kim A, Lee ES, Kim HJ, Comparison of serum levels and the placental expression of resistin between patients with preeclampsia and normal pregnant women, *Hypertens Pregnancy*. 29 (2010) 310-317.
- [150] Nanda S, Poon LC, Muhaisen M, et al. Maternal serum resistin at 11 to 13 weeks' gestation in normal and pathological pregnancies. *Metabolism*. 2012;61(5):699–705.
- [151] Ito A, Suganami T, Miyamoto Y, Yoshimasa Y, Takeya M, Kamei Y, et al. Role of MAPK phosphatase-1 in the induction of monocyte chemoattractant protein-1 during the course of adipocyte hypertrophy. *J Biol Chem*. 2007;282:25445–25452
- [152] Denison FC, Kelly RW, Calder AA, Riley SC. Cytokine secretion by human fetal membranes, decidua and placenta at term. *Hum Reprod*. 1998; 13:3560-3565.
- [153] Denison FC, Kelly RW, Calder AA. Differential secretion of chemokines from peripheral blood in pregnant compared with non-pregnant women. *J Reprod Immunol*. 1997;34:225-240.
- [154] Kayisli UA, Mahutte NG, Arici A. Uterine chemokines in reproductive physiology and pathology. *Am J Reprod Immunol*. 2002; 47:213-221.
- [155] Jokhi PP, Chumbley G, King A, Gardner L, Loke YW. Expression of the colony stimulating factor-1 receptor (c-fms product) by cells at the human uteroplacental interface. *Lab Invest*. 1993; 68:308-320.
- [156] Correlation between MCP-1 and TNF α in maternal plasma, fetal plasma and placenta in patients with pre-eclampsia Marta Ribeiro Hentschke, Rayssa Ruszkowski Do Amaral, Gustavo Raupp, Vitoria Piccinini, Carlos Poli-de-Figueiredo, Bartira Pinheiro Da Costa (Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto alegre, Brazil)
- [157] Maus U, Henning S, Wenschuh H, Mayer K, Seeger W, Lohmeyer J. Role of endothelial MCP-1 in monocyte adhesion to inflamed human endothelium under physiological flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Dec;283(6):H2584-91. ...

- [158] Lockwood, C. J., Matta, P., Krikun, G., Koopman, L. A., Masch, R., Toti, P., ... Schatz, F. (2006). Regulation of Monocyte Chemoattractant Protein-1 Expression by Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-1 β in First Trimester Human Decidual Cells. *The American Journal of Pathology*, 168(2), 445–452.
- [159] Arafah Salmah, Natzir Rosdiana, Rauf Syahrul, Hatta Mochammad, Patiku Yudit, Saleh Ariyanti. *Indian Journal of Public Health Research & Development*. 2018; 9: 300-304
- [160] Rattik S, Wigren M, Björkbacka H, et al. High plasma levels of heparin-binding epidermal growth factor are associated with a more stable plaque phenotype and reduced incidence of coronary events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35:222-228.
- [161] Mehta V, Zhou Y, Radulesen A, Besner G. HB-EGF stimulates eNOS expression and nitric oxide production and promotes eNOS dependent angiogenesis. *Growth Factors* 2008;26:301-315.
- [162] Yoo HJ, Barlow DH, Mardon HJ. Temporal and spatial regulation of expression of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in the human endometrium: a possible role in blastocyst implantation. *Dev Genet*. 1997;21:102–108.
- [163] Paria BC, Ma W, Tan J, et al. Cellular and molecular responses of the uterus to embryo implantation can be elicited by locally applied growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98: 1047–1052.
- [164] Michalsky MP, Kuhn A, Mehta V, Besner GE. Heparin-binding EGF-like growth factor decreases apoptosis in intestinal epithelial cells in vitro. *J Pediatr Surg*. 2001;36:1130–1135.
- [165] Martin KL, Barlow DH, Sargent IL. Heparin-binding epidermal growth factor significantly improves human blastocyst development and hatching in serum-free medium. *Hum Reprod*. 1998;13:1645–1652.
- [166] Leach RE, Romero R, Kim YM, Chaiworapongsa T, Kilburn B, Das SK, Dey SK, Johnson A, Qureshi F, Jacques S, Armant DR. Pre-eclampsia and expression of heparin-binding EGF-like growth factor. *Lancet*. 2002 Oct 19;360(9341):1215-9.
- [167] Wang J, Mayernik L, Schultz JF, Armant DR. Acceleration of trophoblast differentiation by heparin-binding EGF-like growth factor is dependent on the stage-specific activation of calcium influx by ErbB receptors in developing mouse blastocysts. *Development*. 2000;127:33–44.
- [167] Sack, G.H. Serum amyloid A – a review. *Mol Med* **24**, 46 (2018). <https://doi.org/10.1186/s10020-018-0047-0>
- [168] Uhlar CM, Whitehead AS. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem*. 1999;265:501-523.
- [169] Zhao Y, He X, Shi X, Huang C, Liu J, Zhou S, Heng CK. Association between serum amyloid A and obesity: a meta-analysis and systematic review. *Inflamm Res*. 2010;59:323- 334.

- [170] King VL, Thompson J, Tannock LR. Serum amyloid A in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2011;22:302-307.
- [171] Poitou C, Coussieu C, Rouault C, Coupaye M, Canello R, Bedel JF, Gouillon M, Bouillot JL, Oppert JM, Basdevant A, Clément K. Serum amyloid A: a marker of adiposity- induced low-grade inflammation but not of metabolic status. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14:309-318.
- [172] Vaisar T, Tang C, Babenko I, Hutchins P, Wimberger J, Suffredini AF, Heinecke JW. Inflammatory remodeling of the HDL proteome impairs cholesterol efflux capacity. *J Lipid Res*. 2015;56:1519-1530.
- [173] Tölle M, Huang T, Schuchardt M, Jankowski V, Prüfer N, Jankowski J, Tietge UJ, Zidek W, van der Giet M. High-density lipoprotein loses its anti-inflammatory capacity by accumulation of pro-inflammatory-serum amyloid A. *Cardiovasc Res*. 2012;94:154-162.
- [174] Sacks GP, Studena K, Sargent K, Redman CW: Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:80– 86.
- [175] Gan, X.-W.; Wang, W.-S.; Lu, J.-W.; Ling, L.-J.; Zhou, Q.; Zhang, H.-J.; Ying, H.; Sun, K. De Novo Synthesis of SAA1 in the Placenta Participates in Parturition. *Front. Immunol*. **2020**, 11, 1038.
- [176] Mohammed, Ashraf Hamdy; Elboghdady, Adel Aly; and El-Latif, Abd El-Aty Khairy Abd (2023) "Role of Serum Amyloid A Levels in Preeclampsia," *Al-Azhar International Medical Journal*: Vol. 4: Iss. 7, Article 24.
- [177] Wild R, Feingold KR. Effect of Pregnancy on Lipid Metabolism and Lipoprotein Levels. NCBI Bookshelf. 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK498654/> (Assmann 1982; Asztalos et al. 2011; Mahlei et al. 1984) [153]
- [178] Lager S, Powell TL. Regulation of nutrient transport across the placenta. *J Pregnancy*. 2012 Dec 10;2012:2012:179827. doi:10.1155/2012/179827
- [179] Herman M. Utjecaj prehrane na sadržaj lipida u tkivu posteljice i krvi trudnice i fetusa [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2021.
- [180] Wild R, Feingold KR. Effect of pregnancy on lipid metabolism and lipoprotein levels. *Endotext* [Internet] South Dartmouth (MA): MDText.com; 2000-. [ažurirano 2023 Mar 3; pristupljeno 2024 Jun 7]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK498654>
- [181] Jayalekshmi VS, Ramachandran S. Maternal cholesterol levels during gestation: boon or bane for the offspring? *Mol Cell Biochem*. 2021 Jan;476(1):401-416.
- [182] Ben-Aicha S, Badimon L, Vilahur G. Advances in HDL: Much More than Lipid Transporters. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(3):732.

- [183] Mshelia DS, Kullim AA. The Importance of Lipid and Lipoproteins in Ratios in Interpretations of Hyperlipidaemia of Pregnancy. *Lipoproteins - Role in Health and Diseases*. InTech; 2012. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/46064>
- [184] Kontush A, Chapman MJ. Antiatherogenic function of HDL particle subpopulations: focus on antioxidative activities. *Current Opinion in Lipidology*. 2010 Aug;21(4):312-318.
- [185] Nikkilä EA, Taskinen MR, Sane T. Plasma high-density lipoprotein concentration and subfraction distribution in relation to triglyceride metabolism. *Am Heart J*. 1987;113(2 Pt 2):543-548.
- [186] Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease: the Framingham Study. *Am J Med*. 1977;62:707-14.
- [187] Mshelia DS, Kullim AA. The Importance of Lipid and Lipoproteins in Ratios in Interpretations of Hyperlipidaemia of Pregnancy. *Lipoproteins - Role in Health and Diseases*. InTech; 2012. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/46064>
- [188] Wild R, Feingold KR. Effect of Pregnancy on Lipid Metabolism and Lipoprotein Levels. In: *Endotext*. MDText.com, Inc., South Dartmouth (MA); 2000. PMID: 29714937.
- [189] Lappegård KT, Kjellmo CA, Hovland A. High-Density Lipoprotein Subfractions: Much Ado about Nothing or Clinically Important? *Biomedicines*. 2021 Jul 18;9(7):836.
- [190] Rached FH, Chapman MJ, Kontush A. HDL particle subpopulations: Focus on biological function. *Biofactors*. 2015;41:67-77.
- [191] Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease: the Framingham Study. *Am J Med*. 1977;62:707-14.
- [192] Rached FH, Chapman MJ, Kontush A. HDL particle subpopulations: Focus on biological function. *Biofactors*. 2015;41:67-77.
- [193] High Density Lipoproteins, Dyslipidemia, and Coronary Heart Disease by Ernst J. Schaefer, Ernst J. Schaefer
- [194] Karlsson H, Kontush A, James RW. Functionality of HDL: antioxidation and detoxifying effects. *Handb Exp Pharmacol*. 2015;224:207-228.
- [195] Ispitivanje kvalitativnih i kvantitativnih karakteristika lipoproteina visoke gustine i njihove povezanosti sa markerima dislipidemije i metaboličkog sindroma : doktorska disertacija. Beograd: [J. M. Janać], 2021. <http://phaidrabi.bg.ac.rs/o:24853>
- [196] Serum Paraoxonase (PON1) and its Interactions with HDL: Relationship between PON1 and Oxidative Stress. Jelena Vekic, Jelena Kotur-Stevuljevic, Aleksandra Zeljkovic, Aleksandra Stefanovic, Zorana Jelic-Ivanovic, Slavica Spasic, Vesna Spasojevic-Kalimanovska. *The HDL Handbook*. ISBN: 978-0-12-382171-3

- [197] Longitudinal changes in PON1 activities, PON1 phenotype distribution and oxidative status throughout normal pregnancy. Aleksandra Stefanović, Daniela Ardalic, Jelena Kotur-Stevuljević, Ana Vujovic, Slavica Spasica, Vesna Spasojević-Kalimanovska, Zorana Jelic-Ivanovica, Vesna Mandic-Markovic, Zeljko Mikovic, Nikola Cerovic. *Reproductive Toxicology*. 2012;33: 20–26
- [198] Belo L, Caslake M, Gaffney D, Santos-Silva A, Pereira-Leite L, Quintanilha A, Rebelo I. Changes in LDL size and HDL concentration in normal and preeclamptic pregnancies. *Atherosclerosis*. 2002 Jun;162(2):425-32.
- [199] Melhem, H., Kallol, S., Huang, X. *et al*. Placental secretion of apolipoprotein A1 and E: the anti-atherogenic impact of the placenta. *Sci Rep* **9**, 6225 (2019)
- [200] Liu Z, Pei J, Zhang X, Wang C, Tang Y, Liu H, Yu Y, Luo S, Gu W. APOA1 Is a Novel Marker for Preeclampsia. *Int J Mol Sci*. 2023 Nov 15;24(22):16363. doi: 10.3390/ijms242216363.
- [201] Furlong CE, Marsillach J, Jarvik GP, Costa LG. Paraoxonases-1, -2 and -3: What are their functions? *Chem Biol Interact*. 2016;259(Pt B):51-62.
- [202] Karlsson H, Kontush A, James RW. Functionality of HDL: antioxidation and detoxifying effects. *Handb Exp Pharmacol*. 2015;224:207-228.
- [203] The role of the paraoxonases in pre-eclampsia and labour
Alwarfaly, Samy (2015) *The role of the paraoxonases in pre-eclampsia and labour*. MRes thesis, University of Glasgow.
- [204] Pokazatelj oksidativnog stresa, lipidni profil i status enzima paraoksonaza 1 tokom trudnoće bez komplikacija i nakon porođaja : doktorska disertacija. Beograd : [D. Č. Ardalić], 2014. <http://phaidrabg.bg.ac.rs/o:9541>
- [205] Huen K, Harley K, Bradman A, Eskenazi B, Holland N. Longitudinal changes in PON1 enzymatic activities in Mexican-American mothers and children with different genotypes and haplotypes. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2010;244:181-189.
- [206] Jiang C, Chen M, Wu Y, Bai H, Liu X, Fan P. Longitudinal changes of oxidative stress and PON1 lactonase activity and status in older pregnant women undergoing assisted reproductive technology: a prospective nested case-control study. *Reprod Biol Endocrinol*. 2023 Oct 26;21(1):97
- [207] Antipova N.V., Levakov S.A., Sheshukova N.A., Obukhova E.A., Pavlyukov M.S., Shakhparonov M.I. Placental expression level of the PON1, PON2, and PON3 genes in patients with uncomplicated pregnancy and preeclampsia // *Obstetrics and Gynecology*. - 2018. - N. 7. - P. 40-44.
- [208] Uzun, H.; Benian, A.; Madazlı, R.; Topçuoğlu, M.A.; Aydın, S.; Albayrak, M. Circulating oxidized low-density lipoprotein and paraoxonase activity in preeclampsia. *Gynecol. Obstet. Investig*. **2005**, *60*, 195–200.

- [209] Demir, B.U.; Demir, S.; Atamer, Y.; Guven, S.; Atamer, A.; Kocyigit, Y.; Hekimoglu, A.; Toprak, G. Serum levels of lipids, lipoproteins and paraoxonase activity in pre-eclampsia. *J. Int. Med. Res.* **2011**, *39*, 1427–1431
- [210] Genc, H.; Uzun, H.; Benian, A.; Simsek, G.; Gelisgen, R.; Madazli, R.; Güralp, O. Evaluation of oxidative stress markers in first trimester for assessment of preeclampsia risk. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2011**, *284*, 1367–1373.
- [211] National Institute for Health and Care Excellence. Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. 2019. Available at: www.nice.org.uk/guidance/ng133. Accessed September 21, 2020.
- [212] ACOG. First-trimester risk assessment for early-onset preeclampsia. Committee opinion No. 638. *ObstetGynecol.* 2015;126:e25–27.
- [213] Roberts L, Chaemsaitong P, Sahota DS, Nicolaides KH, Poon LCY. Protocol for measurement of mean arterial pressure at 10–40 weeks’ gestation. *Pregnancy Hypertens.* 2017;10:155–60.
- [214] Plasencia W, Maiz N, Bonino S, Kaihura C, Nicolaides KH. Uterine artery Doppler at 11 + 0 to 13 + 6 weeks in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;30(5):742–9.
- [215] Rainwater DL, Moore PH, Gamboa IO. Improved method for making nondenaturing composite gradient gels for the electrophoretic separation of lipoproteins. *J Lipid Res* 2004;45:773–775.
- [216] Richter RJ, Furlong CE. Determination of paraoxonase (PON1) status requires more than genotyping. *Pharmacogenetics* 1999;9:745–753.
- [217] Vekic J, Topic A, Zeljkovic A, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V. LDL and HDL subclasses and their relationship with Framingham risk score in middle-aged Serbian population. *Clin Biochem.* 2007 Mar;40(5-6):310–6
- [218] Vekic J, Kotur-Stevuljevic J, Jelic-Ivanovic Z, Spasic S, Spasojevic-Kalimanovska V, Topic A, Zeljkovic A, Stefanovic A, Zunic G. Association of oxidative stress and PON1 with LDL and HDL particle size in middle-aged subjects. *Eur J Clin Invest.* 2007 Sep;37(9):715–23.
- [219] Çorbacıoğlu ŞK, Aksel G. Receiver operating characteristic curve analysis in diagnostic accuracy studies: A guide to interpreting the area under the curve value. *Turk J Emerg Med.* 2023 Oct 3;23(4):195–198.
- [220] Wang, W., Xie, X., Yuan, T. *et al.* Epidemiological trends of maternal hypertensive disorders of pregnancy at the global, regional, and national levels: a population-based study. *BMC Pregnancy Childbirth* **21**, 364 (2021)

- [221]Michalczyk, Michał, Celewicz, Aleksander, Celewicz, Marta, Woźniakowska Gondek, Paula, Rzepka, Rafał, The Role of Inflammation in the Pathogenesis of Preeclampsia, *Mediators of Inflammation*, 2020, 3864941, 9 pages, 2020.
- [222] Rola Hamadeh, Amani Mohsen, Firas Kobeissy, Ali Karouni, Hikmat Akoum; C-Reactive Protein for Prediction or Early Detection of Pre-Eclampsia: A Systematic Review. *Gynecol Obstet Invest* 20 May 2021; 86 (1-2): 13–26...
- [223] Kaibara M, Marumoto Y, Kobayashi T. [Hemodilution and anemia in pregnancy and fetal development]. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*. 1984 Oct;36(10):1893-900. Japanese. PMID: 6501970.
- [224] Schneider S, Freerksen N, Röhrig S, Hoeft B, Maul H. Gestational diabetes and preeclampsia--similar risk factor profiles? *Early Hum Dev*. 2012 Mar;88(3):179-84. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2011.08.004. Epub 2011 Sep 3. PMID: 21890288.
- [225] Nerenberg KA, Johnson JA, Leung B, Savu A, Ryan EA, Chik CL, Kaul P. Risks of gestational diabetes and preeclampsia over the last decade in a cohort of Alberta women. *J Obstet Gynaecol Can*. 2013 Nov;35(11):986-994. doi: 10.1016/S1701-2163(15)30786-6. PMID: 24246398.
- [226] Abdelrahman, R.M., Zaroog, M.S., Abdalla, B.E., Hamza, M.A. and Mohamed, M.E. (2022) Renal Function in Preeclamptics versus Normal Pregnant Women. *Journal of Biosciences and Medicines*, 10, 169-178.
- [227] Tesfa E, Munshea A, Nibret E, Mekonnen D, Sinishaw MA, Gizaw ST. Maternal serum uric acid, creatinine and blood urea levels in the prediction of pre-eclampsia among pregnant women attending ANC and delivery services at Bahir Dar city public hospitals, northwest Ethiopia: A case-control study. *Heliyon*. 2022 Oct 14;8(10):e11098
- [228] Zhang Y, Qian Y, Liu C, Fan X, Li X, Song Y, Fan Y, Hu Z, Yang J. Association between white blood cell count and adverse pregnancy outcomes: a retrospective cohort study from a tertiary hospital in China. *BMJ Open*. 2023 Nov 22;13(11):e072633
- [229] Dai DM, Cao J, Yang HM, Sun HM, Su Y, Chen YY, Fang X, Xu WB. Hematocrit and plasma albumin levels difference may be a potential biomarker to discriminate preeclampsia and eclampsia in patients with hypertensive disorders of pregnancy. *Clin Chim Acta*. 2017 Jan;464:218-222.
- [230] Zhu, J., Li, Z., Deng, Y. *et al*. Comprehensive reference intervals for white blood cell counts during pregnancy. *BMC Pregnancy Childbirth* **24**, 35 (2024)

- [231] Martin JN, Jr, May WL, Magann EF, et al. Early risk assessment of severe preeclampsia: admission battery of symptoms and laboratory tests to predict likelihood of subsequent significant maternal morbidity. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180:1407–1414.
- [232] Woldeamanuel GG, Tlaye KG, Wu L, Poon LC, Wang CC. Platelet count in preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol MFM*. 2023 Jul;5(7):100979.
- [233] Verlohren S, Brennecke SP, Galindo A, Karumanchi SA, Mirkovic LB, Schlembach D, Stepan H, Vatish M, Zeisler H, Rana S. Clinical interpretation and implementation of the sFlt-1/PlGF ratio in the prediction, diagnosis and management of preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2022 Mar;27:42-50.
- [234] Stepan H, Herraiz I, Schlembach D, Verlohren S, Brennecke S, Chantraine F, Klein E, Lapaire O, Llubra E, Ramoni A, Vatish M, Wertaschnigg D, Galindo A. Implementation of the sFlt-1/PlGF ratio for prediction and diagnosis of pre-eclampsia in singleton pregnancy: implications for clinical practice. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015 Mar;45(3):241-6.
- [235] Trottman F, Raio L, Amylidi-Mohr S, et al. Soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1): A novel biochemical marker for acute fatty liver of pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2021;100:1876–1884.
- [236] Kumar N, Das V, Agarwal A, Agrawal S. Correlation of sFlt/PlGF ratio with severity of preeclampsia in an Indian population. *AJOG Glob Rep*. 2023 Feb 7;3(2):100177.
- [237] Sayyed AAK, Pratinidhi SA. High sensitive C reactive protein as an inflammatory indicator in preeclampsia. *Int J Res Med Sci* 2020;8:3002-
- [238] Amini E., Sheikh M., Hantoushzadeh S., Shariat M., Abdollahi A., Kashanian M. (2014). Maternal hyperuricemia in normotensive singleton pregnancy, a prenatal finding with continuous perinatal and postnatal effects, a prospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth* 14:104. 10.1186/1471-2393-14-104
- [239] Khaliq O. P., Konoshita T., Moodley J., Naicker T. (2018). The role of uric acid in preeclampsia: is uric acid a causative factor or a sign of preeclampsia? *Curr. Hypertens. Rep.* 20:80
- [240] Roberts J. M., Bodnar L. M., Lain K. Y., Hubel C. A., Markovic N., Ness R. B., et al. (2005). Uric acid is as important as proteinuria in identifying fetal risk in women with gestational hypertension. *Hypertension* 46 1263–1269.
- [241] Mulla M. J., Myrtolli K., Potter J., Boeras C., Kavathas P. B., Sfakianaki A. K., et al. (2011). Uric acid induces trophoblast IL-1 β production via the inflammasome: implications for the pathogenesis of preeclampsia. *Am. J. Reprod. Immunol.* 65 542–548.

- [242] Corominas A. I., Balconi S. M., Palermo M., Maskin B., Damiano A. E. (2014). Serum uric acid levels and risk of developing preeclampsia. *Medicina* 74 462–471.
- [243] Corominas AI, Medina Y, Balconi S, Casale R, Farina M, Martínez N and Damiano AE (2022) Assessing the Role of Uric Acid as a Predictor of Preeclampsia. *Front. Physiol.* 12:785219
- [244] Saleem FR, Chandru S, Biswas M. Evaluation of total LDH and its isoenzymes as markers in preeclampsia. *J Med Biochem.* 2020 Sep 2;39(3):392-398.
- [245] Qublan HS, Amarun V, Bateinen O, et al. LDH as biochemical marker of adverse pregnancy outcome in severe preeclampsia. *Med Sci Monit.* 2005;11:393–397
- [246] Jaiswar SP, Gupta A, Sachan R, Natu SN, Shaili M. Lactic dehydrogenase: a biochemical marker for preeclampsia-eclampsia. *J Obstet Gynaecol India.* 2011 Dec;61(6):645-8.
- [247] Sitotaw C, Asrie F, Melku M. Evaluation of platelet and white cell parameters among pregnant women with Preeclampsia in Gondar, Northwest Ethiopia: A comparative cross-sectional study. *Pregnancy Hypertens.* 2018 Jul;13:242-247.
- [248] Bayram F, Karaşin SS. The predictive role of neutrophil-lymphocyte ratio, platelet lymphocyte ratio, and other complete blood count parameters in eclampsia and HELLP syndrome. *J Surg Med.* 2021;5(12):1202-1205.
- [249] Morisaki, N., Piedvache, A., Nagata, C. *et al.* Maternal blood count parameters of chronic inflammation by gestational age and their associations with risk of preterm delivery in the Japan Environment and Children's Study. *Sci Rep* **11**, 15522 (2021).
- [250] Weyand AC, McGann PT. Eliminating race-based reference ranges in haematology: a call to action. *Lancet Haematol.* 2021 Jun;8(6):e462-e466.
- [251] Kassahun W, Kidanewold A, Koira G, Biresaw G, Shiferaw M. Hematological predictors of preeclampsia among pregnant women attending ante-natal clinic at Arba Minch General Hospital, South Ethiopia: A comparative cross-sectional study. *Pract Lab Med.* 2024 Jan 19;39:e00362.
- [252] Alterations of serum resistin in normal pregnancy and pre-eclampsia Danqing CHEN, Minyue DONG, Qin FANG, Jing HE, Zhengping WANG and Xiaofu YANG *Clinical Science* (2005) 108, 81–84 (Printed in Great Britain).
- [253] Y Song, J Gao, Y Qu, S Wang, X Wang, J Liu., Serum levels of leptin, adiponectin and resistin in relation to clinical characteristics in normal pregnancy and preeclampsia, *Clinica Chimica Acta*, 458 (2016), 133-137

- [254] Seol HJ, Oh MJ, Yeo MK, Kim A, Lee ES, Kim HJ. Comparison of serum levels and the placental expression of resistin between patients with preeclampsia and normal pregnant women. *Hypertens Pregnancy*. 2010;29:310-7.
- [255] Nandaa S, Poona L, Muhaisena M, Acostaa I, Nicolaides K., Maternal serum resistin at 11 to 13 weeks' gestation in normal and pathological pregnancies, *Metabolism clinical and experimental* 61(2012)699-705.
- [256] Brieland JK, Jones ML, Flory CM, et al. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) by rat alveolar macrophages during chronic lung injury. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 1993;9(3):300–305.
- [257] Denison FC, Kelly RW, Calder AA, Riley SC. Cytokine secretion by human fetal membranes, decidua and placenta at term. *Human Reproduction*. 1998;13(12):3560–3565.
- [258] Denison FC, Kelly RW, Calder AA. Differential secretion of chemokines from peripheral blood in pregnant compared with non-pregnant women. *Journal of Reproductive Immunology*. 1997;34(3):225–240
- [259] Jemaa R, Ben Ali S, Kallel A, Omar S, Feki M, Elasm M et al. Association between the –2518G/A polymorphism in the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene and hypertension in Tunisian patients. *Clinical Biochemistry* 2009;42: 34–37.
- [260] Katabuchi H, Yih S, Ohba T, et al. Characterization of macrophages in the decidual atherotic spiral artery with special reference to the cytology of foam cells. *Medical Electron Microscopy*. 2003;36(4):253–262.
- [261] Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, et al. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *J Pathol*. 2013; 229: 176–185.
- [262] Lu H, Hu R. The role of immunity in the pathogenesis and development of pre-eclampsia. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2019; 90: e12756.
- [263] Lockwood, CJ, Matta P, Krikun G, Koopman LA, Masch R, Toti P, Schatz F. Regulation of Monocyte Chemoattractant Protein-1 Expression by Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-1 β in First Trimester Human Decidual Cells. *Am. J. Pathol*. 2006; 168: 445–452.
- [264] Ma, Yu MD, PhD^a; Ye, Yao MD, PhD^b; Zhang, Jin MD^a; Ruan, Cheng-Chao PhD^{a,c,*}; Gao, Ping-Jin MD, PhD^{a,c}. Immune imbalance is associated with the development of preeclampsia. *Medicine* 98(14):p e15080, April 2019.

- [265] G. Xu, M.J. Guimond, C. Chakraborty, P.K. Lala, Control of proliferation, migration, and invasiveness of human extravillous trophoblast by decorin, a decidual product, *Biol. Reprod.* 67 (2) (2002) 681–689 (in Eng).
- [266] P.K. Lala, C. Chakraborty, Factors regulating trophoblast migration and invasiveness: possible derangements contributing to pre-eclampsia and fetal injury, *Placenta* 24 (6) (2003) 575–587 (in Eng).
- [267] R.E. Leach, B. Kilburn, J. Wang, Z. Liu, R. Romero, D.R. Armant, Heparin-binding EGF-like growth factor regulates human extravillous cytotrophoblast development during conversion to the invasive phenotype, *Dev. Biol.* 266 (2) (2004) 223–237 (in Eng).
- [268] Leach, R. E., Romero, R., Kim, Y. M., Chaiworapongsa, T., Kilburn, B., Das, S. K., Armant, D. R. (2002). *Pre-eclampsia and expression of heparin-binding EGF-like growth factor. The Lancet*, 360(9341), 1215–1219.
- [269] H.J. Lim, S.K. Dey, HB-EGF: a unique mediator of embryo-uterine interactions during implantation, *Exp. Cell Res.* 315 (4) (2009) 619–626 (in Eng).
- [270] Charkiewicz, K., Jasinska, E., Goscik, J., Koc-Zorawska, E., Zorawski, M., Kuc, P., ... Laudanski, P. (2018). Angiogenic factor screening in women with mild preeclampsia – New and significant proteins in plasma. *Cytokine*, 106, 125–130
- [271] T. Okura, et al., Platelet-derived growth factor induces apoptosis in vascular smooth muscle cells: roles of the Bcl-2 family, *Biochim. Biophys. Acta* 1403 (3) (1998) 245–253 (in Eng).
- [272] Uhlar CM, Whitehead AS. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem.* 1999;265:501-523.
- [273] Sack GH Jr. Serum amyloid A - a review. *Mol Med.* 2018;24:46.
- [274] King VL, Thompson J, Tannock LR. Serum amyloid A in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2011;22:302-307
- [275] Kushner I. The phenomenon of the acute phase response. *Ann N Y Acad Sci.* 1982;389:39-48.
- [276] Kristensen K, Wide-Swensson D, Lindstrom V, Schmidt C, Grubb A, Strevens H. Serum amyloid a protein and C-reactive protein in normal pregnancy and preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest.* 2009 Apr 24;67(4):275e280.
- [277] Can M, Sancar E, Harma M, Guven B, Mungan G, Acikgoz S. Inflammatory markers in preeclamptic patients. *Clin Chem Lab Med.* 2011 Sep 1;49(9):1469e1472.
- [278] Jayaraman S, Haupt C, Gursky O. Thermal transitions in serum amyloid A in solution and on the lipid: implications for structure and stability of acute-phase HDL. *J Lipid Res.* 2015 Aug;56(8):1531-42.

- [279] Megumi Sato, Ryunosuke Ohkawa, Akira Yoshimoto, Kouji Yano, Naoya Ichimura, Madoka Nishimori, Shigeo Okubo, Yutaka Yatomi, Minoru Tozuka; Effects of serum amyloid A on the structure and antioxidant ability of high-density lipoprotein. *Biosci Rep* 1 August 2016; 36 (4)
- [280] Jayaraman S, Haupt C, Gursky O. Paradoxical effects of SAA on lipoprotein oxidation suggest a new antioxidant function for SAA. *J Lipid Res.* 2016 Dec;57(12):2138-2149. doi: 10.1194/jlr.M071191. Epub 2016 Oct 15.
- [281] Webb, N.R. High-Density Lipoproteins and Serum Amyloid A (SAA). *Curr Atheroscler Rep* **23**, 7 (2021).
- [282] Adriano Spreafico, Lia Millucci, Lorenzo Ghezzi, Michela Geminiani, Daniela Braconi, Loredana Amato, Federico Chellini, Bruno Frediani, Elena Moretti, Giulia Collodel, Giulia Bernardini, Annalisa Santucci, Antioxidants inhibit SAA formation and pro-inflammatory cytokine release in a human cell model of alkaptonuria, *Rheumatology*, Volume 52, Issue 9, September 2013, Pages 1667–1673
- [283] Ardalić, D. *et al.* (2016) 'Lipid status in physiological non-complicated pregnancy', *Arhiv za farmaciju*, 66(5), pp. 191-206. doi:[10.5937/arhfarm1605191A](https://doi.org/10.5937/arhfarm1605191A).
- [284] Wild R, Weedin EA, Wilson D. Dyslipidemia in Pregnancy. *Cardiol Clin* 2015; 33: 209–15.
- [285] Belo L, Caslake M, Gaffney D. Changes in LDL size and HDL concentration in normal and preeclamptic pregnancies. *Atherosclerosis* 2002;162: 425-32.
- [286] Jin WY, Lin SL, Hou RL, Chen XY, Han T, Jin Y . Associations between maternal lipid profile and pregnancy complications and perinatal outcomes: a population-based study from China. *BMC Pregnancy Childbirth* 2016;21: 16-60.
- [287] Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams DJ. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2007;335(7627):974.
- [288] Mshelia DS, Kullima AA. The importance of lipid and lipoprotein ratios in interpretations of hyperlipidaemia of pregnancy. In: Frank S, Kostner G, Editors, *Lipoproteins-role in health and diseases*, InTech, Croatia, 2012, p. 47-72.
- [289] Okazaki M, Usui S, Tokunaga K, Nakajima Y, Takeichi S, Nakano T, Nakajima K. Hypertriglyceridemia in pregnancy does not contribute to the enhanced formation of remnant lipoprotein particles. *Clin Chim Acta* 2004;339:169-181.
- [290] Serum lipid levels in pregnancies complicated by preeclampsia. Valmir Jose de LimaI , Claudia Roberta de AndradeII, Gustavo Enrico RuschiIII, Nelson SassIV.

- [291] Kosmas CE, Martinez I, Sourlas A, Bouza KV, Campos FN, Torres V, et al. High-density lipoprotein (HDL) functionality and its relevance to atherosclerotic cardiovascular disease. *Drugs Context* 2018;7: 212-525.
- [292] Kontush A. HDL particle number and size as predictors of cardiovascular disease. *Front Pharmacol* 2015; | <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00218>
- [293] [Kontush A](#), [Chapman MJ](#). Antiatherogenic function of HDL particle subpopulations: focus on antioxidative activities. *Curr Opin Lipidol* 2010; 21:312-8.
- [294] Sulaiman WNW, Caslake MJ, Delles Ch, Karlsson H, Mulder MT, Graham D, Freeman DJ. Does high-density lipoprotein protect vascular function in healthy pregnancy? *Clin Sci* 2016; 130: 491–7
- [295] Antić T, Arđalić D, Vladimirov S, Zeljković A, Vekić J, Mitrović M, Ivanišević J, Gojković T, Munjas J, Spasojević-Kalimanovska V, Miković Ž, Stefanović A. Cholesterol Metabolic Profiling of HDL in Women with Late-Onset Preeclampsia. *Int J Mol Sci*. 2023 Jul 12;24(14):11357
- [296] Lee, S.M., Moon, JY., Lim, BY. *et al*. Increased biosynthesis and accumulation of cholesterol in maternal plasma, but not amniotic fluid in pre-eclampsia. *Sci Rep* **9**, 1550 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37757-3>
- [297] Stadler JT, Scharnagl H, Wadsack C, Marsche G. Preeclampsia Affects Lipid Metabolism and HDL Function in Mothers and Their Offspring. *Antioxidants (Basel)*. 2023 Mar 24;12(4):795. doi: 10.3390/antiox12040795. PMID: 37107170; PMCID: PMC10135112.
- [298] [Shah AS](#), [Tan L](#), [Long JL](#), [Davidson WS](#). Proteomic diversity of high density lipoproteins: our emerging understanding of its importance in lipid transport and beyond. *J Lipid Res* 2013; 54: 2575–85.
- [299] Kosmas CE, Martinez I, Sourlas A, Bouza KV, Campos FN, Torres V, et al. High-density lipoprotein (HDL) functionality and its relevance to atherosclerotic cardiovascular disease. *Drugs Context* 2018;7: 212-525.
- [300] Kontush A. HDL particle number and size as predictors of cardiovascular disease. *Front Pharmacol* 2015; | <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00218>
- [301] [Kontush A](#), [Chapman MJ](#). Antiatherogenic function of HDL particle subpopulations: focus on antioxidative activities. *Curr Opin Lipidol* 2010; 21:312-8.
- [302] Zeljkovic A, Vekic J, Spasic S, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V, Gojkovic T, et al. Changes in LDL and HDL Subclasses in Normal Pregnancy and Associations with Birth Weight, Birth Length and Head Circumference. *Matern Child Health J* 2013;17: 556–65.

- [303] Sulaiman WNW, Caslake MJ, Delles Ch, Karlsson H, Mulder MT, Graham D, Freeman DJ. Does high-density lipoprotein protect vascular function in healthy pregnancy? *Clin Sci* 2016; 130: 491–7
- [304] Alvarez JJ, Montelongo A, Iglesias A, Lasuncio MA, Herrera E. Longitudinal study on lipoprotein profile, high density lipoprotein subclass, and postheparin lipases during gestation in women. *Journal of Lipid Research* 1996; 37:299–308.
- [305] Silliman K, Shore V, Forte TM. Hypertriglyceridemia during late pregnancy is associated with the formation of small dense low-density lipoproteins and the presence of large buoyant high-density lipoproteins. *Metabolism* 1994;43: 1035–41.
- [306] G, H. B.; Rao, V. S.; Kakkar, V. V. Friend turns foe: transformation of HDL to proinflammatory HDL during response. *Cholesterol*, 2011, 2011, 274629.
- [307] Kim DS, Marsillach J, Furlong CE, Jarvik GP. Pharmacogenetics of paraoxonase activity: elucidating the role of high-density lipoprotein in disease. *Pharmacogenomics* 2013;14(12): 1495–11.
- [308] Besler C, Heinrich K, Rohrer L, Doerries C, Riwanto M, Shih D.M, et al. Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease. J Clin Invest. 2011; 121: 2693–708.
- [309] Roy AC, Loke DF, Saha N, Viegas OA, Tay JS, Ratnam SS. Inter relationships of serum paraoxonase, serum lipids and apolipoproteins in normal pregnancy. A longitudinal study. *Gynecol Obstet Invest* 1994; 38(1):10–33.
- [310] Kumru S, Aydin S, Gursu MF, Ozcan Z. Changes of serum paraoxonase (an HDL-cholesterol-associated lipophilic antioxidant) and arylesterase activities in severe preeclamptic women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;114:177–181
- [311] Genc, H., Uzun, H., Benian, A. *et al.* Evaluation of oxidative stress markers in first trimester for assessment of preeclampsia risk. *Arch Gynecol Obstet* **284**, 1367–1373 (2011).
- [312] Açıkgöz S, Bayar UO, Can M, Güven B, Mungan G, Doğan S, Sümbüloğlu V. Levels of oxidized LDL, estrogens, and progesterone in placenta tissues and serum paraoxonase activity in preeclampsia. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:862982.
- [313] Baker, A., Klein, R., Haeri, S., Moss, K., & Boggess, K. (2009). *Association of Midgestational Paraoxonase 1 Activity with Pregnancies Complicated by Preeclampsia. American Journal of Perinatology*, 27(03), 205–210. doi:10.1055/s-0029-1236438
- [314] Miljkovic, Milica, et al. "Activity of paraoxonase 1 (PON1) on HDL2 and HDL3 subclasses in renal disease." *Clinical biochemistry* 60 (2018): 52-58.

- [315] Djekic, S.; Vekic, J.; Zeljkovic, A.; Kotur-Stevuljevic, J.; Kafedzic, S.; Zdravkovic, M.; Ilic, I.; Hinic, S.; Cerovic, M.; Stefanovic, M.; et al. HDL Subclasses and the Distribution of Paraoxonase-1 Activity in Patients with ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, *24*, 9384.
- [316] Meisinger, C.; Freuer, D.; Bub, A.; Linseisen, J. Association between inflammatory markers and serum paraoxonase and arylesterase activities in the general population: A cross-sectional study. *Lipids Health Dis.* 2021, *20*, 81
- [317] Dullaart, R.P.F.; Otvos, J.D.; James, R.W. Serum paraoxonase-1 activity is more closely related to HDL particle concentration and large HDL particles than to HDL cholesterol in Type 2 diabetic and non-diabetic subjects. *Clin. Biochem.* 2014, *47*, 1022–1027.
- [318] Viktorinova, A.; Jurkovicova, I.; Fabryova, L.; Kinova, S.; Koren, M.; Stecova, A.; Svitekova, K. Abnormalities in the relationship of paraoxonase 1 with HDL and apolipoprotein A1 and their possible connection to HDL dysfunctionality in type 2 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2018, *140*, 174–182
- [319] Melhem, H., Kallol, S., Huang, X. *et al.* Placental secretion of apolipoprotein A1 and E: the anti-atherogenic impact of the placenta. *Sci Rep* 9, 6225 (2019).[1]
- [320] Baardman ME, Kerstjens-Frederikse WS, Berger RM, Bakker MK, Hofstra RM, Plo“sch T. The role of maternal-fetal cholesterol transport in early fetal life: current insights. *Biol Reprod.* 2013; 88(1):24.
- [321] Chen X, Scholl TO, Stein TP, Steer RA, Williams KP. Maternal circulating lipid profile during early pregnancy: racial/ethnic differences and association with spontaneous preterm delivery. *Nutrients.* 2017;9(1):E19.
- [322] Liu Z, Pei J, Zhang X, Wang C, Tang Y, Liu H, Yu Y, Luo S, Gu W. APOA1 Is a Novel Marker for Preeclampsia. *Int J Mol Sci.* 2023 Nov 15;24(22):16363.
- [323] National Institute for Health and Care Excellence. Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. 2019. Available at: www.nice.org.uk/guidance/ng133. Accessed September 21, 2020.
- [324] ACOG Committee Opinion No. 743: lowdose aspirin use during pregnancy. *Obstet Gynecol* 2018;132:e44–52.
- [325] O’Gorman N, Wright D, Poon LC, et al. Multicenter screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11e13 weeks’ gestation: comparison with NICE guidelines and ACOG recommendations. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017;49: 756–60

- [326] Poon LC, Stratieva V, Piras S, Piri S, Nicolaides KH. Hypertensive disorders in pregnancy: combined screening by uterine artery Doppler, blood pressure and serum PAPP-A at 11e13 weeks. *Prenat Diagn* 2010;30:216–23.
- [327] Poon LC, Stratieva V, Piras S, Piri S, Nicolaides KH. Hypertensive disorders in pregnancy: combined screening by uterine artery Doppler, blood pressure and serum PAPP-A at 11e13 weeks. *Prenat Diagn* 2010;30:216–23.
- [328] GA, Gaussian; MoM, multiples of the median; PE, preeclampsia. Chaemsaitong. First trimester preeclampsia screening and prediction. *Am J Obstet Gynecol* 2022.
- [329] Xu X, Du Y, Wang N. Association Between Circulating Resistin Level and Preeclampsia: A Meta-Analysis. *Horm Metab Res*. 2023 Dec;55(12):835-845.
- [330] Marta Ribeiro Hentschke, Rayssa, Ruszkowski Amaral, Gustavo Raupp, Vitoria Piccinini, Carlos Poli-de-Figueiredo, Bartira Pinheiro Da Costa Correlation between MCP-1 and TNF α in maternal plasma, fetal plasma and placenta in patients with pre-eclampsia.. *Pregnancy Hypertension* Volume 13, Supplement 1, October 2018, Page S61
- [331] Briana DD, Boutsikou M, Baka S, Papadopoulos G, Gourgiotis D, Puchner KP, Hassiakos D, Malamitsi-Puchner A. Perinatal plasma monocyte chemotactic protein-1 concentrations in intrauterine growth restriction. *Mediators Inflamm*. 2007;2007:65032.
- [332] Salazar Garcia MD, Mobley Y, Henson J, Davies M, Skariah A, Dambaeva S, Gilman-Sachs A, Beaman K, Lampley C, Kwak-Kim J. Early pregnancy immune biomarkers in peripheral blood may predict preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2018 Feb;125:25-31.
- [333] Cui S, Gao Y, Zhang L, Wang Y, Zhang L, Liu P, Liu L, Chen J. Combined use of serum MCP-1/IL-10 ratio and uterine artery Doppler index significantly improves the prediction of preeclampsia. *Clin Chim Acta*. 2017 Oct;473:228-236.
- [334] Ryu, Aelie MD, PhD^a; Cho, Nam Jun MD, PhD^b; Kim, Yun Sook MD, PhD^{a,*}; Lee, Eun Young MD, PhD^{b,*}. Predictive value of serum uric acid levels for adverse perinatal outcomes in preeclampsia. *Medicine* 98(18):p e15462, May 2019.
- [335] 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.
- [336] 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
- [337] Chaemsaitong P, Sahota DS, Poon LC. First trimester preeclampsia screening and prediction. *Am J Obstet Gynecol*. 2022 Feb;226(2S):S1071-S1097.e2.

Biografija

Gorica Marković je rođena 18.07.1989 godine u Peći. Osnovnu i srednju školu je završila u Podgorici, Crna Gora, kao nosilac *Luče* (Vukove diplome). Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu, smer magistar farmacije – medicinski biohemičar upisala je 2008. godine, a završila 2013 godine. U okviru Centra za naučni-istraživački rad studenata (CNIRS-a), bavila se naučno-istraživačkim radom na Institutu za medicinsku biohemiju u okviru kojeg je ovladala sledećim tehnikama: imunohemijskim (ELISA- Quantikine, Duo Set), elektrohemijskim (elektroforeza proteina i lipida), rad na biohemijskom analizatoru ILAB 300 plus. Tokom osnovnih studija bila je stipendista Ministarstva za prosvetu i sport Republike Srbije. Po završetku studija, obavila je deo pripravničkog staža u Službi za laboratorijsku dijagnostiku KBC „Dragiše Mišović“, a drugu polovinu staža obavila je na Odeljenju Medicinske biohemije, GAK „Narodni Front“ i položila stručni ispit za diplomirane farmaceute - medicinske biohemičare u Ministarstvu zdravlja Republike Srbije 2014. godine. Od 2015. godine zaposlena u Ginekološko-akušerskoj Klinici „Narodni Front“ na Odeljenju medicinske biohemije.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а _____

Торница Ђерковић

број уписа _____

20/2015

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Основи маркетинга информацијских и комуникационих технологија и њиховог утицаја на развој предузетништва

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, *03.04.25.*

[Својеручни потпис]

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске
верзије докторског рада**

Име и презиме аутора Торица Мариовић
Број уписа 20/2015
Студијски програм медицинска биохемија
Наслов рада Биомаркери инфламације и имуноинхибилне и имуноактивне
Ментор карактеристике модификације висине бустинге и процеси ризика
за развој пресклингеније
Александра Стефановић
Потписани Торица Мариовић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 03.04.2025

Торица Мариовић

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

"Биометријска информација и квантитативне и квалитативне карактеристике латентних висине гласа у процени ризика за развој преоптерећења"
која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
- ☒ 4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 03.04.2025

