# Rani prediktivni model za razvoj preeklampsije

**Beljan, Petrana**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:642948

*Rights / Prava:* In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-03-29**

*Repository / Repozitorij:*

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Petrana Beljan**

# Rani prediktivni model za razvoj preeklampsije: kombinacija biomarkera PP13 i kopeptina i majčinih rizičnih čimbenika

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2021.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Petrana Beljan**

# Rani prediktivni model za razvoj preeklampsije: kombinacija biomarkera PP13 i kopeptina i majčinih rizičnih čimbenika

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2021.**

Disertacija je izrađena u Klinici za ženske bolesti i porode Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, u sklopu projekta Ministarstva znanosti i obrazovanja pod nazivom „Čimbenici za nastanak prijevremenog poroda“ pod brojem108-1081874-2417.

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Vesna Elveđi-Gašparović

Zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Vesni Elveđi-Gašparović na nesebičnoj potpori, velikoj pomoći, strpljenju i savjetima tijekom doktorskog studija, istraživanja i specijalizacije.

Zahvaljujem dr. sc. Saši Kralik Oguić na izdvojem vremenu i stručnoj pomoći u laboratorijskoj obradi uzoraka. Hvala i svim djelatnicima njezinog Odjela za laboratorijsku endokrinologiju na ljubaznosti i susretljivosti prilikom prikupljanja uzoraka za ovo istraživanje.

Zahvaljujem gospođi Sanji Pavić, djelatnici Odjela za UZV dijagnostiku, na velikoj pomoći pri uključivanju ispitanica u istraživanje.

Na kraju hvala mojoj obitelji na bezuvjetnoj podršci i ljubavi. Hvala na razumijevanju za sve one dane i sate koje nisam mogla provesti s njima.

# SADRŽAJ

## Popis kratica i oznaka


1. UVOD ..... 1

1.1. Definicija hipertenzivnih poremećaja u trudnoći ..... 3

1.1.1. Preeklampsija ..... 3

1.1.2. Gestacijska hipertenzija ..... 3

1.1.3. Kronična hipertenzija ..... 4

1.1.4. Preeklampsija superponirana na kroničnu hipertenziju ..... 4

1.2. Dijagnostički kriteriji za preeklampsiju ..... 4

1.3. Majčini rizični čimbenci za nastanak preeklampsije ..... 6

1.3.1. Dob majke ..... 6

1.3.2. Indeks tjelesne mase majke ..... 6

1.3.3. Paritet ..... 7

1.3.4. Preeklampsija u prethodnoj trudnoći ..... 7

1.3.5. Preeklampsija u obitelji ..... 7

1.3.6. Komorbiditet majke ..... 8

1.4. Etiologija, patogeneza i patofiziologija preeklampsije ..... 9

1.4.1. Abnormalna invazija trofoblasta ..... 9

1.4.2. Imunološki čimbenici ..... 10

1.4.3. Upalni odgovor i aktivacija endotela ..... 10

1.4.4. Genetski čimbenici ..... 11

1.4.5. Prehrambeni i okolišni čimbenici ..... 12

1.4.6. Patofiziologija preeklampsije ..... 13

1.5. Komplikacije preeklampsije ..... 14

1.6. Biološki biljezi ..... 16

1.6.1. Kopeptin ..... 16

1.6.2. Posteljični protein 13 ..... 17

1.7. Dopler uterinih arterija ..... 19

2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA ..... 20

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA ..... 21

4. ISPITANICE I METODE ..... 22

4.1. Ispitanice i upitnik ..... 22

4.2. Biološki biljezi ..... 24

4.2.1. Uzorkovanje i obrada krvi ..... 24

4.2. Dopler uterinih arterija ..... 25
4.4. Ishodi trudnoće ..... 26
4.5. Statističke metode ..... 27
5. REZULTATI ..... 28
6. RASPRAVA ..... 55
7. ZAKLJUČAK ..... 69
8. SAŽETAK ..... 70
9. SUMMARY ..... 71
10. LITERATURA ..... 72
11. ŽIVOTOPIS ..... 95

Popis kratica i oznaka

ACOG − engl*. American College of Obstetricians and Gynecologists*

ADH − antidiuretski hormon

ASPRE − *engl. Aspirin for Evidence-Based Preeclampsia Prevention*

AVP − arginin vazopresin

AUC − površina ispod krivulje

BMI − indeks tjelesne mase (*engl. body mass index*)

DIK − diseminirana intravaskularna koagulacija

DNA − deoksiribonukleinska kiselina

ELISA − enzimski vezan imunoapsorpcijski esej (*engl. enzyme-linked immunosorbent assay*)

ET-1 − *engl. endothelin-1*

FIGO − *engl. International Federation of Gynecology and Obstetrics*

FZR − fetalni zastoj rasta

GDM − gestacijski dijabetes melitus

GH − gestacijska hipertenzija

hCG – humani korionski gonadotropin

HELLP sindrom − sindrom hemolize, povišenih jetrenih enzima i trombocitopenije (*engl. hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count*)

ISUOG − *engl. The International Society of Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*

IL − interleukin

ISSHP − engl. International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy

IVF − in vitro fertilizacija

LGALS-13 gen − *engl. galactoside-binding soluble lectin 13 gen*

mRNA − glasnička ribonukleinska kiselina (*engl. messenger RNA*)

NICE − *engl. National Institute for health and Care Excellence*

NK stanice − *engl. natural killer cells*

NO − dušikov (II) okid

OR − omjer izgleda (šansi)

P − razina statističke značajnosti

PAI-1 − inhibitor aktivacije plazminogena-1 (*engl. plasminogen activator inhibitor-1*)

PAPP-A − plazmatski protein A povezan s trudnoćom (*engl.pregnancy-associated plasma protein A*)

PE − preeklampsija

PGL2 − prostaglandin 2

PI − indeks pulsatilnosti (*engl. pulsatility index*)

PIGF − posteljični čimbenik rasta (*engl. placental growth factor*)

PP13 − posteljični protein 13

RI − indeks otpora (*engl. resistance index*)

ROC - *engl. Reciever Operating Characteristic analysis*

S/D omjer – s istoličko-dijastolički omjer

sEng − topljivi endoglin (*engl. soluble endoglin*)

sFLC – slobodni imunoglobulini lakih lanaca (*engl. free immunoglobulin light chain*)

sFlt-1 − topljiva fms-slična tirozin kinaza -1 (*engl. soluble fms-like tyrosine kinase-1*)

SLE − sistemski eritemski lupus

STOX-1 gen − *engl. Storkhead Box 1 gene*

TNF-α − *engl. tumor necrosis factor α*

USPSTF − *engl. United States Preventive Services Task Force*

UZV − ultrazvuk

VEGF - vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. vascular endothelial growth factor)

WHO - engl. World Health Organisation

# 1. UVOD

Preeklampsija je teška multisistemska bolest progresivnog tijeka koja komplicira 3 - 7% trudnoća i među vodećim je uzrocima maternalne i fetalne smrti širom svijeta (1, 2). Etiologija ove bolesti još uvijek nije u potpunosti razjašnjena. Bolest karakteriziraju pretjeran upalni odgovor i sistemska endotelna aktivacija. Većina istraživanja usmjerena je prema što ranijem otkrivanje bolesti i pravovremenom liječenju.

Potrebno je dakle što ranije identificirati trudnice s rizikom za preeklampsiju. Danas to činimo na temelju kliničkih i epidemioloških čimbenika rizika. Probir je potrebno učiniti u vrijeme invazije trofoblasta i remodeliranja spiralnih arterija, a prije generalizirane aktivacije endotela i kliničke manifestacije bolesti. Dobra klinička praksa je na vrijeme detektirati visokorizične trudnice pouzdanim ranim testom probira (3).

Najteži oblici bolesti čine oko 1 % svih preeklampsija i manifestiraju se značajno lošijim, često i letalnim ishodom, te trajnim invaliditetom majke i/ili djeteta (4).

Adekvatan probir trudnica s visokim rizikom za preeklampsiju omogućio bi prevenciju bolesti a time i značajno smanjenje maternalnog i fetalnog morbiditeta i mortaliteta.

U proteklih 20 godina brojna su istraživanja nastojala definirati uzroke preeklampsije ali i metode koje bi omogućile uspješan probir rizičnih trudnica. Cilj istraživača bio pronaći najpouzdaniji prediktivni model za preeklampsiju. Predikacija preeklampsije započeta je na temelju majčinih čimbenika (paritet, dob, debljina, kronične bolesti) koji su uočeni u žena oboljelih od preeklampsije. Uz majčine rizične čimbenike istraživanja su usmjerena k pronalasku dodatnih kliničkih, ultrazvučnih i laboratorijskih obilježja.

U novije vrijeme biološki biljezi postaju ključni za detekciju i praćenje brojnih bolesti, s višom ili nižom osjetljivošću. Različiti biološki biljezi, zasebno ili u modelu s kliničkim i ultrazvučnim mjerenjima, predmet su svih aktualnih istraživanja vezanih uz rani probir visokorizičnih trudnica za nastanak preeklampsije.

U našem istraživanju odlučili smo se u visokorizičnoj skupini ispitanica primijeniti analizu serumske koncentracije dvaju biomarkera. Odabrali smo posteljični protein 13 (PP13) koji se duže vrijeme povezuje s predikcijom preeklampsije i izravan je biljeg posteljice kao ključnog organa u patofiziologiji preeklampsije. Kopeptin je, kao novi biološki biljeg, prisutan u brojnim istraživanjima predikcije akutnih multiorganskih poremećaja i ishemijskih bolesti. Preeklampsija je također multiorganska bolest u čijoj podlozi su nerazjašnjeni imunološki, genetički i upalni procesi, a ishemija se smatra ključnim pokretačem patoloških zbivanja. Povišena razina kopeptina dokazana je u hipoksiji, ishemiji i hipoperfuziji organa. S obzirom da navedeni poremećaji čine osnovu patofizioloških zbivanja u preeklampsiji, odlučili smo u naš model predikcije preeklampsije uvrstiti kopeptin. Dugoročne posljedice preeklampsije su trajna oštećenja kardiovaskularnog sustava majke, a upravo u takvim stanjima se kopeptin pokazao kao izvrstan biomarker detekcije, tijeka i prognoze bolesti.

Određivanjem serumske koncentracije PP13 i kopeptina u serumu visokorizičnih trudnica želimo izraditi model rane predikcije preeklampsije u prvom tromjesečju trudnoće.

## 1.1. Definicija hipertenzivnih poremećaja u trudnoći

Prema Američkom društvu ginekologa i opstetričara (ACOG) hipertenzivne poremećaje u trudnoći dijelimo na kroničnu hipertenziju, preeklampsiju/eklampsiju, preeklampsiju superponiranu na kroničnu hipertenziju, te gestacijsku hipertenziju (5).

### 1.1.1. Preeklampsija

Preeklampsija (PE) je poremećaj definiran vrijednostima sistoličkog arterijskog tlaka ≥ 140 mmHg i/ili dijastoličkog arterijskog tlaka ≥ 90 mmHg, nakon 20. tjedna trudnoće u prethodno normotenzivne žene, uz proteinuriju i/ili neki drugi simptom koji upućuje na organsku disfunkciju. Preeklampsija može nastupiti i u puerperiju. Eklampsija podrazumijeva pojavu neuroloških ispada u formi grand mal napada u žena s preeklampsijom koje do tog trenutka nisu imale neuroloških smetnji. HELLP sindrom (*engl. hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count*) najteži je oblik preeklampsije, a njegova obilježja su hemoliza, povišeni jetreni enzimi i sniženi trombociti. Čest je u trudnica s hipertenzijom, no može se javiti i kao zaseban klinički entitet (6).

### 1.1.2. Gestacijska hipertenzija

Gestacijskom hipertenzijom (GH) nazivamo hipertenziju (sistolički arterijski tlak ≥ 140 < 160 mmHg i/ili dijastolički arterijski tlak ≥ 90 < 110 mmHg) uz odsutnost proteinurije i drugih znakova ili simptoma preeklampsije i organskog oštećenja. Jedan od uvjeta za potvrdu dijagnoze GH je i porast tlaka isključivo nakon 20. tjedna gestacije. Međutim ukoliko je vrijednost sistoličkog tlaka ≥ 160 mmHg i/ili dijastoličkog ≥ 110 mmHg, ili se pojave neki od simptoma/znakova oštećenja pojedinih organa, gestacijska hipertenzija se klasificira kao preeklampsija s teškom kliničkom slikom.

### 1.1.3. Kronična hipertenzija

Kroničnom hipertenzijom nazivamo hipertenziju koja je postojala i prije trudnoće, ili novootkrivenu hipertenziju prije 20. tjedna trudnoće uz uvjet da traje duže od 12 tjedana nakon porođaja. Često se naziva i primarna ili esencijalna hipertenzija, no može biti i sekundarna kao posljedica drugih bolesti i stanja.

### 1.1.4. Preeklampsija superponirana na kroničnu hipertenziju

Superponirana preeklampsija je novonastala proteinurija i/ili organska disfunkcija nakon 20. tjedna trudnoće u žena koje imaju kroničnu hipertenziju. Ukoliko žene i izvan trudnoće imaju proteinuriju, za dijagnozu je ključno pogoršanje proteinurije ili pojava drugih znakova preeklampsije.

## 1.2. Dijagnostički kriteriji za preeklampsiju

S godinama su se mijenjali dijagnostički kriteriji za preeklampsiju. Današnja klasifikacija obuhvaća mnogo veći broj trudnica u odnosu na ranije. ACOG je 2013. godine iz definicije PE izostavio proteinuriju kao nužan uvjet za postavljanje dijagnoze (7). Prema ACOG-u, masivna proteinurija i fetalni zastoj rasta nisu uvjet za procjenu težine bolesti (7). Mehanizam odgovoran za povećanu ekskreciju proteina u trudnoći nije u potpunosti razjašnjen, a pretpostavlja se da je razlog smanjena resorpcija filtriranih proteina, glukoze, aminokiselina i beta-mikroglobulina.

Danas se koristi klasifikacija preeklampsije prema međunarodnim udruženjima ACOG (*engl. American College of Obstetricians and Gynecologists*), ISSHP (*engl. International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy*) i FIGO (*engl. International Federation of Gynecology and Obstetrics*) uz manje razlike u definiciji (5, 7 − 9).

Prema ACOG-u, PE se definira kao novonastala hipertenzija u trudnoći (sistolički tlak ≥ 140 mmHg i/ili dijastolički tlak ≥ 90 mmHg) potvrđena u dva mjerenja s minimalnim razmakom od 2 sata, u trudnica nakon 20. tjedna trudnoće uz još minimalno jedno novonastalo patološko stanje;

- proteinuriju (klirens kreatinina ≥ 30 mg/mol; ≥ 300 mg proteina u 24h urinu; ≥ 2 + proteina u urinu na test traci)
- oštećenje bubrežne funkcije (kreatinin ≥ 97μmol/L; 1,1 mg/dL)
- oštećenje jetrene funkcije (dvostruki porast jetrenih enzima, sa ili bez bolova u području epigastrija)
- hematološke komplikacije (trombocitopenija – trombociti <100 000/μL, diseminirana intravaskularna koagulacija, hemoliza)
- plućni edem
- neurološke komplikacije (glavobolja, poremećaj vida/skotomi, narušen mentalni status) (5, 9).

ISSHP i FIGO, uz prethodno navedene kriterije, kao jedan od kriterija za dijagnozu PE navode i uteroplacentarnu disfunkciju (fetalni zastoj rasta, abnormalni dopler umbilikalne arterije, mrtvorođenost), trombocitopeniju (trombociti < 150 000/μL), te povišene vrijednosti jetrenih enzima (> 40 IU/L) (7, 9).

Preeklampsiju klasificiramo kao „tešku“ ukoliko su vrijednosti sistoličkog arterijskog tlaka ≥ 160 i/ili dijastoličkog ≥ 110 mmHg, u dva zasebna mjerenja s razmakom od minimalno 4 sata, uz prisutan barem jedan uvjet nužan za dijagnozu preeklampsije (8).

Prema ISSHP-u preeklampsiju možemo podijeliti na rano nastalu PE (prije 34. tjedna trudnoće), prijevremenu PE (porođaj prije 37. tjedna trudnoće), kasno nastalu PE (prije 34. tjedna trudnoće), terminsku PE (porođaj od 37. tjedna trudnoće) (10). Rano nastala preeklampsija povezana je sa značajno većim rizikom od akutnih i dugoročnih komplikacija za majku i dijete a time i za perinatalni mortalitet (11).

## 1.3. Majčini rizični čimbenci za nastanak preeklampsije

Detekcijom majčinih rizičnih čimbenika za nastanak preeklampsije pokrenuta su istraživanja njihova značaja u prediktivnim modelima, kako samostalno, tako i u kombinaciji s drugim kliničkim, ultrazvučnim i biokemijskim parametrima (12,13).

### 1.3.1. Dob majke

U današnje vrijeme zbog novih društvenih trendova žene sve češće odgađaju prvu trudnoću i zbog toga rađaju u starijoj dobi. Starija životna dob trudnice smatra se rizičnim čimbenikom za nepovoljan ishod trudnoće i predmet je istraživanja mnogih autora (13 − 16). Poon i suradnici pokazali su da nakon 32. godine života rizik za kasnu PE i GH raste sa svakom godinom života za 4 % (17). Prema Macedu i suradnicima, prevalencija PE u adolescentnim trudnoćama iznosi 6,7 %, premda Duckitt i Harington ne nalaze povezanost između PE i adolescentnih majki (12, 18).

### 1.3.2. Indeks tjelesne mase majke

Nije poznat točan mehanizam kojim indeks tjelesne mase (BMI) pridonosi povećanju rizika za PE. Pretpostavlja se da je debljina stanje kronične upale organizma niskog stupnja do koje je doveo metabolički poremećaj, a koja putem svojih medijatora (TNF-α, IL-6, IL-17) potiče odgovor imunosnog sustava i uzrokuje endotelnu disfunkciju i placentarnu ishemiju što čini podlogu za razvoj PE (19 − 20). Pretpostavlja se da žene s BMI prije trudnoće > 25 kg/$m^2$ imaju 2,1 puta veći rizik za razvoj PE, a one s BMI > 30 kg/$m^2$ i do 2,8 puta (21). Trudnice s BMI > 24 kg/$m^2$ imaju 10 % veći rizik za preeklampsiju s povećanjem tjelesne mase za 1 kg/m2. (21).

### 1.3.3. Paritet

Preeklampsija je dva do tri puta češća u nerotkinja (12, 13, 22). Neprilagođenost imunosnog sustava majke na očeve antigene glavni je etiološki čimbenik rizika (23). Sukladno tome, rezultati epidemioloških studija potvrdili su da promjena partnera može uzrokovati PE u višerotke s istim rizikom kao i u nerotkinje, da duži interval između trudnoća povećava rizik za PE, te da je rizik za PE niži u partnera koji duže vrijeme imaju odnose prije trudnoće (24 − 26).

### 1.3.4. Preeklampsija u prethodnoj trudnoći

Trudnice koje su oboljele od preeklampsije u prethodnoj trudnoći imaju relativni rizik za pojavu bolesti u idućoj trudnoći 7-10 puta, odnosno njih 14,6 % razvit će preeklampsiju (13, 27, 28). Težina preeklampsije značajno utječe na rizik za sljedeću trudnoću (28 − 30). Trudnice koje su imale teški i/ili rani oblik bolesti u idućoj će trudnoći u 25 – 65 % slučajeva ponovo oboljeti od preeklampsije (28 − 30).

### 1.3.5. Preeklampsija u obitelji

Utvrđena je i genetska uloga u nastanku i razvoju PE. Sestre i kćeri žena koje su preboljele PE imaju i do 4 puta veći rizik za ovu bolest (12, 31, 32). Nilsson i suradnici su dokazali da je genetska predispozicija za PE oko 30 % (33). Potvrdili su da je genetska poveznica s majčine strane obitelji jača (veća učestalost i teža klinička slika), ali i da postoji mogućnost da mutacija u očevim genima potakne patofiziološki mehanizam nastanka PE (33). Istovremeno je otkrivena i genetska podloga za gestacijsku hipertenziju, te je dokazano da žene čije su sestre imale PE imaju 2,5 puta veći rizik za razvoj gestacijske hipertenzije (33).

### 1.3.6. Komorbiditet majke

Postoji nekoliko različitih bolesti majke koje su rizični čimbenici za nastanak preeklampsije. Tako na primjer kronična hipertenzija majke nosi relativni rizik za PE 5 − 6 puta, dijabetes prije trudnoće 3 − 4 puta, sistemski eritomatozni lupus (SLE) 2,5 puta, antifosfolipidni sindrom 2,8 puta (13, 34). Također se istražuju i druge bolesti majke koje bi mogle utjecati na nastanak preeklampsije (13, 34). S obzirom da je dobna granica za rađanje značajno pomaknuta, za očekivati je da će sve veći broj trudnica imati komorbiditete kao što su npr. metabolički poremećaj, hipertenzija i dijabetes. Pretpostavlja se da je patofiziološki mehanizam u ovim poremećajima isti kao i u PE, a osnovu čine endotelna disfunkcija, poremećen odnos angiogenih i antiangiogenih čimbenika i oksidativni stres (34 − 38). Kronične bubrežne bolesti također su jedan od rizika za preeklampsiju, a ovisno o njihovoj težini i oštećenju bubrega preeklampsija i fetalni zastoj rasta mogu se pojaviti 2 − 5 puta češće nego u zdravih trudnica (39).

Istraživanja su utvrdila veću učestalost PE u žena afro-karipskog te južno azijskog podrijetla (40, 41). U istih žena potvrđena je i veća učestalost komorbiditeta koji se povezuju s preeklampsijom uz veći rizik pobačaja, mrtvorođenčadi, novorođenčadi niske porođajne težine i drugih komplikacija (40).

Za pušenje duhana kao čimbenik rizika za preeklampsiju postoje oprečni rezultati. Wright i suradnici su u skupini žena koje su oboljele od PE detektirali 7,4 % pušačica što je statistički značajno manje nego u zdravih trudnica (9,8 %) (42). Sibai i suradnici nisu našli značajnije razlike u stopi pušenja između oboljelih od PE i zdravih trudnica, dok je kontroverzno istraživanje Marcouxa i suradnika prikazalo korist od pušenja duhana u prevenciji PE (43, 44). Mehanizam su objasnili inhibicijom proizvodnje tromboksana A2 nikotinom (44). Međutim, u majki koje puše 40 % je češći fetalni zastoj rasta koji je usko povezan s preeklampsijom (44 − 47).

## 1.4. Etiologija, patogeneza i patofiziologija preeklampsije

Preeklampsija je bolest koja se manifestira isključivo u trudnoći (rijetko i u puerperiju) iz čega možemo zaključiti da u njezinoj etiologiji i patogenezi centralnu ulogu ima posteljica. Zbog očevih gena fetus je „strano tijelo“ imunološkom sustavu majke, a posteljica je imunološka barijera između majke i fetusa.

Sibai i suradnici ističu pet osnovnih uzroka i mehanizama nastanka preeklampsije: abnormalna invazija krvnih žila maternice trofoblastom, imunološka netolerancija između organizma majke i fetusa, neprilagođenost majke na kardiovaskularne i upalne promjene u trudnoći, genetski čimbenici, te prehrambeni i okolišni čimbenici (48).

### 1.4.1. Abnormalna invazija trofoblasta

U normalnoj trudnoći stanice trofoblasta prolaze kroz deciduu, ulaze u miometrij i invadiraju spiralne arteriole maternice pri čemu se one remodeliraju u velike žile s niskim otporom protoku koji omogućuje adekvatnu opskrbu posteljice krvlju. U PE stanice trofoblasta invadiraju deciduu ali ne ulaze dovoljno duboku u miometrij (plitka invazija), time izostaje njihova promjena i prilagodba na potrebe posteljice za krvlju te dolazi do hipoperfuzije, hipoksije i ishemije (49 − 51). Razlog plitkoj invaziji vjerojatno je u nedovoljnoj diferencijaciji trofoblasta pod utjecajem vaskularnih, imunoloških, okolišnih ili genetskih čimbenika pri čemu dolazi do akutne ateroze (52). Madazali i suradnici su pokazali da težina preeklampsije izravno ovisi o stupnju defektne invazije trofoblasta (53).

### 1.4.2. Imunološki čimbenici

Patohistološka analiza posteljica iz trudnoća kompliciranih preeklampsijom dokazala je imunološke promjene nalik onima koje pronalazimo kod akutnog odbacivanja organa (54, 55). Labarrere i suradnici su analizirali posteljice iz trudnoća kompliciranih PE i otkrili granulirano taloženje imunoglobulina i komplemenata unutar stijenki žila uz nakupljanje mononuklearnog perivaskularnog infiltrata što može biti znak imunološke agresije majke na fetus (55). Smatra se da je balansirana interakcija između „stanica ubojica“ (*engl. natural killer cells*) i pomoćničkih T stanica (*eng. T-helper cells*) majke i trofoblasta zadužena za normalnu placentaciju, a ona je u PE poremećena zbog pojačanog imunološkog odgovora i nedovoljne ekspresije specifičnih citokina potrebnih za placentaciju (56, 57).

### 1.4.3. Upalni odgovor i aktivacija endotela

Slobodna posteljična DNA oslobođena u cirkulaciju iz sinciciotrofoblasta može dovesti do upalnog odgovara majke (58, 59). Razina placentarne DNA povećava se u stanjima smanjene oksigenacije kao što je i rani početak PE, a time se pokreće i sistemski upalni odgovor (60). U žena s preeklampsijom povećana razina slobodne fetalne DNA već u ranom drugom tromjesečju korelira s porastom cirkulirajućeg topljivog receptora fms-sličnog tirozin kinazi-1 (sFlt1-a), a do njezinog naglog porasta osobito dolazi 3 tjedna prije pojave znakova bolesti (61, 62). Istraživači su predložili model prema kojemu je endotelna disfunkcija u preeklampsiji rezultat poremećenog mehanizma inače normalne upalne reakcije organizma majke u trudnoći (63, 64). Preeklampsija se smatra stanjem pojačane aktivacije i oslobađanja monocita i granulocita, pojačane produkcije interleukina i citokina s posljedičnim nastankom oksidativnog stresa i oslobađanja slobodnih radikala u majčinu cirkulaciju (63 - 65).

U preeklampsiji dolazi do aktivacije endotela, vazospazma, propuštanja kapilara i aktivacije faktora koagulacije (66). Smanjena je sinteza dušikovog oksida (NO) i prostaciklina (67 − 69). U PE je pojačana produkcija endotelina (ET-1) i tromboksana A2 (69, 70). Angiogeni čimbenici važni za promjene u preeklampsiji su vaskularni

endotelni čimbenik rasta (VEGF) i posteljični čimbenik rasta (PIGF). Oni potiču angiogenezu i produkciju dušikovog oksida. Njihovo izlučivanje tijekom normalne trudnoće raste (71). Antagonist čimbenicima rasta je sFlt-1 koji se veže za njih i onemogućuje njihovo vezanje za receptor na endotelu (72, 73).

S obzirom da je u PE dokazana pojačana produkcija tromboksana A2, analizirana je uloga aspirina kao njegovog inhibitora u prevenciji preeklampsije. ASPRE studija je dokazala da rana primjena aspirina u dozi od 150 mg/dan (11. − 13. tjedna trudnoće) u trudnica s visokim rizikom za nastanak preeklampsije smanjuje rizik od rane preeklampsije za 62% (74). ACOG i USPSTF zagovaraju korištenje aspirina u prevenciji preeklampsije u žena sa srednjim i visokim rizikom za nastanak preeklampsije od 12. tjedna trudnoće do porođaja (75, 76). NICE smjernice (*engl. National Institute for health and Care Excellence*) preporučuju aspirin u dozi od 75 mg/dan u visokorizičnih trudnica s ciljem prevencije bolesti (77).

### 1.4.4. Genetski čimbenici

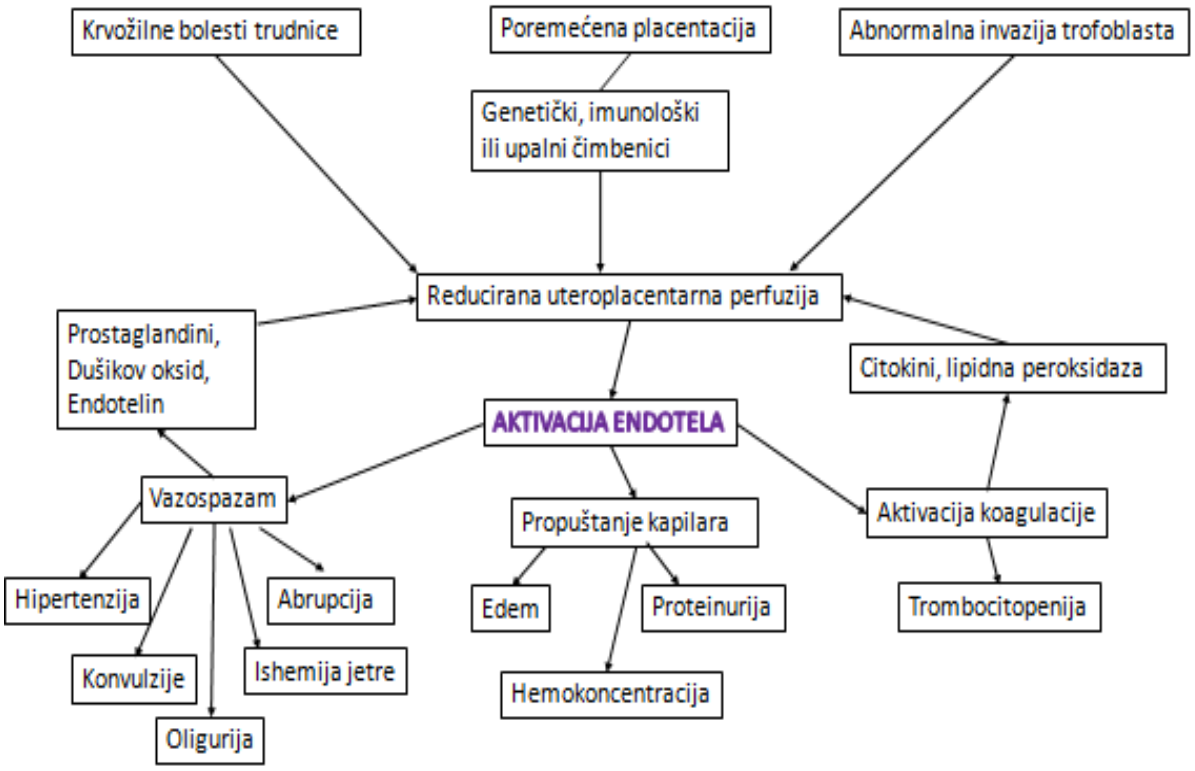
U nekim obiteljima PE je nasljedna uz veću učestalost bolesti u sestara, kćeri i unuka žena koje su imale PE (32, 33, 78). STOX-1 gen na kromosomu 10q22, prvi je gen direktno povezan s nasljednom komponentom preeklampsije a ima važnu ulogu u diferencijaciji stanica trofoblasta (79). Promjene u decidualnom tkivu koje se povezuju s ekspresijom STOX-1 gena (*engl. Storkhead Box 1 gene*) pronađene su u preeklampsiji ali i u posteljicama iz trudnoća kompliciranih zastojem rasta fetusa te kod koriokarcinoma (80). Velika genomska studija otkrila je promjene na 13. kromosomu u novorođenčadi čije su majke imale preeklampsiju (81). Potvrđena je i genska povezanost polimorfizma inhibitora aktivacije plazminogena (PAI-1) 4G/5G i preeklampsije (82). Ward i Zhang su potvrdili povezanost mutacije gena za angiotenzinogen (T235) s preeklampsijom i zastojem rasta fetusa (83, 84). Morgan je prikazao važnost ovog gena za adekvatnu invaziju trofoblasta (85).

### 1.4.5. Prehrambeni i okolišni čimbenici

Preeklampsija se u starijim istraživanjima povezivala s manjkom kalcija, no danas znamo da rana primjena većih doza kalcija (do 20. tjedna gestacije) nema značajnog utjecaja na smanjenje incidencije preeklampsije (86). BMI kao odraz prehrambenih navika trudnice ima znatan utjecaj na razvoj PE (13,17, 87). Iako je briga za prehranu i zdravlje trudnice iznimno važna, istraživanja nisu dokazala dobrobit korištenja vitamina C i E i omega masnih kiselina u prevenciji preeklampsije (88). Isto su potvrdili Poston i suradnici, uz napomenu da visoke doze antioksidansa ne preveniraju PE ali dovode do niže porođajne mase novorođenčadi te stoga njihova primjena u visokim dozama u trudnoći nije opravdana (89).

### 1.4.6. Patofiziologija preeklampsije

Redman i suradnici su na temelju do sada opisane patogeneze preeklampsije (abnormalne invazije trofoblasta, defektne placentacije, genetičkih, imunoloških upalnih faktora te kroničnih vaskularnih bolesti majke) predstavili patofiziološki model prema kojemu svi navedeni procesi dovode do smanjene utreroplacentarne perfuzije (90). Rezultat reducirane uteroplacentarne perfuzije dovodi do aktivacije endotela koji reagira vazospazmom, oštećenjem i propuštanjem kapilara i aktivacijom sustava koagulacije (Shematski prikaz 1). Posljedica je narušen odnos angiogenih i antiangiogenih čimbenika te oksidativni stres pri čemu nastaju poremećaji i oštećenja organskih sustava i dolazi do promjena karakterističnih za kliničku sliku preeklampsije (90 − 95).




Shematski prikaz 1. Patofiziologija preeklampsije (preuzeto i prilagođeno iz Williams obst., prema Friedman i Lindheimer,1999.)

## 1.5. Komplikacije preeklampsije

Preeklampsija je progresivna bolest koja dovodi do teških akutnih i kroničnih komplikacija u majke i djeteta. Iako je teških oblika bolesti samo oko 1 %, upravo oni uzrokuju najozbiljnije posljedice, a nerijetko završavaju i letalnim ishodom (4). Eklampsija, intrakranijalno krvarenje i plućni edem najčešće su komplikacije preeklampsije, a povezane su s visokom smrtnošću i teškim morbiditetom (96 − 98).

Plućni edem pojavljuje se u 3 % preeklampsija, a pod osobitim rizikom su trudnice s teškim oblikom bolesti, izrazitom trombocitopenijom i povišenom serumskom koncentracijom mokraćne kiseline (99). Kardiomiopatija je česta posljedica plućnog edema a može dovesti do potrebe za transplantacijom srca (99).

Zbog teških oštećenja mozga koja nastaju uslijed akutne eklampsije (krvarenje, edem, hernijacija) procjenjuje se da je u razvijenim zemljama smrtnost majki od eklampsije oko 2 % (100, 101). Moždani udar je teško neurološko oštećenje s dugoročnim komplikacijama i trajnim invaliditetom, nastaje uslijed visokih vrijednosti krvnog tlaka, a četiri puta je češći u pacijentica s teškim oblikom preeklampsije (102, 103). Pacijentice oboljele od preeklampsije imaju dva puta veći rizik za razvoj moždanog udara u narednih 10 godina u odnosu na zdrave žene (104).

Visok rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti tijekom života najvažnija je dugoročna komplikacija preeklampsije (104). Velika metaanaliza pokazala je 3,7 puta veći rizik za hipertenziju, 2,1 puta za srčani udar, 4,7 puta za kronično bubrežno zatajenje, te 1,8 puta veći rizik za nastanak tromoboze i embolije u razdoblju od pet do deset godina nakon preeklampsije (104). U usporedbi sa zdravim ženama, žene koje su oboljele od preeklampsije imaju dva puta veći rizik za smrt od bilo kojeg uzroka u razdoblju od petnaest godina nakon PE (104).

Na ishod trudnoće kompliciranе preeklampsijom izravno utječu mnogobrojni čimbenici poput trajanja trudnoće u trenutku pojave bolesti, težine bolesti (blaga ili teška), trajanja trudnoće u trenutku dovršenja trudnoće te postojanju komorbiditeta trudnice poput šećerne bolesti, bubrežne bolesti, trombofilije ili kronične hipertenzije.

Najteže fetalne komplikacije preeklampsije su zastoj rasta fetusa, nedonošenost te perinatalna smrt. Težina ovih komplikacija izravno ovisi o težini preeklampsije i

gestacijskoj dobi. Procjenjuje se da je smrtnost fetusa/neonatusa uslijed komplikacija preeklampsije oko 8 % u razvijenim zemljama, a u nerazvijenim zemljama je značajno veća (105, 106). Značajnom udjelu u smrtnosti pridonosi i abrupcija posteljice koja je jedna od teških akutnih komplikacija preeklampsije, a pojavljuje se u oko 6 % preeklampsija (107). Žene s preeklampsijom četiri puta češće rađaju nedonoščad u odnosu na zdrave žene (108).

Prijevremeno rođena djeca imaju brojne komplikacije uključujući respiratorne bolesti (respiratorni distres sindrom, bronhopulmonalna displazija), infekcije i intraventrikularna krvarenja u mozgu, a često su liječena u jedinicima intenzivne skrbi i značajno su češće podvrgnuta hospitalizacijama i operativnim zahvatima u prvoj godini života (109). Djeca rođena od majki s preeklampsijom imaju značajno češće dugoročna neurorazvojna oštećenja, inzulinsku rezistenciju, dijabetes melitus, koronarnu bolest i hipertenziju (110, 111).

Uz maternalni, fetalni i neonatalni mortalitet kao najteže ishode, posljedice preeklampsije su i prethodno navedeni brojni morbiditeti vrlo često praćeni trajnim invaliditetom što značajno opterećuje zdravstveni sustav u svim dijelovima svijeta. Najveći problem nerazvijenih zemalja je loša antenatalna skrb i kasna detekcija bolesti, odnosno najčešće detekcija komplikacija već poodmakle bolesti. U visoko razvijenim zemljama provedena je studija o financijskoj isplativosti predikcije i prevencije preeklampsije u odnosu na zbrinjavanje njezinih posljedica (112). Značajan udio u financijskom opterećenju ima neonatalna skrb. U dva velika istraživanja prikazani su troškovi zbrinjavanje posljedica preeklampsije. Za samo jednu majku i dijete troškovi se kreću od nekoliko desetaka tisuća dolara do više od dva milijuna dolara za prvu godinu nakon porođaja (113, 114). Rana predikcija i prevencija preeklampsije doprinjela bi značajnom financijskom rasterećenju zdravstvenog sustava.

## 1.6. Biološki biljezi

### 1.6.1. Kopeptin

Kopeptin je glikopeptid, C-terminalni, inertni i stabilni oblik vazopresina koji ima značajno duže poluvrijeme života u plazmi, te je kao takav pogodan za klinička istraživanja (115).

Arginin vazopresin (AVP), poznat kao antidiuretski hormon (ADH), jedan je od ključnih hormona u ljudskom tijelu. Sintetizira se u supraoptičkoj i paraventrikularnoj jezgri hipotalamusa, potom se živčanim aksonima prenosi u stražnji režanj hipofize i izlučuje u krv. Njegove osnovne uloge su kontrola ravnoteže tekućine u organizmu djelovanjem na bubrege te reguliranje krvnog tlaka vazokonstrikcijskim učinkom na krvne žile. Pri većim koncentracijama ADH dolazi do jake vazokonstrikcije arteriola u cijelom tijelu što dovodi do povišenja arterijskog tlaka, stoga se ADH naziva i vazopresin. Nakon hemoragijskog šoka cirkulacijski mehanizmi negativne povratne sprege potiču otpuštanje vazopresina iz neurohipofize što dovodi do stezanja arterija na periferiji i zadržavanja vode u bubrezima (116). Kod zatajivanja srca povećana količina aldosterona dovodi do resorpcije natrija što povećava osmotsku koncentraciju izvanstanične tekućine i dovodi do izlučivanja ADH. Tako izlučeni ADH pospješuje resorpciju vode u bubrežnim kanalićima (117).

Hipoksija, acidoza, infekcija, hipoglikemija i stres značajno utječu na izlučivanje kopeptina (118, 119). Kopeptin se u novije vrijeme pojavljuje kao važan biomarker za potvrdu metaboličkog poremećaja, inzulinske rezistencije, kardiovaskularnih poremećaja, kroničnog bubrežnog zatajenja i sepse (120 − 122). Recentna istraživanja ga povezuju s nastankom preeklampsije. Tijekom trudnoće se snižava prag za poticanje osmoreceptora za ADH i žeđ, a već u ranoj trudnoći dolazi do sistemske vazodilatacije i pada arterijskog tlaka (123). Vazopresin aktivira V1a receptore u stijenkama krvnih žila što dovodi do vazokonstrikcije i porasta arterijskog tlaka, a istovremeno preko V2 receptora dovodi do pojačane resorpcije tekućine u bubregu i retencije tekućine (124). Oštećen endotel krvnih žila onemogućuje vazodilataciju i dovodi do promjene u izlučivanju i učinku vazopresina (125).

Istraživanja na životinjskim modelima pokazala su da infuzije AVP-a prekoncepcijski i tijekom trudnoće u miševa dovode do simptoma nalik na preeklampsiju kao i do zastoja rasta ploda (126).

Sekrecija kopeptina tijekom normalne trudnoće raste, ali je njegova koncentracija u majčinoj krvi konstantna (127). U trudnoći trofoblast producira vazopresinazu koja značajno metabolizira vazopresin i tako vrši regulaciju njegovog hormonskog djelovanja, a njegovu koncentraciju u krvi održava konstantnom (126, 128).

Disfunkcija trofoblasta u preeklampsiji smanjuje lučenje vazopresinaze, dovodi do nedovoljne i neadekvatne razgradnje vazopresina (kopeptina) i do porasta njegove koncentracije u krvi majke (126). Povišena razina kopeptina dokazana je u hipoksiji, ishemiji i hipoperfuziji organa, a to su stanja koja čine osnovu patofizioloških zbivanja u preeklampsiji i razlogom su živog znanstvenog interesa u istraživanju potencijalne važnosti kopeptina u detekciji preeklampsije prije pojave kliničke slike i razvoja bolesti (128).

### 1.6.2. Posteljični protein 13

Posteljični protein 13 (PP13, galectin 13) mali je protein od 139 aminokiselina, jedan je od 50-ak proteina koje luči posteljica i koji su isključivo vezani za trudnoću (129, 130). PP13 ima razvojnu ulogu u posteljici a time i važnu hemostatsku i imunobiološku ulogu u feto-maternalnom području (131). Galektini su važni u unutarstaničnoj i međustaničnoj interakciji, prijenosu signala, staničnoj diferencijaciji, apoptozi, u urođenim i stečenim imunološkim reakcijama, u akutnom i kroničnom odgovoru organizma na upalu te u imunološkoj toleranciji organizma spram potencijalnih patogena (132 − 134). Istraživanja na 48 uzoraka tkiva pokazala su prisutnost galectina 13 u tkivu posteljice, bez prisutnosti u fetalnom tkivu ili kasnije u odraslom tkivu (129, 135, 136). PP13 indukcijom apoptoze aktiviranih T stanica smanjuje rizik za reakciju („napad“) majčinog imunološkog sustava na tkivo fetusa u primata (137).

PP13 izlučen iz sinciciotrofoblasta već u ranoj placentaciji sudjeluje u formiranju nakupina apoptotičnih i nekrotičnih stanica decidue kojima privlači i uništava

aktivirane stanice majčinog imunološkog sustava i time onemogućuje ometanje prodiranja sinciciotrofoblasta u endotelnu stijenku majčinih krvnih žila (138). Smatra se da smanjena produkcija PP13 dovodi do plitke invazije trofoblasta te defektne pregradnje i prilagodbe spiralnih arterija što dovodi do nastanka preeklampsije (138). Poremećaj u ranoj placentaciji, kao posljedica nedovoljne opskrbe posteljice majčinom krvlju, jedan je od vodećih uzorka ishemijskih oštećenja posteljice, nastajanja oksidativnog stresa, stanja nalik upali te apoptoze (139). Smanjena ekspresija LGALS13 gena (*engl. galactoside-binding soluble lectin 13*) pronađena je u viloznim prostorima posteljice preeklamptičnih trudnica što se povezuje s nedostatnom diferencijacijom trofoblasta i nepotpunom placentacijom (140). Intravenska primjena PP13 u skotnih i neskotnih ženki štakora dovela je do vazodilatacije, pada arterijskog tlaka i pojačanog rada srca i do pet dana nakon njegove primjene (141). Isto istraživanje je u in vitro uvjetima pokazalo da PP13 značajno utječe na dilataciju uterinih i mezenterijalnih krvnih žila. Odgovor na pitanje može li smanjena koncentracija PP13 biti prediktor razvoja preeklampsije u prvom tromjesečju predmet je istraživanja. Osnovni problem predstavlja količina PP13 mRNA u serumu majke u ranim fazama trudnoće koju možemo uspješno detektirati. PP13 mRNA se otpušta u majčinu cirkulaciju iz sinciciotrofoblasta (136). PP13 ima najvažniju ulogu u prvom tromjesečju i tada je njegovo izlučivanje najizraženije. Za prvo tromjesečje ključna je faza implantacije u kojoj embrij (kojemu 50 % stanica genoma potječe od oca) predstavlja strano tijelu u organizmu majke. Upravo je tada najjači imunološki odgovor organizma majke na trudnoću s infiltracijom stanica imunološkog sustava u područje decidue. Rezultati studije koja je proučavala imunološki odgovor rekombinantnih galektina pokazali su da je rekombinantni PP13 (PP13-R) imao najjači učinak na apoptozu izoliranih majčinih T stanica (142). Ovo istraživanje je postavilo snažne temelje za razumijevanje središnje uloge PP13 u održavanju imunološke tolerancije između fetusa i majke, kao i imunologije uteroplacentarnog područja (142).

Uloga rekombinantnog PP13 u kardiovaskularnom sustavu kod skotnih i neskotnih glodavaca ključna je za vazodilataciju i remodeliranje spiralnih arterija, poboljšanje protoka u uterinim arterijama i uteroplacentarnoj cirkulaciji, snižavanju krvnog tlaka i poboljšanju rasta ploda (143, 144). Rekombinantni PP13 bi mogao biti koristan tijekom trudnoće za predikciju, prevenciju i/ili liječenje preeklampsije (143, 144).

## 1.7. Dopler uterinih arterija

Preeklampsija nastaje kao posljedica neadekvatnog remodeliranja spiralnih arterija, stoga se na uteroplacentarnom krvotoku manifestiraju prve patološke promjene prije kliničke manifestacije bolesti (51, 53). Murakoshi i suradnici su prvi dokazali statistički značajan porast indeksa otpora u uterinim krvnim žilama u trudnica s hipertenzivnim poremećajima (145). Histopatološka istraživanja su pokazala da invazija trofoblasta u spiralne arterije započinje u ranom prvom tromjesečju, a završava oko 22. tjedna gestacije proširenim i dilatiranim spiralnim arterijama slabe kontraktilnosti koje su sposobne primiti veću količinu krvi (51, 53). Uterus tada postaje dobro prokrvljen organ koji preko spiralnih i uterinih arterija preuzima centralnu ulogu u uteroplacentarnom krvotoku.

# 2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA

Povišena razina kopeptina i snižena razina PP13 biomarkera u prvom tromjesečju trudnoće u serumu trudnice s rizičnim čimbenicima za preeklampsiju prediktor su za razvoj preeklampsije.

# 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

## Opći cilj

Opći cilj istraživanja je pronaći prediktivni model za detekciju preeklampsije u prvom tromjesečju trudnoće kombinacijom biokemijskih biljega PP13 i kopeptina s majčinim rizičnim čimbenicima za nastanak preeklampsije.

## Specifični ciljevi

1. Istražiti značaj vrijednosti serumske koncentracije biokemijskih biljega u prvom tromjesečju trudnoće za težinu (blaga, teška) i nastup (rana/kasna) preeklampsije.

2. Istražiti povezanost vrijednosti serumske koncentracije biokemijskih biljega, doplera uterinih arterija i perinatalnih ishoda u trudnoćama kompliciranim preeklampsijom.

# 4. ISPITANICE I METODE

Ovo prospektivno istraživanje provedeno je u Klinici za ženske bolesti i porode Kliničkog bolničkog centra (KBC) Zagreb u razdoblju od siječnja 2015. do prosinca 2019. godine. Na temelju analize snage statističkog testa (*engl. power analysis*) u istraživanje je uključeno ukupno 400 prvorotki s rizičnim čimbenicima za razvoj preeklampsije. U sklopu standardne opstetričke skrbi trudnice su upućene u našu Kliniku na rani kombinirani probirni test između 11. i 14. tjedna trudnoće ($11^{+1}$ − $13^{+6}$). U sklopu kombiniranog probirnog testa određuje se razina beta humanog korionskog gonadotropina (βhCG) i PAPP-A (*engl. pregnancy-associated plasma protein A*) u serumu trudnice, ultrazvukom se u fetusa mjeri udaljenost tjeme − trtica te veličina vratne prozirnosti (*engl. nuchal translucency*) (146, 147).

Sve su trudnice dobrovoljno pristupile istraživanju, ispunile upitnik i potpisale informirani pristanak.

Ovo istraživanje provedeno je uz suglasnost Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Etičkog povjerenstva Klinike za ženske bolesti i porođaje KBC-a Zagreb.

S obzirom da su sve ispitanice u ovom istraživanju trudnice, u daljnjem opisu istraživanja i rezultata za ispitanice ćemo koristiti izraz „trudnice“. Za trudnice koje nisu oboljele od preeklampsije koristit ćemo izraz „zdrave trudnice“.

## 4.1. Ispitanice i upitnik

U istraživanje su uključene trudnice s rizičnim čimbenicima za preeklampsiju koje nisu rodile i nisu imale spontani pobačaj nakon 12. tjedna gestacije, a zadovoljavaju minimalno tri uvjeta:

- BMI ≥ 25 kg/$m^2$
- životna dob ≥ 35 godina
- aktivni pušači duhana

- imaju minimalno jedan od mogućih komorbiditeta

BMI je izračunat prema standardiziranom izračunu: masa (kg) / visina ($m^2$). Prema preporukama Svjetske zdravstvene organizacije (WHO), BMI vrijednost ≥ 25 smatra se prekomjernom tjelesnom masom (148).

Komorbiditeti koji su uzeti u obzir za uključivanje u studiju bili su: kronična hipertenzija, kronična bubrežna bolest (glomerulopatija, nefropatija, opstruktivna uropatija), antifosfolipidni sindrom, šećerna bolest, trombofilija, upalna bolest crijeva, epilepsija, autoimuna bolest štitnjače i sistemski eritemski lupus.

Upitnik sadrži kratki opis istraživanja uz informacije o preeklampsiji i važnosti rane detekcije, te *mail* adresu na koju se ispitanice mogu obratiti ukoliko imaju dodatnih pitanja vezanih uz istraživanje. Uz osnovne informacije (ime i prezime, datum i godinu rođenja, adresu i broj mobitela) u upitnik je bilo potrebno upisati visinu, tjelesnu masu, paritet, datum zadnje menstruacije, način začeća (spontano/postupak potpomognute oplodnje), pušački status (da/ne), zaokružiti/upisati komorbiditete (hipertenzija, šećerna bolest, bolesti štitnjače, bubrežne bolesti, trombofilija, autoimune bolesti, ostale bolesti). Bilo je potrebno upisati i vrijednost arterijskog tlaka koji je trudnicama izmjeren prilikom ispunjavanja upitnika (prosječna vrijednost, izmjerena dva puta s razmakom od 30 minuta).

## 4.2. Biološki biljezi

### 4.2.1. Uzorkovanje i obrada krvi

U ovom istraživanju koristili smo biološke biljege kopeptin i posteljični protein 13 (PP13). Prilikom uzorkovanja krvi trudnicama u sklopu ranog kombiniranog probirnog testa, uz prethodno potpisani informirani pristanak svake ispitanice, odvojeno je dodatnih 5 mL krvi u vakum epruvetu s gel separatorom. Nakon 10 minuta i zgrušavanja krvi, uzorci krvi centrifugirani su 15 minuta (3500 okretaja u minuti). Serum je odvojen u posebne epruvete i zamrznut na -20 °C stupnjeva i pohranjen do izrade uzoraka za analizu.

Korišteni su Placenta protein 13 (PP13) ELISA KITa 96t i Copeptin Human a 96test ELISA KIT. Temeljni princip ELISA-e za procjenu bioloških biljega je metoda enzima povezanog s antitijelima. Koncentracija bioloških biljega u uzorcima je određena usporedbom apsorbancije uzoraka sa standardnom krivuljom. Apsorbancija na kraju testa mjerena je na 450 nm i preračunata preko standardne krivulje u koncentraciju. Korišten je fotometar za mikrotitarske pločice Tecan Sunrise proizvođača Tecan Trading AG, Švicarska.

S obzirom da referentne vrijednosti korištenih biomarkera nisu standardizirane, kao referentne vrijednosti postavili smo one pri kojoj su ROC analizom utvrđene najviše osjetljivosti i specifičnosti u predikciji preeklampsije.

## 4.2. Dopler uterinih arterija

U ovom istraživanju doplersko mjerenje protoka u uterinim arterijama učinjeno je sukladno ISUOG (*engl. The International Society of Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*) smjernicama (149). Korišten je transabdominalni ili transvaginalni prikaz uz primjenu pulsirajućeg doplera u boji na UZV aparatu Voluson E8. Kod transabdominalnog prikaza u sagitalnom presjeku prikazan je cervikalni kanal i unutrašnja os cerviksa. Sonda se tada naginje polako i detektiraju se protoci u bojama kako bi se uočile i prikazale obje uterine arterije cijelom dužinom uz tijelo i vrat maternice u razini unutrašnje cervikalne osi. Uključen je pulsni dopler širine do 2 mm koji mora pokriti čitav lumen žile, pod kutom od 30 stupnjeva (150). Kako bismo bili sigurni da mjerimo uterinu arteriju, vršni sistolički protok treba biti > 60 cm/s. Kod transvaginalnog prikaza postupak je sličan. Sonda se postavlja tako da cerviks bude u sagitalnom presjeku, potom se sonda pomiče lateralno dok se ne prikaže paracervikalni vaskularni splet i uterina arterija koja mora biti u razini unutrašnje osi cerviksa. U obje uterine arterije izmjerili smo indeks otpora (RI), indeks pulsatilnosti (PI) te omjer maksimalne sistoličke i dijastoličke brzine (S/D). Za potrebe ovog istraživanja koristili smo indeks pulsatilnosti uterinih arterija (PI) s obzirom da je njegova vrijednost izračun svih maksimalnih brzina tijekom srčanog ciklusa (a ne samo za dvije kao kod RI). Indeks pulsatilnosti korišten je i u većini recentnih istraživanja koja su prikazana u ovoj disertaciji.

Porast otpora ukazuje na povećan periferni otpor distalno od mjesta mjerenja, u spiralnim arterijama, što upućuje na njihovu abnormalnost u prilagodbi na trudnoću i poremećenu placentaciju (151). Urez (*engl. „notch“)* se u doplerskoj analizi objašnjava kao smanjenje brzine protoka krvi nakon sistole koje je ispod vrijednosti minimalne brzine protoka krvi na kraju dijastole, a posljedica je također nedovoljno promijenjenih arterija koje zadržavajući mišićni sloj imaju mogućnost kontrakcije što direktno utječe na protok krvi na kraju sistole (152).

## 4.4. Ishodi trudnoće

Za podatke o tijeku i ishodu trudnoće za ispitanice koje su rodile u našoj Klinici koristili smo bolnički informacijski sustav. Ispitanice koje nisu rodile u našoj klinici telefonski smo kontaktirali te ih (uz prethodnu suglasnost) zamolili za sljedeće podatke iz medicinske dokumentacije: pojava hipertenzije tijekom trudnoće, pojava preeklampsije (tjedni trudnoće u kojima je postavljena dijagnoza, klinička slika, laboratorijski nalazi, opće stanje), gestacijski dijabetes (GDM), zastoj rasta fetusa (FZR), gestacijska dob pri porođaju, način dovršenja trudnoće (vaginalno/carski rez), porođajna masa djeteta, Apgar vrijednosti u prvoj i petoj minuti, komplikacije vezane uz dijete (respiratorni distres sindrom, intracerebralna krvarenja, asfiksija, infekcije, smetnje adaptacije). S obzirom da je tema ovog istraživanja predikcija preeklampsije nismo detaljno prikazivali neonatalni morbiditet, stoga smo uzeli u obzir vrijednost apgara u prvoj i petoj minuti po rođenju isključivo kao mjeru ranog neonatalnog ishoda. Gestacijska dob izračunata je prema datumu zadnje menstruacije a potvrđena je ultrazvučnim mjerenjima u prvom tromjesečju trudnoće. U ovom istraživanju FZR je definiran masom fetusa ispod 10. percentile za gestacijsku dob, neovisno o nalazu doplera uterine arterije (153). Dijagnoza FZR-a revidirana je i po porođaju (porođajna masa manja od 10. percentile za dob i spol). Preeklampsija koja je nastupila prije 34. tjedna trudnoće definirana je kao „rani oblik bolesti“, a ona nakon 34. tjedna trudnoće kao „kasni oblik bolesti“. Sukladno smjernicama ACOG-a preeklampsija je prema težini bolesti podijeljena na „blagi“ ili „teški“ oblik (8).

## 4.5. Statističke metode

Priprema podataka izvršena je pomoću računalnog tabličnog kalkulatora Microsoft Office Excel. Podaci su prikazani tablično i grafički. Kolmogorov-Smirnovljevim testom analizirana je raspodjela kontinuiranih numeričkih vrijednosti te su se shodno dobivenim podacima primijenili odgovarajući neparametrijski testovi.

Kategorijske i nominalne vrijednosti su prikazane kroz odgovarajuće frekvencije i udjele, dok su se razlike između njih analizirale Fisherovim egzaktnim testom, odnosno Fisher-Freeman-Haltonovim testom u slučajevima tablica većih od 2x2 formata. Kontinuirane vrijednosti prikazane su kroz medijane i interkvartilne raspone a razlike između njih analizirane su Mann-Whitneyjevim U testom te prikazane Box i Whiskerovom plotu unutar kojeg su prikazane vrijednosti medijana, interkvartilnih raspona, minimalnih i maksimalnih vrijednosti te ekstremnih vrijednosti koje se od medijana razlikuju za više od 1,5 interkvartilna raspona. Kendallovitau_b koeficijenti korelacije korišteni su u analizi povezanosti ispitivanih biomarkera s pojedinim kliničkim karakteristikama i ishodima trudnoće.

ROC analizom utvrđene su granične (cut-off) vrijednosti pojedinih biomarkera u predikciji preeklampsije, te su pomoću Youdenovog indeksa određene najoptimalnije vrijednosti obzirom na međuodnos osjetljivosti i specifičnosti. Binarnim logističkim regresijskim modelom analizirana je predikcija pojedinih biomarkera na nastanak preeklampsije.

P vrijednosti manje od 0,05 su smatrane značajnima. U analizi se koristila programska podrška IBM SPSS Statistics, verzija 25.0 (https://www.ibm.com/analytics/spss-statistics-software) te MedCalc for Windows, verzija 19.0.3 (MedCalcStatistical Software version 19.0.3 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; https://www.medcalc.org; 2019).

# 5. REZULTATI

Od ukupno 400 trudnica s rizičnim čimbenicima dvadeset i jedna je oboljela od preeklampsije. Prevalencija preeklampsije u ovom istraživanju iznosi 5,25 %. Gotovo četvrtina oboljelih (23,8 %) imala je teški oblik bolesti, a u njih 28,57 % preeklampsija se pojavila prije 34. tjedna trudnoće. Kod jedne trudnice s ranom i teškom preeklampsijom dogodila se fetalna smrt. Rane neonatalne smrti i maternalne smrti nije bilo.

U Tablici 1 prikazani su anamnestički podaci svih trudnica uključenih u istraživanje. Indeks tjelesne mase (BMI) ≥ 25 imalo je 79 % trudnica, a 271 trudnica (68 %) je navršila 35 godina. Pušačica je bilo 31,25 %. U skupini trudnica s preegzistentnim kroničnim bolestima najčešće se radilo o autoimunoj bolesti štitnjače (40 trudnica), trombofiliji (22 trudnice), bolestima srca (6 trudnica), kroničnoj hipertenziji (5 trudnica), kroničnoj bubrežnoj bolesti (5 trudnica), epilepsiji (3 trudnice) te antifosfolipidnom sindromu koji su imale 3 trudnice. Većina trudnica zanijela je spontano. U postupcima pomognute oplodnje bilo je 12,3 % trudnica.

**Tablica 1.** Anamnestički podaci trudnica uključenih u istraživanje (N = 400)

| | | | |
|---|---|---|---|
| *BMI ≥ 25 kg/m$^2$ | Ne | 84 | 21,00 % |
| | Da | 316 | 79,00 % |
| *Dob ≥ 35 (godina) | Ne | 129 | 32,25 % |
| | Da | 271 | 67,75 % |
| *Pušenje duhana | Ne | 275 | 68,75 % |
| | Da | 125 | 31,25 % |
| Broj spontanih pobačaja | 0 | 357 | 89,25 % |
| | 1 | 34 | 8,50 % |
| | ≥ 2 | 9 | 2,25 % |
| Način začeća | Spontano | 351 | 87,75 % |
| | IVF postupci | 49 | 12,25 % |
| *Hipertenzija prije trudnoće | Ne | 395 | 98,75 % |
| | Da | 5 | 1,25 % |
| *Trombofilija | Ne | 378 | 94,50 % |
| | Da | 22 | 5,50 % |
| *Ostale kronične bolesti | Ne | 311 | 77,75 % |
| | Da | 89 | 22,25 % |

N – broj ispitanica
* čimbenici uključenja u istraživanje
BMI – indeks tjelesne mase

Tablica 2 prikazuje kliničke ultrazvučne i laboratorijske parametre trudnica na dan uključenja u istraživanje. Najmlađa trudnica imala je 22, a najstarija 44 godine. Medijan dobi je iznosio 35,18 godina. Indeks tjelesne mase kretao se od 20,00 do 41,91 kg/m$^2$ (medijan 25,66 kg/m$^2$). Vrijednost PP13 u serumu trudnica bila je u rasponu od 65,50 - 168,30 pg/mL (medijan 118,15 pg/mL), a vrijednost kopeptina od 0,20 - 0,51 ng/mL (medijan 0,32 ng/mL). Medijan sistoličkog i dijastoličkog tlaka trudnica na dan uključenja u istraživanje bio je unutar standardnih referentnih vrijednosti (120/70 mmHg).

**Tablica 2.** Klinički, ultrazvučni i laboratorijski parametri trudnica na dan uključenja u istraživanje (N = 400)

| | **Aritmetička sredina** | **SD** | **Min** | **Max** | **Centile** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | **25.** | **Medijan** | **75.** |
| Dob (godine) | 35,18 | 2,83 | 22,00 | 44,00 | 33,00 | 35,00 | 36,00 |
| BMI (kg/m$^2$) | 26,19 | 3,04 | 20,00 | 41,91 | 25,00 | 25,66 | 27,08 |
| Sistolički krvni tlak (mmHg) | 117,08 | 12,63 | 85,00 | 180,00 | 110,00 | 120,00 | 120,00 |
| Dijastolički krvni tlak (mmHg) | 73,49 | 7,82 | 50,00 | 95,00 | 70,00 | 70,00 | 80,00 |
| Dopler arterije uterine (PI) | 1,42 | 0,19 | 0,96 | 2,20 | 1,30 | 1,40 | 1,52 |
| PP13 (pg/mL) | 120,91 | 20,39 | 65,50 | 168,30 | 105,40 | 118,15 | 134,20 |
| Kopeptin (ng/mL) | 0,32 | 0,07 | 0,20 | 0,51 | 0,27 | 0,32 | 0,38 |

SD – standardna devijacija
N – broj ispitanica
BMI – indeks tjelesne mase
PI – indeks pulsatilnosti
PP13 – posteljični protein 13

Tablica 3. Komplikacije u trudnoći i perinatalni ishodi u trudnica (N = 400)

| | | | |
|---|---|---|---|
| Preeklampsija | Ne | 379 | 94,75 % |
| | Da | 21 | 5,25 % |
| Vrijeme nastupa preeklampsije | Kasna | 15 | 71,42 % |
| | Rana | 6 | 28,58 % |
| Težina preeklampsije | Blaga | 16 | 76,20 % |
| | Teška | 5 | 23,80 % |
| Gestacijska hipertenzija | Ne | 347 | 86,75 % |
| | Da | 53 | 13,25 % |
| GDM | Ne | 342 | 85,50 % |
| | Da | 58 | 14,50 % |
| FZR | Ne | 364 | 91,00 % |
| | Da | 36 | 9,00 % |
| Prijevremeni porođaj | Ne | 380 | 95,00 % |
| | Da | 20 | 5,00 % |
| Način porođaja | Vaginalni porođaj | 278 | 69,50 % |
| | Carski rez | 122 | 30,50 % |
| *Apgar 1' ≤ 7 | Ne | 392 | 98,00 % |
| | Da | 8 | 2,00 % |
| **Apgar 5' ≤ 7 | Ne | 397 | 99,25 % |
| | Da | 3 | 0,75 % |

N – broj ispitanica
GDM – gestacijski dijabetes melitus
FZR – fetalni zastoj rasta
* Apgar u 1. minuta po rođenju
** Apgar u 5. minuti po rođenju

Tablica 3 prikazuje komplikacije trudnoće i perinatalni ishod. Dvadest i jedna trudnica je oboljela od preeklampsije (5,25 %). Rani nastup bolesti imalo šest trudnica (28,58 %). Klinička slika teške preeklampsije bila je u prisutna u pet trudnica (23,8 %). Zastoj rasta fetusa komplicirao je 9 % svih trudnoća. Pojava gestacijskog dijabetesa zabilježena je u pedest i osam trudnica (14,5 %). Gestacijska hipertenzija pojavila se u pedeset i tri trudnice (13,25 %).

Prijevremeno je rodilo dvadeset trudnica (5 %). Najraniji porođaj bio u 24. tjednu trudnoće kompliciran kliničkom slikom teške preeklampsije, fetalnim zastojem rasta i razvojem HELLP sindroma što je u konačnici rezultiralo mrtvorođenim djetetom. Trećina trudnoća dovršena je carskim rezom. Apgar 7 ili manji od 7 u prvoj minuti života imalo je osmero djece (2 %). Neonatalnih smrti nije bilo.

**Tablica 4.** Obilježja trudnica i ishodi trudnoća u trudnica s preeklampsijom u usporedbi sa zdravim trudnicama

| | | Preeklampsija | | | | P[a] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Ne | | Da | | |
| | | N | % | N | % | |
| Pušenje | Ne | 262 | 69,1 % | 13 | 61,9 % | 0,477 |
| | Da | 117 | 30,9 % | 8 | 38,1 % | |
| Kronične bolesti | Ne | 297 | 78,4 % | 14 | 66,7 % | 0,277 |
| | Da | 82 | 21,6 % | 7 | 33,3 % | |
| Način začeća | Spontano | 333 | 87,9 % | 18 | 85,7 % | 0,732 |
| | IVF | 46 | 12,1 % | 3 | 14,3 % | |
| Hipertenzija prije trudnoće | Ne | 375 | 98,9 % | 20 | 95,2 % | 0,237 |
| | Da | 4 | 1,1 % | 1 | 4,8 % | |
| Trombofilija | Ne | 358 | 94,5 % | 20 | 95,2 % | 1,000 |
| | Da | 21 | 5,5 % | 1 | 4,8 % | |
| Hipertenzija u trudnoći | Ne | 330 | 87,1 % | 17 | 81,0 % | 0,503 |
| | Da | 49 | 12,9 % | 4 | 19,0 % | |
| FZR | Ne | 352 | 92,9 % | 12 | 57,1% | **< 0,001** |
| | Da | 27 | 7,1 % | 9 | 42,9 % | |
| GDM | Ne | 326 | 86,0 % | 16 | 76,2 % | 0,207 |
| | Da | 53 | 14,0 % | 5 | 23,8 % | |
| Abrupcija poteljice | Ne | 378 | 99,7 % | 20 | 95,2 % | 0,102 |
| | Da | 1 | 0,3 % | 1 | 4,8 % | |
| HELLP sindrom | Ne | 379 | 100 % | 20 | 95,2 % | 0,053 |
| | Da | 0 | 0 | 1 | 4,8 % | |
| Prijevremeni porođaj | Ne | 364 | 96,1 % | 16 | 76,2 % | 0,001 |
| | Da | 15 | 3,9 % | 5 | 23,8% | |
| Način porođaja | Vaginalni porođaj | 272 | 71,8 % | 6 | 28,6 % | **< 0,001** |
| | Carski rez | 107 | 28,2 % | 15 | 71,4 % | |
| *Apgar 1' ≤ 7 | Ne | 374 | 98,7 % | 18 | 85,7 % | **0,006** |
| | Da | 5 | 1,3 % | 3 | 14,3 % | |
| **Apgar 5' ≤ 7 | Ne | 378 | 99,7 % | 19 | 90,5 % | **0,008** |
| | Da | 1 | 0,3 % | 2 | 9,5 % | |

[a] Fisherov egzaktni test
P – razina statističke značajnosti, P < 0,05
N – broj ispitanica
FZR – fetalni zastoj rasta
GDM – gestacijski dijabetes melitus
HELLP – *engl. hemolysis, elevated liver enzymes and a low platelet count*
* Apgar u 1. minuti po rođenju
** Apgar u 5.minuti po rođenju

Više od trećine trudnica oboljelih od preeklampsije bolovalo je i od preegzistentnih kroničnih bolesti (33,3 %) dok je u ostalih trudnica kronična bolest bila prisutna u 21,6 % (Tablica 4).

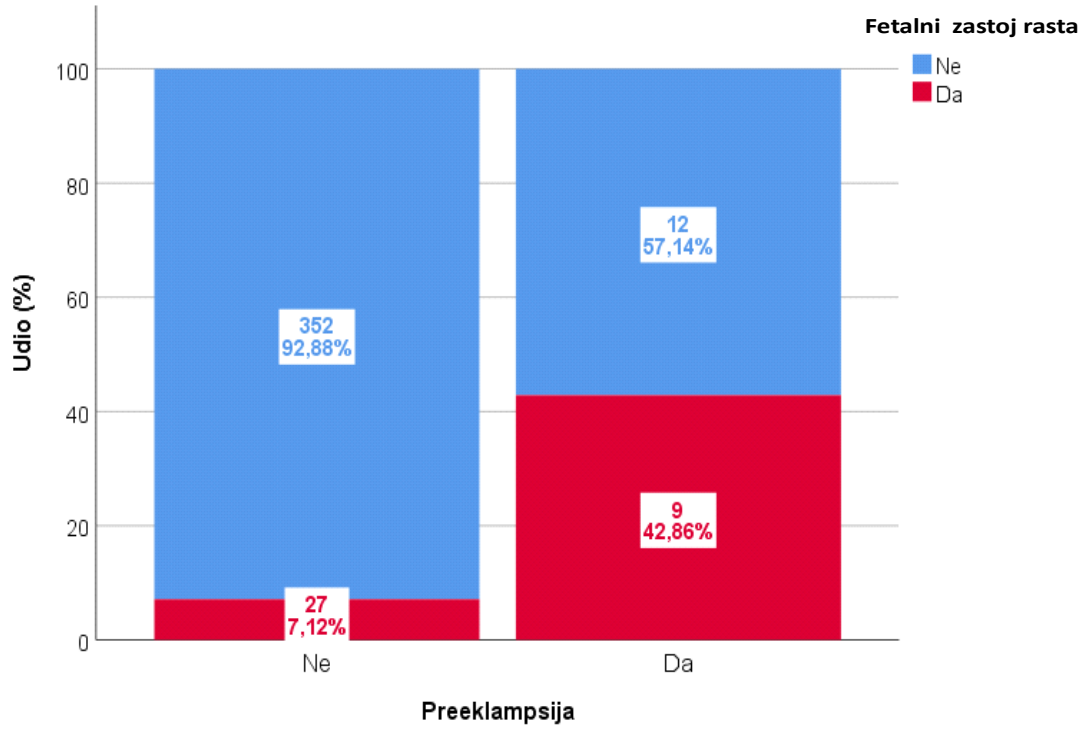
Abrupciju posteljice praćenu obilnim krvarenjem i razvojem diseminirane intravaskularne koagulacije imala je jedna trudnica s preeklampsijom. U trudnica koje nisu oboljele od preeklampsije zabilježen je jedan slučaj abrupcije posteljice, no bez popratnih komplikacija.

U jedne trudnice s ranom preeklampsijom i teškim oblikom bolesti nastupio je HELLP sindrom, a trudnoća je završila induciranim vaginalnim porođajem zbog smrti fetusa.

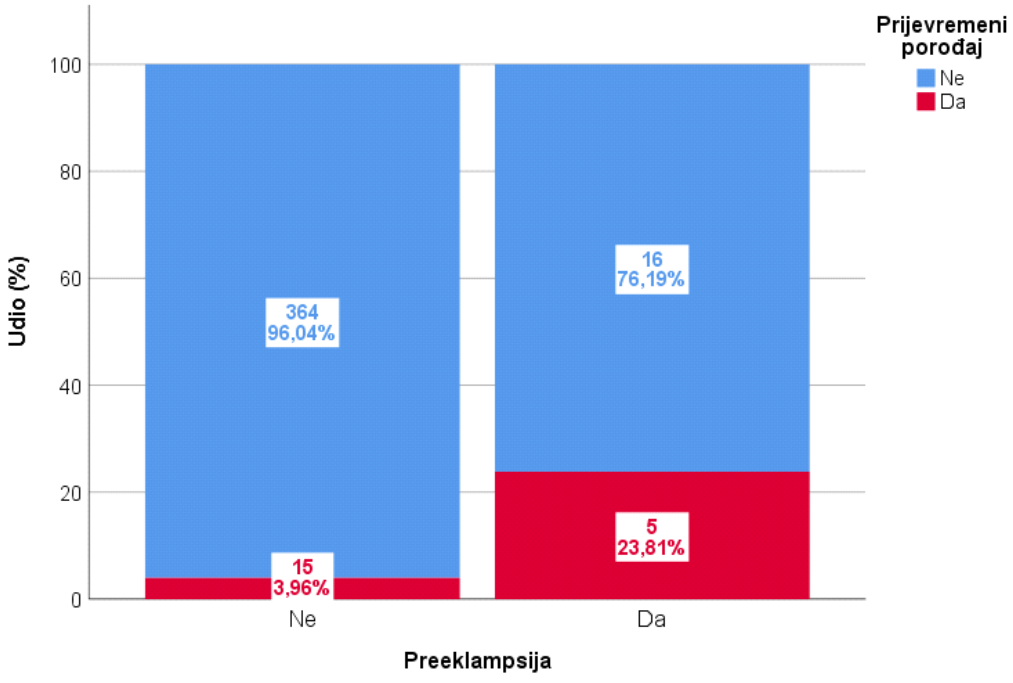
Novorođenčad majki oboljelih od preeklampsije imala je značajno češće vrijednost Apgar indeksa ≤ 7 u prvoj minuti (P = 0,006) i petoj minuti (P = 0,008) u odnosu na novorođenčad zdravih trudnica (Tablica 4).

U trudnica oboljelih od preeklampsije potvrđena je statistički značajno češća pojava fetalnog zastoja rasta, prijevremenog porođaja i carskog reza u odnosu na trudnice koje nisu oboljele od PE, što je grafički prikazano u Slikama 1 − 3.

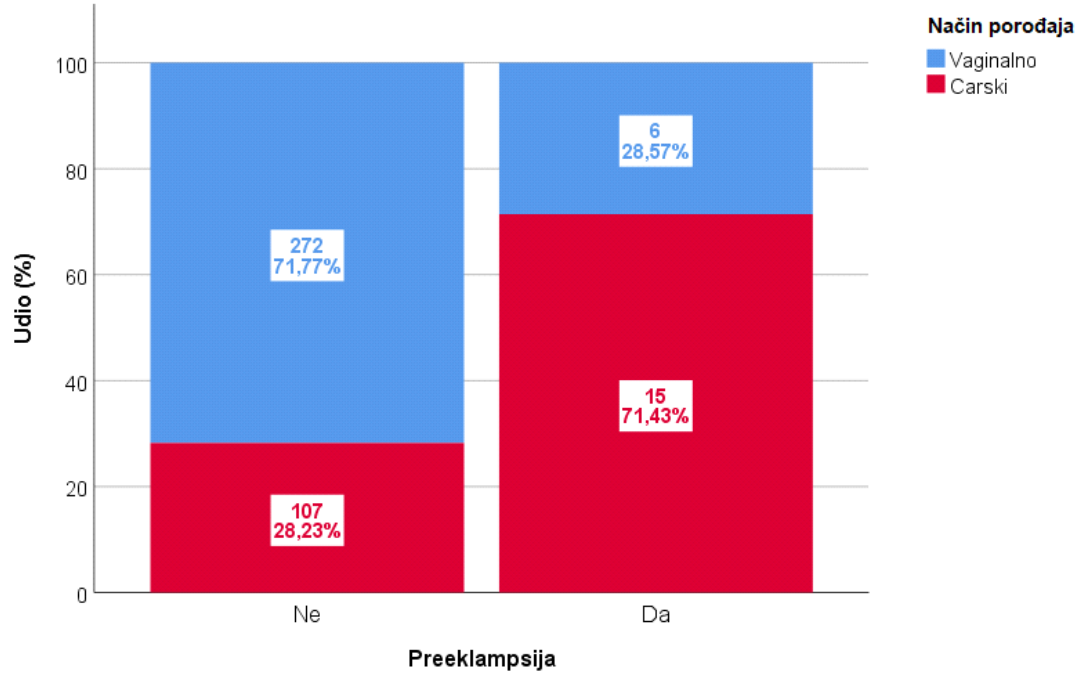
**Slika 1.** Učestalost fetalnog zastoja rasta u trudnica s preeklampsijom i u zdravih trudnica




**Slika 2.** Učestalost prijevremenog poroñaja u trudnica s preeklampsijom i u zdravih trudnica



**Slika 3.** Način dovršenja trudnoće u trudnica s preeklampsijom i u zdravih trudnica




Sto sedam zdravih trudnica rodilo je carskim rezom (28,3 %).

U skupini trudnica s preeklampsijom porođaj carskim rezom indiciran je u petnaest trudnica (71,4 %), od kojih se u 12 slučajeva radilo o hitnom carskom rezu zbog pogoršanja kliničke slike preeklampsije i/ili prijeteće asfiksije fetusa.

Vaginalno je rodilo šest trudnica s preeklampsijom, a u četiri slučaja radilo se o induciranom vaginalnom porođaju.

**Tablica 5.** Kliničke karakteristike trudnica s preeklampsijom u usporedbi sa zdravim trudnicama na dan uključenja u istraživanje

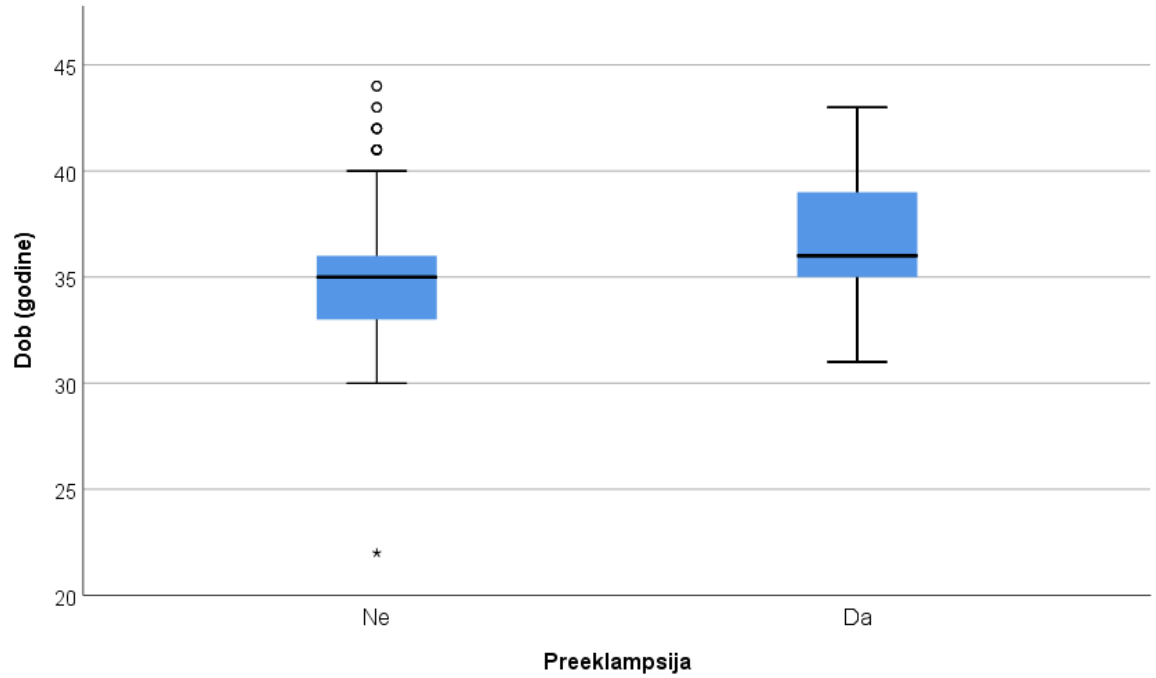
| Preeklampsija | | N | Min | Max | Centile | | | P[a] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 25. | Medijan | 75. | |
| Dob (godine) | Ne | 379 | 22,00 | 44,00 | 33,00 | 35,00 | 36,00 | **0,025** |
| | Da | 21 | 31,00 | 43,00 | 35,00 | 36,00 | 39,00 | |
| BMI (kg/m$^2$) | Ne | 379 | 20,00 | 41,91 | 25,00 | 25,66 | 27,01 | 0,737 |
| | Da | 21 | 21,07 | 36,84 | 23,16 | 25,77 | 28,98 | |
| Sistolički tlak (mmHg) | Ne | 379 | 85,00 | 180,00 | 110,00 | 120,00 | 120,00 | 0,050 |
| | Da | 21 | 100,00 | 160,00 | 110,00 | 120,00 | 130,00 | |
| Dijastolički tlak (mmHg) | Ne | 379 | 50,00 | 90,00 | 70,00 | 70,00 | 80,00 | 0,448 |
| | Da | 21 | 60,00 | 95,00 | 70,00 | 70,00 | 80,00 | |

[a] Mann-Whitney U test
P – razina statističke značajnosti, P < 0,05
N – broj ispitanica
BMI – indeks tjelesne mase

Najmlađa trudnica oboljela od preeklampsije imala je 31, a najstarija 43 godine. Trudnice oboljele od preeklampsije bile su statistički značajno starije od zdravih trudnica (P = 0.025, Tablica 5). Vrijednost sistoličkog tlaka u trudnica s preeklampsijom bila je viša nego u skupini zdravih trudnica (P = 0,50). Nije bilo statistički značajne razlike u BMI indeksu i vrijednosti dijastoličkog tlaka između trudnica.

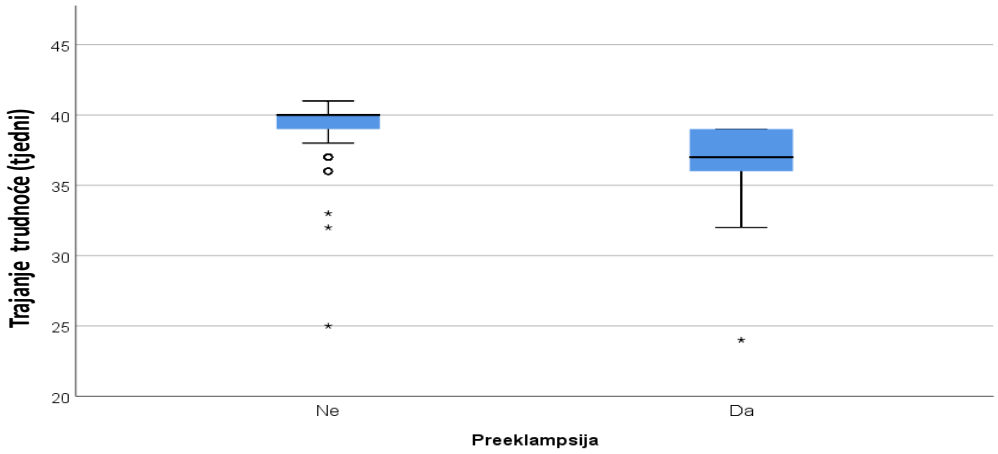
Trudnice koje su oboljele od preeklampsije bile su značajno starije od zdravih trudnica rađale su značajno ranije a njihova djeca su imala značajno nižu rodnu masu u usporedbi sa zdravim trudnicama (Slike 4, 5 i 6).

**Slika 4.** Razlika u životnoj dobi između trudnica s preeklampsijom i zdravih trudnica




P < 0,025

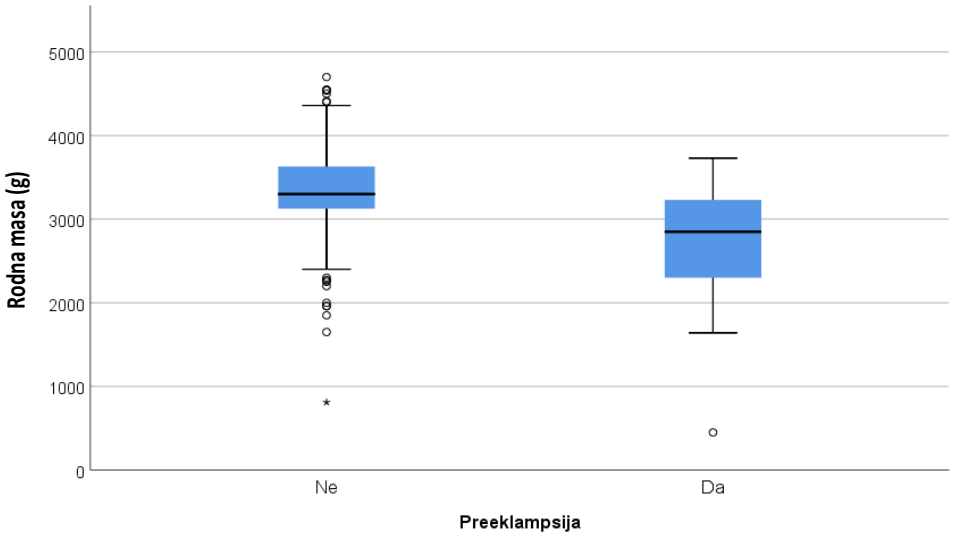
**Slika 5.** Razlika u trajanju trudnoće između trudnica s preeklampsijom i zdravih trudnica




P < 0,001

Trudnice s preeklampsijom u prosjeku su rađale u 37. tjednu gestacije, dok je prosječno trajanje trudnoće u zdravih trudnica bilo 40 tjedana. Najraniji porođaj zabilježen je s 24 tjedna gestacije u trudnice s kliničkom slikom rane i teške preeklampsije i smrti fetusa. U zdravih trudnica najraniji porođaj je bio u 32. tjednu gestacije zbog preranog prijevremenog prsnuća vodenjaka.

**Slika 6**. Razlika u rodnoj masi djeteta između trudnica s preeklampsijom i zdravih trudnica




P < 0,001

Trudnice s preeklampsijom rađale su djecu prosječne rodne mase 2850 g, dok je prosječna rodna masa djece zdravih trudnica bila statistički značajno viša i iznosila je 3300 g.

**Tablica 6.** Laboratorijske i ultrazvučne karakteristike trudnica s preeklampsijom u usporedbi sa zdravim trudnicama na dan uključenja u istraživanje

| Preeklampsija | | N | Min | Max | Centile | | | P[a] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 25. | Medijan | 75. | |
| PP 13 (pg/mL) | Ne | 379 | 65,50 | 168,30 | 105,90 | 120,30 | 135,60 | **< 0,001** |
| | Da | 21 | 87,50 | 132,50 | 92,45 | 96,80 | 108,20 | |
| Kopeptin (ng/mL) | Ne | 379 | 0,20 | 0,51 | 0,27 | 0,31 | 0,37 | **< 0,001** |
| | Da | 21 | 0,24 | 0,51 | 0,39 | 0,43 | 0,47 | |
| Doppler uterine arterije (PI) | Ne | 379 | 0,96 | 2,10 | 1,30 | 1,40 | 1,52 | 0,285 |
| | Da | 21 | 1,11 | 2,20 | 1,22 | 1,32 | 1,61 | |

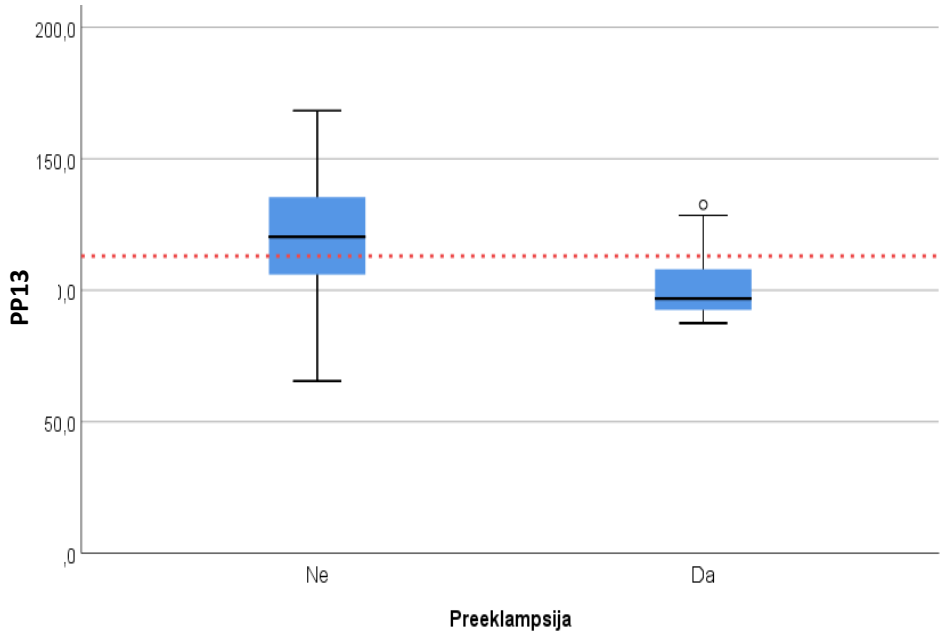
[a] Mann-Whitney U test
P – razina statističke značajnosti, P < 0,05
N – broj ispitanica
PP13 – posteljični protein 13
PI – indeks pulsatilnosti

Serumske koncentracije biomarkera u prvom tromjesečju također su se značajno razlikovale.

U zdravih trudnica u serumu je izmjeren PP13 u rasponu 65,50 − 168,30 pg/mL (medijan 120,30 pg/mL). U trudnice s preeklampsijom izmjerena vrijednost PP13 iznosila je 87,50 − 132,50 pg/mL (medijan 96,80 pg/mL), što je statistički značajno niže (Tablica 6, Slika 7).

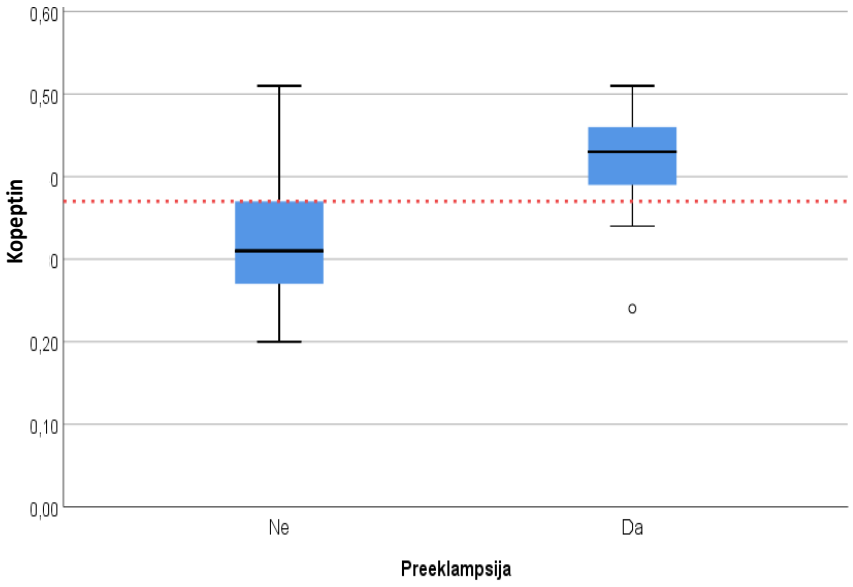
Značajna razlika nađena je i u serumskoj koncentraciji kopeptina. U trudnica koje su oboljele od preeklampsije razina kopeptina bila je za 38,7 % viša u usporedbi sa zdravim trudnicama (P < 0,001) (Tablica 6 i Slika 8).

**Slika 7.** Razlika u serumskoj koncentraciji PP13 u prvom tromjesečju trudnoće između trudnica s preeklampsijom i zdravih trudnica




P < 0,001

**Slika 8.** Razlika u serumskoj koncentraciji kopeptina u prvom tromjesečju trudnoće između trudnica s preeklampsijom i  zdravih trudnica




P < 0,001

U trudnica s teškom preeklampsijom medijan vrijednosti serumske koncentracije PP13 iznosio je 93,20 pg/mL, a u trudnica s blagim oblikom bolesti 100,40 pg/mL. Srednja koncentracija kopeptina neovisno o težini bolesti iznosila je 0,43 ng/mL.

Serumska razina biomarkera u prvom tromjesečju nije se pokazala značajnom u predikciji težine preeklampsije (Tablica 7).

**Tablica 7.** Serumska koncentracija biomarkera u prvom tromjesečju trudnoće u trudnica s preeklampsijom u odnosu na težinu bolesti

| **Težina preeklampsije** | | **N** | **Min** | **Max** | **Centile** | | | **P[a]** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | **25.** | **Medijan** | **75.** | |
| PP13 | Blaga | 16 | 87,50 | 132,50 | 92,88 | 100,40 | 108,30 | 0,457 |
| | Teška | 5 | 87,60 | 113,00 | 90,05 | 93,20 | 105,75 | |
| Kopeptin | Blaga | 16 | 0,24 | 0,51 | 0,38 | 0,43 | 0,47 | 0,591 |
| | Teška | 5 | 0,39 | 0,50 | 0,40 | 0,43 | 0,48 | |

[a]Mann-Whitney U test
P – razina statističke značajnosti, P < 0,05
N – broj ispitanica
PP13 − posteljični protein 13

**Tablica 8.** Serumska koncentracija biomarkera u prvom tromjesečju trudnoće u trudnica s preeklampsijom u odnosu na vrijeme nastupa bolesti

| Vrijeme nastupa preeklampsije | | N | Min | Max | Centile | | | P[a] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 25. | Medijan | 75. | |
| PP13 | Kasna | 15 | 87,50 | 132,50 | 92,40 | 104,00 | 108,40 | 0,586 |
| | Rana | 6 | 90,70 | 113,00 | 92,05 | 95,00 | 102,13 | |
| Kopeptin | Kasna | 15 | 0,24 | 0,51 | 0,38 | 0,42 | 0,47 | 0,585 |
| | Rana | 6 | 0,39 | 0,49 | 0,41 | 0,44 | 0,46 | |

[a] Mann-Whitney U test
P – razina statističke značajnosti, P < 0,05
N – broj ispitanica
PP13 − posteljični protein 13

U trudnica s ranim nastupom preeklampsije prosječna vrijednosti serumske koncentracije PP13 bila je 95,00 pg/mL, a u trudnica s kasnim nastupom bolesti 104,00 pg/mL. Srednja vrijednost koncentracije kopeptina u trudnica s ranim nastupom bolesti bila je 0,44 ng/mL. U trudnica s kasnim nastupom bolesti srednja vrijednost kopeptina bila je 0,42 ng/mL.

Serumska razina bioloških markera u prvom tromjesečju nije se pokazala značajnom za predikciju ranog nastupa preeklampsije (Tablica 8).

**Tablica 9.** Korelacija serumske razine bioloških biljega s kliničkim karakteristikama trudnica, komplikacijama trudnoće i perinatalnim ishodom.

| | | PP13 | Kopeptin |
|---|---|---|---|
| Dopler arterije uterine (PI) | [a] Koeficijent korelacije | -0,034 | 0,026 |
| | P | 0,335 | 0,460 |
| | N | 379 | 379 |
| Dob (godine) | Koeficijent korelacije | 0,009 | -0,035 |
| | P | 0,814 | 0,354 |
| | N | 379 | 379 |
| BMI (kg/m$^2$) | Koeficijent korelacije | 0,034 | -0,017 |
| | P | 0,323 | 0,637 |
| | N | 379 | 379 |
| | P | 0,571 | 0,636 |
| | N | 379 | 379 |
| Trombofilija | Koeficijent korelacije | 0,068 | -0,069 |
| | P | 0,107 | 0,108 |
| | N | 379 | 379 |
| Sistolički arterijski tlak (mmHg) | Koeficijent korelacije | -0,025 | 0,040 |
| | P | 0,499 | 0,293 |
| | N | 379 | 379 |
| Dijastolički arterijski tlak (mmHg) | Koeficijent korelacije | -0,012 | -0,008 |
| | P | 0,759 | 0,842 |
| | N | 379 | 379 |
| Hipertenzija u trudnoći | Koeficijent korelacije | -0,204 | 0,252 |
| | P | **0,000** | **0,000** |
| | N | 379 | 379 |
| GDM | Koeficijent korelacije | 0,042 | -0,079 |
| | P | 0,323 | 0,066 |
| | N | 379 | 379 |
| FZR | Koeficijent korelacije | -0,134 | 0,227 |
| | P | **0,001** | **0,000** |
| | N | 379 | 379 |
| Trajanje gestacije (tjedni) | Koeficijent korelacije | 0,054 | -0,076 |
| | P | 0,158 | 0,050 |
| | N | 379 | 379 |
| Rodna masa (g) | Koeficijent korelacije | 0,016 | -0,105 |
| | P | 0,639 | **0,003** |
| | N | 379 | 379 |
| Prijevremeni porođaj | Koeficijent korelacije | -0,094 | 0,097 |
| | P | **0,025** | **0,024** |
| | N | 379 | 379 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Apgar1' | Koeficijent korelacije | 0,018 | -0,019 |
| | P | 0,663 | 0,657 |
| | N | 379 | 379 |
| Apgar5' | Koeficijent korelacije | -0,016 | -0,032 |
| | P | 0,699 | 0,461 |
| | N | 379 | 379 |
| Carski rez | Koeficijent korelacije | 0,024 | 0,029 |
| | P | 0,567 | 0,503 |
| | N | 379 | 379 |

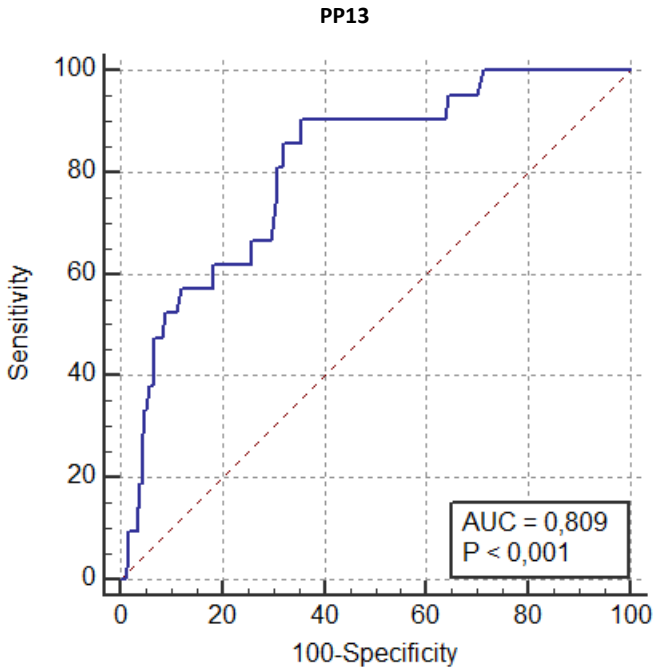
[a] Kendall Tau-b koeficijent korelacije
P – razina statističke značajnosti, p < 0,05
N – broj ispitanica
PI − indeks pulsatilnosti
BMI – indeks tjelesne mase
GDM − gestacijski dijabetes melitus
FZR − fetalni zastoj rasta

Serumska razina biološkog biljega PP13 pokazala se značajnom u korelaciji s pojavom gestacijske hipertenzije (p < 0,001), FZR-om (p < 0,001) te prijevremenim porođajem (p = 0,025). Serumska razina kopeptina značajno korelira s pojavom gestacijske hipertenzije (p < 0,001), prijevremenim porođajem (p = 0,024), rodnom masom djeteta (p = 0,003) te FZR-om (p < 0,001) (Tablica 9).

Dob, BMI i vrijednost arterijskog tlaka trudnice nisu u korelaciji sa serumskim vrijednostima bioloških biljega, kao ni vrijednostima Apgar indeksa u prvoj i petoj minuti života djeteta.

Iz Tablice 9. vidimo da su trudnice sa sniženom koncentracijom PP13 i povišenom koncentracijom kopeptina u serumu značajno češće oboljele od hipertenzije u trudnoći, imale su značajno češće fetalni zastoj rasta i značajno su češće rađale prije termina.

**Slika 9.** ROC analiza predikcije preeklampsije s obzirom na razinu PP13 u serumu trudnice u prvom tromjesečju trudnoće (površina ispod krivulje, *engl. AUC*)




**Tablica 10.** ROC analiza predikcije preeklampsije s obzirom na razinu PP13 u serumu trudnice u prvom tromjesečju trudnoće

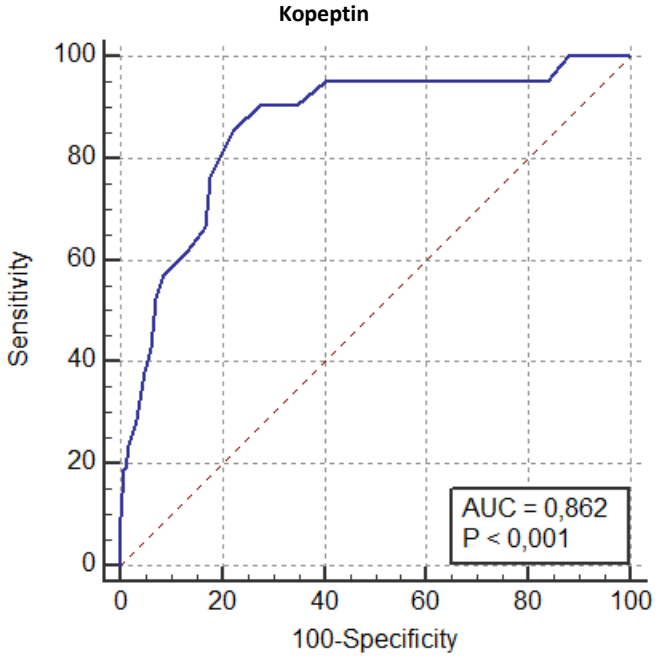
| | |
|---|---|
| **Površina ispod ROC krivulje (AUC)** | 0,809 |
| **Standardna greška** | 0,0451 |
| **95% interval pouzdanosti** | 0,767 - 0,846 |
| **z statistika** | 6,846 |
| **P vrijednost** | < 0,0001 |
| | |
| **Youdenov index J** | 0,5486 |
| **Povezani kriterij** | **≤ 113** |
| **Osjetljivost** | 90,48 |
| **Specifičnost** | 64,38 |

Ukoliko je vrijednost PP13 u serumu trudnice u prvom tromjesečju trudnoće ≤ 113 pg/m, osjetljivost testa za predikciju preeklampsije je 90,48 % a specifičnost 64,38 % (Slika 9, Tablice 10 i 11).

**Tablica 11.** Osjetljivost i specifičnost serumske koncentracije PP13 u prvom tromjesečju trudnoće za predikciju preeklampsije

| Kriterij | Osjetljivost | 95% CI | Specifičnost | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| < 65,5 | 0 | 0,0 - 16,1 | 100 | 99,0 - 100,0 |
| ≤ 87,2 | 0 | 0,0 - 16,1 | 98,94 | 97,3 - 99,7 |
| ≤ 87,5 | 4,76 | 0,1 - 23,8 | 98,15 | 96,2 - 99,3 |
| ≤ 87,6 | 9,52 | 1,2 - 30,4 | 98,15 | 96,2 - 99,3 |
| ≤ 90,2 | 9,52 | 1,2 - 30,4 | 96,31 | 93,9 - 98,0 |
| ≤ 90,3 | 14,29 | 3,0 - 36,3 | 96,31 | 93,9 - 98,0 |
| ≤ 90,4 | 14,29 | 3,0 - 36,3 | 96,04 | 93,6 - 97,8 |
| ≤ 90,7 | 19,05 | 5,4 - 41,9 | 96,04 | 93,6 - 97,8 |
| ≤ 91,5 | 19,05 | 5,4 - 41,9 | 95,51 | 92,9 - 97,4 |
| ≤ 92,5 | 28,57 | 11,3 - 52,2 | 95,51 | 92,9 - 97,4 |
| ≤ 93,2 | 33,33 | 14,6 - 57,0 | 95,25 | 92,6 - 97,2 |
| ≤ 93,5 | 33,33 | 14,6 - 57,0 | 94,72 | 92,0 - 96,7 |
| ≤ 94,3 | 38,1 | 18,1 - 61,6 | 94,2 | 91,3 - 96,3 |
| ≤ 95,1 | 38,1 | 18,1 - 61,6 | 93,67 | 90,7 - 95,9 |
| ≤ 95,4 | 42,86 | 21,8 - 66,0 | 93,4 | 90,4 - 95,7 |
| ≤ 95,6 | 47,62 | 25,7 - 70,2 | 93,4 | 90,4 - 95,7 |
| ≤ 96,7 | 47,62 | 25,7 - 70,2 | 91,82 | 88,6 - 94,4 |
| ≤ 96,8 | 52,38 | 29,8 - 74,3 | 91,03 | 87,7 - 93,7 |
| ≤ 98,4 | 52,38 | 29,8 - 74,3 | 88,92 | 85,3 - 91,9 |
| ≤ 98,5 | 57,14 | 34,0 - 78,2 | 87,86 | 84,1 - 91,0 |
| ≤ 103,2 | 57,14 | 34,0 - 78,2 | 81,79 | 77,5 - 85,5 |
| ≤ 104 | 61,9 | 38,4 - 81,9 | 81,53 | 77,3 - 85,3 |
| ≤ 106 | 61,9 | 38,4 - 81,9 | 74,14 | 69,4 - 78,5 |
| ≤ 106,2 | 66,67 | 43,0 - 85,4 | 74,14 | 69,4 - 78,5 |
| ≤ 107,9 | 66,67 | 43,0 - 85,4 | 70,45 | 65,6 - 75,0 |
| ≤ 108 | 76,19 | 52,8 - 91,8 | 69,13 | 64,2 - 73,7 |
| ≤ 108,4 | 80,95 | 58,1 - 94,6 | 69,13 | 64,2 - 73,7 |
| ≤ 108,7 | 80,95 | 58,1 - 94,6 | 68,34 | 63,4 - 73,0 |
| ≤ 108,9 | 85,71 | 63,7 - 97,0 | 67,81 | 62,8 - 72,5 |
| ≤ 112,6 | 85,71 | 63,7 - 97,0 | 64,38 | 59,3 - 69,2 |
| **≤ 113** | **90,48** | **69,6 - 98,8** | **64,38** | **59,3 - 69,2** |
| ≤ 128,4 | 90,48 | 69,6 - 98,8 | 36,15 | 31,3 - 41,2 |
| ≤ 128,5 | 95,24 | 76,2 - 99,9 | 35,62 | 30,8 - 40,7 |
| ≤ 132,4 | 95,24 | 76,2 - 99,9 | 29,82 | 25,3 - 34,7 |
| ≤ 132,5 | 100 | 83,9 - 100,0 | 28,76 | 24,3 - 33,6 |
| ≤ 168,3 | 100 | 83,9 - 100,0 | 0 | 0,0 - 1,0 |

**Slika 10.** ROC analiza predikcije preeklampsije s obzirom na razinu kopeptina u serumu trudnice u prvom tromjesečju trudnoće (površina ispod krivulje, *engl. AUC*)




**Tablica 12.** ROC analiza predikcije preeklampsije u odnosu na koncentraciju kopeptina u serumu trudnica u prvom tromjesečju trudnoće

| | |
|---|---|
| **Površina ispod ROC krivulje (AUC)** | 0,862 |
| **Standardna greška** | 0,0431 |
| **95% interval pouzdanosti** | 0,825 - 0,895 |
| **z statistika** | 8,413 |
| **P vrijednost** | < 0,0001 |
| | |
| **Youdenov index J** | 0,6329 |
| **Povezani kriterij** | ➢ **0,37** |
| **Osjetljivost** | 85,71 |
| **Specifičnost** | 77,57 |

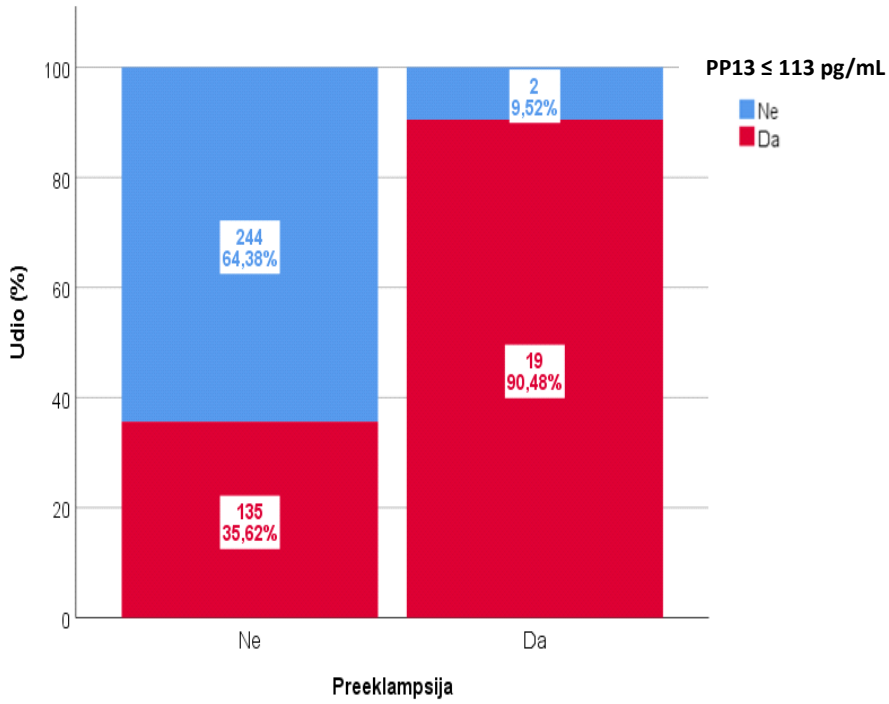
Ukoliko je serumska koncentracija kopeptina u trudnice u prvom tromjesečju trudnoće > 0,37 ng/mL osjetljivost testa za predikciju preeklampsije iznosi 85,71 % a specifičnost 77,57 % (Slika 10, Tablice 12 i 13).

**Tablica 13.** Osjetljivost i specifičnost serumske koncentracije kopeptina u prvom tromjesečju trudnoće za predikciju preeklampsije

| Kriterij | Osjetljivost | 95% CI | Specifičnost | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| ≥ 0,2 | 100 | 83,9 - 100,0 | 0 | 0,0 - 1,0 |
| > 0,23 | 100 | 83,9 - 100,0 | 12,14 | 9,0 - 15,9 |
| > 0,24 | 95,24 | 76,2 - 99,9 | 16,09 | 12,5 - 20,2 |
| > 0,33 | 95,24 | 76,2 - 99,9 | 59,63 | 54,5 - 64,6 |
| > 0,34 | 90,48 | 69,6 - 98,8 | 65,44 | 60,4 - 70,2 |
| > 0,36 | 90,48 | 69,6 - 98,8 | 72,56 | 67,8 - 77,0 |
| **> 0,37** | **85,71** | **63,7 - 97,0** | **77,57** | **73,0 - 81,7** |
| > 0,38 | 76,19 | 52,8 - 91,8 | 82,32 | 78,1 - 86,0 |
| > 0,39 | 66,67 | 43,0 - 85,4 | 83,38 | 79,2 - 87,0 |
| > 0,4 | 61,9 | 38,4 - 81,9 | 86,54 | 82,7 - 89,8 |
| > 0,41 | 57,14 | 34,0 - 78,2 | 91,29 | 88,0 - 93,9 |
| > 0,42 | 52,38 | 29,8 - 74,3 | 92,88 | 89,8 - 95,3 |
| > 0,43 | 42,86 | 21,8 - 66,0 | 93,93 | 91,0 - 96,1 |
| > 0,44 | 38,1 | 18,1 - 61,6 | 94,99 | 92,3 - 97,0 |
| > 0,45 | 28,57 | 11,3 - 52,2 | 96,83 | 94,5 - 98,4 |
| > 0,46 | 23,81 | 8,2 - 47,2 | 98,15 | 96,2 - 99,3 |
| > 0,47 | 19,05 | 5,4 - 41,9 | 98,94 | 97,3 - 99,7 |
| > 0,48 | 19,05 | 5,4 - 41,9 | 99,21 | 97,7 - 99,8 |
| > 0,49 | 9,52 | 1,2 - 30,4 | 99,74 | 98,5 - 100,0 |
| > 0,5 | 4,76 | 0,1 - 23,8 | 99,74 | 98,5 - 100,0 |
| > 0,51 | 0 | 0,0 - 16,1 | 100 | 99,0 - 100,0 |

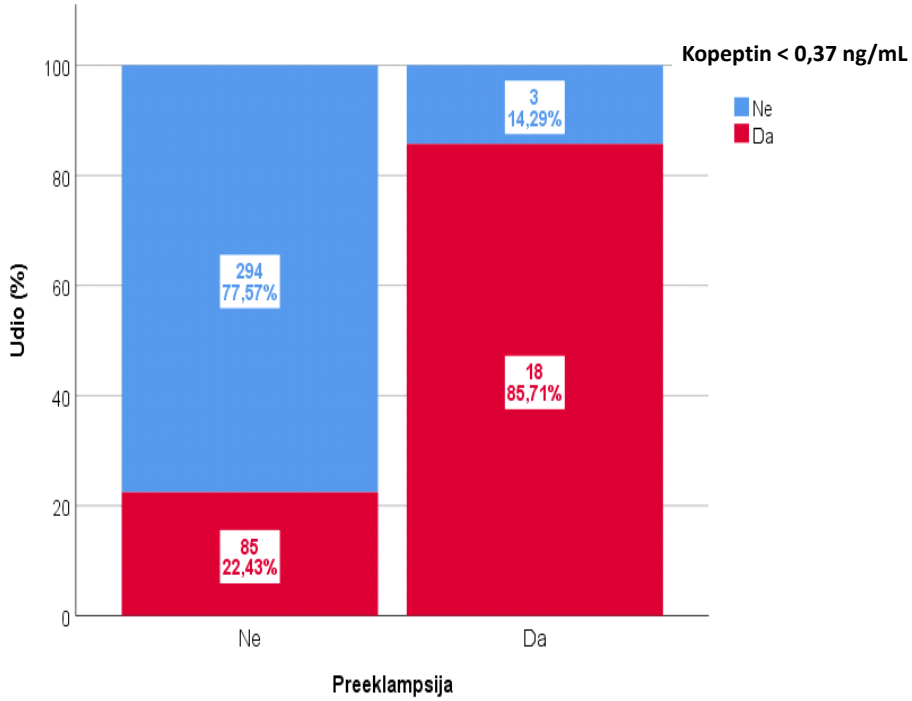
Na Slikama 11 i 12 prikazana je značajna razlika u raspodjeli graničnih serumskih vrijednosti ispitivanih bioloških biljega u skupini zdravih trudnica u odnosu na trudnice koje su oboljele od preeklampsije ($P < 0,001$).

**Slika 11.** Granična vrijednost (engl. cutt-off) koncentracije PP13 u serumu trudnica u prvom tromjesečju trudnoće u odnosu na nastup preeklampsije (P < 0,001)




U devetnaest trudnica (90,48 %) koje se oboljele od preeklampsije serumska koncentracija PP13 u prvom tromjesečju trudnoće bila je ≤ 113 pg/mL (Slika 11).

**Slika 12.** Granična vrijednost (engl. cutt-off) koncentracije kopeptina u serumu trudnica u prvom tromjesečju trudnoće u odnosu na nastup preeklampsije (P < 0,001)




Patološke vrijednosti serumske razine copeptina (> 0,37 ng/mL) u prvom tromjesečju trudnoće zabilježene su u 85,71 % trudnica s preeklampsijom (Slika 12).

U 22,43 % zdravih trudnica zabilježena je patološka vrijednost copeptina.

**Tablica 14.** Validacija biomarkera u predikciji preeklampsije

| | **Osjetljivost** | **Specifičnost** | **Površina ispod ROC krivulje (AUC)** | **Dijagnostička preciznost testa** |
|---|---|---|---|---|
| Patološki PP 13 (≤ 113 pg/mL) | 90,48 % | 64,38 % | 0,809 | 65,75 % |
| Patološki kopeptin (> 0,37 ng/mL) | 85,71 % | 77,57 % | 0,862 | 78,00 % |
| Patološki PP13 **ILI** patološki kopeptin | 95,24 % | 61,21 % | 0,782 | 63,00 % |
| Patološki PP13 **I** patološki kopeptin | 80,95 % | 80,74 % | 0,808 | 80,75 % |

PP13 − posteljični protein 13

U Tablici 14 prikazane su osjetljivost, specifičnost i dijagnostička preciznost biomarkera PP13 i kopeptina u predikciji preeklampsije prema njihovim graničnim vrijednostima dobivenim ROC analizom. U našem istraživanju 80,75 % trudnica u kojih je istovremeno u serumu izmjeren PP13 ≤ 113 pg/mL i kopeptin > 0,37 ng/mL oboljelo je od preeklampsije.

**Tablica 15.** Regresijski model predikcije nastupa preeklampsije u odnosu na serumsku razinu PP13, kopeptina i njihove međusobne kombinacije: binarna logistička regresija

| | OR | 95% CI | | P |
|---|---|---|---|---|
| | | Donji | Gornji | |
| PP13 ≤ 113 pg/Ml | 17,17 | 3,94 | 74,84 | **< 0,001** |
| kopeptin > 0,37 ng/Ml | 20,75 | 5,97 | 72,14 | **< 0,001** |
| Kopeptin > 0,37 ng/mL<br>**ILI („OR“)**<br>PP13 ≤ 113 pg/Ml | 31,57 | 4,19 | 237,70 | **< 0,001** |
| Kopeptin > 0,37 ng/Ml<br>**I („AND“)**<br>PP13 ≤ 113 pg/mL | 17,82 | 5,82 | 54,53 | **< 0,001** |

P – razina statističke značajnosti, P < 0,05

PP13 − posteljični protein 13

Serumska koncentracija PP13 u prvom tromjesečju ≤ 113 pg/mL povećava rizik za nastanak preeklampsije 17,2 puta (Tablica 15).

Serumska koncentracija kopeptina u prvom tromjesečju trudnoće > 0,37 ng/mL povećava rizik za nastanak preeklampsije 20,8 puta.

Ukoliko promatramo međusobnu kombinaciju ovih biomarkera, uz uvjet da mjerimo oba i da je barem jedan patološki (neovisno koji), vjerojatnost za nastanak preeklampsije povećava se 31,6 puta.

**Tablica 16.** Regresijski model predikcije preeklampsije u odnosu na koncentraciju bioloških biljega, životnu dob trudnice i vrijednost sistoličkog krvnog tlaka: binarna logistička regresija

| | OR | 95% CI | | P |
|---|---|---|---|---|
| | | Donji | Gornji | |
| PP13 ≤ 113 pg/mL | 5,32 | 0,95 | 29,74 | 0,057 |
| Kopeptin > 0,37ng/mL | 8,97 | 2,13 | 37,78 | 0,003 |
| Dob (godine) | 1,26 | 1,06 | 1,49 | 0,007 |
| Sistolički krvni tlak (mmHg) | 1,03 | 1,01 | 1,07 | 0,062 |

P – razina statističke značajnosti, P < 0,05

PP13 − posteljični protein 13

Prema modelu prikazanom u Tablici 16, kao značajni prediktori za nastanak preeklampsije ističu se patološka vrijednost kopeptina (OR: 8,97; 95% CI: 2,13 – 37,78; P = 0,003) i životna dob trudnice (OR: 1,26, 95%CI: 1,06-1,49; P = 0,007). Povećanje životne dobi trudnice za jednu godinu predstavlja 1,26 puta veći rizik za nastup preeklampsije. Trudnica starija od 35 godina, sa povišenim sistoličkim tlakom i koncentracijom kopeptina > 0,37 ng/mL ima 8,97 puta veći rizik za nastup preeklampsije (Tablica 16).

**Tablica 17.** Regresijski model predikcije fetalnog zastoja rasta u odnosu na serumsku koncentraciju PP13 i kopeptina; binarna logistička regresija

| | OR | 95% CI | | P |
|---|---|---|---|---|
| | | Donji | Gornji | |
| PP13 ≤ 113 pg/mL | 4,29 | 2,05 | 9,01 | **< 0,001** |
| Kopeptin > 0,37 ng/mL | 10,65 | 4,81 | 23,65 | **< 0,001** |

P – razina statističke značajnosti, P < 0,05

PP13 − posteljični protein 13

Fetalni zastoj rasta je teška komplikacija trudnoće koja značajno utječe na lošiji perinatalni ishod. U ovom istraživanju, koje je uključilo prvorotke s visokim rizikom za nastanak preeklampsije, u 9 % njih zabilježen je fetalni zastoj rasta.

Trudnice u kojih je serumska vrijednost PP13 ≤ 113 pg/mL imaju 4,29 puta veći rizik za FZR tijekom trudnoće u odnosu na trudnice s višim vrijednostima ovog biljega.

U trudnica u kojih je u prvom tromjesečju trudnoće koncentracija kopeptina u serumu veća od 0,37 ng/mL rizik za nastanak FZR-a je 10,65 puta veći u odnosu na trudnice s nižom koncentracijom ovog biomarkera (Tablica 17).

# 6. RASPRAVA

Preeklampsija je progresivna multisistemska bolest zasada nepoznate etiologije koja značajno utječe na maternalni i fetalni mortalitet. Najvažnija dugoročna komplikacija preeklampsije je visok rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti (104). Preeklampsija se pojavljuje u 2 – 8 % trudnoća, što prvenstveno ovisi o udjelu prvorotki i distribuciji dobi trudnica (105). U SAD-u od preeklampsije obolijeva 3,4 % trudnica, u Nizozemskoj 2,2 %, dok se u Finskoj preeklampsija pojavljuje u čak 9,4 % prvorotki (154 – 156). Najveću prevalenciju preeklampsije imaju zemlje u razvoju, prema nekim istraživanjima i do 16,7 % (157). U našem istraživanju koje je uključilo visokorizične trudnice za preeklampsiju, oboljelo je 5,25 % trudnica. U istom periodu prevalecija preeklampsije u našoj Klinici iznosila je oko 2,4 %. Iz navedenog jasno vidimo da je prevalencija preeklampsije u trudnica s rizičnim čimbenicima dvostruko veća u odnosu na opću populaciju trudnica.

Preeklampsija i eklampsija uzrokuju 10 – 15 % maternalnog mortaliteta, osobito u zemljama u razvoju s lošijom antenatalnom skrbi (158). Nova istraživanja usmjerena su na otkrivanje trudnica s povećanim rizikom za preeklampsiju u prvom tromjesečju trudnoće. Probir rizičnih trudnica omogućuje nam adekvatan nadzor i prevenciju bolesti kao i prevenciju nepovoljnog perinatalnog ishoda. U razvijenim zemljama bilježi se povećana prevalencija rizičnih čimbenika za razvoj preeklampsije, poput starije dobi prvorotki, pretilosti i kardiovaskularnih bolesti. U nerazvijenom zemljama neadekvatna prenatalna skrb objašnjava konstantno visoku prevalenciju preeklampsije. Prvorotke imaju i do 6 puta veći rizik za nastup preeklampsije u odnosu na višerotke (12).

Povezanost između disfunkcije trofoblasta i razvoja preeklampsije još uvijek nije u potpunosti razjašnjena, stoga je današnja terapija usmjerena na prevenciju simptoma bolesti, a ne na liječenje njezinog uzroka. Ključna istraživanja u ovom trenutku usmjerena su na detekciju angiogenih čimbenika koji se otpuštaju iz posteljičnog tkiva, ulaze u majčinu cirkulaciju, oštećuju endotel i dovode do njegove disfunkcije (59, 60).

Rana kvantifikacija čimbenika rizika je važna s obzirom da utvrđuje smjernice postupanja s trudnicom i provođenje preventivnih mjera. Dob majke povećava rizik za razvoj preeklampsije posebice nakon 32. godine, kada rizik za kasnu PE raste sa

svakom godinom života za 4 % (13, 17). Prosječna dob trudnica u našem istraživanju bila je iznad 35 godina života. Četrdeset i više godina imalo je 9,5 % trudnica, što je i očekivano s obzirom da je istraživanje provedeno u vrijeme izvođenja ranog kombiniranog probira na kromosomopatije. Dio trudnica koje su bile starije od 40 godina izostavljen je zbog odabira invazivne dijagnostike ili neinvazivnih prenatalnih testova. Trudnice koje su oboljele od preeklampsije bile su starije životne dobi od zdravih trudnica.

Iako neki autori smatraju da je pušenje duhana protektivni čimbenik u razvoju preeklampsije (44), udio trudnica koje puše u ispitivanoj populaciji bio je poražavajuće visok. U skupini onih koje su oboljele od preeklampsije iznosio je gotovo 40 %, a u skupini zdravih trudnica 30%. U trudnica koje puše duhan učestaliji su fetalni zastoj rasta i niska porođajna težina djece (42 – 45, 159, 160).

Povećan rizik za nastup preeklampsije imaju trudnice u kojih je prisutan povećan otpor protoku krvi uz nalaz protodijastoličkog ureza uterinih arterija (161). Međutim, istraživanja su pokazala da je ova metoda probira za preeklampsiju puno preciznija ukoliko se provodi u drugom tromjesečju trudnoće u usporedbi s prvim (161,162).

U našem istraživanju, provedenom u prvom tromjesečju, nije bilo značajne razlike u vrijednostima PI između trudnica koje su oboljele preeklampsije i zdravih trudnica (P =0,285), stoga smo ovaj parametar izostavili iz konačnog modela predikcije nastanka bolesti.

Uloga biomarkera u predikciji preeklampsije danas je tema brojnih istraživanja vezanih uz ovu bolest . Tako se u nekim istraživanjima čimbenici angiogeneze poput placentarnog čimbenika rasta (PlGF), vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (VEGF), topljivog receptora za VEGF (sVEGFR-1) i topljivog endogelina (sEng) nisu pokazali samostalno dovoljno osjetljivim za predviđanje nastupa preeklampsije u ranoj fazi trudnoće (163, 164). Međutim Romero i suradnici su, kao i još nekolicina istraživača, pronašli porast razine sFlt-1 i do 11 tjedana prije prvih znakova preeklampsije uz značajno smanjenje razine PlGF-a i VEGF-a te povećanje sEng-a (165 − 167). Braton i suradnici su mjerili koncentraciju PIGF-a u trudnica sa suspektinim znakovima i simptomima PE u periodu od 20. do 35. tjedna trudnoće. Pokazali su da niska razina PIGF-a značajno korelira s prijevremenim porođajem neovisno o nastanku preeklampsije i o tjednima trudnoće u kojima je mjerena (168). Ovim istraživanjem PIGF dobiva na važnosti i kao biljeg koji može prediktirati loš

ishod trudnoće u trudnica sa suspektnom preeklampsijom. Pronalaženje pouzdanih bioloških biljega ili njihova kombinacija u modelu predikcije bolesti predmet su interesa svih novijih istraživanja povezanih s preeklampsijom.

Unazad nekoliko godina kopeptin je istraživan kao biomarker kardiovaskularne, renalne i metaboličke disfunkcije, endogenog stres i ranih hemodinamskih promjena (120 – 122). U tom kontekstu kopeptin se istražuje kao novi biomarker u ranoj predikciji preeklampsije.

Yeung i suradnici su pokazali da koncentracija kopeptina u serumu trudnica raste tijekom trudnoće, ali i da je istovremeno značajno viša u trudnica koje će oboljeti od preeklampsije (169). Dokazali su da povišena razina copeptina (u prosjeku oko 16. tjedna trudnoće) može predvidjeti nastanak preeklampsije i prijevremenog porođaja (169).

I u našem istraživanju serumska razina kopeptina u prvom tromjesečju značajno je viša u trudnica koje će kasnije oboljeti od preeklampsije kao i u onih koje će roditi prijevremeno. Istraživanja su pokazala da se kopeptin pojačano izlučuje kako trudnoća napreduje ali ga vazopresinaza (enzim kojeg luči trofoblast) razgrađuje i na taj način održava koncentraciju kopeptina konstantnom (125). Povišena razina kopeptina u preeklampsiji potiče pitanje važnosti sinteze i aktivnosti vazopresinase u trofoblastu preeklamptičnih trudnica, te ulogu kopeptina u ranoj disfunkciji trofoblasta i predikciji nastupa preeklampsije (126, 128). Davison i suradnici su mjerili koncentraciju vazopresina, vazopresinaze i osmolalnost u trudnoći (170). Dokazali su da su najveće koncentracije AVP-a i vazopresinaze u sredini trudnoće kada je najveći porast mase trofoblasta (170). Nedvojbena povezanost abnormalne invazije spiralnih arterija i disfunkcije trofoblasta s razvojem preeklampsije još nije razjašnjena. Pretpostavlja se da ključnu ulogu imaju angiogeni čimbenici koji se otpuštaju iz posteljičnog tkiva u cirkulaciju trudnice i tako uzrokuju disfunkciju endotela.

Zulfikaroglu i suradnici su prikazali povezanost koncentracije kopeptina, doplera uterine i umbilikalne arterije u drugom i trećem tromjesečju trudnoće s nastankom preeklampsije (171). U njihovom istraživanju, u PE s blažom kliničkom slikom, serumska koncentracija kopeptina bila je 0,62 ng/mL, a u teškoj PE 0,85 ng/mL (171). Srednja vrijednost serumske koncentracije kopeptina u naših trudnica iznosila je 0,48 ng/mL i značajna je za nastanak preeklampsije. Međutim nije uočena

povezanost s patološkim nalazom doplera uterinih arterija. Opisana je i povezanost povišene razine kopeptina u zadnjem tromjesečju trudnoće s kasno nastalom preeklampsijom kao i s lošijim ishodom trudnoće (172, 173). Istraživanje Jadli i suradnika provedeno je na 1115 prvorotki između 18. i 23. tjedna trudnoće (174). Od preeklampsije je oboljela 41 trudnica, a kopeptin je predvidio nastup bolesti uz osjetljivost 71,8 % i specifičnost 70 % (174). Međutim, u kombinaciji s PIGF-om i E-selectin-om osjetljivost i specifičnost testa prelaze 92 % što je još jedan od pokazatelja dobrobiti istraživanja kombinacije biomarkera u svrhu bolje predikcije preeklampsije (174).

Idealno bi bilo detektirati povišene vrijednosti kopeptina u što ranijoj fazi trudnoće. Santillan i suradnici su dokazali višu razinu kopeptina tijekom cijele trudnoće u trudnica koje su oboljele od preeklampsije, u odnosu na zdrave trudnice i žene koje nisu trudne (175). U istom istraživanju razina kopeptina bila je niža u žena koje nisu trudne u odnosu na zdrave trudnice (175). Iz ovoga istraživanja evidentno je da trudnoća pojačava lučenje vazopresina/kopeptina. Ovi rezultati potvrđeni su i na životinjskim modelima. Nakon aplikacije infuzije AVP-a u skotnih ženki miševa dokazan je porast arterijskog tlaka za razliku od neskotnih kod kojih nije bilo značajnog porasta tlaka (175). U istraživanju Santillana i suradnika osjetljivost kopeptina za predikciju preeklampsije u trudnica u prvom tromjesečju iznosila je 88 % a specifičnost 81 % (175).

U našem istraživanju dobili smo slične rezultatate, osjetljivost kopeptina za predikciju PE bila je 85,7 %, a specifičnost 77,6 %. Santillan i suradnici su također u usporedbi s poznatim majčinim čimbenicima rizika (paritet, dob, BMI) u modelu logističke regresije prikazali kopeptin kao najbolji prediktor razvoja bolesti (175).

Za razliku od drugih autora, u našem istraživanju nije bilo razlike u serumskoj koncentraciji kopeptina uspoređujući rani i kasni nastup bolesti (P = 0,585). Ovakav nalaz bi se mogao protumačiti malim uzorkom koji se osobito odnosi na mali udio ranih i teških preeklampsija. Yeung i suradnici su na uzorku od 170 trudnica s preeklampsijom određivali serumsku koncentraciju kopeptina nakon 16. tjedna trudnoće i pokazali da je kod ranije pojave bolesti značajno viša serumska koncentracija ovog biomarkera (169). Slični rezultati dobiveni su u nekoliko većih istraživanja (171 − 173, 176).

U našem istraživanju je u 53 trudnice dijagnosticirana gestacijska hipertenzija. Ako tom broju pridodamo i trudnice s preeklampsijom znači da je nešto manje od jedne petine trudnica u trudnoći oboljelo od hipertenzive bolesti. Kao ni kod preeklampsije, ni kod gestacijske hipertenzije nije u potpunosti razjašnjena patofiziologija bolesti. Istraživanja pokazuju da abnormalna invazija spiralnih arterija trofoblastom rezultira smanjenim uteroplacentarnim krvotokom što dovodi do posteljične ishemije. Kao regulatorni mehanizam obrane od ishemije, posteljica oslobađa citokine koji dolaze u krvotok trudnice te dovode do endotelne disfunkcije i smanjenja natriureze, što u konačnici rezultira hipertenzijom (177 − 180). Kopeptin doprinosi nastanku hipertenzije vazospazmom krvnih žila s ciljem podizanja srčanog minutnog volumena, a preko bubrežnih kanalića povećava resorpciju vode kako bi se smanjilo izlučivanje vode i održala homeostaza (181, 182). U našem istraživanju nema značajne razlike u prosječnim razinama kopeptina između trudnica s blagom preeklampsijom i gestacijskom hipertenzijom, no razina kopeptina značajno korelira s nastankom gestacijske hipertenzije. Yeung i suradnici nisu pokazali značajnu povezanost između serumskih vrijednosti kopeptina u drugom tromjesečju i nastanka gestacijske hipertenzije (169). Ovu razlika u rezultatima našeg istraživanja i Yeung i suradnika možemo objasniti kriterijima uključenja u naše istraživanje. Mi smo proveli istraživanje u prvom tromjesečju kada počinje prilagodba kardiovaskularnog sustava na trudnoću. Stoga je moguće da i manje promjene u homeostazi tekućine budu podražaj za izlučivanje kopeptina. Osim toga naše trudnice imaju rizične čimbenike kao što su pušenje, debljina i bubrežne bolesti. Poznato je da su u tim stanjima češći poremećaji volumena tekućina što posljedično dovodi do promjena u izlučivanju antidiuretskog horomona (183).

U novijim istraživanjima kopeptin se pokazao kao potencijalno dobar biomarker u detekciji metaboličkog poremećaja i inzulinske rezistencije. Uz učestalost gestacijskog dijabetesa od 14,5 %, nije bilo povezanosti između razine kopeptina i nastanka gestacijskog dijabetesa u našem istraživanju. Slični rezultati dobiveni su u nekoliko studija na manjem uzorku ispitanica no tijekom drugog tromjesečja trudnoće (184, 185). Međutim, recentno istraživanje na velikom uzorku od 827 trudnica provedeno u prvom tromjesečju pokazalo je pozitivnu korelaciju povišene vrijednosti kopeptina i nastanka gestacijskog dijabetesa (186). Kako bi se postigla što bolja predikcija preeklampsije različiti biološki biljezi analizirani su u međusobnim

kombinacijama. Jedan od često korištenih je biomarker iz skupine cirkulirajućih topljivih faktora rasta endotela krvnih žila (sFlt-1). On djeluje negativno na angiogenezu vezanjem proangiogenih faktora (poput posteljičnog faktora rasta), smanjuje njihovu bioraspoloživost i dovodi do poremećaja placentacije (72, 73). Povišena količina sFlt-1 u serumu trudnica s pozitivnim čimbenicima rizika, odnosno snižena razina PIGF-a, pokazala se kroz brojna istraživanja kao dobar prediktor nastupa preeklampsije, pri čemu povišeni omjer sFlt-1/PIGF upućuje na visok rizik (187 − 194). Sva ova istraživanja potvrđuju jedan od temeljnih patofizioloških mehanizama nastanka preeklampsije a to je neprimjereno i oskudno remodeliranje spiralnih arterija i izostanak njihove prilagodbe na trudnoću (49 − 51). Međutim, mehanizam koji bi objasio zašto i pod kojim utjecajem dolazi do smanjenja PIGF-a nije u potpunosti objašnjen. S obzirom na do sada poznatu ulogu kopeptina u prilagodbi organizma majke na novonastale potrebe u trudnoći, istraživan je njegov utjecaj na razinu PIGF-a i sFlt-a. Sandgren i suradnici proveli su istraživanje na skotnim ženkama miševa te su pokazali da infuzija vazopresina/kopeptina dovodi do smanjene razine PIGF-a i „down regulacije**“** sFlt-1-a kao i smanjene razine mRNA za oba gena (195). Infuzija AVP-a dovela je do ishemije posteljice bez obzira na normalnu brzinu i otpor u uterinim arterijama (195). AVP tako postaje dokazano značajan pokretač patofiziološkog procesa nastanaka preeklampsije, a serumska razina kopeptina potencijalni prediktor rane endotelne disfunkcije. Dodatnim analizama potvrdili su povezanost između infuzije AVP-a i poticanja signalnih puteva za interleukin 2 i kalcij u trofoblastu, kao i utjecaj AVP-a na nastup preeklampsije bez hipoksije i bez promjena u protoku i otporu u krvnim žilama uterusa (195 − 198). Drugi su istraživači pojasnili svoje modele nastupa bolesti: hipoksični, povezan s vaskularnim promjenama (teorija o vaskularnim čimbenicima rasta), te „ne hipoksični“ nastao kao imunološka reakcija organizma majke ili fetusa u kojoj značajnu ulogu u nastanku bolesti imaju hormoni, imunološke molekule i signalni putevi (199). Redmanov i Sargentov model patogeneze preeklampsije također je poremećaj imunoregulacije koji dovodi do imunološkog „odbacivanja posteljice“ (200). Neka istraživanja dokazala su da stvaranje AVP-a potiču upravo proupalni citokini koji su ključni za razvoj preeklampsije, a sam AVP zamjenjuje ulogu interleukina 2 (IL-2) u produkciji interferona gama (IFNY) što ukazuje na njegovu sposobnost za limfokinsku aktivnost i indukciju drugih medijatora (200 - 203).

S obzirom na kompleksnu patogenezu i patofiziologiju preeklampsije postaje jasno zašto do sada nije pronađen idealan biomarker za predikciju ni idealna terapija za liječenje ove bolesti.

Antagonisti AVP receptora putem djelovanja na vaskularne čimbenike moguća su preventivna terapija za preeklampsiju u prvom tromjesečju. S obzirom na različitu ekspresiju receptora za AVP tijekom trudnoće, modalitet liječenja bio bi različit ovisno o trajanju trudnoće. Za sada je nejasno može li se preeklampsija u potpunosti prevenirati, ili se može samo modificirati njezin tijek i tako spriječiti najteže komplikacije.

Kopeptin je biomarker akutnog endogenog stresa povezan sa stanjima sepse i šoka (204). Kopeptin je povišen u krvi pupkovine prematurusa ali i kod novorođenčadi koja su imala acidozu uslijed perinatalne asfiksije (205, 206).

U djece s dijagnozom FZR-a razina kopeptina iz krvi pupkovine nije se značajnije razlikovala u odnosu na djecu koja nisu zaostajala u rastu u fetalnom razdoblju (0,22 ng/mL / 0,19 ng/mL) što je vjerojatno posljedica adaptacije fetusa na stres (207). Ovo istraživanje je potvrdilo tezu o kopeptinu kao markeru isključivo akutnog stresa i naglasilo važnost što ranijeg određivanja njegove koncentracije dok regulacijski mehanizmi nisu dovoljno aktivirani da povratnom spregom reguliraju njegovo izlučivanje (207).

Poremećaj u razvoju posteljice, poremećena utroplacentarna cirkulacije i smanjena opskrba kisikom dovode do kronične hipoksije i oksidativnog stresa posteljice koji rezultiraju preeklampsijom i zastojem rasta fetusa (208 − 212). Istraživanja su pokazala da hipoksija, acidoza i oksidativni stres značajno utječu na izlučivanje kopeptina (121, 122). S obzirom da su navedena stanja usko povezana s mogućom patofiziologijom FZR-a, analizirali smo razinu kopeptina u serumu trudnica u prvom tromjesečju trudnoće u odnosu na nastanak FZR-a.

U našem istraživanju u 36 trudnica (9%) je zabilježen fetalni zastoj rasta. U skupini trudnica s preeklampsijom detektirano je 9 slučajeva (42,85%), dok je u skupini trudnica koje nisu razvile preeklampsiju fetalni zastoj rasta bio prisutan u njih 27 (7,12%). Zurfikaroglu i suradnici nalaze učestalost FZR u gotovo 80% trudnica s preeklampsijom (171). U našem istraživanju nije bilo značajne razlike u prosječnoj

razini kopeptina između trudnica s fetalnim zastojem rasta i preeklampsijom u odnosu na trudnice u kojih je potvrđen samo fetalni zastoj rasta ili samo preeklampsija.

U ovom istraživanju smo pokazali značajno nižu serumsku razinu PP13 i značajno višu serumska razina kopeptina u prvom tromjesečju trudnoće u trudnica koje su imale FZR u odnosu na zdrave trudnice ($P < 0,001$). Povišenu koncentraciju kopeptina u serumu trudnica s fetalnim zastojem rasta pronašli su i drugi istraživači (211 − 213). Najveći broj istraživanja analizirao je razinu kopeptina u serumu trudnica u drugom ili trećem tromjesečju te razinu kopeptina iz pupčane vene novorođenčeta. Pretraživanjem literature do sada nismo pronašli istraživanja o serumskoj koncentraciji kopeptina u prvom tromjesečju trudnoće. Međutim, ukoliko se prisjetimo prijašnjih teza o kopeptinu kao biljegu akutnog stresa, možemo pretpostaviti da bi njegova uloga bila najizraženija u prvom tromjesečju koje predstavlja početak akutnog stresnog događaja za organizam majke i prilagodbe na fetus (139, 214). U našem istraživanju povišena razina kopeptina u prvom tromjeseču povećava rizik za FZR 10,65 puta.

U istraživanju koje smo proveli povišena koncentracija kopeptina povezana je i s prijevremenim porođajem. Prijevremeno je rodilo petnaest zdravih trudnica (3,9 %). Trudnoća je u pet trudnica (23,8%) oboljelih od preeklampsije završila prijevremenim porođajem, uglavnom jatrogenim uslijed pogoršanjem preeklampsije.

S obzirom da se vazopresin luči iz stražnjeg režnja hipofize kao i oksitocin, zanimljivo bi bilo usporediti serumske vrijednosti oksitocina usporedno s vrijednostima kopeptina imajući na umu da oksitocin uzrokuje kontrakcije maternice koje dovode do porođaja. Oksitocin je teško mjerljiv zbog kratkog poluvremena u plazmi i pulsativnog izlučivanja, stoga bi bilo potrebno pronaći njegov analog koji ne bi istovremeno djelovao i na njegove V1 receptore kao što to rade trenutno poznati analozi.

U predikciji preeklampsije doplerska analiza uterinih arterija temelji se na teoriji o poremećenom uteroplacentarnom protoku (215). Reduciran dijastolički protok pokazuje poremećaj u posteljičnom krvožilnom sustavu što se histopatološki očituje kao oštećenje i lezija viloznih i vaskularnih dijelova posteljice (216, 217). U našem istraživanju nije bilo značajne razlike u PI uterinih arterija u trudnica koje će

oboljeti od preeklampsije u odnosu na zdrave trudnice (P = 0,285). Zbog navedenog smo ovu varijablu izostavili iz konačnog modela predikcije preeklampsije.

Različita istraživanja dobila su oprečne rezultate vezane za ulogu doplera u predikciji preeklampsije. U više istraživanja na velikoj populaciji trudnica ističe se važnost PI uterinih arterija za predikciju preeklampsije (218 − 222). Martin i suradnici navode da je osjetljivost doplera za predikciju PE u prvom tromjesečju trudnoće 27,0 %, a za predikciju fetalnog zastoja rasta 11,7 % (218). Rezultati Nicolaidesa i suradnika bili su još bolji, a ističu predikciju PE s doplerskim mjerenjima u 40% slučajeva (za 95% CI, 12-74%) (220). U istraživanju Di Lorenza i suradnika provedenom na 2118 trudnica, 25 ispitanica razvilo je PE (12 ranu i 13 kasnu), a 46 trudnica GH (221). Prevalencija PE bila je značajno niža (1,18 %) u odnosu na naše rezultate (5,25 %), a dopler uterinih arterija nije bio značajno prediktivan za rani nastup bolesti (221). Potpuna suprotnost su rezultati Poon i suradnika koji su pokazali značajnu ulogu doplera uterinih arterija u probiru za preeklampsiju i za gestacijsku hipertenziju (222). Tuuli nalazi mali značaj vrijednost doplera uterinih arterija za predikciju vremena nastanka PE (rana/kasna) što je potvrdilo i istraživanje Yu i suradnika (223, 224).

Istraživači iz skupine The Fetal Medicine Foundation su koristeći rezultate višegodišnjih istraživanje predikcije preeklampsije objavili model popularno zvan „triple test“. Prema ovom modelu, u prvom tromjesečju trudnoće u trudnica s rizičnim čimbenicima za preeklampsiju mjeri se vrijednost srednjeg arterijskog tlaka (engl. MAP), doplera uterinih arterija (PI) i uzorkuje se krv za analizu razine PlGF-a (225). Prema ovom modelu možemo predvidjeti 90 % slučajeva rano nastale i 75 % slučajeva preeklampsije s prijevremenim porođajem (225). Prema ASPRE studiji, primjena aspirina u dozi od 150 mg dnevno od 12. do 36. tjedna trudnoće preporuča se trudnicama koje se prema ovom modelu pokažu visokorizične za nastup PE (74).

Za razliku od mjerenja arterijskog tlaka i određivanja koncentracije PIGF-a kod kojih je mala mogućnost pogreške, doplersko mjerenje uterinih arterija predstavlja najveći rizik za sistemsku pogrešku. Potaknuti time, Rolnik i suradnici su 2019. objavili veliku studiju provedenu na 21 000 trudnica u prvom tromjesečju trudnoće u sklopu testa probira za PE kojom su validirali kvalitetu učinjenih doplerskih mjerenja uterinih arterija (226). Dokazali su da se uz standardiziran protokol i iskusne ultrasoničare može adekvantno i točno izmjeriti indeks pulsatilnosti uterinih arterija u prvom

tromjesečju trudnoće, uz naglasak njegove važnosti u „triple testu“ i predikciji preeklampsije (226).

Razlog značajnije uloge doplera uterinih arterija u predikciji PE u drugom tromjesečju u odnosu na prvo mogao bi biti u hemodinamskim promjenama tipičnim za drugo tromjesečje. No, postoje istraživači koji doplerska mjerenja smatraju slabo osjetljivim (227 − 229). Myatt i suradnici su na uzorku od preko 2000 prvorotki u drugom tromjesečju, s prevalencijom preeklampsije od 7,5 %, prikazali slabu osjetljivost doplera uterinih arterija za predikciju preeklampsije uz osjetljivost 43 % i specifičnost 67 % (230). Velika metaanaliza koja je analizirala ulogu doplera uterinih arterija uključila je osam studija s analizom doplerskih parametara u ranom stadiju trudnoće (41 692 trudnica) i jedanaest studija s analizom doplerskih parametara neovisno o trajanju trudnoće (39 179 trudnica) (231). Utvrđeno je da je dopler uterinih arterija precizniji u predviđanju preeklampsije ako se učini u drugom tromjesečju trudnoće u usporedbi s prvim, a razlog je vjerojatno u tzv. drugom valu trofoblastne invazije spiralnih arterija koji završava između 16. i 18. tjedna trudnoće (231). Di Pasquo i suradnici ističu značajnu ulogu doplera uterinih arterija u predikciji progresije preeklampsije iz blagog u teški oblik bolesti uz osjetljivost 80 %, odnosno i do 95 % ukoliko se mjeri i sistemski vaskularni otpor (232).

Kleinrouweler i Agrawal u rezultatima velikih metaanaliza nisu pronašli statistički značaj bioloških biljega angiogeneze (poput VEGF, PIGF, sVEGFR-1) u predikciji preeklampsije (163,164). No, nova istraživanja u prvi plan stavljaju usporedno mjerenje serumskih vrijednosti više bioloških biljega i razvijanje modela predikcije bolesti. Tako je temeljeno i naše istraživanje koje je uz nov, potencijalno vrijedan biološki biljeg kopeptin, u model predikcije uključilo i PP13 koji je često istraživani biljeg predikcije nastupa preeklampsije.

U našem istraživanju se serumska vrijednost PP13 od 113 pg/mL pokazala kao granična vrijednost pri kojoj je osjetljivost testa 90,5 % a specifičnost 64,4 %. PP13 bio je značajno snižen u trudnica koje su kasnije razvile preeklampsiju. Stopa detekcije PE uz analizu serumske razine PP13 u radu Nicolaidesa i suradnika iznosila je 80%, međutim uz mjerenje doplera uterinih arterija predikcija preeklampsije bila je preciznija i iznosila je 90% (220). Di Lorenzo i suradnici su analizirali međusobni odnos PP13, PlGF, b-hCG, PAPP-A, doplera uterinih arterija te majčinih čimbenika rizika u modelu za predikciju PE i GH (221). Iako su imali veći

broj ispitanica u odnosu na naše istraživanje, s obzirom na manju prevalenciju PE u njihovom istraživanju, broj trudnica oboljelih od PE bio je približno jednak (221). Rezultati njihovog istraživanja pokazali su statistički značajnu povezanost između PP13, BMI i nastanka gestacijske hipertenzije (221). Ulogu u predikciji PE imali su kronična hipertenzija (osobito za ranu PE), PIGF, hCG i BMI, dok se serumska razina PP13, dob trudnica, pušenje, način začeća i paritet nisu značanije isticali (221). Iako se u našem istraživanju PP13 pokazao kao dobar prediktor za PE, snižen je i kod gestacijske hipertenzije, no na malom uzorku. Kroničnu hipertenziju u našem istraživanju imalo je samo pet ispitanica, od kojih je samo jedna razvila PE i to rani oblik bolesti.

Nismo pronašli statistički značajne razlike u dobi, BMI-u ili pušenju između trudnica s PE i zdravih trudnica. Međutim, kada smo u regresijski modeli uz PP13 uključili dob i sistolički tlak, rezultat je pokazao 1,26 puta veću šansu za razvoj PE s porastom životne dobi majke, te 5,32 puta veću vjerojatnost za nastup PE uz PP13 ≤ 113 pg/mL. U odnosu na ostale čimbenike rizika, dob prvorotki se u našem istraživanju pokazala kao najvažniji rizični čimbenik u modelu predikcije preeklampsije. U radu Schneuera i suradnika pri serumskoj razini PP13 od 44 pg/mL identificirano je 45% ranih PE, a prosječna serumska razina PP13 u kontrolnoj skupini je bila 53,5 pg/mL (233). Khalil i suradnici su analizirali serumsku razinu PP13 u prvom tromjesečju trudnoće u trudnica s čimbenicima rizika za nastanak PE (BMI, dob, pušenje, paritet). Ova je studija je po kriteriju uključenja ispitanica najsličnija našoj, no detektirano je dvostruko više trudnica s PE (234). Razlog tomu može biti nešto viša životna dob trudnica u njihovom istraživanju kao i činjenica da su u istraživanje uključene i trudnice koje su u prethodnim trudnoćama imale preeklampsiju. U usporedbi s našim rezultatima prema kojima je FZR dijagnosticiran u 42,9 % trudnica s PE, u ovom istraživanju fetalni zastoj rasta zabilježen je u 30,9 % trudnica. Kao i u našim rezultatima i ovi autori bilježe značajno veći udio carskog reza u trudnica s PE. Visoku stopu carskih rezova pronašli smo i u skupini zdravih trudnica, vjerojatno kao posljedicu pravne odgovornosti i sudskih tužbi spram liječnika koji se sukladno tome sve češće pod pritiskom rodilja odlučuju na dovršetak trudnoće carskim rezom. Razlog više stope carskih rezova u ovoj skupini može biti i u činjenici da naše ispitanice (iako su nazvane „zdrave“ jer nisu oboljele od PE) imaju druge komorbiditete koji su bili čimbenici za uključenje u istraživanje.

U istraživanju Khalil i suradnika konačni rezultat predikcije PE (neovisno o težini i vremenu nastanka bolesti) vrlo je sličan našem, a prikazali su da osjetljivost PP13 uz 20% lažno pozitivnih nalaza iznosi 86 % (234). S obzirom da je njihovo istraživanje uključivalo ispitanice s čimbenicima rizika za PE, predikcija PE bila je bolja nego u autora koji su analizirali serumsku razinu PP13 u trudnica bez rizičnih čimbenika (235, 236).

U radu Ceylana i suradnika stopa carskih rezova u PE bila je također značajno viša, no vrijednost serumske razine PP13 u predikciji PE nije se pokazala značajnom (237). U njihovo istraživanje je uključena opća populacija trudnica, a kasnije su isključene sve trudnice s bilo kakvim drugim komplikacijama trudnoće ili komorbiditetima izuzev onih s preeklampsijom (koja je definirana samo kao hipertenzija i protenurija) (237). Neki autori nalaze značajno smanjenu serumsku koncentraciju PP13 u prvom tromjesečju u žena koje će razviti teški oblik PE i HELLP sindrom, ali trudnica s blagim do umjerenim oblikom preeklampsije PP13 nije imao značajnu prediktivnu vrijednost (236, 238, 239).

U posljednjem desetljeću najčešće istraživani biološki markeri bili su PlGF, PAPP-A, sFlt i PP13, uz velike razlike u osjetljivosti i specifičnosti predikcije PE (165, 240 ,241). Chafetz i suradnici su uočili da uz vrijednosti PP13 86,6 pg/mL statistički značajno češće dolazi do fetalnog zastoja rasta i prijevremenog porođaja (241). Ukoliko se uzmu u obzir i maternalni čimbenici rizika za PE te srednja vrijednost arterijskog tlaka detekcija se može podignuti na 93 % uz 12 % lažno pozitivnih nalaza (241).

Sunjaya i suradnici su istaknuli ulogu maternalnih čimbenika rizika (paritet, BMI, kronične bubrežne i krvožilne bolesti, dijabetes, antifosfolipidni sindrom) u nastanaku PE, uz naglasak da će 25 % trudnica s visokim rizikom razviti PE, dok će se PE pojaviti u samo 5 % trudnica bez čimbenika rizika (240).

Sustavnim pregledom literature uočava se velika raznolikost u serumskoj koncentraciji PP13 u trudnica s PE čime se naglašava potreba za određivanjem granične vrijednosti biomarkera pouzdane za predikciju nastupa bolesti kao i univerzalnog kita. Nastanak PE je multifaktorijalan, a razina PP13 mogu utjecati samo na neke fenotipove PE (242, 243).

Unatoč svemu većina autora, baš kao i ovoj disertaciji, suglasna je s činjenicom da je niža serumska razina PP13 u prvom tromjesečju trudnoće povezana s nastankom

PE, te da je PP13 koristan biomarker za identificiranje trudnica s povećanim rizikom za PE.

Postavlja se pitanje ima li veću prediktivnu vrijednost ako se koristi sam, ili ga je bolje koristiti u kombinaciji s drugim biološkim markerima u trudnica s čimbenicima rizika?

Naše istraživanje svoj model predikcije PE temelji na majčinim čimbenicima rizika te kombinaciji biomarkera PP13 i kopeptina. Regresijski model pokazao je značajnu ulogu odabranih biomarkera u predikciji PE. Ukoliko je u serumu trudnice u prvom tromjesečju PP13 snižen a kopeptin povišen, trudnica ima 17,8 puta veći rizik za preeklampsiju, uz uvjet da je prvorotka, u dobi od 35 ili više godina i uz još minimalno jedan od poznatih čimbenika rizika za PE. S obzirom na veličinu uzorka, nismo uspjeli dobiti jasne odgovore o važnosti odabranih bioloških biljega u predikciji težine bolesti (blaga ili teška PE) i vremenu nastupa bolesti (rana ili kasna PE).

Granične („cut-off“) vrijednosti pri kojima je predikcija bolesti najuspješnija, u smislu visoke osjetljivosti i specifičnosti, teško je međusobno uspoređivati s obzirom da je ovo istraživanje provedeno isključivo na trudnicama s visokim rizikom za razvoj PE. U visokorizičnih trudnica možemo pretpostaviti će se PE pojaviti kod nižih vrijednosti kopeptina, odnosno viših vrijednosti PP13 u odnosu na istraživanja koja uključuju trudnice bez specifičnih rizičnih čimbenika. Također postoje razlike u metodama validacije i u kitovima koji se koriste stoga je iznimno teško pronaći univerzalne referentne vrijednosti za ove biomarkere.

Sarween i suradnici su istraživali utjecaj biljega humoralne imunosti u preeklampsiji i njihov odnos prema biljezima upale, bubrežnom oštećenju i čimbenicima angiogeneze. Multivarijantnom analizom pokazali su da su omjer SFlt-1/PIGF, serumskih imunoglobulina (IgG) i slobodnih imunoglobulina lakih lanaca (sFLC) povezani s nastanom preeklampsije neovisno o bubrežnom oštećenju i angiogenim čimbenicima čime su otvorili put k istraživanjima uloge humoralne imunosti i beta-2 mikroglobulina u preeklampsiji (244).

Metabolomika je jedna od novih tehnologija koja se koristi za identifikaciju metabolita važnih za funkcioniranje staničnih sustava i svih biokemijskih zbivanja u organizmu. Neka istraživanja pokušavala su pronaći metabolički profil povezan s razvojem

preeklampsije korištenjem metabolita poput lipida, karnitina, laktata, no za sada bez jasnog prediktivnog modeli koji bi mogao imati kliničku primjenu.

Pronaći idealan model za predikciju preeklampsije u što ranijoj fazi trudnoće, koji je klinički prihvatljiv, optimalan i dostupan za korištenje u svakodnevnoj praksi, veliki je izazov u suvremenoj perinatologiji s obzirom da su preeklampsija i njezine posljedice i dalje vodeći uzrok najlošijih perinatalnih ishoda.

# 7. ZAKLJUČAK

Preeklampsija je teški, progresivni, multisistemski poremećaj u trudnoći od kojeg je u ovom istraživanju, uz prevalenciju od 5,25 %, oboljela dvadeset i jedna visokorizična trudnica.

U visokorizičnih prvorotki s koncentracijom PP13 u serumu ≤ 113 pg/mL možemo predvidjeti nastup preeklampsije uz osjetljivost 90,48 % i specifičnost 64,38 %.

U visokorizičnih prvorotki s koncentracijom kopeptina u serumu > 0,37 ng/mL možemo predvidjeti nastup preeklampsije uz osjetljivost 85,71 % i specifičnost 77,57 %.

Preeklampsija će nastupiti u 80,75 % visokorizičnih prvorotki koje u prvom tromjesečju trudnoće u serumu imaju patološke vrijednosti i PP13 i kopeptina.

Prvorotke starije od 35 godina, sa sniženom koncentracijom PP13 i povišenom koncentracijom kopeptina u serumu u prvom tromjesečju trudnoće, imaju 17,8 puta veći rizik za razvoj preeklampsije.

Povišena razina kopeptina u serumu trudnice s čimbenicima rizika za preeklampsiju povisuje rizik za fetalni zastoj rasta 10,6 puta.

U trudnica s čimbenicima rizika za preeklampsiju i povišenom koncentracijom kopeptina u serumu značajno češće dolazi i do prijevremenog porođaja.

Dopler uterinih arterija u prvom tromjesečju trudnoće nije se pokazao značajan za predikciju nastupa preeklampsije.

Serumska razina PP13 i kopeptina u prvom tromjesečju trudnoće nije se pokazala značajna u predviđanju vremena nastupa (rana/kasna) ni težine (blaga/teška) preeklampsije.

# 8. SAŽETAK

UVOD: Preeklampsija je teški multisistemski poremećaj progresivnog tijeka i nerazjašnjene etiologije, a komplicira 3 – 7 % svih trudnoća i među vodećim je uzrocima maternalne i fetalne smrti. Istraživanjem želimo dokazati da su povišena razina kopeptina i snižena razina PP13 biomarkera u krvi trudnice u prvom tromjesečju trudnoće prediktor za razvoj preeklampsije. Cilj je pronaći model za predikciju preeklampsije u prvom tromjesečju trudnoće kombinacijom biomarkera i majčinih čimbenika rizika.

ISPITANICI I METODE: Prospektivno istraživanje provedeno je u Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb u razdoblju od 2015. do 2019. godine, a uključilo je 400 prvorotki u prvom tromjesečju trudnoće s čimbenicima rizika za preeklampsiju.

REZULTATI: Serumska koncentracija biološkog markera PP13 ≤ 113 pg/mL u trudnica u prvom tromjesečju trudnoće, predviđa nastup preeklampsije s osjetljivošću 90,48 % i specifičnošću 64,38 %. Serumska koncentracija kopeptina > 0,37 ng/mL prediktor je nastupa preeklampsije s osjetljivošću 85,71 % i specifičnošću 77,57 %. Prvorotke starije od 35 godina s patološkim vrijednosti PP13 i kopeptina imaju 17,8 puta veći rizik oboljeti od preeklampsije u odnosu na zdrave trudnice.

ZAKLJUČAK: Serumske razine PP13 i kopeptina prediktor su nastanka preeklampsije i fetalnog zastoja rasta u visokorizičnih prvorotki u prvom tromjesečju trudnoće.

KLJUČNE RIJEČI: preeklampsija, PP13, kopeptin, fetalni zastoj rasta

# 9. SUMMARY

EARLY PREDICTIVE MODEL FOR THE DEVELOPMENT OF PREECLAMPSIA: COMBINATION OF BIOMARKERS PP13 AND COPEPTIN AND MATERNAL RISK FACTORS

Petrana Beljan, 2020.

INTRODUCTION: Preeclampsia is a severe multisystem disorder with unexplained etiology and progressive course that complicates 3-7%of all pregnancies and it is the leading cause of maternal and fetal death. This research is based on the hypothesis that elevated maternal serum copeptin level and decreased serum PP13 level in the first trimester are predictors of the development of preeclampsia. The aim is to find a model for the prediction of preeclampsia in the first trimester using the combination of biological markers and maternal risk factors for preeclampsia.
SUBJECTS AND METHODS: A prospective study was conducted at the Department for Gynecology and Obstetrics of the University Hospital Center Zagreb in the period from 2015 to 2019. The study included 400 primiparous women during the first trimester of pregnancy who had risk factors for preeclampsia.
RESULTS: Serum level of PP13 ≤ 113 pg / mL in primiparous women in the first trimester of pregnancy predicts the occurrence of preeclampsia with a sensitivity of 90,48 % and a specificity of 64,38 %. Serum copeptin level > 0,37 ng / mL predicts preeclampsia with a sensitivity of 85,71% and a specificity of 77,57 %. Primiparous women older than 35 years with pathological values of PP13 and copeptin have a 17, 8 times higher risk of developing preeclampsia compared to healthy pregnant women.
CONCLUSION: Serum levels of PP13 and copeptin in primiparous women who had risk factors for preeclampsia in the first trimester of pregnancy are a predictor for the development of preeclampsia and fetal growth restriction.

KEY WORDS: preeclampsia, PP13, copeptin, fetal growth restriction

# 10. LITERATURA


1. Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG. Chesley's hypertensive disorders in pregnancy. 3rd ed. Amsterdam. Elsevier Inc;2009, str.37-50.
2. World Health Organization. Make Every Mother and Child Count. World Health Report; 2005: World Health Organization, Geneva. Switzerland.
3. Davison JM, Homuth V, Jeyabalan A i sur. New aspects in the pathophysiology of preeclampsia. Journal of the American Society of Nephrology 2004;15(9):2440–2448.
4. Magee LA, Yong PJ. Expectant management of severe preeclampsia remote from term: a structured systematic review. Hypertens Pregnancy 2009;28(3):312−47.
5. American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertens Pregnancy. Obstet Gynecol 2013;122:1122–31.
6. Sibai BM. Diagnosis, Controversies, and Management of the Syndrome of Hemolysis, Elevated Liver Enzymes, and Low Platelet Count. Obstet Gynecol 2004;103(5):981-91.
7. Brown MA, Magee LA, Kenny LC i sur. The hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis & management recommendations for international practice. Pregnancy Hypertens 2018;13:291–310.
8. ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and Preeclampsia. Obstet Gynecol. 2019 Jan;133(1):e1-e25.10.1097/AOG.0000000000003018.
9. FIGO Working Group on Good Clinical Practice in Maternal–Fetal Medicine. Good clinical practice advice: First trimester screening and prevention of pre-eclampsia in singleton pregnancy. Int J Gynecol Obstet 2019;144:325–329.
10. Tranquilli AL, Dekker G, Magee L i sur. The classification, diagnosis and management of the hypertensive disorders of pregnancy: A revised statement from the ISSHP. Pregnancy Hypertens 2014;4:97–104.
11. Lisonkova S, Joseph KS. Incidence of preeclampsia: risk factors and outcomes associated with early- versus late-onset disease. Am J Obstet Gynecol 2013; 209: 544.e1–544.e12. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23973398/

12. Duckitt K, Harrington D. Risk Factors for Pre-Eclampsia at Antenatal Booking: Systematic Review of Controlled Studies. BMJ. 2005:12;330(7491):565. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/157438
13. Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, Ray JG. Clinical Risk Factors for Pre-Eclampsia Determined in Early Pregnancy: Systematic Review and Meta-Analysis of Large Cohort Studies. BMJ 2016;19:353:i1753 https://www.bmj.com/content/353/bmj.i1753
14. Khalil A, Syngelaki A, Maiz N, Zinevich Y, Nicolaides KH. Maternal age and adverse pregnancy outcome: a cohort study. Ultrasound Obstet Gynecol 2013; 42: 634–43.
15. Yogev Y, Melamed N, Bardin R, Tenenbaum-Gavish K, Ben-Shitrit G, Ben-Haroush A. Pregnancy outcome at extremely advanced maternal age. Am J Obstet Gynecol 2010;203:558.e1–7.
16. Balasch J, Gratacos E. Delayed childbearing: effects on fertility and the outcome of pregnancy. Curr Opin Obstet Gynecol 2012;24:187–93.
17. Poon LCY, Kametas NA, Chelemen T, Leal A, Nicolaides KH. Maternal risk factors for hypertensive disorders in pregnancy: a multivariate approach. J Hum Hypertens 2010;24:104–10.
18. Macedo TCC, Montagna E, Trevisan CM i sur. Prevalence of Preeclampsia and Eclampsia in Adolescent Pregnancy: A Systematic Review and Meta-Analysis of 291,247 Adolescents Worldwide Since 1969. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2020;248:177-186.
19. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. Annu Rev Immunol 2011;29:415–45.
20. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-αin human obesity and insulin resistance. J Clin Investig 1995:2409–15.
21. Spradley FT, Palei AC, Granger JP. Immune Mechanisms Linking Obesity and Preeclampsia. Biomolecules 2015;5:3142–76.
22. Luo Z-C, An N, Xu H-R, Larante A, Audibert F, Fraser WD. The effects and mechanisms of primiparity on the risk of pre-eclampsia: a systematic review. Paediatr Perinat Epidemiol 2007;21Suppl 1:36–45.

23. Dekker GA, Robillard PY, Hulsey TC. Immunemaladaptation in the etiology of preeclampsia: a review ofcorroborative epidemiologic studies. Obstetrical and Gynecological Survey 1998;53:377–382.
24. Rich-Edwards JW, Ness RB, Roberts JM. Epidemiology of pregnancy-induced hypertension. In: Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, Taylor R, Roberts J, Cunningham G, Lindheime M (Eds), Academic Press/Elsevier 2014. Str. 37.
25. Dekker GA, Robillard PY, Hulsey TC. Immunemaladaptation in the etiology of preeclampsia: a review ofcorroborative epidemiologic studies. Obstetrical and Gynecological Survey 1998;53:377–382.
26. Skjaerven R, Wilcox AJ, Lie RT. The Interval Between Pregnancies and the Risk of Preeclampsia. N Engl J Med 2002;346(1):33-8.
27. Hernandez-Diaz S, Toh S, Cnattingius S. Risk of pre-eclampsia in first and subsequent pregnancies: prospective cohort study. BMJ 2009; 338: b2255. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19541696/
28. Campbell DM, Mac Gillivray I, Carr-Hill R. Pre-eclampsia in second pregnancy. Br J Obstet Gynaecol 1985;92:131–40.
29. Xiong X, Fraser WD, Demianczuk NN. History of Abortion, Preterm, Term Birth, and Risk of Preeclampsia: A Population-Based Study. Am J Obstet Gynecol 2002;187(4):1013-8.
30. van Rijn BB, Hoeks LB, Bots ML, Franx A, Bruinse HW. Outcomes of subsequent pregnancy after first pregnancy with early-onset preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2006;195:723–8.
31. Cincotta RB, Brennecke SP. Family history of pre-eclampsia as a predictor for pre-eclampsia in primigravidas. Int J Gynaecol Obstet 1998;60: 23–7.
32. Williams PJ, Broughton Pipkin F. The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2011;25:405–17.
33. Nilsson E, Salonen Ros H, Cnattingius S, Lichtenstein P. The importance of genetic and environmental effects for pre-eclampsia and gestational hypertension: a family study. BJOG 2004;111:200.
34. de R Guimaraes MFB, Brandao AHF, de L Rezende CA, et al. Assessment of endothelial function in pregnant women with preeclampsia and gestational

diabetes mellitus by flow-mediated dilation of brachial artery. Arch Gynecol Obstet 2014;290:441–7.

35. Conti E, Zezza L, Ralli E i sur. Growth factors in preeclampsia: a vascular disease model. A failed vasodilation and angiogenic challenge from pregnancy onwards? Cytokine Growth Factor Rev 2013;24:411–25.
36. Karacay O, Sepici-Dincel A, Karcaaltincaba D i sur. A quantitative evaluation of total antioxidant status and oxidative stress markers in preeclampsia and gestational diabetic patients in 24–36 weeks of gestation. Diabetes Res Clin Pract 2010;89:231–8.
37. Girouard J, Giguere Y, Moutquin J-M, Forest J-C. Previous hypertensive disease of pregnancy is associated with alterations of markers of insulin resistance. Hypertens 2007;49:1056–62.
38. Ray JG. Dysmetabolic syndrome, placenta-mediated disease and future risk of cardiovascular disease. Fetal Matern Med Rev 2004;15:231–46.
39. Nevis IF, Reitsma A, Dominic A i sur. Pregnancy Outcomes in Women with Chronic Kidney Disease: A Systematic Review. Clin J Am Soc Nephrol. 2011; 6(11): 2587–98.
40. Khalil A, Rezende J, Akolekar R, Syngelaki A, Nicolaides KH. Maternal racial origin and adverse pregnancy outcome: a cohort study. Ultrasound Obstet Gynecol 2013;41:278–85.
41. Knuist M, Bonsel GJ, Zondervan HA, Treffers PE. Risk factors for preeclampsia in nulliparous women in distinct ethnic groups: a prospective cohort study. Obstet Gynecol 1998;92:174–8
42. Wright D, Syngelaki A, Akolekar R, Poon LC, Nicolaides KH. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal characteristics and medical history. Am J Obstet Gynecol 2015;213:62.e1–62.e10.
43. Sibai BM, Ewell M, Levine RJ i sur. Risk factors associated with nulliparous women. Am J Obstet Gynecol 1997;177(5):1003−10.
44. Marcoux S, Brisson J, Fabia J. The effect of cigarette smoking on the risk of preeclampsia and gestational hypertension. Am J Epidemiol 1989;130:950-7.
45. Ness RB, Sibai BM. Shared and disparate components of the pathophysiologies of fetal growth restriction and preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2006;195:40–9.

46. Quinton AE, Cook CM, MJ Peek MJ. The relationship between cigarette smoking, endothelial function and intrauterine growth restriction in human pregnancy. BJOG 2008;115(6):780−84.
47. Abraham M, Alramadhan S, Iniguez CC i sur. A Systematic Review of Maternal Smoking During Pregnancy and Fetal Measurements With Meta-Analysis. PLoS One 2017;12(2):e0170946. doi: 10.1371/journal.pone.0170946. eCollection 2017. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28231292/
48. Sibai BM. Diagnosis and Management of Gestational Hypertension and Preeclampsia. Obstet Gynecol 2003;102(1):181−92.
49. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? J Clin Invest 1997;99(9):2152−64.
50. Roberts JM, Redman CW. Pre-eclampisa: more than pregnancy-induced hypertension. Lancet 1993;341:1447−51.
51. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Asshe A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. Br J Obstet Gynaecol 1994;101:669−74.
52. Khong TY: Acute atherosis in pregnancies complicated by hypertension, small gestational age infants, and diabetes mellitus. Arch Pathol Lab Med 1991;(115):722−75.
53. Madazali R, Budak E, Calay Z, Aksu MF. Correlation between placental bed biopsy findings, vascular cell adhesion molecule and fibronection levels in preeclampsia. Br J Obstet Gynaecol 2000;107:514−8.
54. Gleicher N. Why much of the patophysiology of pre-eclampsia must be of an autoimmune nature. Am J Obst Gynecol 2007:196:5.e
55. Labarrere C. Acute atherosis. A histopathological hallmark of immune aggresion? Placenta 1998;9(1):95−108.
56. Loke YW, King A. Immunology of implantation. Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2000;14:827−37.
57. Whitecar PW, Boggess KA, McMahon MJ, Thorp JM, Taylor DD. Altered Expression of TCR-CD3zeta Induced by Sera From Women With Preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2001;185(4):812−8.

58. Taglauer ES, Wilkins-Haug L, Bianchi DW. Review: cell−free fetal DNA in the maternal circulation as an indication of placental health and disease. Placenta 2014;35Suppl :S64−8.
59. Hartley JD, Ferguson BJ, Moffet A. The role of shed placental DNA in systemic inflammatory syndrome before onset of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2015;213(3):268−77.
60. Tjoa ML, Cindrova-Davies T, SpasicBoskovic O, Bianchi DW, Burton GJ. Trophoblastic oxidative stress and the release of cell-free feto-placental DNA. Am J Pathol 2006;169:400−4.
61. Levine RJ, Qian C, LeShane ES, YU KF, England LJ, Schisterman EF. Two stage elevation of cell-free fetal DNA in maternal sera before onset of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2004;190:707−13.
62. Rajakumar A, Cerdeira AS, Rana S i sur. Transcriptionally actice syncytial aggregates in the maternal circulation may contribute to circulating soluble fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia. Hypertension 2012;59:256−29.
63. Redman CWG, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: An excssive maternal inflammatory response to pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1999;180:499−506.
64. Gervasi MT, Chaiworapongsa T, Pacora P, Naccasha N, Yoon BH, Maymon E. Phenotypic and metabolic characteristics of monocytes and granulocytes in preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2001;185:792−7.
65. Vince GS, Starkey PM, Austgulen R, Kwiatkowski D, Redman CW. Interleukin-6, tumour necrosis factor and soluble tumour necrosis factor receptors in women with pre-eclampsia. BJOG 1995;102:20−5.
66. Walker JJ. Preeclampsia. Lancet 2000;356:1260−5.
67. Wang Y, Gu Y, Zhang Y et Lewis DF. Evidence of Endothelial Dysfunction in Preeclampsia: Decreased Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression Is Associated With Increased Cell Permeability in Endothelial Cells From Preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2004;190(3):817−24.
68. Taylor RN, Roberts JM: Endothelial cell dysfunction. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FD (eds): Chelsey' Hypertensive Disoreder in Pregnanc, 2 nd ed.Stamford,CT,Appleton&Lange:1999, Str. 395.
69. Chavarria ME, Gonzalez L, Gonzalez-Gleason A, García-Paleta Y, Vital-Reyes VS, Reyes A. Prostacyclin/thromboxane early changes iin pregnancies that are complicated by preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2003;188(4):986−92.

70. Ajne G, Wolff K, Fyhrquist F, Carlström K, Hemsén-Mörtberg A, Nisell H. Endothelin converting enzyme (ECE) activity in normal pregnancy and preeclampsia. Hypertens Pregnancy 2003;22(3):215−24.
71. Ferara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. Endocr Rev 1997;18:4−25.
72. Luttun A, Carmeliet P. Soluble VEGF receptor Flt1: The elusive preeclampsia factor discoverd? J Clin Invest 2003;111:600−2
73. Maynrad SE, Min J-Y, Merhan J, Lim KH, Li J, Mondal S. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction , hypertension, and proteinuria in preeclampsia. J Clin Invest 2003;111;649−58.
74. RolnikDL, Wright D, Poon LCY, Syngelaki A, O'Gorman N, De Paco Matallana D. ASPRE trial: performance of screening for preterm pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2017;50:492−95.
75. Werner EF, Hauspurg AK, Rouse DJ. A cost-benefitanalysis of low-dose aspirin prophylaxis for theprevention of preeclampsia in the United States.Obstet Gynecol 2015;126(6):1242–50.
76. LeFevre ML. US Preventive Services Task Force. Low-dose aspirin use for the prevention of morbidity and mortality from preeclampsia: U.S.Preventive Services Task Force recommendation statement. Ann Intern Med 2014;161(11):819–26.
77. National Institute for Health and Care Excellence. Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. Clinical guideline 107. Manchester, United Kingdom:NICE;2010:7.https://www.nice.org.uk/guidance/cg107/resources/hypertension-in-pregnancy-diagnosisand-management-35109334009285. Accessed April 4, 2016.
78. Chesley LC, Cooper DW. Genetics of hypertension in pregnancy: possible single gene control of pre-eclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women. BJOG1986;93:898−908.
79. Van Dijk M, Mulders J, Poutsma A, Lachmeijer AM, Dekker GA, Blankenstein MA. Maternal segregation of the Dutch preeclampsia locus at 10q22 with a new member of the winged helix gene family. Nat Genet 2005;37:514−19.
80. Fenstad MH, Johnson MP, Løset M, Mundal SB, Roten LT, Eide IP et al. STOX2 but not STOX1 is differentially expressed in decidua from preeclamptic

women: data from the Second Nord-Trøndelag Health Study. Mole Hum Reprod 2010;16(12):960−8.

81. McGinnis R, Steinthorsdottir V, Williams NO i sur. Variants in the Fetal Genome Near FLT1 Are Associated With Risk of Preeclampsia. Nat Genet 2017;49(8):1255−60.
82. Giannakou K, Evangelou E, Papatheodorou SI. Genetic and non-genetic risk factors for pre-eclampsia:umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies. Ultrasound Obstet Gynecol 2018;51:720.
83. Ward K, Hata A, Jeunemaitre X, Helin C, Nelson L, Namikawa C. A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia (comment). Nat Genet 1993;4(1):59−61.
84. Zhang XQ,Varner M, Diazon-Townson D, Song F, Kenneth Ward K. A molecular variant of angiotensinogen is associated with idiopatic intrauterine growth restriction. Obstet Gynecol 2003;101(2):237−42.
85. Morgan T, Craven C, Lalouel JM, Ward K. Angiotensinogen Thr235 Variant Is Associated With Abnormal Physiologic Change of the Uterine Spiral Arteries in First-Trimester Decidua. Am J Obstet Gynecol 1999;180(1):95−102.
86. Hofmeyr GJ, Betrán AP, Singata-Madliki M i sur. Prepregnancy and early pregnancy calcium supplementation among women at high risk of pre-eclampsia: a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. Lancet 2019;393(10169):330−39.
87. Chloe AZ, Seely EW, Wilkins-Haug LE, Lim KH, Parry S , McElrath FT. The association of body mass index with serum angiogenteic markers in normal and abnormal pregnancies. Am J Obstet Gynecol 2014;211(3):247.e1−7. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24631439/
88. Shennan AH, Duckworth S. Use of vitamin C and E to prevent preeclampsia. Obstet Med. 2010;3(3):121–2.
89. Poston L, Briley AL, Seed, PT, Kelly JL, Shennan AH. Vitamin C and Vitamin E in Pregnant Women at Risk for Pre-Eclampsia (VIP Trial): Randomised Placebo-Controlled Trial. Lancet 2006;367(9517):1145−54.
90. Redman CWG, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy. Am J Obstet Gynecol1999;180:499−506.
91. Friedman SA, Lindheimer MD. Prediction and differential dignosis.In Linddheimer MD,Roberts JM,Cunningham FD (eds):Cheseley's Hypertensive

disorders in pregnancy, 2nd ed. Stamfordd,CT,Appeleton&Lange.1991, str. 201.

92. Fass MM, Schuiling GA, Linton EA i sur. Activation of peripheral leukocytes in rat pregnancy and experimenatal preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2000;182:351−357.
93. Wang Y, Gu Y, Zhang Y i sur. Evidence of endothelial dysfunction in preeclampsia. Decreased endothelial nitric oxide synthase expression is associated with icreased cell permeability in endothelial cells from preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2004;190;817−24.
94. Redman CWG, Sargent IL.Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response- a rewiew. Placenta 2003;24:21−7.
95. Suzuki Y, Yamamoto T, Mabuchi Y i sur. Ultrastructural changes in omental resistance artery in women with preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2003;189:216−21.
96. Kane SC, Dennis A, Da Silva Costa F, Brennecke S. Contemporary clinical management of the cerebral complications of preeclampsia. Obstet Gynecol Int 2013:985606. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24489551/
97. Clark SL, Hankins GDV. Preventing maternal death: 10 clinical diamonds. Am J Obstet Gynecol 2012;119(2):360−64.
98. D'Alton ME, Main EK, Menard MK, Levy BS. The National Partnership for Maternal Safety. Obstet Gynecol 2014;123(5):937−977.
99. Melchiorre K, Sharma R, Thilaganathan B. Cardiovascular implications of preeclampsia: an overview. Circulation 2014;130(8):703−14.
100. Douglas KA, Redman CWG. Eclampsia in the United Kingdom. BMJ 1994;309:1395–400.
101. Saftlas AF, Olson DR, Franks AL, Atrash HK, Pokras R. Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States, 1979–186. Am J Obstet Gynecol 1990;163(2):460–65.
102. Crovetto F, Somigliana E, Peguero A, Figueras F. Stroke during pregnancy and preeclampsia. Curr Opin Obstet Gynecol 2013;25(6):425-32.
103. James AH, Bushnell CD, Jamison MG, Myers ER. Incidence and risk factors for stroke in pregnancy and the puerperium. Obstet Gynecol 2005;106(3):509−16.

104. 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. doi: 10.1136/bmj.39335.385301.BE.
105. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. Seminars inperinatology 2009;33:130−7.
106. Katz VL, Farmer R, Kuller JA. Preeclampsia into eclampsia: toward a new paradigm. Am J Obstet Gynecol 2000;182:1389–96.
107. Sibai BM, Spinnato JA, Watson DL, Anderson GD. Pregnancy outcome in 303 cases with severe preeclampsia. Am J ObstetGynecol 1984;64(3):319-22.
108. Emma L. Davies, Jacqueline S. Bell i Bhattacharya S. Preeclampsia and preterm delivery: A population-based case–control study. Hypert ens Pregnancy 2016;35(4):510-19.
109. Torricelli M, Voltolini C, De Bonis M, L i sur. The identification of high risk pregnancy: a new challenge in obstetrics. J Matern Fetal Neonatal Med 2012;25Suppl 1:2–5.
110. Bokslag A, Van Weissenbruch M, Mol BW, De Groot CJ. Preeclampsia; short and long-term consequences for mother and neonate. Early human develop 2016;102:47−50.
111. Fox R, Kitt J, Leeson P, Aye CYL, Lewandowski AJ. Preeclampsia: Risk Factors, Diagnosis, Management, and the Cardiovascular Impact on the Offspring. 2019;8(10): 1625.
112. Ortved D, Hawkins T L-A, Johnson J-A, Hyett J, Metcalfe A. Cost-effectiveness of first-trimester screening with early preventative use of aspirin in women at high risk of early-onset pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2019;53(2):239−44.
113. Stevens W, Shih T, Incerti D i sur. Short-term costs of pre-eclampsia to the United States health care system. Am J Obstet Gynecol 2017;217:237−48.
114. Fox A, McHugh S, Browne J, i sur. Estimating the cost of preeclampsia in the healthcare system: Cross-sectional study using data from SCOPE Study (screening for pregnancy end points). Hypertension 2017;70:1243−49.
115. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Assay for the measurement of copeptin, a stable peptide derived from the precursor of vasopressin. Clin Chem 2006;52:112−19.

116. Guyton AC, Hall JE. Medicinska fiziologija. 10. izd. Zagreb:Medicinska naklada;2003, str. 253−64.
117. Guyton Guyton AC, Hall JE. Medicinska fiziologija. 10. izd. Zagreb:Medicinska naklada;2003, str. 846−58.
118. Szinnai G, Morgenthaler NG, Berneis K, Struck J, Müller B, Keller U, Christ-Crain M. Changes in plasma copeptin, the c-terminal portion of arginine vasopressin during water deprivation and excess in healthy subjects. J Clin Endocrinol Metab 2007;92:3973–8.
119. Balanescu S, Kopp P, Gaskill MB, Morgenthaler NG, Schindler C, Rutishauser J. Correlation of plasma copeptin and vasopressin concentrations in hypo-, iso- and hyperosmolar states. J Clin Endocrinol Metab 2011;96:1046–52.
120. Morgenthaler NG. Copeptin: a biomarker of cardiovascular and renal function. Congest Heart Fail 2010;16Suppl 1:37−44.
121. Saleem U, Khaleghi M, Morgenthaler NG i sur. Plasma Carboxy-Terminal Provasopressin (Copeptin): A Novel Marker of Insulin Resistance and Metabolic Syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2009;94(7):2558−64.
122. Jochberger S, Morgenthaler NG, Mayr VD i sur. Copeptin and arginine vasopressin concentrations in critically ill patients. J Clin Endocrinol Metab 2006;91:4381−86.
123. Schrier RW. Systemic arterial vasodilatation,vasopressin, and vasopressinase in pregnancy. J Am Soc Nephrol 2010;21:570−72.
124. Koshimizu TA, Nakamura K, Egashira N, Hiroyama M, Nonoguchi H, Tanoue A. Vasopresisin V1a and V1b receptors:from molecules to physiological systems. Psysiol Rev 2012;92:1813−64
125. Tkachenko O, Shckekochikhin D, Schrierer RW. Hormones and hemodynamics in pregnancy. Int J Endocrinol Metab 2014;12:e14098.
126. Santillan MK, Santillan DA, Scroggins SM i sur. Vasopressin in Preeclampsia: A Novel Very Early Human Pregnancy Biomarker and Clinically Relevant Mouse Model. Hypertension 2014;64(4):852−9.
127. Davison JM, Sheills EA, Barron WM, Robinson AG, Lindheimer MD. Changes in the metabolic clearance of vasopressin and in plasma vasopressinase throughout human pregnancy. J Clin Invest 1989;83(4):1313−8.

128. Braunstein G. Endocrine changes in pregnancy. In:Melmed S, Polonsky KS, Larsen RP, Kronenberg HM, eds. Williams Textbook of Endocrinology−12th ed. Philadelpihia:Saunders Elsavier;2011, str. 819−32.
129. Bohn H, Kraus W, Winckler W. Purification and characterization of two new soluble placental tissue proteins (PP13 and PP17). Oncodev Biol Med 1983; 4:343−50.
130. Visegrady B, Than NG, Kilar F, Sumegi B, Than GN, Bohn H: Homology modelling and molecular dynamics studies of human placental tissue protein 13 (galectin-13). Protein Eng 2001;14:875−80.
131. Than NG, Pick E, Bellyei S i sur. Functional analyses of placental protein 13/galectin-13. Eur J Biochem 2004;271:1065−78.
132. Gabius HJ, Andre S, Kaltner H, Siebert HC. The sugar code: functional lectinomics. Biochim Biophys Acta 2002;1572(2-3):165−77.
133. Barondes SH, Gitt MA, Leffler H, Cooper DN. Multiple soluble vertebrate galactoside-binding lectins. Biochimie 1988;70(11):1627−32.
134. Hirabayashi J, Kasai K. The family of metazoan metal-independent beta-galactoside-binding lectins: structure, function and molecular evolution. Glycobiology 1993;3:297–304.
135. Than NG, Sumegi B, Than GN, Berente Z, Bohn H: Isolation and sequence analysis of a cDNA encoding human placental tissue protein 13 (PP13), a new lysophospholipase, homologue of human eosinophil Charcot-Leyden Crystal protein. Placenta 1999;20:703−10.
136. Sekizawa A, Purwosunu Y, Yoshimura S i sur. PP13 mRNA expression in trophoblasts from preeclamptic placentas. Reprod Sci 2009;16:408−13.
137. Than NG, Romero R, Goodman M i sur. A primate subfamily of galectins expressed at the maternal-fetal interface that promote immune cell death. Proc Natl Acad Sci U S A 2009;106(24):9731−6.
138. Kliman HJ, Sammar M, Grimpel YI i sur. Placental Protein 13 and Decidual Zones of Necrosis: An Immunologic Diversion That May be Linked to Preeclampsia. Reproductive Science 2012;19:16–30.
139. Than NG, Abdul Rahman O, Magenheim R i sur. Placental protein 13 (galectin-13) has decreased placental expression but increased shedding and maternal serum concentrations in patients presenting with preterm pre-eclampsia and HELLP syndrome. Virchows Arch 2008;453(4):387−400.

140. Cindrova-Davies T. Gabor Than award lecture 2008: pre-eclampsia – from placental oxidative stress to maternal endothelial dysfunction. Placenta 2009;30Suppl A:S55 6510.1016/j.placenta.2008.11.020
141. Gizurarson S, Huppertz B, Osol G, Skarphedinsson JO, Mandala M, Meiri H. Effects of placental protein 13 on the cardiovascular system in gravid and non-gravid rodents. Fetal Diagn Ther 2013;33(4):257−64.
142. Than NG, Romero R, Goodman M i sur. A primate subfamily of galectins expressed at the maternal-fetal interface that promote immune cell death. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009;106(24):9731−6.
143. Gizurarson S, Huppertz B, Osol G, Skarphedinsson JO, Mandala M, Meiri H. Effects of placental protein 13 on the cardiovascular system in gravid and non-gravid rodents. Fetal Diagn Ther 2013; 33(4):257−64.
144. Meiri H, Osol G, Cetin I, Gizurarson S, Huppertz B. Personalized Therapy Against Preeclampsia by Replenishing Placental Protein 13 (PP13) Targeted to Patients With Impaired PP13 Molecule or Function. Comput Struct Biotechnol J 2017;15:433−46.
145. Murakoshi T, Sekizuka N, Takakuwa K, Yoshizawa H, Tanak K. Uterine and spiral artery flow velocity waveforms in pregnancy-induced hypertension and/or intrauterine growth retardation. Ultrasound Obstet Gynecol 1996;7(2):122−8.
146. Snijders RJ, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group. Lancet 1998;352(9125):343−6.
147. Kagan KO, Wright D, Valencia C, Maiz N, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free beta-hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. Hum Reprod 2008;23(9):1968-75.
148. World Health Organization. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Report of a WHO Consultation; WHO Technical Report Series 894; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2000.
149. ISUOG Practice Guidelines: role of ultrasound inscreening for and follow-up of pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2019;(53):7−22.
150. Gomez O, Martinez JM, Figueras F i sur. Uterine artery Doppler at 11–14 weeks of gestation toscreen for hypertensive disorders and associated

complications in an unselectedpopulation. Ultrasound Obstet Gynecol 2005; 26:490–94.

151. Olofsson P, Laurini RN, Marsal K. A high artery pulsatility index reflects a defective development of placental bed spiral arteries in pregnancies complicated by hypertension and fetal growth retardation. Eur J Obstet Gynecol Repord Biol 1993;49:161−68.
152. Irion O, Massé J, Forest JC, Moutquin JM. Peak systolic over protodiastolic ratio as an objective substitute for the uterine artery notch. BJOG 1996;103:993−98.
153. ACOG practice bulletin. Intrauterine growth restriction. In J Gynecol Obstet 2001;12(72):85−96.
154. Ananth CV, Keyes KM, Wapner R. Pre-eclampsia rates in the United States, 1980-2010: Age-period-cohort analysis. BMJ2013;347:f6564-f6564. Dostupno na www.researchgate.net/publication/258347681.
155. Von Schmidt auf Altenstadt JF, Hukkelhoven CW, van Roosmalen J, Bloemenkamp KW. Pre-eclampsia increases the risk of postpartum haemorrhage: a nationwide cohort study in the Netherlands. PloS one 2013;8:e81959. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081959.
156. Lamminpaa R, Vehvilainen-Julkunen K, Gissler M, Heinonen S. Preeclampsia complicated by advanced maternal age: a registry-based study on primiparous women in Finland 1997–2008. BMC Pregnacy Childbrith 2012;12:47. doi: 10.1186/1471-2393-12-47.
157. Osungbade KO, Ige OK. Public Health Perspectives of Preeclampsia in Developing Countries: Implication for Health System Strengthening. J Pregnancy 2011;2011:1–6.
158. Carty DM, Delles C, Dominiczak AF. Preeclampsia and future maternal health. J Hypertens 2010;28(7):1349−55.
159. Spracklen CN, Ryckman KK, Harland K, Saftlas AF. Effects of Smoking and Preeclampsia on Birth Weight for Gestational Age. J Matern Fetal Neonatal Med 2015;28(6):679−84.
160. Quinton AE, Cook CM, Peek MJ. The relationship between cigarette smoking, endothelial function and intrauterine growth restriction in human pregnancy. BJOG 2008;115(6):780−4.

161. Cnossen JS, Morris RK, TerRiet G i sur. Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: A systematic review and bivariable meta-analysis. CMAJ 2008;178(6):701–11.
162. Hollis B, Mavrides E, Campbell S i sur. Reproducibility and repeatability of transabdominal uterine artery Doppler velocimetry between 10 and 14 weeks of gestation. Ultrasound Obstet Gynecol 2001;18(6):593−7.
163. Kleinrouweler CE, Wiegerinck MMJ, Ris-Stalpers C i sur. Accuracy of circulating placental growth factor, vascular endothelial growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in the prediction of pre-eclampsia: A systematic review and 45 meta-analysis. Br J Obstet Gynaecol 2012;119(7):778–87.
164. Agrawal S, Cerdeira AS, Redman C, Vatish M. Meta-Analysis and Systematic Review to Assess the Role of Soluble FMS-Like Tyrosine Kinase-1 and Placenta Growth Factor Ratio in Prediction of Preeclampsia: The SaPPPhirE Study. Hypertens 2018;71(2):306–16.
165. Romero R, Nien JK, Espinoza J i sur. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. J Matern Fetal Neonatal Med 2008;21(1):9-23. doi: 10.1080/14767050701830480.
166. Levine RJ, Lam C, Cong Qian C et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. N Engl J Med. 2006;355(10):992-1005. doi: 10.1056/NEJMoa055352.
167. Rodrigues Helmoa FR, Moed Lopesb AM , Maciel Carneiroc ACD i sur. Angiogenic and antiangiogenic factors in preeclampsia. Pathol Res Pract 2018;214(1):7−14. doi: 10.1016/j.prp.2017.10.021.
168. Barton JR, Woelkers DA, Newman RB i sur. Placental growth factor predicts time to delivery in women with signs or symptoms of early preterm preeclampsia: a prospective multicenter study. Am J Obstet Gynecol 2020;222(3):259.e1-259.e11. doi: 10.1016/j.ajog.2019.09.003.
169. Yeung EH, Liu A, Mills JL i sur. Increased levels of copeptin before clinical diagnosis of preeclampssia. Hypertension 2014; 64(6):1362−7.

170. Davison JM, Sheills EA, Baron WM, Robinson AG, Lindheimer MD. Changes in the metabolic clearance of vasopressin and in plasma vasopressinase throughout human pregnancy. J Clin Invest 1989:83; 1313–18.
171. Zulfikaroglu E, Islimye M, Tonguc EA, Payasli A, Isman F, Var T, Danisman N. Circulating levels of copeptin, a novel biomarker in pre-eclampsia. J Obstet Gynaecol Res 2011;37:1198–02.
172. Foda AA, Abdel Aal IA. Maternal and neonatal copeptin levels at cesarean section and vaginal delivery. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2012;165:215–218.
173. Akinlade KS, Adediji IO, Rahamon SK, Fawole AO, Tongo OO. Serum copeptin and pregnancy outcome in preeclampsia. Niger Med J.2015;56(5): 362–68.
174. Jadli A, Ghosh K, Damania K, Satoskar P, Bansal V, Shetty S. Prediction of Preeclampsia Using Combination of Biomarkers at 18-23 Weeks of Gestation: A Nested Case-Control Study. Pregnancy Hypertens 2019;17:20−27.
175. Santillan MK, Santillan DA, Scroggins SM, Min JY,Sandgren JA, Pearson NA et al. Vasopressin in Preeclampsia: A Novel Very Early Human Pregnancy Biomarker and Clinically Relevant Mouse Model. Hypertension 2014;64(4): 852–59.
176. Cornelius D. Copeptin A New Biomarker That Is Specific for Pre-eclampsia? Hypertension 2014;64:1189–91.
177. August P, Lindheimer MD. Pathophysiology of preeclampsia. Hypertension 1995;142:2407–26.
178. Lindheimer MD, Katz AI. Renal physiology and disease in pregnancy, in Seldin DW, Giebisch G (eds): The Kidney: Physiology and Pathophysiology, 2nd ed. New York, Raven Press, 1992, str. 3371–3431.
179. Chesley LC. Hypertensive disorders in pregnancy. New York, Appleton-Century-Crofts Appleton-Century-Crofts, New York (1978), str. 421−423.
180. Granger JP, Alexander BT, Bennett WA , Raouf A. Khalil RA. Pathophysiology of Pregnancy-Induced Hypertension. American Journal of Hypertension 2001; 14:178−85.
181. Bosio PM, Wheeler T, Anthony F, Conroy R, O'herlihy C, McKenna P. Maternal plasma vascular endothelial growth factor concentrations in normal

andhypertensive pregnancies and their relationship to peripheral vascular resistance. Am J Obstet Gynecol 2001;184(2):146−52.

182. Naljayan MV, Karumanchi SA. New developments in the pathogenesis of preeclampsia. Adv Chronic Kidney Dis 2013;20:265–70.
183. Van Gastel MDA, Meijer E, Scheven, LE, Struck J, Bakker, SJL, Gansevoort, RT. Modifiable Factors Associated With Copeptin Concentration: A General Population Cohort. American Journal of Kidney Diseases. 2015;65(5): 719–27.
184. Oncul M, Tuten A, Kucur M i sur. Copeptin concentrations are not elevated in gestational diabetes mellitus .Archives of Gynecology and Obstetrics 2013; 288:1045–49.
185. Joosen AMCP, van der Linden IJM, Schrauwen L, Theeuwes A, de Groot MJM, Ermens AAM. Reference intervals and longitudinal changes in copeptin and MR-proADM concentrations during pregnancy. Clin Chem Lab Med 2017;56(1):113−19.
186. Ma HH, Yang S, Wang P, Zhang JF. Evaluation of the value of plasma concentration of copeptin in the first prenatal visit to diagnose gestational diabetes mellitus. Acta Diabetol 2017:54:1123–29.
187. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F i sur. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women With Suspected Preeclampsia. N Engl J Med 2016;374(1):13−22. doi: 10.1056/NEJMoa1414838.
188. Tan MJ, Syngelaki A, Poon LC i sur. Screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11–13 weeks' gestation. Ultrasound Obstet Gynecol 2018;52:186–95.
189. Hund M, Allegranza D, Schoedl M, Dilba P, Verhagen-Kamerbeek W, Stepan H. Multicenter prospective clinical study to evaluate the prediction of short-term outcome in pregnant women with suspected preeclampsia (PROGNOSIS): study protocol. BMC Pregnancy Childbirth 2014;14():324. doi: 10.1186/1471-2393-14-324
190. Dragan I, Georgiou T, Prodan N, Akolekar R, Nicolaides KH. Screening for Pre-Eclampsia Using sFlt-1/PlGF Ratio Cut-Off of 38 at 30-37 Weeks' Gestation. Ultrasound Obstet Gynecol. 2017;49(1):73−7.
191. Livingston JC, Chin R, Haddad B, McKinney ET, Ahokas R, Sibai BM. Reductions of vascular endothelial growth factor and placental growth factor

concentrations in severe preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2000;183(6):1554–57.

192. Taylor RN, Grimwood J, Taylor RS, McMaster MT, Fisher SJ, North RA. Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. Am J Obstet Gynecol 2003;188(1):177–82.
193. Tidwell SC, Ho HN, Chiu WH, Torry RJ, Torry DS. Low maternal serum levels of placenta growth factor as an antecedent of clinical preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2001;184(6):1267–72.
194. Maynard SE, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. J Clin Invest 2003;111(5):649–58.
195. Sandgren JA, Deng G, Linggonegoro DW i sur. Arginine vasopressin infusion is sufficient to model clinical features of preeclampsia in mice. JCI Insight 2018;3(19): e99403. doi: 10.1172/jci.insight.99403
196. Hamai Y, Fujii T, Takahiro Yamashita T i sur. Evidence for an elevation in serum interleukin-2 and tumor necrosis factor-alpha levels before the clinical manifestations of preeclampsia. Am J Reprod Immunol 1997;38(2):89–93.
197. Haché S, Takser L, LeBellego F i sur. Alteration of calcium homeostasis in primary preeclamptic syncytiotrophoblasts: effect on calcium exchange in placenta. J Cell Mol Med 2011;15(3):654–67.
198. Chen Q, Zhang Y, Tong M i sur. Pre-treatment with calcium prevents endothelial cell activation induced by multiple activators, necrotic trophoblastic debris or IL-6 or preeclamptic sera: possible relevance to the pathogenesis of preeclampsia. Placenta 2013;34(12):1196–01.
199. Leavey K, Bainbridge SA, Cox BJ. Large scale aggregate microarray analysis reveals three distinct molecular subclasses of human preeclampsia. PLoS One 2015;10(2):e0116508. doi: 10.1371/journal.pone.0116508
200. Redman CW, Sargent IL. Immunology of pre-eclampsia. Am J Reprod Immunol 2010;63:534–43.
201. Chikanza IC, Petrou P, Chrousos G. Perturbations of arginine vasopressin secretion during inflammatory stress. Pathophysiologic implications. Annals of the New York Academy of Sciences 2000;917:825–34.

202. Johnson HM, Farrar WL, Torres BA. Vasopressin replacement of interleukin 2 requirement in gamma interferon production: Lymphokine activity of a neuroendocrine hormone. The Journal of Immunology 1982;129:983–86.
203. Johnson HM, Torres BA. Regulation of lymphokine production by arginine vasopressin and oxytocin: Modulation of lymphocyte function by neurohypophyseal hormones. J Immunol 1985;135(2)773−5.
204. Russell JA. Vasopressin and Its Copilot Copeptin in Sepsis and Septic Shock. Crit Care Med 2009;37(2):749−50.
205. Benzing J, Wellmann S, Achini F i sur. Plasma Copeptin in Preterm Infants: A Highly Sensitive Marker of Fetal and Neonatal Stress. J Clin Endocrinol Metab 2011;96(6):E982-5. doi: 10.1210/jc.2010-2858.
206. Wellmann S, Benzing J, Cippà G i sur. High Copeptin Concentrations in Umbilical Cord Blood After Vaginal Delivery and Birth Acidosis. J Clin Endocrinol Metab 2010;95(11):5091−6.
207. Briana DD, Boutsikou M, Boutsikou T, Dodopoulos T , Gourgiotis D, Malamitsi-Puchner A. Plasma Copeptin May Not Be a Sensitive Marker of Perinatal Stress in Healthy Full-Term Growth-Restricted Fetuses. J Matern Fetal Neonatal Med 2017;30(6):705−9.
208. Burton GJ, Jauniaux E. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction. AJOG 2018;218(2):745−61.
209. Gruenwald P. Abnormalities of placental vascularity in relation to intrauterine deprivation and retardation of fetal growth. Significance of avascular chorionic villi. N Y State J Med 1961;61:1508−13.
210. Jauniaux E, Poston L, Burton GJ. Placental related diseases of pregnancy: involvement of oxidative stress and implications in human evolution. Hum Reprod Update 2006;12:747−55.
211. Foda AA, Abdel Aal IA. Maternal serum copeptin as a marker for fetal growth restriction. Middle East Fertility Soci J 2013;3:159–64.
212. Bülbül GA, Kumru S, Erol O i sur. Maternal and Umbilical Cord Copeptin Levels in Pregnancies Complicated by Fetal Growth Restriction J Matern Fetal Neonatal Med 2015;28(11):1278-84.
213. Alizzi FJ, Bardan RM. Role of maternal serum copeptin in correlation with umbilical cord copeptin and umbilical artery Doppler indices in differentiating

IUGR from constitutional small and appropriate for gestational age fetuses. J Pharm Sci & Res 2018;10(3): 597−600.

214. Sheppard BL, Bonnar J. The ultrastructure of the arterial supply of the human placenta 461 in pregnancy complicated by fetal growth retardation. J Obstet Gynaecol Br Cwlth 83 462 (12) (1976) 948–59
215. Bhide A, Acharya G, Bilardo CM i sur. ISUOG Practice Guidelines: use of Doppler ultrasonography in obstetrics. Ultrasound Obstet Gynecol 2013;41: 233–39.
216. Falco ML, Sivanathan J, Laoreti A, Thilaganathan B, Khalil A. Placental histopathology associated with pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2017;50:295–301.
217. Orabona R, Donzelli CM, Falchetti M, Santoro A, Valcamonico A, Frusca T. Placental histological patterns and uterine artery Doppler velocimetry in pregnancies complicated by early or late pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2016;47:580–85.
218. Martin AM, Bindra R, Curcio P, Cicero S, Nicolaides KH. Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler at 11–14 weeks of gestation. Ultrasound Obstet Gynecol 2001;18: 583–86.
219. Savvidou MD, Syngelaki A, Balakitsas N, Panaiotova E, Nicolaides KH. First-trimester Uterine Artery Doppler Examination in Pregnancies Complicated by Gestational Diabetes Mellitus With or Without Pre-Eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2013;42(5):525−9.
220. Nicolaides KH, Bindra R, Turan OM i sur. A Novel Approach to First-Trimester Screening for Early Pre-Eclampsia Combining Serum PP-13 and Doppler Ultrasound. Ultrasound Obstet Gynecol 2006;27(1):13−7.
221. Di Lorenzo G, Ceccarello M, Cecotti V i sur. First Trimester Maternal Serum PlGF, Free β-hCG, PAPP-A, PP-13, Uterine Artery Doppler and Maternal History for the Prediction of Preeclampsia. Placenta 2012;33(6):495-501.
222. Poon LC, Karagiannis G, Leal A, Romero XC, Nicolaides KH. Hypertensive disorders in pregnancy: Screening by uterine artery doppler imaging and blood pressure at 11–13 weeks. Ultrasound Obstet Gynecol 2009;34:497–502.
223. Tuuli MG, Odibo AO. The role of serum markers and uterine artery Doppler in identifying at-risk pregnancies. Clin Perinatol 2011;38(1):1-19.

224. Yu CK, Smith GC, Papageorghiou AT, Cacho AM, Nicolaides KH. Fetal Medicine Foundation Second Trimester Screening Group. An integrated model for the prediction of pre-eclampsia using maternal factors and uterine artery Doppler velocimetry in unselected low-risk women. Am J Obstet Gynecol 2006; 195(1):330−7.
225. Chaemsaithong P, Sahota D, Poon LC. First trimester preeclampsia screening and prediction. Am J Obstet Gynecol 2020;16;S0002-9378(20)30741-9. doi: https://doi.org/10.1016/ j.ajog.2020.07.020.
226. Rolnik DL, da Silva Costa F, Sahota D, Hyett J, McLennan A. Quality assessment of uterine artery Doppler measurement in first-trimester combined screening for pre-eclampsia Ultrasound Obstet Gynecol 2019;53(2):245−50.
227. Yeşil A, Kanawati A, HelvacıoğluÇ, Kaya C, Özgün ÇO, Cengiz H. Identification of patients at risk for preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and copeptin. The Journ of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine 2016:2763−68.
228. Stampalija T, Gyte ML, Zarko Alfirevic Z. Utero-placental Doppler ultrasound for improving pregnancy outcome. Cochrane Database Syst Rev 2010; 2010(9):CD008363.
229. Allen R, Joseph Aquilina J. Prospective Observational Study to Determine the Accuracy of First-Trimester Serum Biomarkers and Uterine Artery Dopplers in Combination With Maternal Characteristics and Arteriography for the Prediction of Women at Risk of Preeclampsia and Other Adverse Pregnancy Outcomes. J Matern Fetal Neonatal Med 2018;31(21):2789−806.
230. Myatt L, Clifton RG, Roberts JM i sur. The utility of uterine artery doppler velocimetry in prediction of preeclampsia in a low-Risk Population. Obstet Gynecol 2012;120(4):815–22.
231. Velauthar L, Plana MN, Kalidindi M i sur. First-trimester uterine artery Doppler and adverse pregnancy outcome: a meta-analysis involving 55,974 women. Ultrasound Obstet Gynecol 2014;43(5):500−7.
232. Di Pasquo E, Ghi T, Dall' Asta A i sur. Maternal cardiac parameters can help in differentiating the clinical profile of preeclampsia and in predicting progression from mild to severe forms. Am J Obstet Gynecol 2019;221(6):633.e1-633.e9. doi: 10.1016/j.ajog.2019.06.029.

233. Schneuer FJ, Nassar N , Khambalia AZ i sur. First trimester screening of maternal placental protein 13 for predicting preeclampsia and small for gestational age: In-house study and systematic review. Placenta. 2012;33:735−40.
234. Khalil A, Cowans NJ, Spencer K, Goichman S, Meiri H, Harrington K. First Trimester Mate Marnal Serum Placental Protein 13 for the Prediction of Pre-Eclampsia in Women With a Priori High Risk. Prenat Diagn. 2009;29(8):781−9.
235. Spencer K, Cowans NJ, Chefetz I, Tal J, Meiri H. First-trimester maternal serum PP-13, PAPP-A and second-trimester uterine artery Doppler pulsatility index as markers of pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2007;29:128−34.
236. Gonen R, Shahar R, Grimpel YI, Chefetz I, Sammar M, Meiri H et al. Placental protein 13 as an early marker for pre-eclampsia: a prospective longitudinal study. BJOG 2008;115:1465–72.
237. Ceylan N, Ozaksit G, Unlu BS, Yildiz Y, Yilmaz S, Agaca F. Can fi rst trimester placental protein-13 and pregnancy-associated plasma protein-A predict pre-eclampsia in Turkish women? J of Obst and Gyn 2014;34:482–85.
238. De Villiers CP, Hedley PL, Placing S i sur. Placental protein-13 (PP13) in combination with PAPP-A and free leptin index (fLI) in first trimester maternal serum screening for severe and early preeclampsia. Clin Chem Lab Med 2017;56(1):65−74.
239. Akolekar R, Syngelaki A, Beta J, Kocylowski R, Nicolaides KH. Maternal serum placental protein 13 at 11–13 weeks of gestation in preeclampsia. Prenat Diagn 2009;29:1103–8.
240. Sunjaya AF, Sunjaya AP. Evaluation of Serum Biomarkers and Other Diagnostic Modalities for Early Diagnosis of Preeclampsia J Family Reprod Health 2019;13(2):56–69.
241. Chafetz I, Kuhnreich I, Sammar M i sur. First-trimester placental protein 13 screening for preeclampsia and intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol 2007;197:35. e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2007.02.025.
242. Committee Opinion No. 638: First-trimester risk assessment for early-onset preeclampsia. ObstetGynecol 2015;126:e25–7. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26287789

243. Cetin I, Huppertz B, Burton G i sur. Pregenesys pre-eclampsia markers consensus meeting: what do we require from markers, risk assessment and model systems to tailor preventive strategies? Placenta 2011;32:S4−16.
244. Sarween N, Drayson MT,Hodson J i sur. Humoral immunity in late-onset Pre-eclampsia and linkage with angiogenic and inflammatory markers. Am J Reprod Immunol 2018;80(5):e13041.www.pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30168226/

# 11. ŽIVOTOPIS

Petrana Beljan rođena je u Bjelovaru 1987. godine gdje je završila osnovnu školu i opću gimnaziju. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala je 2006. godine i na istom je diplomirala 2012. godine. Pripravnički staž odradila je u Domu zdravlja Zagreb Istok i u KBC-u Zagreb, te je 2013. godine položila stručni ispit i dobila licencu za samostalan rad. U periodu od 2013. do 2015. godine radila je kao liječnik opće medicine u primarnoj zdravstvenoj zaštiti u Domu zdravlja Zagreb-Istok u Sesvetama. Specijalizaciju iz ginekologije i opstetricije u Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb započela je 2015. godine pod mentorstvom prof. dr. sc. Slavka Oreškovića, a uskoro će pristupiti polaganju specijalističkog ispita. U sklopu specijalizacije je završila poslijediplomski specijalistički studij Ginekologija i opstetricija. Znanstveni poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu u Zagrebu upisala je 2014. godine. Višegodišnji je vanjski suradnik na projektu  u sklopu Potpore sveučilišta pod nazivom „Uloga biokemijskih markera u težini i tijeku preeklampsije“. Završila je nekoliko tečajeva trajnog usavršavanja, autor je i koautor na nekoliko radova objavljenih u indeksiranim publikacijama i aktivno sudjeluje na znanstvenim skupovima.