Statistički regresijski model standardnih i novih laboratorijskih pokazatelja u predviđanju preeklampsija

Delić, Ratko

Doctoral thesis / Disertacija

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:657262

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Ratko Delić

Statistički regresijski model standardnih i novih laboratorijskih pokazatelja u predviđanju preeklampsija

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2012.



UNIVERSITY OF ZAGREB
FACULTY OF SCIENCE
DIVISION OF BIOLOGY

Ratko Delić

Statistical Regression Model of Standard and New Laboratory Markers in Prediction of Preeclampsia

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2012.

Ovaj je doktorski rad izrađen na Odjelu za ginekologiju i porodništvo, Opće bolnice Celje, Slovenija. Mentor izrade disertacije je dr.sc. Mario Štefanović, znanstveni suradnik, spec. med. biokemije, pročelnik Kliničke jedinice za molekularnu dijagnostiku, Klinički zavod za Kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice u Zagrebu, u sklopu Sveučilišnog poslijediplomskog doktorskog studija Biologije pri Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvaljujem se prim. Vladimiru Weberu, dr. med, spec. ginekologije i porodništva, predstojniku Odjela za ginekologiju i porodništvo koji je omogućio izvođenje studije na Odjelu za patološku trudnoću, Opća bolnica Celje, Slovenija.
Također, zahvaljujem se osoblju Odjela za patološku trudnoću kao i svim trudnicama koje sudjelovale u studijama na suradnji.
Nadalje, zahvaljujem se mag. Štefki Krivec, mag. farmacije, predstojnici Odjela za laboratorijsku dijagnostiku, Opće bolnice Celje za laboratorijski dio posla u obje studije, kao i za osiguravanje reagensa za istraživački rad u drugoj studiji.
Posebno zahvaljujem mentoru, voditelju i suradniku, dr. sc. Mariu Štefanoviću za uloženi trud i podršku u svim fazama izrade ove disertacije.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Doktorski rad

STATISTIČKI REGRESIJSKI MODEL STANDARDNIH I NOVIH LABORATORIJSKIH POKAZATELJA U PREDVIĐANJU PREEKLAMPSIJA

RATKO DELIĆ

Opća bolnica Celje
Odjel za ginekologiju i porodništvo
Oblakova 5, Celje, Slovenija

Preeklampsija je vodeći je uzrok maternalnog i neonatalnog morbiditeta i mortaliteta i teško je predvidjeti pomoću trenutno dostupnih kliničkih testova.
Cilj rada je bio ispitati prediktivni potencijal standardnih biokemijskih, hematoloških i antropometrijskih parametara te novih angiogenih čimbenika za nastanak preeklampsije putem dvije studije: prve retrospektivne, uz pomoć standardnih laboratorijskih parametara u trećem tromjesečju trudnoće i druge, prospektivne, uz pomoć novih angiogenih čimbenika (PlGF, sFlt-1) nakon 20-og tjedna trudnoće.

U prvoj studiji (113 trudnica s preeklampsijom, te kontrolna skupina od 95 trudnica s urednom trudnoćom) uz pomoć multivarijantne logističke regresije u modelu koji uključuje urate i ureu ispravno je klasificirano 79,6% sudionica. Dodavanjem trombocita, hematokrita, AST i leukocita ovom modelu ispravno je klasificirano 83,8% sudionica.

U drugoj studiji (34 trudnice s preeklampsijom, te 35 trudnica s urednom trudnoćom), na identičan način ispitivani su i obrađeni isti parametri, uz dodatak novih angiogenih čimbenika čime se postotak točno klasificiranih sudionica u osnovnom modelu (urati, PlGF, sFlt-1) povećao na 85,07%, u modelu s dodatkom indeksa tjelesne mase prije poroda na 88,06%, te u modelu s dodatkom indeksa površine tijela na 91,4%.

Dobiveni rezultati optimalnog laboratorijskog panela sastavljenog od izabranih standardnih laboratorijskih parametara potvrđuju visok prediktivni potencijal u predviđanju preeklampsije u trećem tromjesečju. Novi angiogeni čimbenici pokazali su se superiornijim od standardnih parametara te pomiču sposobnost predikcije nastanka preeklampsije u nižu gestacijsku dob.

Stranica:125, slika: 20, tablica: 22, literaturnih navoda: 298, jezik izvornika: Hrvatski

Ključne riječi: preeklampsija, predikcija, biokemijsko - hematološki parametri, angiogeni čimbenici

Mentor: Dr. sc. Mario Štefanović, znan. sur., Farmaceutsko - biokemijski fakultet, KBC "Sestre Milosrdnice", Zagreb

Ocjenjivači: Dr.sc. Višnja Oreščanin, viša znan. sur., Napredna energija d.o.o, Zagreb
Dr.sc. Mario Štefanović,znan. sur., FBF, KBCSM, Zagreb
Doc.dr. Zoran Tadić, PMF, Zagreb

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Ph.D. Thesis

STATISTICAL REGRESSION MODEL OF STANDARD AND NEW LABORATORY MARKERS IN PREDICTION OF PREECLAMPSIA

RATKO DELIĆ

General Hospital Celje
Department of Obstetrics and Gynecology
Oblakova 5, Celje, Slovenia

Preeclampsia is a leading cause of maternal and neonatal morbidity and mortality and is difficult to predict with available clinical tests.
The aim of this research was to investigate the predictive potential of standard biochemical, hematological and anthropometric parameters together with new angiogenic markers in prediction of preeclampsia through two studies: first, retrospective by employing standard laboratory parameters at third trimester of pregnancy and second prospective study with new angiogenic markers (PlGF, sFlt-1) after 20 weeks of pregnancy.

In the first study (113 patients with preeclampsia and a control group of 95 uncomplicated pregnancies) by the use of multivariate logistic regression model with uric acid and BUN included, 79.6% patients were classified correctly. By adding thrombocytes, hematocrit, AST and leukocytes to this model, 83.8% of participants were correctly classified.

In the second study (34 patients with preeclampsia and 35 patients with uncomplicated pregnancy) the same parameters were analysed and evaluated with the addition of new angiogenic markers. It elevated the percentage of pregnancies correctly classified in basic model (uric acid, PlGF, sFlt-1) to 85.07%, in a model with addition of body mass index before childbirth up to 88.06%, and in a model with addition of body surface area to 91.4%, respectively.

Results of an optimal laboratory panel composed of selected standard laboratory parameters confirm high predictive potential in preeclampsia prediction in third trimester. New angiogenic markers appeared to be superior to standard parameters and shift prediction potential of preeclampsia to lower gestational age.

Pages:125, figures: 20, tables: 22, references: 298, original in: Croatian

Key words: preeclampsia, prediction, biochemical and hematological parameters, angiogenic markers

Supervisor: Mario Štefanović, PhD, res. assoc., Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University Hospital Center "Sisters of Mercy" Zagreb

Reviewers: Višnja Oreščanin, Ph.D., res. scient., Napredna energija d.o.o., Zagreb
Mario Štefanović, Ph.D., res. assoc., Univ. Hosp. Cent. "Sisters of Mercy" Zagreb
Zoran Tadić, Ph.D., assist. prof, Faculty of Science, Zagreb

SADRŽAJ:

1 UVODNI DIO ... 9

1.1 CILJEVI RADA ... 11

2 LITERATURNI PREGLED ... 12

2.1 HIPERTENZIVNE BOLESTI U TRUDNOĆI ... 12

2.1.1 Gestacijska hipertenzija ... 14

2.1.2 Kronična hipertenzija ... 15

2.1.3 HELLP sindrom ... 15

2.2 PREEKLAMPSIJA ... 17

2.2.1 Epidemiologija, rizični čimbenici, podjela, kliničke značajke i dijagnoza preeklampsije ... 17

2.2.2 Kliničke manifestacije ... 21

2.2.2.1 Hipertenzija ... 21

2.2.2.2 Proteinurija ... 21

Kvantificiranje proteinske ekskrecije ... 23

2.2.2.3 Ostali bubrežni nalazi ... 24

2.2.2.4 Edemi i intravaskularni volumen ... 25

2.2.2.5 Hematološke promjene ... 25

2.2.2.6 Oštećenja jetre ... 25

2.2.2.7 Središnji živčani sustav (SŽS) i oko ... 26

2.2.2.8 Srce ... 26

2.2.2.9 Plućni edem ... 27

2.2.2.10 Fetus i posteljica ... 27

2.2.3 Prognoza ... 28

2.3 EKLAMPSIJA ... 29

2.4 SUPERPONIRANA/NAKALEMLJENA PREEKLAMPSIJA ... 29

2.5 PATOGENEZA PREEKLAMPSIJE ... 29

2.5.1 Neodgovarajući razvoj posteljice ... 30

2.5.1.1 Patološko remodeliranje spiralnih arterija ... 30

2.5.1.1.1 Neodgovarajuća, defektna diferencijacija trofoblasta ... 32

2.5.1.1.2 Hipoperfuzija, hipoksija, ishemija ... 32

2.5.1.1.3 Imunološki čimbenici ... 33

2.5.1.1.4 Povećana osjetljivost na angiotenzin II ... 34

2.5.1.1.5 Genetski čimbenici ... 34

2.5.1.1.6 Prehrana ... 36

2.5.1.1.7 Sistemska endotelijalna disfunkcija ... 36

2.5.1.1.8 Patogeneza sistemske endotelijalne disfunkcije ... 37

2.6 PREDIKCIJA PREEKLAMPSIJE ... 41

2.6.1 Predikcija preeklampsije na podlozi rizičnih čimbenika ... 42

2.6.1.1 Potencijalni probirni testovi u predviđanju preeklampsije ... 42

2.6.1.1.1 Razina angiogenih čimbenika u krvi i urinu ... 43

2.6.1.1.2 Omjer angiogenih čimbenika u krvi i urinu ... 44

2.6.1.1.3 Ultrazvuk i otkrivanje preeklampsije ... 45

2.6.1.1.4 Novi pristupi, urati te ostali pristupi ... 47

Kombinacija testova ... 47

Profiliranje proteoma ... 48

Genomske studije ... 48

Serumska mokraćna kiselina (urati) ... 48

Slobodna fetalna DNk ... 49

Ca-125 ... 49

Mikroalbuminurija ... 49

Testiranje na antifosfolipidna antitijela ... 50

Provokacijski biofizikalni testovi ... 50

Testiranje majke na serumske analite ... 50

Fibronektini ... 50

Oksidativni stres ... 51
Drugi testovi ... 51
2.6.1.1.5 Standardni hematološko biokemijski pokazatelji te sFlt-1 i PlGF ... 51
Standardni hematološko - biokemijski pokazatelji i preeklampsija ... 51
2.6.1.1.6 PlGF, sFlt-1 i preeklampsija ... 65
2.6.1.1.7 Hipoteza uloge sFlt-1 u nastanku preeklampsije ... 68

3 MATERIJALI I METODE ... 70

3.1 ISPITANICE ... 70

3.1.1 Prva studija - retrospektivna ... 70

3.1.2 Druga studija - prospektivna ... 70

3.2 METODE RADA ... 71

3.2.1 Prva studija - retrospektivna ... 71

3.2.2 Druga studija - prospektivna ... 72

3.3 STATISTIČKA ANALIZA ... 74

4 REZULTATI ... 76

4.1.1 Prva studija - retrospektivna ... 76
4.1.1.1 Logistička regresija ... 80

4.1.2 Druga studija - prospektivna ... 81
4.1.2.1 ROC krivulje ... 86
4.1.2.1.1 Logistička regresija ... 90
4.1.2.1.2 Model 1 (BMI pp, PlGF sFlt-1, urati) ... 90
4.1.2.1.3 Model 2 (BSA pp, PlGF, sFlt-1, urati) ... 91
4.1.2.1.4 Model 3 (sFlt-1, PlGF i urati) ... 91

5 RASPRAVA ... 93

sFlt-1, PlGF, ... 99

6 ZAKLJUČCI ... 107

7 LITERATURA ... 108

POPIS KRATICA 124

ŽIVOTOPIS 125

1 UVODNI DIO

Predviđanje nastanka preeklampsije opterećuje opstetričare niz godina; trenutno ne postoji test kojim bi pouzdano razlikovali trudnice s visokim rizikom nastanka preeklampsije od onih s niskim.

Dobar test za predviđanje nastanka preeklampsije morao bi biti jednostavan, brz, jeftin, neinvazivan, reproducibilan, te bi morao pružiti mogućnost prevencije nastanka bolesti ili bar rezultirati boljim ishodom trudnoće za trudnicu i dijete.

Dosad je predstavljen cijeli niz različitih testova za otkrivanje trudnica s povećanim rizikom za nastanak preeklampsije; velika većina nije pokazala dovoljno visoku senzitivnost i specifičnost da bi bili upotrebljivi kao probirni testovi.

Neujednačena terminologija, prisutnost više klasifikacijskih sistema koji definiraju hipertenzivne bolesti u trudnoći, izmjene dijagnostičkih kriterija za dijagnozu preeklampsije koji su se događale u prošlosti, kao i opsežna diferencijalna dijagnoza dodatno otežavaju njenu predikciju i dijagnostiku.

Trenutno važeći dijagnostički kriteriji za preeklampsiju baziraju se na povišenom krvnom tlaku i proteinuriji nakon 20-og tjedna trudnoće čime se nerijetko ignorira široka klinička varijabilnost sindroma.

Nerijetko u svakodnevnoj praksi susrećemo trudnice koje imaju izražen samo jedan od dijagnostičkih kriterija (proteinuriju ili hipertenziju) zajedno s drugim patološkim nalazima (teške glavobolje, trombocitopenija, hiperurikemija, intrauterini zastoj rasta...); takva trudnica vrlo vjerojatno ima preeklampsiju, što ocrtava složenost problema pri postavljanju dijagnoze i predviđanju nastanka preeklampsije.

Statistički gledano, većina preeklampsija se pojavljuje u trećem tromjesečju trudnoće i većinu tih slučajeva čine blage preeklampsije; prilikom dijagnostike, opservacije i liječenja preeklampsije godinama se diljem svijeta upotrebljavaju standardni hematološko - biokemijski parametri.

Upravo zato cilj prve, retrospektivne studije bio je pomoću široko dostupnih, jeftinih standardnih hematološko - biokemijskih parametara (što su ključni uvjeti za dobar probirni test) ponuditi optimalan panel za predikciju nastanka preeklampsije u trećem tromjesečju, te procijeniti prognostičke potencijale standardnih laboratorijskih parametara pojedinačno za isto razdoblje.

Zadnjih godina u istraživačkom radu na području predikcije preeklampsije najviše pažnje stručne javnosti dobivaju angiogeni čimbenici (uključujući i Svjetsku zdrastvenu

organizaciju), čiji prediktivni potencijal prema podacima iz literature seže u drugo tromjesečje trudnoće pa čak i ranije.

U drugoj, prospektivnoj studiji istražen je prediktivni potencijal dvaju novih, potencijalno vrlo korisnih angiogenih čimbenika koji se zasad ne upotrebljavaju rutinski u svakodnevnoj praksi, proangiogenog PlGF (placentarnog čimbenika rasta) i antiangiogene sFlt-1 (topljiva fms slična tirozin kinaza 1).

Analiziran je prediktivni potencijal spomenutih angiogenih čimbenika pojedinačno, kao i njihovih omjera od 20 tjedna trudnoće nadalje, uspoređen s prediktivnim potencijalom standardnih laboratorijskih parametara, te su kao i u prvoj studiji napravljeni optimalni paneli za predikciju nastanka preeklampsije.

Treba naglasiti da usprkos značajnom prognostičkom potencijalu standardnih laboratorijskih parametara, te posebno angiogenih čimbenika, niti jedan od testova za predikciju nastanka preeklampsije ne može i ne bi smio nadomjestiti redovite preglede i praćenje trudnoće prema važećim smjernicama.

1.1 Ciljevi rada

1. Istražiti upotrebljivost standardnih biokemijskih i hematoloških parametara pojedinačno, te prediktivni potencijal krvne grupe, indeksa tjelesne mase, životne dobi i pariteta u trećem tromjesečju trudnoće u svrhu predikcije nastanka preeklampsije,
2. regresijskom analizom izraditi optimalni laboratorijski panel sastavljen od standardnih biokemijskih i hematoloških parametara u predikciji nastanka preeklampsije u trećem tromjesečju trudnoće te istražiti njegovu kliničku vrijednost pogotovo u slučaju netipičnih prezentacija preeklampsije,
3. istražiti kliničku vrijednost određivanja novih angiogenih čimbenika u predikciji nastanka preeklampsije,
4. usporediti prediktivnu sposobnost standardnih hematološko biokemijskih parametara s prediktivnom sposobnosti angiogenih čimbenika u predikciji nastanka preeklampsije,
5. regresijskom analizom izraditi optimalni laboratorijski panel sastavljen od standardnih hematološko biokemijskih parametara zajedno s angiogenim čimbenicima, te istražiti njegovu kliničku vrijednost u predikciji nastanka preeklampsije.

2 LITERATURNI PREGLED

2.1 Hipertenzivne bolesti u trudnoći

Hipertenzivne bolesti u trudnoći spadaju među najčešće medicinske komplikacije trudnoće, s incidencijom između 5-10%.[1] Također, hipertenzivne bolesti u trudnoći jedan su od glavnih uzroka maternalnog i perinatalnog mortaliteta i morbiditeta širom svijeta.[2] Svjetska zdravstvena organizacija sustavno evidentira maternalnu smrtnost diljem svijeta; u razvijenim zemljama svijeta 16% maternalne smrtnosti je uzrokovano hipertenzivnim bolestima u trudnoći.[3] Taj postotak je viši nego kod tri ostala vodeća uzroka maternalne smrtnosti, a to su: (1) krvarenja (13%); (2) abortusi (8%); i (3) sepse (2%). Slične podatke je objavio Berg sa suradnicima u svojoj studiji iz 2003, da bi dvije godine kasnije objavio studiju sa suradnicima u kojoj tvrdi da se preko polovice maternalnih smrti uzrokovanih hipertenzivnim bolestima u trudnoći moglo spriječiti.[4, 5]

Termin *hipertenzivne bolesti u trudnoći* se koristi u opisivanju širokog spektra bolesti, od primjera s blago povišenim krvnim tlakom do teških preeklampsija praćenu disfunkcijom različitih organa. Nerijetko, kliničke manifestacije u takvih pacijentica mogu biti slične (npr. hipertenzija, proteinurija), ali mogu biti posljedica različitih uzroka kao što su kronična hipertenzija, bubrežna bolest ili preeklampsija. Terminologija koja se u prošlosti koristila za klasifikaciju hipertenzivnih bolesti u trudnoći bila je neujednačena i zbunjujuća što je praktički onemogućavalo usporedbu različitih studija.

Dugi niz godina za hipertenzivne bolesti trudnoće u upotrebi je bio termin toksemija trudnoće jer se mislilo da više poremećaja ima jedan zajednički, etiološki uzročnik; cirkulirajući toksin. Prva međunarodna klasifikacija bolesti upotrebljava izraz EPH gestoza, uzimajući kliničke simptome, edem, proteinuriju i hipertenziju kao temelj dijagnoze. Prisutnost bilo kojeg od triju navedenih simptoma bilo je dovoljno za dijagnozu bolesti, što je bila najveća zamjerka toj klasifikaciji. Danas se smatra da je uloga edema u dijagnozi prenaglašena, obzirom da se često javlja kod nekompliciranih, urednih trudnoća te da hipertenziji nije dan odgovarajući značaj, tako da se danas izraz EPH gestoza više ne upotrebljava.[6]

Najnovije klasifikacije hipertenzije u trudnoći publicirale su mnoge organizacije i stručna društva, od koji se ističu one Svjetske zdravstvene organizacije i Američke udruge ginekologa i opstetričara. Radna skupina za visoki tlak u trudnoći u sklopu Nacionalnog obrazovnog programa za visoki tlak (*engl; Working Group for High Blood Pressure in Pregnancy of the National High Blood Pressure Education Program*) u Sjedinjenim

Američkim Državama je 2000. godine predložila novi klasifikacijski sistem, koji se danas najčešće primjenjuje. Klasifikacijski sistem Američke udruge ginekologa i opstetričara[2] definira hipertenzivne bolesti u trudnoći kao:

- Gestacijska hipertenzija, prethodno nazivana trudnoćom inducirana hipertenzija
- Preeklampsija/eklampsija
- Preeklamptični sindrom nakalemljen, superponiran na kroničnu hipertenziju
- Kronična hipertenzija

Značajka te klasifikacije je razlikovanje preeklampsije i eklampsije, odnosno superponirane preeklampsije od ostalih hipertenzivnih bolesti u trudnoći (Tablica 1), obzirom da su navedeni poremećaji potencijalno najopasniji za trudnicu i plod. Nadalje, takva klasifikacija omogućava usporedbu i interpretaciju različitih studija koje se bave etiologijom, patogenezom i kliničkim tijekom hipertenzivnih bolesti u trudnoći.

Tablica 1. Podjela i dijagnostički kriteriji hipertenzivnih bolesti u trudnoći

Gestacijska hipertenzija:
Sistolički RR ≥140 ili dijastolički RR ≥90 mm Hg prvi put tijekom trudnoće Nema proteinurije RR se vraća u normalne vrijednosti unutar 12 tjedana poslije poroda Definitivna dijagnoza postavljena poslije poroda Može imati druge znake ili simptome karakteristične za preeklampsiju, npr, epigastrični bolovi ili trombocitopeniju
Preeklampsija:
Minimalni kriteriji: RR 140/90 mm Hg nakon 20 tjedna gestacije Proteinurija 300 mg/24 h ili 1+ test traka Povišena vjerojatnost za preeklampsiju: RR ≥160/110 mm Hg Proteinurija 2,0 g/24h ili 2+ na test traci Serumski kreatinin >1.2 mg/dL osim ako je poznato da je prethodno bio povišen Trombociti < 100.000/L Mikroangiopatska hemoliza - povišen LDH Povišene serumske transaminaze - ALT ili AST Perzistentna glavobolja ili drugi cerebralni / vizualni poremećaji Perzistentni epigastrični bolovi
Eklampsija:
Konvulzije koje ne možemo pripisati drugim uzrocima kod trudunice s preeklampsijom Superponirana, nakalemljena preeklampsija na kroničnu hipertenziju: Novonastala proteinurija 300 mg/24h kod žene s prethodno dijagnosticiranom hipertenzijom ali bez proteinurije prije 20 tjedna trudnoće Iznenadna proteinurija, porast RR ili trombociti < 100.000/L u žene s hipertenzijom i proteinurijom prije 20 tjedna trudnoće
Kronična hipertenzija:
RR ≥140/90 mm Hg prije trudnoće ili dijagnosticiran tlak prije 20 tjedana gestacije koji se ne može povezati s gestacijskom trofoblastnom bolešću ili Hipertenzija prvi put dijagnosticirana nakon 20 tjedna trudnoće i prisutna 12 tjedana nakon poroda

ALT = alanin aminotranferaza; AST = aspartat aminotransferaza; LDH = laktat dehidrogenaza.National High Blood Pressure Education Program Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy (2000).

Hipertenziju, odnosno povišeni krvni tlak dijagnosticiramo ako prilikom odgovarajućeg mjerenja tlaka izmjerene vrijednosti premašuju 140 mm Hg sistoličkog i 90 mm Hg dijastoličkog tlaka. Sistolički tlak određuje se pojavom početnog šuma (I faza Korotkovljevih šumova), a dijastolički nestankom šuma (V faza Korotkovljevih šumova). Za postavljanje dijagnoze hipertenzije u trudnoći potrebno izmjeriti povišen tlak u barem dva navrata, sa šest satnim razmakom između dva mjerenja.

U prošlosti se kao dijagnostički kriterij za hipertenziju u trudnoći upotrebljavao porast sistoličkog tlaka od 30mm Hg, odnosno 15 mm Hg dijastoličkog tlaka u usporedbi s prethodno izmjerenim vrijednostima tlaka. Stoga je teoretski u trudnoći mogla biti dijagnosticirana hipertenzija iako ukupni porast tlaka ne bi bio viši od 140/90 mm Hg. Međutim, takav kriterij se više ne preporučuje. Studije su pokazale da trudnice s dijagnosticiranom hipertenzijom na prethodno opisani način imaju velike šanse dovesti trudnoću do termina bez komplikacija, uz redovitu kontrolu tlaka.[7,8]

S druge strane napadi eklampsije su potvrđeni kod trudnica s izmjerenim tlakovima ispod 140/90 mm Hg, što samo pridonosi kompleksnosti istraživane problematike.[9] Naravno, uvijek treba pomisliti i na tzv. hipertenziju bijele kute (*engl; white coat hypertension*), situaciju kad je krvni tlak povišen samo u liječničkoj ordinaciji, a u kućnim uvjetima je uredan.

2.1.1 Gestacijska hipertenzija

Gestacijsku hipetenziju definiramo kao porast sistoličkog tlaka ≥ 140 mm Hg i /ili dijastoličkog tlaka ≥ 90 mm Hg u prethodno normotenzivne trudnice nakon 20 tjedna trudnoće bez prateće proteinurije. [2,10] Ovaj tip hipertenzije javlja se u otprilike 6% trudnoća.[11] Kao što je već spomenuto, povišani tlak mora biti izmjeren minimalno u dva navrata, sa šesto-satnim razmakom između dva mjerenja. U slučaju tlakova većih od 160/110 mm Hg, koje mjerimo nakon šest sati ili više govorimo o teškoj gestacijskoj hipertenziji. [10,12] Važno je napomenuti da je gestacijska hipertenzija privremena dijagnoza.

Ukoliko tijekom trudnoće uz hipertenziju dođe i do pojave proteinurije tada govorimo o preeklampsiji, dok se u slučaju trajno povišenog tlaka koji perzistira 12 tjedana nakon poroda radi o kroničnoj hipertenziji. U slučaju normalizacije tlaka unutar 12 tjedana nakon poroda govorimo o gestacijskoj hipertenziji.

Utvrđeno je da će otprilike 15 – 25% žena s inicijalno dijagnosticiranom gestacijskom hipertenzijom razviti preeklampsiju.[13] Da bi se postavila konačna dijagnoza potrebno je kontrolirati takve slučajeve 12 tjedana nakon poroda.[13]

Patofiziologija bolesti je nepoznata. Naime, nije jasno jesu li gestacijska hipertenzija i preeklampsija različite bolesti sa sličnim fenotipom (hipertenzija) ili je gestacijska hipertenzija rani ili blagi oblik preeklampsije.[13]

Ishodi trudnoća u žena s blagom gestacijskom hipertenzijom su u pravilu dobri, dok trudnoće kompliciranе teškom gestacijskom hipertenzijom imaju povećani rizik za maternalni i perinatalni morbiditet, sličan onome kod teških preeklampsija.[10,14,15]

Glavni cilj opstetričara jest razlučiti gestacijsku hipertenziju od preeklampsije, koja ima različiti tijek i prognozu, te ustanoviti radi li se o blagoj ili teškoj gestacijskoj hipertenziji što također utječe na terapiju i ishod trudnoće.[16]

Na osnovu rezultata objavljenih studija možemo zaključiti da gestacijska hipertenzija ima tendenciju ponavljanja u sljedećim trudnoćama, te da žene koje su imale gestacijsku hipertenziju u trudnoći, kasnije u životu imaju veću vjerojatnost razvoja hipertenzije.[17,18,19]

2.1.2 Kronična hipertenzija

Kroničnu hipertenziju definiramo kao povišeni krvni tlak (≥ 140/90) koji je bio dijagnosticiran prije trudnoće, odnosno do 20. tjedna trudnoće i još uvijek je prisutan 12 tjedana nakon poroda. Razlikujemo primarnu (esencijalnu) i sekundarnu (kao posljedica niza različitih poremećaja) hipertenziju; riječ o jednoj od najčešćih bolesti u ljudi koja spada u područje rada Interne medicine.

2.1.3 HELLP sindrom

HELLP sindrom (*od engl; Hemolysis with a microangiopathic blood smear, Elevated Liver enzymes and Low Platelet count*) se odnosi na stanje hemolize s mikroangiopatskim krvnim razmazom, povišenim jetrenim enzimima i niskim trombocitima. Prema najčešće primjenjivanoj, osuvremenjenoj klasifikaciji Američke udruge ginekologa i opstetričara HELLP sindrom nije klasificiran u hipertenzivne bolesti u trudnoći.

Sindrom vjerojatno predstavlja oblik teške preeklampsije, ali taj odnos je prilično kontroverzan. Kod otprilike 15 do 20% trudnica s HELLP sindromom ne dolazi do pojave prethodne hipertenzije ili proteinurije pa stoga dio eksperata misli da je HELLP odvojeni

poremećaj od preeklampsije.[20,21] Pojavljuje se u oko 1 do 2 trudnice na 1000 trudnoća, te u otprilike 10% po nekim podacima i do 20% slučajeva s teškom preeklampsijom/eklampsijom, a većina primjera je zabilježena između 28. i 36. tjedna trudnoće.

Tablica 2. Učestalost znakova i simptoma and kod HELLP sindroma

Znak/simptom	Učestalost, postotak %
Proteinurija	86 - 100
Hipertenzija	82 - 88
Bolovi u desnom gornjem kvadrantu/epigastični bolovi	40 - 90
Mučnina, povraćanje	29 - 84
Glavobolja	33 - 61
Vizualni poremećaji	10 - 20
Žutica	5

Iz tablice 2 je vidljivo da je simptomatologija kod preeklampsije i HELLP sindroma slična. Dijagnostika HELLP sindroma se oslanja na standardne hematološko - biokemijske parametre, a uključuje kompletan hemogram s trombocitima, perfierni krvni razmaz te jetrene testove.[22]

Danas ne postoji konsenzus o razini promjena laboratorijskih parametara koji bi bio dijagnostičan, odnosno karakterističan za HELLP sindrom. Određene studije upotrebljavaju vrijednosti AST (i/ili ALT) i LDH iznad gornje granice referentnih vrijednosti dok druge zahtijevaju povećanje za dvije standardne devijacije.[23]

U svrhu razlikovanja HELLP sindroma od ostalih hipertenzivnih bolesti u trudnoći te predikcije maternalnih/fetalnih komplikacija (diseminirana intravaskularna koagulopatija, abrupcija placente, akutno bubrežno zatajenje, plućni edem, ablacija retine) potrebno je definirati jasne kriterije za njegovo laboratorijsko dijagnosticiranje.

Laboratorijski kriteriji za dijagnosticiranje HELLP sindroma su:

- mikroangiopatska hemolitična anemija s karakterističnim shistiocitima u perifernom krvnom razmazu.
- drugi nalazi koji upućuju na hemolizu kao što su povećani LDH/ili indirektni bilirubin i niska koncentracija haptoglobina (≤ 250 mg/L).
- broj trombocita manji od 100 x 10^9/L
- serumski LDH ≥ 600 U/L ili ukupni bilirubin ≥ 20,5 μmol/L
- serumski AST ≥ 70 U/L

Određeni istraživači kontroliraju koncentraciju ALT umjesto/ili uz koncentraciju AST. Prednost mjerenja koncentracije AST jest u tome da odražava jetreno oštećenje i hemolizu eritrocita. Trudnice koje nemaju sve opisane laboratorijske poremećaje klasificiramo kao parcijalni HELLP sindrom, s mogućnošću progresije u potpuni HELLP sindrom. Kao što je

navedeno, postoji mogućnost da su preklampsija, odnosno teška preeklampsija i HELLP sindrom dio spektra jedne bolesti, što trebaju potvrditi relevantne studije.

2.2 Preeklampsija

2.2.1 Epidemiologija, rizični čimbenici, podjela, kliničke značajke i dijagnoza preeklampsije

Pod terminom preeklampsija podrazumijevamo sindrom novonastale hipertenzije i proteinurije nakon 20. tjedna trudnoće u prethodno normotenzivne trudnice (Tablica 3). Takva definicija preeklampsije temeljena isključivo na hipertenziji i proteinuriji nerijetko ignorira kliničku raznolikost ovog sindroma. Dijagnosticiranje preeklampsije isključivo na osnovi povišenog krvnog tlaka i proteinurije često ne obuhvaća spektar svih kliničkih značajki u kojima se ovaj sindrom pojavljuje. Stoga se nameće potreba za pronalaženjem novih pokazatelja koji bi mogli pomoći dijagnostici ali i predikciji ovog kliničkog entiteta.

Trudnice bez proteinurije, ali s povišenim krvnim tlakom i ostalim simptomima i nalazima, kao što su npr. glavobolja, bolovi u žličici, trombocitopenija, hiperurikemija, povišeni jetreni enzimi, ili znaci fetalne ugroženosti, vjerojatno ima preeklampsiju.

Tablica 3. Dijagnostički kriteriji za preeklampsiju

Sistolički krvni tlak ≥140 mmHg
ILI
Dijastolički krvni tlak ≥90 mmHg*
I
Proteinurija 0,3 grama ili više u 24-h urinu•

Porast krvnog tlaka mora biti značajan, podrazumijeva dva mjerenja u šest satnom razmaku, ali ne više od 7 dnevnom razmaku.
* Dijastolički krvni tlak se određuje na podlozi petog Korotkoffljevog zvuka (izostanak), s pacijentom u sjedećem položaju.
• 30 mg/dL ili 1+ na test traci je sugerirajući, ali ne i dijagnostički kriterij

Preeklampsija se pojavljuje u oko 3 - 14% trudnoća diljem svijeta. U SAD se javlja u oko 5 - 8%[24], a slične vrijednosti su utvrđene i u Hrvatskoj.[25] Najveći broj preeklampsija se javlja u kasnom trećem tromjesečju i napreduje do poroda. U manjem broju javlja se u drugoj polovici drugog tromjesečja, dok se kod određenog broja žena javlja oko poroda, odnosno tijekom ranog postpartalnog perioda.[26]

Pojava znakova i simptoma koji upućuju na preeklampsiju prije 20-g tjedna trudnoće je neuobičajena, a u takvim slučajevima uvijek treba posumnjati na molarnu trudnoću, antifosfolipidni sindrom, mogućnost zloupotrebe droga te na kromosomske aneuplodije ploda.[27,28]

U otprilike 75% slučajeva razvija se blaga preeklampsija, preostalih 25% čine teške preeklampsije, dok se svega oko 10% preeklampsija javlja prije 34-og tjedna trudnoće.[29]

Rizični čimbenici za nastanak preeklampsije su brojni a najznačajniji su:

- Nulparitet
- Preeklampsija u prethodnoj trudnoći
- Dob ≥ 40 godina ili ≤ 18 godina
- Pozitivna obiteljska anamneza
- Kronična hipertenzija
- Kronična bubrežna bolest
- Antifosfolipidni sindrom ili naslijeđena trombofilija
- Vaskularne i/ili vezivno tkivne bolesti
- Diabetes mellitus (pregestacijski ili gestacijski)
- Višeplodna trudnoća
- Visok indeks tjelesne mase
- Partner čija je majka imala preeklampsiju ili prethodna partnerica imala preeklampsiju
- Hydrops fetalis
- Nerazjašnjeni intrauterini zastoj rasta ploda
- Trudnica koja je rođena kao mala za svoju gestacijsku dob
- Zastoj rasta ploda, abrupcija placente, smrt ploda u prethodnoj trudnoći
- Produženo vremensko razdoblje između dvije trudnoće

Duckitt i Harrington su u preglednoj studiji analizirali rizične čimbenike odgovorne za nastanak preeklampsije[30]. Utvrđeno je da je preeklampsija u prethodnoj trudnoći važan rizični čimbenik (relativni rizik za nastanak preeklampsije je 7,19%). Unutar te skupine najugroženje su one žene koje su imale ranu i tešku preeklampsiju. Podaci govore o visokih 25 - 65% mogućnosti za ponavljanje bolesti.[31]

Kod žena koje su imale dijagnosticiranu blagu preeklampsiju tijekom trudnoće, incidencija za nastanak preeklampsije u sljedećoj trudnoći je 5 - 7%, u usporedbi s manje od 1% kod žena koje su imale urednu, normotenzivnu trudnoću.[32,33] Prva trudnoća povećava rizik za preeklampsiju (RR 2,91; 95% CI 1,28 – 6,61).[30] Nije jasno zašto je nulparitet tako važan rizični čimbenik.

Pozitivna obiteljska anamneza u prvom koljenu povezana je s povećanim rizikom za nastanak bolesti (RR 2,90; 95% CI 1,70-4,93), što u određenim slučajevima sugerira nasljednu komponentu rizika.[30] Otac djeteta također može doprinijeti povećanom riziku. Naime, paternalni dodatak fetalnim genima može imati ulogu u neodgovarajućoj placentaciji i posljedičnoj preeklampsiji.

Pregestacijski dijabetes također povećava rizik za preeklampsiju (RR 3,56; 95% CI 2,54-4,99), vjerojatno preko niza čimbenika kao što su bubrežni i vaskularni poremećaji

prouzročeni dijabetesom, visoke plazmatske koncentracije inzulina/inzulinska neosjetljivost, poremećeni metabolizam lipida. [30,34]

Višeplodne trudnoće povećavaju rizik (za dvoplodnu trudnoću RR 2.93; 95% 2.04-4.21), rizik raste s brojem plodova. [30]

Prekomjerna tjelesna težina i povećani indeks tjelesne mase odavno su kao prepoznati rizični čimbenici za nastanak cijelog niza bolesti u trudnoći pa tako i preeklampsije. O'Brien i suradnici u svome radu koji uključuje 13 kohortnih studija i obuhvaća skoro 1,4 milijuna žena zaključili su da se rizik za nastanak preeklampsije udvostručuje pri porastu indeksa tjelesne mase (*engl; body mass index, BMI*) s 5 na 7 kg/m^2 u odnosu na BMI prije trudnoće.[35] Mehanizam kojim debljina povećava rizik za nastanak preeklampsije nije poznat.

Aktualne hipoteze sugeriraju da sve one promjene koje su odgovorne za nastanak kardiovaskularnih bolesti u pretilih osoba utječu i na nastanak preeklampsije (inzulinska neosjetljivost, hiperlipidemija, subklinična upala).[36]

Primarna hipertenzija, bubrežne bolesti te kolagenoze poznati su rizični čimbenici.

Antifosfolipidni sindrom se povezuje s više komplikacija u trudnoći i to: fetalnom smrću, maternalnom trombozom i naravno preeklampsijom.[37]

Veza između nasljednih trombofilija i preeklampsije nije najjasnija. Sudeći po rezultatima dosadašnjih studija čini se da nasljedne trombofilije ipak nisu povezane s povećanim rizikom za nastanak preeklampsije.[38,39]

Trudnice starije od 40 godina čine skupinu s povećanim rizikom (RR 1,96; 95% CI 1,34-2,87 za multipare). Isto tako starije žene češće imaju dodatne rizične čimbenike kao što su šećerna bolest ili kronična hipertenzija.[30]

Kod adolescentica je situacija kontroverznija, sistematska pregledna studija Duckitta i suradnika nije potvrdila spomenutu povezanost životne dobi i pojave preeklampsije.[24,30]

Produženi vremenski interval između dvije trudnoće nije jasno definiran obzirom da trenutno ne postoji standardizirana definicija produženog niti skraćenog vremenskog intervala između dvije trudnoće. Stubblefield opisuje prolongirani interval između dvije trudnoće kao period od 48 odnosno 60 i više mjeseci između dvije trudnoće.[40]

Conde-Agudelo i suradnici su nedavno objavili preglednu sistematsku studiju u kojoj su potvrdili da razmak od 5 godina i više između trudnoća povećava rizik za nastak preeklampsije.

U kasnijoj studiji Conde-Agudelo i suradnici zaključuju da postoji mala, ali statistički značajna povezanost između uroinfekcija u trudnoći i nastanka preeklampsije.[41] Taj rezultat bi

teoretski mogao biti povezan s povećanom prevalencijom prisutnih bubrežnih bolesti u žena s uronfekcijama.

Ista studija ustanovila je da postoji povezanost između peridontalnih bolesti i preeklampsije, ali ne i vezu između preeklampsije i ostalih češćih infekcija (klamidijske infekcije, citomegalovirus, HIV, herpes, malarija, Mycoplasma hominis, bakterijska vaginoza, Helicobacter pylori).

Zanimljivo, pušenje značajno smanjuje rizik za nastanak preeklampsije (OR 0.51; 95% CI 0.37-0.63), međutim taj potenijalno koristan efekt je poništen cijelim nizom negativnih učinaka (povećan rizik za nastanak placente previje, abrupcije placente, izvanmaterničnih trudnoća itd).[42]

Obzirom na težinu bolesti preeklampsije dijelimo na blage i teške, takva podjela je važna prije svega s kliničkog aspekta. Blagu preeklampsiju defininiramo kao onu koja zadovoljava kriterije za dijagnozu preeklampsije, ali nema bilo koju značajku koja opisuje teške preeklampsije (Tablica 3,
Tablica 4).

Tablica 4. Kriteriji za tešku preeklampsiju

Novonastala hipertenzija s proteinurijom i bar jedno od sljedećeg:
Simptomi disfunkcije središnjeg živčanog sustava: •Zamagljen vid, skotomi, promijenjen mentalni status, jaka glavobolja ("najgora glavobolja koju sam ikad imala") ili glavobolja koja traje i pogoršava se usprkos analgetičnoj terapiji
Simptomi rastezanja jetrene kapsule: •Bolovi u desnom gornjem kvadrantu ili epigastrični bolovi •Mučnina, povraćanje
Hepatocelularno oštećenje: •Koncentracija serumskih transaminaza bar 2x viša od normalnih vrijednosti
Porast krvog tlaka: •Sistolički krvni tlak ≥160 mm Hg ili dijastolički ≥110 mm Hg izmjeren dva puta u razmaku od 6 sati
Trombocitopenija: •Manje od 100 trombocita x 10^9/L
Proteinurija: •5 ili više grama u 24 sata
Oligurija <500 mL u 24 sata
Težak intrauterini zastoj fetalnog rasta
Plućni edem ili cijanoza
Cerebrovaskularni inzult

Preuzeto iz: Diagnosis and Management of Preeclampsia and Eclampsia. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin #33, January 2002 and Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy. National Instititutes of Health, Washington, DC 2000

2.2.2 Kliničke manifestacije

2.2.2.1 Hipertenzija

Kao što je navedeno u uvodu, hipertenzija u trudnoći je definirana tlakom ≥140/90 u prethodno normotenzivne trudnice pred 20-im tjednom trudnoće. Tlak bi morali mjeriti tehnički ispravnim tlakomjerom, odgovarajuće veličine manšete (obuhvaća 80% ili više nadlaktice) postavljene na desnu nadlakticu u razini srca s trudnicom u sjedećem položaju (relaksirana, bar 10 minuta u sjedećem položaju prije mjerenja).

Hipertenzija je najraniji znak koji upozorova na moguću preeklampsiju. Kao što je navedeno, statistički gledano, najveći broj trudnica će razviti preeklampsiju nakon 37-g tjedna trudnoće. Polagan, stupnjevit rast krvnog tlaka je vrlo važan prilikom planiranja i vođenja trudnoće. Npr. tlak od 130/85 mm Hg u drugom tromjesečju se smatra potencijalno patološkim kod trudnice kod koje smo mjerili tlakove u ranoj trudnoći oko 90/65 mm Hg, takva trudnica bi morala biti češće kontrolirana.

Prije nego zaključimo da se radi o hipertenziji moramo isključiti poseban entitet tzv. hipertenziju bijele kute (termin koji opisuje pojavu povišenog krvnog tlaka u liječničkoj ordinaciji, dok je u kućnim uvjetima uredan). Studije koje su se bavile tom problematikom prilično su kontradiktorne. Jedna od studija pokazuje da i do 30% inicijalno dijagnosticiranih hipertenzija predstavljaju hipertenzije bijele kute.[43] Autori zaključuju da je ishod takvih trudnoća sličan onome kod urednih, normotenzivnih trudnoća, uz značajno viši postotak carskih rezova (45% prema 12%). Taj visok postotak kirurškog načina dovršavanja poroda objašnjavaju kao posljedicu greške prilikom dijagnosticiranja hipertenzije.[43]

Suprotno tome, druga grupa autora je utvrdila da je manje od 5% od 121 trudnice s hipertenzijom imalo hipertenziju bijele kute; ishodi trudnoća nisu analizirani.[44]

Zaključak Cochraneove analize je da nema dovoljno podataka na podlozi kojih bi se preporučilo rutinsko ambulatorno praćenje krvnog tlaka u trudnica.[45]

2.2.2.2 Proteinurija

Uz hipertenziju, proteinurija (≥0,3 g proteina u 24 h urinu ili perzistentni 1+ (300 mg/L) na test traci) mora biti prisutna kako bismo postavili dijagnozu preeklampsije. U normalnoj trudnoći izlučivanje proteina u urinu raste kao posljedica kombinacije povećane glomerularne filtracije i propusnosti glomerularne bazalne membrane. Zato se kod trudnica nalaz ukupne ekskrecije proteina u urinu iznad 300 mg/24 h smatra patološkim.[46]

Treba naglasiti da se prema važećim smjernicama stupanj proteinurije ne može smatrati indikativnim za ocjenu težine preeklampsije.[47] Iako je nalaz proteinurije obavezan za dijagnozu preeklampsije, u određenom broju trudnoća kompliciranih preeklampsijom proteinurija može izostati.

Studije su pokazale da 10% trudnica s kliničkim i/ili histološkim manifestacijama preeklampsije nisu imale proteinuriju, te da 20% trudnica pred epileptičkim napadom nisu imale značajnu proteinuriju.[48,49]

Također je moguće da se u trudnoći pojave primarne bubrežne bolesti i bolesti bubrega nastale kao posljedica sistemskih bolesti (dijabetes ili primarna hipertenzija) praćene proteinurijom. Ta činjenica dodatno komplicira stvari budući da oko 20 – 25% žena s kroničnom hipertenzijom i dijabetesom razvije superponiranu, nakalemljenu preeklampsiju.[50]

Rutinska antepartalna preventiva uključuje analiziranje urina test trakom na proteine, s ciljem otkrivanja preeklampsije. Analizira se uzorak dobiven iz srednjeg mlaza, prije ginekološkog pregleda da izbjegnemo mogućnost kontaminacije uzorka. Test traka za detekciju proteina u urinu je semi-kvantitativni kolorimetrijski test koji primarno detektira prisutnost albumina. Rezultati se prikazuju od negativnih do 4+, po sljedećim procjenama proteinske ekskrecije:

- negativno
- tragovi: između 150 i 300 mg/L
- (1+): između 300 i 1000 mg/L
- (2+): između 1000 i 3000 mg/L
- (3+): između 3000 i 10000 mg/L
- (4+): > 10000 mg/L

Pozitivna reakcija (+1) na test traci se pojavljuje kod praga od 300 mg/L, i odgovara 300 mg/dan u 24-satnom urinu, ovisno o volumenu.

Iako jeftine i često upotrebljavane, test trake imaju veliki postotak lažno pozitivnih te lažno negativnih rezultata kad ih upotrebljavamo kao probirni test, posebno kod vrijednosti +1.[51] Razlog tome je u promjenama koncentracije urina (osmolalnost) koja osjetno uječe na koncentraciju proteina u urinu (rezultat test trake), iako nema promjena u ukupnoj, dnevnoj ekskreciji proteina.

Lažno pozitivni rezultati se javljaju u prisutnosti makroskopske hematurije, sjemena u urinu, kod alkalnog urina (pH >7), kvartarnih amonijevih spojeva, deterdženata i dezificijensa, lijekova, kontrasta i kod visoke specifične težine (>1,030 g/cm^3).

Lažno negativni rezultati mogu se pojaviti kod niske specifične težine (<1,010 g/cm^3), visokih koncentracija soli, kiselog urina, ili kod nealbuminske proteinurije.

Usprkos nabrojanim ograničenjima, test traka je glavna probirna metoda za otkrivanje proteinurije u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

Kvantificiranje proteinske ekskrecije

Proteine u urinu možemo mjeriti kao albumine ili ukupne proteine. Žene koje nisu trudne normalno izluče manje od 150 mg ukupnih proteina dnevno. U urednoj, nekompliciranoj trudnoći ukupna ekskrecija proteina raste na 150 – 250 mg dnevno, pa i više kod višeplodnih trudnoća.[46,52]

Iako mehanizam odgovoran za povećanu ekskreciju proteina u trudnoći nije u potpunosti razjašnjen, čini se da je odgovorna smanjena resorpcija filtriranih proteina zajedno s ostalim neelektrolitima, kao što su aminokiseline, glukoza i beta-mikroglobulin.

Skupljanje urina u 24-satnom razdoblju je tradicionalna metoda mjerenja ukupne ekskrecije proteina ili albumina te se još uvijek smatra zlatnim standardom. Dodatna potencijalna korist te metode je u tome da ako odredimo kreatinin, dobivamo mogućnost procjene glomerularne filtracije iz klirensa kreatinina.

Nedostatak metode je relativno visoki stupanj netočne/nekompletne kolekcije (važnost kvantificiranja ekskrecije kreatinina u 24-satnom urinu, ovisnog o mišićnoj masi), kao i to da bar jedan dan moramo čekati na rezultate.[53]

Omjer proteina i kreatinina u urinu (*engl; P/C ratio*) je novija metoda kvantificiranja proteinurije, koja postaje sve popularnija pogotovo kod ne-trudničke populacije zbog svoje točnosti, reproducibilnosti i pouzdanosti.

Zadnjih godina objavljen je velik broj studija koje su se bavile validacijom omjera proteina/kreatinina u otkrivanju abnormmalnih proteinurija kod trudnica s hipertenzivnim bolestima u trudnoći.

Dvije pregledne studije sugeriraju da urinski P/C omjer iznad 0,7 mg proteina/mg kreatinina ukazuje na značajnu proteinuriju dok se P/C omjer manji od 0,15 mg/mg može smatrati normalnim.[54,55]

Žene s P/C omjerom između 0,15 i 0,7 mg/mg za točnu kvantifikaciju proteinurije trebale bi skupljati 24-satni urin. Ukoliko iz bilo kojih razloga to nije moguće, trenutno važeće smjernice definiraju proteinuriju kod vrijednosti omjera protein/kreatinin ≥0,26 mg/mg (30 mg/mmol).[55]

U kvantificiranju proteinurije koristi se omjer albumina i kreatinina (*engl; albumin:creatinin ratio, ACR*), test koji je originalno smišljen za detekciju albuminurije kod dijabetičara.

U odnosu na P/C omjer ACR test ima veću osjetljivost, a prednost mu je i da se rezultati dobijaju automatskim analizatorom, što znači brzo dobiveni rezultat. Kao i P/C omjer, ACR omjer je moćan prediktor značajne proteinurije u trudnica (≥8,0 mg/mmol).

Obzirom na točnost rezultata i brzinu kojom se rezultati ovom metodom dobijaju, vjeruje se da će ACR omjer zamijeniti urinsku test traku kao probirnu metodu za otkrivanje proteinurije.

2.2.2.3 Ostali bubrežni nalazi

Bubreg je organ na kojem će se najvjerojatnije manifestirati sistemsko endotelijano oštećenje kao posljedica preeklampsije. Glomerularna filtracija je niža za oko 30 do 40% kod trudnica s preeklampsijom u usporedbi s normotenzivnim kontrolama, protok plazme kroz bubrege je također nešto niži. Plazmatska koncentracija kreatinina u pravilu je normalna ili blago povišena (88-133 μmol/L).

Bubrežno zatajenje spada u rijetke komplikacije i može se javiti kod teške preeklampsije, kao i prolazni diabetes insipidus.

Hiperurikemija i hipokalcurija se nerijetko pojavljuju, mehanizmi tih promjena nisu jasni.[56,57,58] Porast koncentracije urata u serumu vjerojatno nastaje usljed povećane proksimalne resorpcije natrija, sekundarno urata, što je posljedica renalne ishemije. Drugi mogući mehanizmi za nastanak hiperurikemije kod preeklampsije uključuju metabolički sindrom, tkivno oštećenje, oksidativni stres i upalu.[59]

U žena s dijagnosticiranom preeklampsijom u urinskom sedimentu je opažena prisutnost podocita.[60] Nalaz podocita u sedimentu može značiti gubitak podocita iz glomerula, što može dovesti do oštećenja glomerularne filtracijske barijere te proteinurije. Patološka lezija na bubregu za koju se smatralo da je patognomonična za preeklampsiju, odnosno eklampsiju je varijanta trombotične mikroangiopatije znana kao glomerularna endotelioza.

2.2.2.4 Edemi i intravaskularni volumen

Većina trudnica ima edeme, neovisno tome da li imaju ili nemaju preeklampsiju. U skladu s tim, prisutnost edema nije više dijagnostički kriterij, iako brzi porast tjelesne težine te pojava facijalnih edema bi morali kliničara asocirati na mogućnost pojave preeklampsije.[6]

Intravaskularni volumen kod trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom je manji nego kod normotenzivnih, urednih trudnoća usprkos katkad prisutnim velikim edemima. Ne postoje dokazi koji bi sugerirali manju popunjenost arterijske cirkulacije, smanjeni intravaskularni volumen je najvjerojatnije posljedica vazokonstrikcije.

2.2.2.5 Hematološke promjene

Povećana proizvodnja i potrošnja tromobocita je konzistentno obilježje preeklampsije.[61] Najčešći poremećaj koagulacije kod preeklampsije je trombocitopenija zbog nastajanja mikrotromba.

Protrombinsko vrijeme, parcijalno trombinsko vrijeme i koncentracije fibrinogena nisu promijenjeni osim ako se ne pojavi dodatna komplikacija, kao npr. abrupcija placente ili teško jetreno oštećenje.

Mikroangiopatska hemoliza može se pojaviti, a možemo je detektirati pomoću krvnog razmaza, prisustva shistocita i stanica oblika kacige (*engl; helmet cells*) odnosno povećane serumske koncentracije LDH.

Hemoliza je povezana s niskim hematokritom, hemokoncentracija s visokim hematokritom. Istovremena prisutnost hemolize i hemokoncentracije kod preeklampsije može rezultirati nalazom normalnog hematokrita. Broj trombocita manji od 100 x 10^9/L mijenja dijagozu iz blage u tešku preeklampsiju.

2.2.2.6 Oštećenja jetre

U podlozi bubrežnog i jetrenog oštećenja kod preeklampsije jest vazospazam te precipitacija fibrina u oba organa.[62]

Periportalna i sinusoidna depozicija fibrina, periportalna krvarenja, ishemične lezije, mikrovaskularna depozicija masti i ostali histološki nalazi opisani su kod trudnica s preeklampsijom.[63]

Kliničke manifestacije zahvaćenosti jetre se prikazuju kao bolovi u desnom gornjem abdominalnom kvadrantu, epigastrični bolovi, povišene trasaminaze, a u najtežim slučajevima se može pojaviti subkapsularno krvarenje te ruptura jetre, što ujedno može predstavljati i HELLP sindrom. Također, mogu se pojaviti mučnina i povraćanje.

Epigastrični bolovi su jedan od najznačajnijih simptoma teške preeklampsije. Najčešće ih trudnice opisuju kao jake, konstantne bolove locirane u epigastriju ili retrosternalnom području koji počinju noću i mogu se širiti u desni hipohondrij ili leđa.[64] Smatra se da nastaju rastezanjem jetrene vezivne ovojnice (Glissonove ovojnice), kao posljedica jetrenog edema ili krvarenja.

Ako se epigastrični bolovi inicijalno pojave kao prvi i jedini simptom, kliničar bi morao pomisliti na preeklampsiju prije nego na gastroezofagealni refluks, koji je čest u trudnica, pogotovo noću. Zahvaćenost jetre (porast serumskih transaminaza 2 puta iznad normalnih, referentnih vrijednosti) mijenja dijagnozu iz blage u tešku preeklampsiju.

2.2.2.7 Središnji živčani sustav (SŽS) i oko

Klinički znakovi zahvaćenosti središnjeg živčanog sustava uključuju glavobolju, zamagljen vid, prisutnost skotoma i rijetko kortikalnu sljepoću, a njihovo prisustvo mijenja dijagnozu blage preeklampsije u tešku. Može se pojaviti i generalizirana hiperrefleksija i trajan klonus gležnja.

Cerebrovaskularne manifestacije teške preeklampsije slabo su razjašnjene, mogu predstavljati oblik RPLS *(engl; reversible posterior leukoencephalopathy syndrome*) sindroma, uz gubitak cerebrovaskularne autoregulacije i pojavu cerebralnog edema.
Većina trudnica koje su imale eklamptični napad opisuje glavobolje različitih karakteristika i lokacija prije pojave konvulzija.

Iako glavobolju ne možemo promatrati kao patognomonični simptom za preeklampsiju, prisustvo trajne glavobolje koja perzistira i pogoršava se usprkos primijenjenim analgeticima kod trudnice nas mora asocirati na preeklampsiju. Pojavom konvulzija dijagnoza se mijenja u eklampsiju.

Histopatološki nalazi na SŽS-u kod teške preklampsije odnosno eklampsije su brojni i nisu specfični samo za te bolesti. Navedeni vizualni simptomi su relativno česti i bar djelomično uzrokovani konstrikcijom retinalnih arterija.

Kortikalna sljepoća je u pravilu prolazna, a u slučaju tromboze retinalne arterije ili vene, odignuća mrežnice, oštećenja optičkog živca te retinalne ishemije može biti trajna.[65,66]

2.2.2.8 Srce

Preeklampsija ne utječe direktno na srce. U većine trudnica opažen je smanjen minutni volumen kao fiziološki odgovor na povišeni periferni žilni otpor.[67] Žene koje su kasnije

razvile preeklampsiju, u latentnoj fazi, prije kliničke manifestacije bolesti su imale povišeni minutni volumen srca s normalnim, niskim perifernim žilnim otporom. [68]

Nakon pojave kliničke slike preeklampsije primjećen je smanjen minutni volumen i dodatno povećanje perifernog žilnog otpora u odnosu na normotenzivne trudnice, iako teška preeklampsija može biti udružena s različitim hemodinamskim profilima.[67,69,70]

Trudnice s teškom preeklampsijom imaju veći rizik za pojavu akutnih srčanih oboljenja. Treba spomenuti da upotreba troponina I kod trudnica s preeklampsijom nije ograničena. Preeklampsija ne utječe na razinu troponina osim u slučaju već prisutne srčane bolesti, što nam omogućuje upotrebu troponina u dijagnostičke svrhe.[71]

2.2.2.9 Plućni edem

Etiologija plućnog edema kod preeklampsije je multifaktorijalna. Prekomjerni porast plućnog vaskularnog hidrostatskog tlaka u usporedbi s plazmatskim onkotskim tlakom može dovesti do plućnog edema kod određenog broja žena, posebno u postpartalnom razdoblju.
Drugi uzroci nastanka plućnog edema mogu biti povećana kapilarna propustnost, lijevo srčano zatajenje te iatrogeno preopterećenje tekućinom.[72] Prisutnost plućnog edema klasificira preeklampsiju kao tešku.

2.2.2.10 Fetus i posteljica

Fetalne posljedice kronične placentarne hipoperfuzije se manifestiraju kao intrauterini zastoj fetalnog rasta i oligohidramnij. Teška i rano nastala preeklampsija rezultira u najvećem padu tjelesne težine djeteta pri porodu u usporedbi s normotenzivnim trudnoćama (oko 12 do 23%).[73] Kasno nastale preeklampsije mogu biti povezane s povećanom tjelesnom težinom djeteta pri porodu što je vjerojatno posljedica veće placentarne perfuzije usljed povišenog srčanog rada i tlaka.[74,75,76]

Naravno, i drugi čimbenici koji utječu na rast ploda mogu biti prisutni istovremeno s preeklampsijom, kao npr. šećerna bolest u trudnoći, prekomjerna tjelesna težina.[77]

Abrupcija posteljice je na sreću rijetka, potencijalno letalna komplikacija za majku i fetus, a pojavljuje se u manje od 1% kod trudnica s blagom preeklampsijom, dok je taj postotak kod teških preeklampsija osjetno viši i iznosi oko 3%.[78]

Potreba za prijevremenim porodom javlja se kao posljedica fetalnih i maternalnih komplikacija. Dijagnosticirani intrauterini zastoj fetalnog rasta mijenja dijagnozu iz blage u tešku preeklampsiju.

Glavni nepovoljni učinci preeklampsije povezani su s komplikacijama na središnjem živčanom sustavu, jetrenom, bubrežnom disfunkcijom (cerebralno krvarenje, ruptura jetre, bubrežno zatajenje), trombocitopenijom i posljedičnim krvarenjem, prijevremenim porodom, IUZR-om, abrupcijom placente i perinatalnom smrću.[79]

Čimbenici koji utječu na ishod trudnoće uključuju gestacijsku dob ploda pri pojavi bolesti, težinu bolesti (blaga ili teška preeklampsija), prisutnost pratećih stanja i bolesti kao što su višeplodna trudnoća, šećerna bolest, bubrežne bolesti, trombofilije ili esencijalna hipertenzija.

2.2.3 PROGNOZA

Pod prognozom nas zanima rizik ponavljanja preeklampsije u sljedećoj trudnoći te dugoročni zdravstveni rizici po ženu koja je imala dijagnosticiranu preeklampsiju.

Žena s prethodno dijagnosticiranom ranom preeklampsijom ima veću vjerojatnost nastanka komplikacija u sljedećoj trudnoći, nego one s kasnom preeklampsijom, čak i u slučaju normotenzivne trudnoće.[80]

Rizik ponavljanja osim o gestacijskoj dobi kad se preeklampsija pojavila, ovisi i o težini preeklampsije.[81]

Žene s prethodno dijagnosticiranom ranom, teškom preeklampsijom imaju najveći rizik za ponavljanje bolesti (25 - 65%). Incidencija je puno niža kod žena s blagom preeklampsijom u prvoj trudnoći (5 - 7%), u usporedbi s manje od 1% kod žena koje su imale prvu urednu, normotenzivnu trudnoću (abortusi nisu uzeti u obzir).[82,32,33]

Čini se da je ponovna pojava preeklampsije vjerojatnija nakon jednoplodne trudnoće nego nakon višeplodne trudnoće.[83]

Dugoročni kardiovaskularni i cerebrovaskularni rizici (pojava hipertenzije, ishemične bolesti srca, moždanog udara, venske tromboembolije) za žene koje su preboljele preeklampsiju su opisani u više studija, te potvrđeni u dvije pregledne studije.[84,85]

Podaci iz norveške studije govore da žene koje su preboljele preeklampsiju imaju dugoročno veći rizik za nastanak kroničnog bubrežnog zatajenja, iako je apsolutni rizik malen.[86]

Povezanost preeklampsije i nastanka malignih bolesti nije potvrđena.[84] Više opservacijskih studija iz različitih zemalja (SAD, Norveška, Švedska) vezu između preeklampsije i povećanog rizika nastanka malignih bolesti nisu našle.

Za razliku od spomenutih, izraelske studije su našle povećani rizik u tih žena (omjer izgleda 1,27; 95% CI 1,03-1,57) s medijanom praćenja od 29 godina.[87,88] Organi s povišenim rizikom su želudac, pluća, dušnik, dojke i jajnike.

Studija iz 2009 rađena na nuliparama koje su razvile preeklampsiju je izvjestila da su te trudnice pod povećanim rizikom za nastanak subkliničkog hipotireoidizma tijekom trudnoće.[144] Hipoteza autora je da anti-angiogeni protein, sFlt-1 koji se javlja u preeklampsiji djeluje i na štitnjaču.

2.3 Eklampsija

Eklampsiju definiramo kao nastanak jedne ili više generaliziranih konvulzija i/ili kome u sklopu sindroma preeklampsije, pri čemu su neurološki uzroci isključeni.

U prošlosti se eklampsija promatrala kao konačni rezultat preeklampsije, (tako je i nastao naziv preeklampsija) dok se danas smatra da su konvulzije samo jedna od manifestacija teške preeklampsije.

Usprkos napretku u razumijevanju, dijagnostici i liječenju preeklampsija/eklampsija ostaje glavni uzrok maternalne smrtnosti. Incidencija eklampsije je relativno stabilna u razvijenim zemljama i iznosi oko 1,6-10 slučajeva na 10 000 poroda.[89,90] U zemljama u razvoju, incidencija varira od ovisno o državi, od 6 do 157 slučajeva na 10 000 poroda.[91]

Rizični čimbenici za pojavu eklampsije slični su onim za nastanak preeklampsije; u slučaju pojave konvulzija prije 20. tjedna trudnoće moramo pomisliti na molarnu trudnoću, odnosno antifosfolipidni sindrom.

2.4 Superponirana/nakalemljena preeklampsija

Nakalemljena, superponirana preeklampsija opisuje onu skupinu trudnica koje uz prethodno dijagnosticiranu hipertenziju razviju i proteinuriju nakon 20 tjedna trudnoće. Superponirana preeklampsija je najrjeđa i javlja se u svega 3% slučajeva.

2.5 Patogeneza preeklampsije

Preeklampsija je sindrom karakteriziran hipertenzijom i proteinurijom nakon 20-g tjedna trudnoće. Dodatni znakovi i simptomi koji se mogu pojaviti uključuju vizualne poremećaje, glavobolju, epigastrične bolove, trombocitopeniju i oštećenu jetrenu funkciju.

U podlozi tih kliničkih manifestacija je blaga do teška mikroangiopatija ciljnih organa, uključujući mozak, jetru, bubrege i placentu.[11] Potencijalne posljedice po majku uključuju plućni edem, cerebralno krvarenje, jetreno i bubrežno zatajenje te smrt.

Smatra se da preeklampsija na fetus djeluje preko placentalne hipoperfuzije, nerijetko rezultirajući potrebom za prijevremenim porodom.

Patofiziologija preeklampsije uključuje maternalne, fetalne/placentarne čimbenike. Nenormalnosti u razvoju placentarnog krvožilja u ranoj trudnoći mogu dovesti do relativne placentarne hipoperfuzije/hipoksije/ishemije te lučenja antiangiogenih čimbenika u cirkulaciju trudnice.

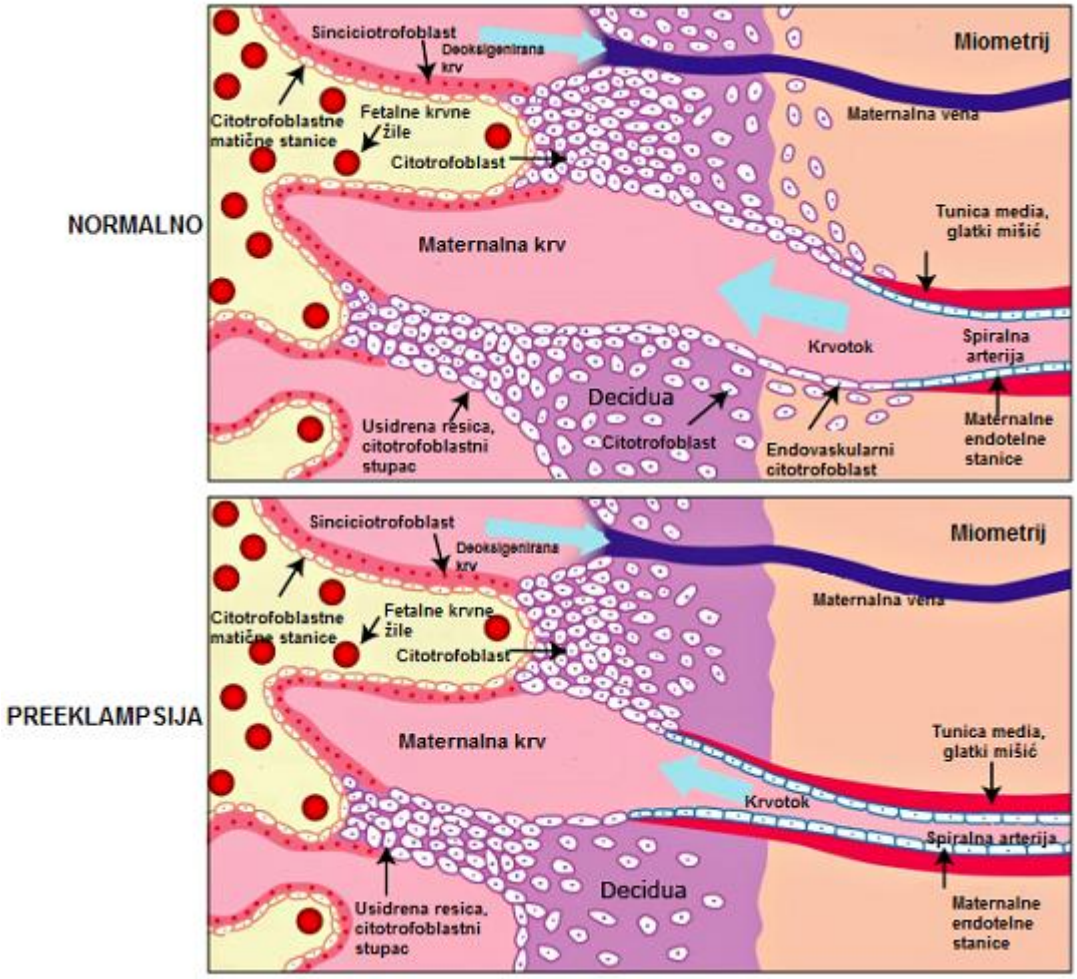
Posljedično dolazi do promijenjene sistemske endotelijalne funkcije kod trudnice s hipertenzijom i ostalim manifestacijama bolesti.

2.5.1 Neodgovarajući razvoj posteljice

Ključna uloga pri razvoju preeklampsije leži u placenti odnosno placentaciji, što je dokazano epidemiološkim i eksperimentalnim studijama. Poznato je da za razvoj bolesti nije nužno potreban fetus, ali placenta svakako jest te da se preeklampsija uvijek izliječi porođajem posteljice.[92,93]

2.5.1.1 Patološko remodeliranje spiralnih arterija

U normalnoj trudnoći stanice citotrofoblasta razvijajuće placente migriraju kroz deciduu i dio miometrija da bi invadirale endotel i mišićnu tunicu mediu maternalnih spiralnih arterija. Posljedično, fiziološki, nastaje transformacija malih mišićnih arteriola u žile znantno većeg kapaciteta i manjeg otpora, što omogućava značajno veći dotok krvi u placentarno tkivo u usporedbi s ostalim dijelovima maternice (Slika 1). [94,95]



Slika 1. Patološka placentacija kod preeklampsije
Izmjena plinova, hranjivih i otpadnih tvari između fetusa i majke ovisi o odgovarajućoj placentarnoj perfuziji. U normalnom placentarnom razvoju, invazivni citotrofoblast fetalnog porijekla invadira maternalne spiralne arterije, transformirajući uske žile visokog otpora u široke žile niskog otpora, sposobne osigurati zadovoljavajuću placentarnu perfuziju potrebnu za rast fetusa. Tijekom procesa vaskularne invazije, citotrofoblast se diferencira iz epitelijalnog fenotipa u endotelijalni fenotip, proces znan kao "pseudovaskulogeneza" ili "vaskularna mimikrija" (gornja slika). Kod preeklampsije, citotrofoblast ne uspijeva razviti invazivni endotelijalni fenotip. Umjesto toga, invazija spiralnih arterija je površna i one ostaju uske žile visokog otpora. Preuzeto i modificirano iz: Lam C, Lim, KH, Karumanchi, SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. Hypertension. 2005;46(5):1077-1085.[96]

Remodeliranje spiralnih arterija počinje vjerojatno u kasnom prvom tromjesečju i završava oko 18-20 tjedna trudnoće, iako točna gestacijska dob kad je invazija trofoblasta zaključena nije poznata. Kod preeklampsije, stanice citotrofoblasta infiltriraju decidualni dio spiralnih arterija, ali ne uspijevaju penetrirati u mišićni segment.[96,97]

Spiralne arterije se ne pretvaraju u široke vaskularne kanale stvorene zamjenom mišićnoelastične stijenke fibrinskim materijalom, već ostaju uske žile malog kapaciteta, što rezultira placentarnom hipoperfuzijom (Slika 1) .

Neodgovarajuća placentacija povezuje se i s drugim poremećajima kao: smrću ploda u drugom tromjesečju, placentarnim infarktima, abrupcijom placente, preeklampsijom sa ili bez

IUZR (intrauterini zastoj fetalne rasti), IUZR bez maternalne hipertenzije, prijevremenim prsnućem vodenjaka, te prijevremenim porođajem.[98] Nije poznato zašto normalni, fiziološki redosljed događaja u razvoju uteroplacentarne cirkulacije izostaje kod određenih trudnoća. Čini se da vaskularni, imunološki, genetski čimbenici te čimbenici okoliša igraju značajnu ulogu.

2.5.1.1.1 Neodgovarajuća, defektna diferencijacija trofoblasta

Neodgovarajuća, defektna diferencijacija trofoblasta jedan je od mogućih mehanizama odgovornih za nezadovoljavajuću invaziju spiralnih arterija.

Diferencijacija trofoblasta tijekom invazije endotela obuhvaća promjene u ekspresiji cijelog niza različitih tipova molekula, uključujući citokine, adhezijske molekule, molekule izvanstaničnog matriksa, metaloproteinaze, te Ib MHC (*engl; major histocompatibility complex*) molekule, HLA-G.[99,100]

Tijekom normalne diferencijacije invadirajuće stanice trofoblasta mijenjaju ekspresiju adhezijskih molekula, od onih karakterističnih za epitelijalne stanice (integrin alfa6/beta1, alfav/beta5, i E kadherin) u one karakteristične za endotelijalne stanice (integrin alfa1/beta1, alfav/beta3 i VE-kadherin), u procesu znanom kao pseudo-vaskulogeneza.[94]

Trofoblastne stanice dobivene od trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom ne pokazuju opisane promjene u ekspresiji adhezijskih molekula (pseudovaskulogenezu).

Posljedično neodgovarajuća placentacija i pridružena ishemija se smatraju primarnim događajima koji dovode do oslobađanja placentarnih angiogenih čimbenika, koji se smatraju odgovornim za pojavu sistemske endotelijane disfunkcije kod preeklampsije.

2.5.1.1.2 Hipoperfuzija, hipoksija, ishemija

Čini se da je hipoperfuzija uzrok i posljedica neodgovarajućeg razvoja posteljice.

Veza između smanjene placentarne perfuzije, neodgovarajućeg placentarnog razvoja i preeklampsije potvrđena je sljedećim opservacijama:

- Pokusi na životinjama uspješno su reproducirali dio simptoma karakterističnih za preeklampsiju nakon mehaničke redukcije uteroplacentarnog krvotoka.[101]
- Bolesti kod kojih se razvija vaskularna insuficijencija (npr. hipertenzija, dijabetes, SLE – sistemski lupus eritematodes, bubrežne bolesti, stečene i nasljeđene trombofilije) povećavaju rizik za neodgovarajuću placentaciju i nastanak preeklampsije.

- Bolesti kod kojih se povećava placentarna masa bez odgovarajućeg porasta placentarnog krvotoka (hidatiformna mola, hydrops fetalis, diabetes mellitus, višeplodna trudnoća), rezultiraju relativnom placentarnom ishemijom i pojavom preeklampsije[12, 102]
- Preeklampsija je češća kod žena koje žive na visokoj nadmorskoj visini (>3100 metara)[103]

Hipoperfuzija je i rezultat neodgovarajućeg rasta i razvoja posteljice i u pravilu postaje izraženija s napredovanjem trudnoće jer neodgovarajuće promijenjeno uterino žilje nije sposobno zadovoljiti povećane potrebe koje zahtijeva rastući plod i posteljica.[104]

Hipoperfuzija, hipoksija i ishemija kritične su komponente u patogenezi preeklampsije jer slabo prokrvljena, ishemična posteljica otpušta cijeli niz čimbenika u cirkulaciju trudnice koji dovode do poremećaja funkcije endotelnih stanica i pojave simptoma karakterističnih za preeklampsiju.[105,106]

2.5.1.1.3 Imunološki čimbenici

Ideja o imunološkim čimbenicima kao potencijalnim doprinositeljima u neodgovarajućem razvoju placente temelji se na opservaciji da prethodna ekspozicija trudnice paternalnim/fetalnim antigenima štiti od nastanka preeklampsije.[107,108,109]

Nulipare, žene koje mijenjaju partnere između trudnoća, žene s produženim intervalom između trudnoća, žene koje upotrebljavaju barijerne metode kontracepcije ili su zanijele ICSI (*engl; intracytoplasmatic sperm injection*) metodom manje su izložene paternalnim antigenima te imaju veći rizik za nastanak preeklampsije.

Imunološki poremećaji slični onima kod odbacivanja organa nakon transplantacije opaženi su kod trudnica s preeklampsijom.[110]

Stanice ekstraviloznog trofoblasta (EVT) izražavaju neuobičajenu kombinaciju klase HLA I antigena: HLA-C, HLA-E, HLA-G. NK (*engl; natural killer*) stanice imaju niz receptora (CD94, KIR, ILT) znanih po tome da prepoznaju HLA I antigene, infiltriraju majčinu deciduu te su u bliskom kontaktu sa stanicama ekstraviloznog trofoblasta.[111]

Smatra se da je interakcija između NK stanica i EVT stanica odgovorna za kontrolu placentacije. Kod preeklampsije postoji mogućnost konflikta između maternalnih i paternalnih gena, odnosno neodgovarajuće placentacije uzrokovane povećanom aktivnošću NK stanica.

Bioptati placentarnog tkiva dobiveni od trudnica s preeklampsijom otkrili su povećanu infiltraciju decidualnog tkiva s dendritičkim stanicama.[112] Dendritičke stanice su važan

inicijator antigen specifičnog T staničnog odgovora na transplantirane antigene. Moguće je da je povećani broj dendritičnih stanica odgovoran za promjene u prezentaciji maternalnih i fetalnih antigena na decidualnoj razini, što može dovesti do neodgovarajuće implantacije i/ili promijenjenog imunološkog odgovora majke na fetalne antigene. Definitivni dokazi za tu teoriju nedostaju.

Genetske studije koje su se bavile polimorfizmima na KIR (*engl; killer imunoglobulin*) receptorima na majčinim NK stanicama i na fetalnom HLA-C haplotipu sugeriraju da su žene s KIR-AA genotipom i fetalnim HLA-C2 genotipom znatno ugroženije od preeklampsije.[113]

Pregledna studija nije našla dokaz da je jedan ili više specifičnih HLA alela uključen u patogenezu preeklampsije.[114] Autori spomenute studije sugeriraju da je interakcija između maternalnih, paternalnih i fetalnih HLA tipova važnija od pojedinačnih genotipova.

Studije su pokazale da trudnice s preeklampsijom imaju povišenu razinu agonističkog antitijela prema angiotenzin AT-1 receptoru. Ta antitijela mogu mobilizirati unutarstanični slobodni kalcij i biti odgovorna za povećanu produkciju plazminogen 1 aktivatora i površinsku invaziju trofoblasta karakterističnu za preeklampsiju.[115,116]

Također, smatra se da antitijela za angiotenzin AT-1 receptor stimuliraju sFlt-1 sekreciju.[117]

2.5.1.1.4 Povećana osjetljivost na angiotenzin II

Povećana osjetljivost na angiotenzin II opisana je kod preeklampsije i vjerojatno je povezana s povećanom ekspresijom bradikininskog receptora (B2) kod trudnica s preeklampsijom.[118]

Povećana ekspresija dovodi do heterodimerizacije B2 receptora s angiotenzin II tip I receptorom (AT1), i taj AT1/B2 heterodimer povećava osjetljivost na na angiotenzin II *in vitro*.[119] Kao što je navedeno, trudnice s dijagnosticiranom preeklampsijom imaju povećanu razinu agonističkog antitijela za angiotenzin AT-1 receptor.

Angiotenzin II je endogeni ligand za AT-1 receptor, a povećana aktivacija AT-1 receptora s auto-antitijelom bi mogla inducirati hipertenziju i vaskularno oštećenje kod preeklampsije. Studije na miševima podržavaju tu teoriju.[120]

2.5.1.1.5 Genetski čimbenici

Genetsku predispoziciju za nastanak preeklampsije podržavaju sljedeće opservacije:

● Prvorotkinje s pozitivnom obiteljskom anamnezama (majka i/ili sestra preboljele preeklampsiju) imaju dva do pet puta veći rizik za nastanak preeklampsije nego prvorotkinje s negativnom obiteljskom anamnezom.[121] Doprinos majke pri razvoju preeklampsije može se parcijalno objasniti određenim genima.[122]

● Rizik za nastanak bolesti raste više od sedam puta kod žena koje su imale u prethodnoj trudnoći preeklampsiju.[30]

● Žene muškaraca koji su rođeni iz trudnoća kompliciranih preeklampsijom imaju veću vjerojatnost da će razviti preeklampsiju nego žene muškaraca s negativnom anamnezom.[123]

● Žena koja zatrudni s muškarcem čija je prethodna partnerica imala dijagnosticiranu preeklampsiju ima povećani rizik za nastanak bolesti, nego ako zatrudni s muškarcem čija je partnerica bila normotenzivna.[124]

Podaci sugeriraju, da maternalni i paternalni dijelovi fetalnih gena mogu imati ulogu kod neodgovarajuće placentacije i nastanka preeklampsije. Analizom genoma 343 trudnice s preeklampsijom, eklampsijom i gestacijskom hipertenzijom na Islandu, otkrivena je statistički značajna razlika na lokusu 2p13.[125]

Drugi potencijalno zanimljivi lokusi koji se opisuju u literaturi su 2p12, 2p25 i 9p13.[126,127] Geni za sFlt-1 i Flt-1 se nalaze na kromosomu 13. Fetusi s dodatnom kopijom toga hormona (npr. trisomija 13) teoretski bi trebali proizvesti više proizvoda toga gena nego fetusi s normalnim kariotipom. Doista, incidencija preeklampsije kod majki koje nose fetuse s trisomijom 13 osjetno je veća u usporedbi s ostalim trisomijama ili kontrolnom skupinom trudnica.[128]

Dodatno, omjer cirkulirajućeg sFlt-1 naspram PlGF je značajno povišen kod tih žena, što ih uvrštava u skupinu s povećanim rizikom za nastanak preeklampsije.[129]

Različiti lokusi na 12q se povezuju s HELLP sindromom, ali ne i s preeklampsijom, na osnovu čega bismo mogli zaključiti da su genetski čimbenici odgovorni za HELLP sindrom različiti od onih za preeklampsiju.[130]

Tablica 5. Neki od češće istraživanih gena i njihova veza s sindromom preeklampsije

Gen (Polimorfizam)	Zahvaćena Funkcija	Kromosom	Biološka povezanost
MTHFR (C677T)	Metilen tetrahidrofolat reduktaza	1p36.3	Vaskularne bolesti
FV (Leiden)	Faktor V Leiden	1q23	Trombofilija—može koegzistirati s drugim thrombofilnim genima
AGT (M235T)	Angiotenzinogen	1q42-q43	Regulacija krvnog tlaka, povezan s esencijalnom hipertenzijom

HLA (Različiti)	Humani leukocitni antigeni	6p21.3	Imunitet
NOS III (Glu 298 Asp)	Endotijalni dušikov oksid	7q36	Vaskularna endotelijalna funkcija
FII (G20210A)	Protrombin (faktor II)	11p11-q12	Koagulacija—slaba veza, istraživano s drugim thrombopfilnim genima
ACE (I/D)	Angiotenzin-konvertirajući enzim	17q23	Regulacija krvnog tlaka

Preuzeto i modificirano iz: Ward K, Lindheimer MD: Genetic factors in the etiology of preeclampsia/eclampsia. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG (eds): Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 3rd ed. Elsevier

2.5.1.1.6 Prehrana

Uloga kalcija i kalcitropnih hormona u patogenezi preeklampsije je nejasna. Studije rađene 1980-ih godina su pokazale da žene s niskim unosom kalcija u organizam imaju značajno veći rizik za razvoj gestacijske hipertenzije. U međuvremenu su napravljene brojne studije na tu temu, uključujući studiju Levinea i suradnika koja je obradila više od 4500 nulipara i nije dokazala preventivni učinak kalcija za nastanak preeklampsije, hipertenzije ili perinatalnih komplikacija.[131]

Zaključeno je da nadomjesna terapija kalcijem indicirana samo u onih žena koje imaju snižene koncentracije kalcija u krvi.[132]

2.5.1.1.7 Sistemska endotelijalna disfunkcija

Zadnjih dvadesetak godina oštećenje endotelnih stanica kod trudnica s preeklampsijom u žarištu je zanimanja stručne javnosti.

Neoštećeni endotel ima antikoagulantna svojstva, te sposobnost proizvodnje i lučenja dušičnog oksida (NO), prostaciklina (PGI2); vazodilatatora kojima ublažava odgovor vaskularnih glatkih mišića na vazopresore.

Oštećene i aktivirane endotelne stanice proizvode manje vazodilatatora te luče tvari koje potiču koagulaciju i povećavaju osjetljivost na vazopresore.

U teoriji sistemske endotelijalne disfunkcije, nepoznati čimbenik/ci, najvjerojatnije placentarnog porijekla se izlučuju u maternalnu cirkulaciju te uzrokuju aktivaciju i disfunkciju vaskularnog endotela. Kao što je navedeno, vjeruje se da je klinički sindrom preeklampsije posljedica raširene endotelijalne disfunkcije.

Sve kliničke manifestacije preeklampsije mogu biti objašnjene odgovorom na generaliziranu endotelijalnu disfunkciju.[133,134] Npr. hipertenzija nastaje kao posljedica poremećene endotelijalne kontrole vaskularnog tonusa, proteinurija i edemi nastaju zbog

povećane vaskularne permeabilnosti dok je koagulopatija posljedica prekomjerne ekspresije prokoagulanata.

Glavobolje, konvulzije, vizualni simptomi, epigastrični bolovi, IUZR su posljedice endotelijalne disfunkcije u krvožilju ciljnih organa, kao što su mozak, jetra, bubreg i placenta. Laboratorijski dokazi koji podržavaju generaliziranu endotelijanu disfunkciju kod trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom uključuju sljedeće:

- povećane koncentracije cirkulirajućeg staničnog fibronektina, faktor VIII antigena i trombomodulina.[135,136]
- neodgovarajuća protokom posredovana vazodilatacija i acetilkolinom posredovana vazorelaksacija.[137,138]
- smanjena produkcija endotelijanih vazodilatatora, kao što su dušični oksid (NO) i prostaciklin te povećana produkcija vazokonstriktora, endotelina i tromboksana.[139]
- povećana vaskularna reaktivnost na angiotenzin II.[118]
- serum dobiven od žena s preeklampsijom dovodi do endotelijalne aktivacije na pokusima in vitro.[140]
- oštećena endotelijana funkcija se može prikazati kao protokom posredovana patološka dilatacija brahijalne arterije tri godine nakon preeklampsije u usporedbi s nalazima u kontrolnoj skupini. Nije jasno da li je riječ o uzroku ili posljedici preeklampsije.[141]

Veza između vaskularnih bolesti i predispozicije za nastanak preeklampsije može biti u već prisutnom endotelijanom oštećenju.[142]

Već postojeće endotelijalno oštećenje može objasniti zašto su žene koje su imale preeklampsiju u rizičnoj skupini za nastanak kardiovaskularnih bolesti kasnije u životu.[143]

Žene s preboljelom preeklampsijom imaju povećani rizik za razvoj bubrežnih bolesti, dugoročno i hipotireoidizma.[86,144]

2.5.1.1.8 Patogeneza sistemske endotelijalne disfunkcije

Placentacija u sisavaca podrazumijeva opsežnu angiogenezu potrebnu za razvoj odgovarajuće vaskularne mreže koja mora zadovoljiti potrebe rastućeg fetusa za kisikom i hranjivim tvarima.

Niz proangiogenih VEGF (*engl; vascular endothelial growth factor;* vaskularni endotelijalni čimbenik rasta), PlGF (*engl; placental growth factor*, placentarni čimbenik rasta) i antiangiogenih čimbenika sFlt-1 (*engl; soluble fms like tyrosine kinase 1*, topljiva fms slična tirozin kinaza 1); sEng (*engl; soluble endoglin*, topljivi endoglin) imaju svoju ulogu pri placentaciji; ravnoteža tih čimbenika ključna je za normalan razvoj posteljice.

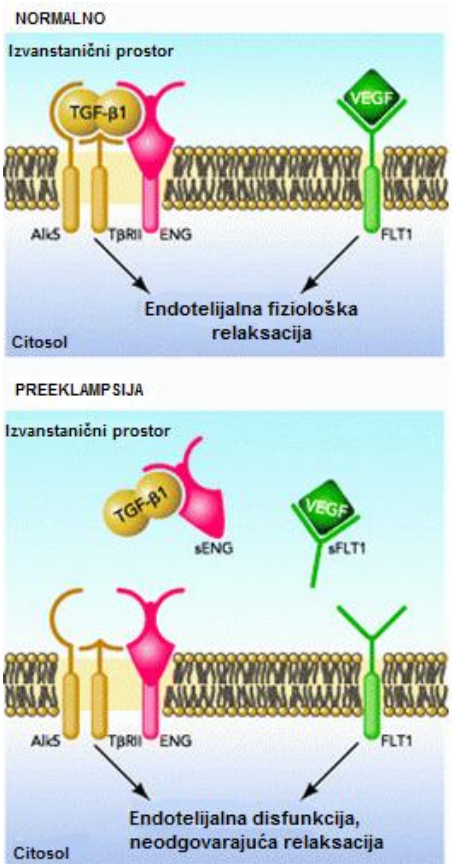
Povećana produkcija antiangiogenih čimbenika remeti ravnotežu i dovodi do sistemske endotelijalne disfunkcije karakteristične za preeklampsiju.

Trofoblastno tkivo trudnica koje će razviti preeklampsiju producira bar dva antiangiogena proteina koja ulaze u cirkulaciju:

1.) **sFlt-1** je oblik Flt-1 receptora za za placentarni (PlGF) i vaskularni čimbenik rasta (VEGF), a poznat je u literaturi i kao sVEGFR-1 (*engl; soluble form of vascular endothelial growth factor receptor 1*, topljivi oblik VEGF receptora 1). Povišena koncentracija sFlt-1 kod majke inaktivira i smanjuje koncentraciju cirkulirajućeg, slobodnog PlGF i VEGF što dovodi do endotelijalne disfunkcije. (vidi poglavlje sFlt-1, PlGF i preeklampsija, te predikcija preeklampsije)
2.) **sEng** (*engl; soluble endoglin*, topljivi endoglin) je 65 kDa teška molekula placentarnog porijekla. Riječ je o skraćenoj formi endoglina, poznatu i kao CD105.

Taj topljivi oblik endoglina onemogućava vezanje različitih TGF–β izoformi (dominantno TGF-β1) na endotelijalne receptore, s posljedično smanjenom endotelijalnom vazodilatacijom posredovanu s dušičnim oksidom .[149,147]

Razlog za placentarnu prekomjernu produkciju antiangiogenih proteina ostaje nepoznat. Topljivi oblici antiangiogenih proteina nisu povišeni u fetalnoj cirkulaciji ili amnionskoj tekućini, dok njihove vrijednosti u krvi trudnice opadaju nakon poroda.[150]



Slika 2 sFlt-1 i sEng dovode do endotelijalne disfunkcije antagonističkim djelovanjem na VEGF i TGF-β signalne puteve.
Tijekom uredne trudnoće, vaskularna homeostaza se održava preko fiziološke razine VEGF i TGF-β1 i njihovih signalnih puteva u krvožilju. Kod preeklampsije povećana placentarna sekrecija sFlt-1 i sEng (dva endogena cirkulirajuća antiangiogena proteina) inhibira VEGF i TGF-β1 signalne puteve u krvožilju. To dovodi do endotelijalne disfunkcije, uz smanjenu produkciju prostaciklina, dušičnog oksida (NO) i oslobađanje prokoagulantnih proteina. Preuzeto i modificirano iz: Karumanchi SA, Epstein FH. Placental ischemia and soluble fms-like tyrosine kinase 1: cause or consequence of preeclampsia? Kidney Int 2007; 71(10): 959–961.[145]

Topljivi endoglin

Vrlo je vjerojatno da drugi, sinergistički čimbenici placentarnog porijekla osim sFlt-1, imaju svoju ulogu u patogenezi generalizirane endotelijalne disfunkcije kod preeklampsije. U skladu s tom hipotezom je opservacija da plazmatske koncentracije sFlt-1 proteina potrebne za nastanak preeklampsije kod štakora moraju biti nekoliko puta veće od onih zabilježenih kod trudnica s preeklampsijom, te da poremećaji jetrene funkcije i koagulacije nisu zabilježeni kod životinja tretiranih sa sFlt-1.[146]

Eng je koreceptor za transformirajući čimbenik rasta beta (*engl; TGF-β1 transforming growth factor*) i izražen je na staničnim membranama vaskularnog endotela i sinciciotrofoblasta.[147]

Novootkriveni placentarni topljivi oblik endoglina - sEng, je antiangiogeni protein za kojeg se smatra da je važan medijator u nastanku preeklampsije.[119,147,148,149]

Iako odnos između sEng i sFlt-1 nije razjašnjen, čini se da sEng i sFlt-1 doprinose patogenezi preeklampsije preko različitih mehanizama. Nekoliko opservacija[119,147,148,149] podržava tu hipotezu:

● sEng je povišen u serumu trudnica s preeklampsijom dva do tri mjeseca prije pojave kliničke slike preeklampsije, dobro korelira s težinom bolesti, te pada nakon poroda. Povećana razina sEng s omjerom sFlt-1:PlGF je vjerojatno najbolji prediktor nastanka preeklampsije.

● In vivo, sEng povećava vaskularnu permeabilnost i inducira nastanak hipertenzije. U trudnih ženki štakora, na primjer, čini se da potencira vaskularne efekte sFlt-1 te inducira nastanak stanja sličnog teškoj preeklampsiji, uključujući razvoj HELLP sindroma te intrauterini zastoj fetalne rasti.

● sEng inhibira TGF-beta-1 signaliziranje u endotelnim stanicama i blokira TGF-beta-1 posredovanu aktivaciju eNOS i vazodilataciju, na osnovu čega možemo zaključiti da poremećaj TGF-beta-1 signaliziranja može biti uključen u patogenezu preeklampsije.

Fetusi majki koje su imale preeklampsiju nemaju povećane koncentracije sEng, niti sFlt-1.[150] Na podlozi tog istraživanja možemo zaključiti da fetusi nemaju proteinuriju ili hipertenziju kao njihove majke jer nisu ispostavljeni visokim koncentracijama antiangiogenih čimbenika.

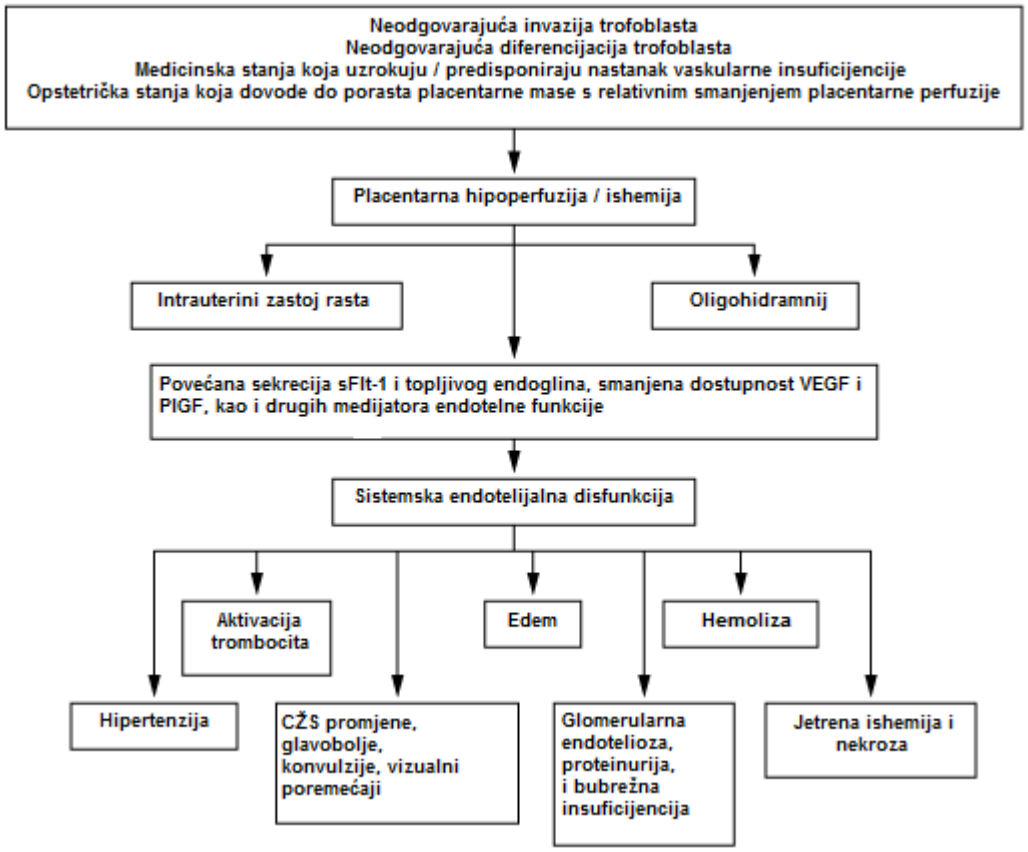
Upala

Predložena je hipoteza prema kojoj ostaci cirkulirajućeg sinciciotrofoblasta u maternalnoj cirkulaciji doprinose upali u majčinom tijelu i nekim od brojnih značajki preeklampsije.[151]

Znakovi upale u tijelu trudnice fiziološki se javljaju kod urednih trudnoća oko termina; kod preeklampsije oni su prekomjerno izraženi.

Ostaci trofoblastnog tkiva i mikročestice koje se oslobađaju tijekom normalne trudnoće inače imaju proupalna svojstva, amplificirana i izraženija kod preeklampsije.[152]

Vjerojatno proupalno stanje povećava vaskularnu endotelijalnu osjetljivost na toksične čimbenike kao što su sFlt-1 i sEng, iako definitivni dokaz za tu teoriju nedostaje. Ukratko, patogenezu preeklampsije možemo ponoviti putem sljedeće sheme (Slika 3).



Slika 3. Model patogeneze preeklampsije
Shematski prikaz patogeneze preeklampsije pri čemu je istaknuta kritična uloga placentarne hipoperfuzije, hipoksije, te ishemije u razvoju bolesti. Preuzeto i modificirano iz: Karumanchi SA, Lim KH, August P. Pathogenesis of preeclampsia. Dostupno na: http://www.uptodate.com/pathogenesisofpreeclampsia via Internet (Rujan 2011).[153]

2.6 Predikcija preeklampsije

Dobar test za predviđanje nastanka preeklampsije morao bi biti jednostavan, brz, neinvazivan, jeftin te ne bi trebao izložiti trudnicu dodatnom riziku za njeno zdravlje ili zdravlje djeteta.

Pored navedenog, takav test bi morao pružiti mogućnost prevencije nastanka bolesti ili bar rezultirati boljim ishodom trudnoće za trudnicu i dijete.

Tehnologija za takav probirni test bi morala biti široko dostupna, a rezultati reproducibilni i pouzdani, s visokom pozitivnom prediktivnom vrijednošću za pozitivan rezultat (>15) i niskom negativnom prediktivnom vrijednosti za negativan rezultat (<0,1) uz zadovoljavajuću senzitivnost i specifičnost.

Sposobnost predikcije preeklampsije trenutno je prilično ograničena.

Razvoj preeklampsije, odnosno progresija iz blagog u teški oblik ne može se prevenirati u većine trudnica, pri čemu je porod nerijetko jedina zadovoljavajuća terapija. Usprkos navedenom, točna identifikacija rizičnih trudnica, rana dijagnoza preeklampsije, te brza i odgovarajuća terapija (npr. antenatalna aplikacija kortikosteroida za sazrijevanje fetalnih pluća, terapija teške preeklampsije, rani porod) mogu poboljšati maternalni i perinatalni ishod takve trudnoće.

Trenutno u kliničkom radu ne postoji test koji bi dobro razlučivao trudnice koje će razviti preeklampsiju, od onih koje neće.

Osim razvoja zadovoljavajućih testova za predikciju preeklampsije, buduće studije trebale bi se posvetiti razvoju takvih probirnih testova koji će moći razlikovati blagu od teške preeklampsije, odnosno ranu od terminske preeklampsije.

2.6.1 Predikcija preeklampsije na podlozi rizičnih čimbenika

Do sada su u literaturi opisani brojni rizični čimbenici za nastanak preeklampsije, u pravilu s relativnim rizikom od 1,5 do 9,7.[154] (Poglavlje 2.2.1)

Od rizičnih čimbenika koji nisu spomenuti za dodati je etničku pripadnost. Rizik za nastanak preeklampsije viši je kod crnkinja te niži kod Azijatkinja u usporedbi s pripadnicama bijele rase.[155]

U SAD-u prilikom praćenja trudnoće vodi se računa o rizičnim čimbenicima za nastanak preeklampsije, posebno kod žena koje ne žele roditi u rodilištu.

Smjernice u Velikoj Britaniji preporučuju da se trudnice s izraženim rizičnim čimbenicima za nastanak preeklampsije posavjetuju u ranoj trudnoći s opstetričarom koji se iskusan i stručan u vođenju takvih trudnoća.[154]

Pregledom literature možemo uočiti da je predložen cijeli niz parametara za otkrivanje skupine žena koje imaju visok rizik za nastanak preeklampsije. Pregledne studije zaključile su da niti jedan od ocijenjenih testova nije dovoljno točan (visoka senzitivnost i specifičnost) za probir trudničke populacije te da je metodološka kvaliteta tih studija upitna.[156,158,157] Treba napomenuti da angiogeni/antiangiogeni čimbenici nisu evaluirani.

2.6.1.1 Potencijalni probirni testovi u predviđanju preeklampsije

Zbog niske prevalencije preeklampsije u općoj opstetričkoj populaciji, potencijalni probirni test bi morao imati vrlo visoku senzitivnost i specifičnost da predvidi ili isključi mogućnost nastanka bolesti.

Pregledne studije koje su se bavile s trenutno klinički dostupnim testovima za predikciju nastanka preeklampsije zaključile su da evaluirani testovi nisu dovoljno točni da bi se upotrebljavali kao probirni testovi te da je kvaliteta većine studija nezadovoljavajuća.[156,157,158]

Prediktivna vrijednost angiogenih/antiangiogenih čimbenika nije evaluirana u tim preglednim studijama.

Same pregledne studije ograničene su iz više razloga:

a) definicija preeklampsije varira između studija;
b) velika varijabilnost u uključujućim/isključujućim kriterijima;
c) razlike u kriterijima koji definiraju stupanj rizika (nizak/visok) u istraživanoj populaciji;
d) upotreba različitih testova, kombinacije testova te "timinga screeninga" (gestacijska dob kad su uzeti uzorci) u trudnoći;
e) određenim studijama nedostaju specifične informacije, imaju nedostatke u odabiru i vođenju studije.[159]

2.6.1.1.1 Razina angiogenih čimbenika u krvi i urinu

Na podlozi studija rađenih na ljudima i životinjama možemo zaključiti da je promijenjena ekspresija angiogenih čimbenika važna u patogenezi difuznog endotelijalnog oštećenja i povećane kapilarne permeabilnosti, ključnih značajki preeklampsije.

Angiogeni čimbenici koji nas zanimaju su VEGF i PlGF, kao i dva anti-angiogena proteina, topljivi endoglin (sEng) i topljiva forma VEGF receptora tipa 1 (Flt1) poznatija kao topljiva fms slična tirozin kinaza 1 (sFlt-1).

Poznato je da ishemični trofoblast povećava proizvodnju anti-angiogenih proteina (sEng, sFlt-1) i reducira produkciju angiogenih proteina (VEGF, PlGF). Promjene u razini VEGF, PlGF, sFlt-1 i sEng u krvi i urinu trudnice prethode kliničkoj pojavi preeklampsije nekoliko tjedana do mjeseci, koreliraju s težinom bolesti, te se normaliziraju nakon poroda. [96,119,147,148,149,160,161]

Upotrebljivost određivanja PlGF u urinu za predviđanje nastanka preeklampsije je demonstrirana u sklopu ugnježdene studije parova (*engl. nested case control*) pri čemu su se koristili sačuvani uzorci urina od trudnica iz studije „Kalcij u prevenciji preeklampsije" (*engl; Calcium for Preeclampsia Prevention, CPEP*) a uključuju zdrave trudnice, nulipare s jednoplodnom trudnoćom, praćene od 13 do 21 tjedna gestacije pa sve do 24 sata nakon poroda.[131,162] Uzorci urina su uzimani prilikom uključenja u studiju, zatim u periodu od 26 do

29 tjedna trudnoće, u 36. tjednu te prilikom pojave preeklampsije. Glavni rezultati navedene studije su:

- razina PlGF-a u urinu od 8 do 21 tjedna trudnoće nije pokazala statistički značajnu razliku između žena koje su razvile preeklampsiju i onih koje su ostale normotenzivne.
- razina PlGF u urinu je rasla tijekom prva dva tromjesečja, s vrhuncem od 29 do 32 tjedna trudnoće, i nakon toga padala u obje grupe. Trudnice koje su razvile preeklampsiju su imale nižu razinu PlGF nego kontrole nakon 25 tjedna pa do kliničke pojave bolesti.
- od 21 do 32 tjedna trudnoće, vrijednost PlGF niža od 118 pg/mL je bila visoko prediktivna za pojavu preeklampsije prije termina (OR 22,5 95%; CI 7,4-67,8), ali manje prediktivna za pojavu preeklampsije u terminu (OR 2,2, 95%; CI 1,2-4,3).

Pregledna studija Widmer i suradnika (koja sadrži podatke 10 retrospektivnih studija koje su analizirale sFlt-1, te 14 retrospektivnih studija koje su analizirale PlGF), zaključila je da razina tih čimbenika nakon 25-og tjedna trudnoće je prediktivna za razvoj teške preeklampsije, ali da nema dovoljno dokaza da bi preporučili upotrebu tih testova kao probirne, "screening" testove.[163]

Angiogeni čimbenici se nisu pokazali dobrim za predviđanje preeklampsije u vrlo ranoj trudnoći (do 13 tjedna trudnoće).[81,164] Rezultati studije Buhimschi i suradnika ukazuju da je urinarni sEng povišen u trudnica koje su razvile preeklampsiju prije termina, ali da je vrlo ograničen u određivanju težine bolesti kao i razlikovanju između preeklampsije i kronične hipertenzije.[165]

2.6.1.1.2 Omjer angiogenih čimbenika u krvi i urinu

Omjer angiogenih čimbenika ima prednost u odnosu na određivanje pojedinačnih vrijednosti jer uzima u obzir dilucijski efekt.[149,166,167] Studija Buhimsci i suradnika sugerira da je određivanje omjera sFlt-1:VEGF, odnosno omjera sFlt-1:PlGF bolje u usporedbi s određivanjem pojedinačnih vrijednosti angiogenih čimbenika ili određivanju proteina u urinu pri identifikaciji žena koje su rizične za razvoj preeklampsije.[167]

Dodavanje urinarnog sEng u spomenuti frakcijski, ekskrecijski model (omjeri) čini se da ne povećava sposobnost testova da identificiraju rizičnu skupinu trudnica za razvoj preeklampsije.[149]

Iako su spomenuti testovi obećavajući, treba naglasiti da je uloga tih proteina u patogenezi preeklampsije kao i njihova upotreba kao probirnog parametra, još uvijek u fazi

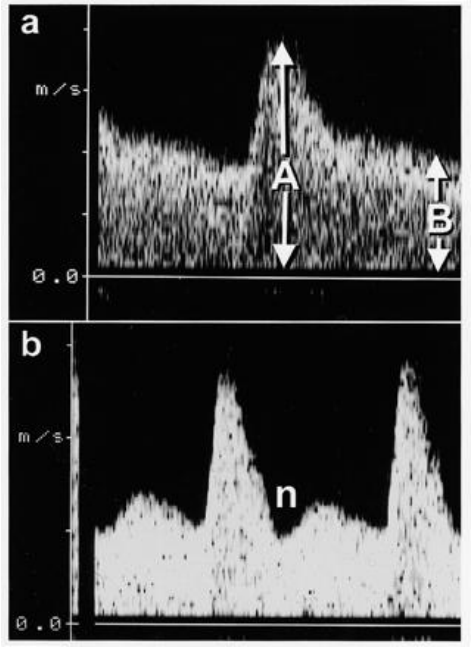
istraživanja. Prospektivne longitudinalne studije s mjerenjima koncentracije angiogenih čimbenika tijekom cijele trudnoće su potrebne da bi mogli ocijeniti vrijednost dosadašnjih istraživanja, te odrediti kako dobivene informacije primijeniti u kliničkom radu.

Prediktivni potencijal angiogenih čimbenika prepoznala je i Svjetska zdravstvena organizacija (*engl; World Health Organization, WHO*). SZO je inicirala veliku prospektivnu, opservacijsku studiju u više zemalja u razvoju, na više kontinenata, s ciljem procjene upotrebljivosti angiogenih čimbenika kao probirne, "screening" metode u predviđanju nastanka preeklampsije.

2.6.1.1.3 Ultrazvuk i otkrivanje preeklampsije

Od ultrazvučnih metoda probira trudnica za razvoj preeklampsije, do sada je najviše radova objavljeno u vezi s analizom protoka krvi u uterinim arterijama. Do sada su korištene dvije osnovne metode analize protoka krvi u uterinim arterijama za rano odkrivanje preeklampsije:

1) **prva metoda se temelji na prisutnosti ureza** (*engl; notch*) u doplerskoj analizi protoka krvi u uterinim arterijama, kao biljega za rizičnu skupinu trudnica u kojih će se kasnije razviti preeklampsija. Urez (*notch*) je definiran kao smanjenje brzine protoka krvi nakon sistole koje je ispod vrijednosti minimalne brzine protoka na kraju dijastole (Slika 4). Problem kod ureza odnosno „*notcha"* je da se relativno teško uočava i dijagnoza je prilično subjektivna. Objašnjenje tog fenomena leži u fiziološki nepotpuno promijenjenim spiralnim arterijama, koje zadržavaju mišićni sloj s mogućnošću kontrakcije, što se odražava na vrijednostima protoka krvi neposredno nakon sistole. Vjeruje se da predstavlja kumulativni efekt povećanja otpora u svim ili u većini spiralnih arterija u distalnom bazenu.



Slika 4. Doppler a. uterine
a) Normalan, uredan nalaz b) patološki nalaz. Indeks otpora = (A-B)/A. Urez ,"notch" (n) sugerira visok otpor protoka krvi.

2) **druga metoda se temelji na mjerenju indeksa otpora, pulsatilnog indeksa, sistoličko/dijastoličkog omjera** koji također odražavaju izostanak fizioloških promjena na nivou spiralnih arterija i posljedični porast tlaka u proksimalnom dijelu cirkulacije, koji će se moći izmjeriti pulsirajućim doplerom.

Problemi pri analizi rezultata dobivenih u studijama koje su se bavile analizom protoka u uterinim arterijama su brojni; od različitih aparata i tehnika gledanja, definicija nenormalnih protoka, gestacijske dobi ispitanica, do kriterija za dijagnozu preeklampsije.

Vrijednost pulsirajućeg doplera u predikciji preeklampsije najbolje ilustrira pregledna studija koja obuhvaća 74 studije odnosno, skoro 80 000 ispitanica:[168]

- Doppler uterine arterije je točniji u predikciji preeklmpsije ako se upotrebljava u drugom tromjesečju, a ne u prvom.
- Trudnice s *niskim* rizikom za razvoj preeklampsije: ukupni rizik nastanka preeklampsije je najbolje predviđen porastom pulsatilnog indeksa u drugom tromjesečju zajedno s prisutnošću ureza (notcha) (senzitivnost 23%; specifičnost 99%; pozitivna prediktivna vrijednost (+LR) 7,5; negativna prediktivna vrijednost (-LR) 0,59). Rizik za nastanak teške preeklampsije je najbolje previđen prisutnošću povećanog pulsatilnog indeksa u drugom tromjesečju (senzitivnost 78%; specifičnost 95%; +LR 15,6; -LR 0,23) ili prisutnošću bilateralnog ureza (senzitivnost 65%; specifičnost 95%;+LR 13,4,;-LR 0,37).

- Trudnice s *visokim* rizikom za nastanak preeklampsije: ukupni rizik nastanka preeklampsije je najbolje predviđen porastom pulsatilnog indeksa u drugom tromjesečju zajedno s prisutnošću ureza na a. uterini (senzitivnost 19%; specifičnost 99%; +LR 21; -LR 0,82). Rizik za nastanak teške preeklampsije je najbolje previđen porastom indeksa otpora (senzitivnost 80%; specifičnost 78%; + LR 3,7; - LR 0,26) u drugom tromjesečju.

Danas većina svjetskih stručnjaka ne preporučuje upotrebu pulsirajućeg doplera kao probirnu metodu za otkrivanje preeklampsije, iako autori spomenute pregledne studije se zalažu za određivanje pulsatilnog indeksa i ureza u svakodnevnoj kliničkoj praksi.[157,169,170] Nadalje, u mnogim studijama stupanj lažno pozitivnih nalaza je vrlo visok, što često dovodi do nepotrebne tjeskobe pacijentica, dodatnih pretraga i troškova.

Dodatne studije su potrebne da bi mogli preporučiti Doppler uterine arterije kao probirnu metodu.[170]

2.6.1.1.4 Novi pristupi, urati te ostali pristupi

Kombinacija testova

Više autora je koristilo kombinaciju testova u pokušaju predviđanja nastanka preeklampsije. Pregledna studija je pokazala da kombinacija pokazatelja doprinosi povećanju senzitivnosti i/ili specifičnosti u usporedbi s inividualnim pokazateljima.[159]

U nisko rizičnoj populaciji, kombinacija koja uključuje placentarni protein 13, PAPP-A (*engl; pregnancy associated plasma protein A*), disintegrin, i metaloproteinazu 12 (ADAM12), mjereno u kasnom prvom ili ranom drugom tromjesečju zajedno s Dopplerom a. uterine u drugom tromjesečju je obećavajuća kombinacija sa senzitivnošću od 60-80% i specifičnošću većom od 80%.

U visokorizičnoj populaciji, kombinacija placentarnog proteina 13 zajedno s pulsatilnim indeksom u prvom tromjesečju je imala 90% sezitivnost i 90% specifičnost u jednoj maloj studiji, limitiranoj na teške preeklampsije.

Obećavajuća, veća studija je pokušala razviti model za predviđanje preeklampsije na uzorku od 7797 trudnica s jednoplodom trudnoćom od 11 do 13 tjedna trudnoće.[171]
Preeklampsija se razvila u 157 trudnica do čega su 34 žene razvile preeklampsiju prije 34 tjedna trudnoće. Pomoću logističke regresije, autori su razvili algoritam za ranu predikciju preeklampsije koji je uključivao pulsatilni indeks uterine arterije, krvni tlak, serumski PAPP-A, serumski PlGF, BMI, prisutnost nulipariteta i pozitivnu anamnezu za prethodnu

preeklampsiju. S 5% lažno pozitivnih rezultata (normotenzivne trudnoće), 476 žena je bilo testirano kao pozitivne za ranu preeklampsiju; 32 od tih žena je razvilo preeklampsiju. Od 7321 žene koje su testirane kao negativne za ranu preeklampsiju, dvije su razvile ranu preeklampsiju. Senzitivnost tog modela je bila 94,1%; specifičnost 94,3%; pozitivna prediktivna vrijednost +16,5; negativna -0,006. Pouzdanost tog modela bi morala biti potvrđena od drugih autora.

Profiliranje proteoma

Izrada profila proteoma urina (*eng; proteomic profiling*) jedan je od novijih pristupa u istraživanju predikcije preeklampsije.[172,173] Na primjer, studija koja je uključila 284 trudnice izvjestila je o jedinstvenom urinskom proteinskom uzorku koji je predviđao pojavu preeklampsije s potrebom za rani porod.[172] Sastavljen je od SERPINA 1 i albuminskih fragmenata koji mogu biti primjećeni nekoliko tjedana prije pojave kliničkih simptoma preeklampsije. Dodatno, taj profil je razlikovao preeklampsiju od ostalih hipertenzivnih i proteinuričnih poremećaja u trudnoći. Spomenuti profil je imao senzitivnost i specifičnost 85% odnosno 87%, pozitivnu i negativnu prediktivnu vrijednost od od 6,7 i 0,2 što je točnije nego mjerenje angiogenih čimbenika kod predikcije potrebe za ranim porodom. Iako obećavajući pristup, dodatne studije su potrebne da bismo donijeli definitivan zaključak.

Genomske studije

Odnos između genetskih polimorfizama i razvoja preeklampsije je područje aktivnog istraživanja. Studije koje su dosad objavljene su male, upotrebljavana je različita metodologija, bez definitivnih rezultata.

Serumska mokraćna kiselina (urati)

Iako se hiperurikemija često viđa kod preeklampsije, pregledna studija objavljena 2006, koja sadrži podatke pet studija zaključila je da mjerenje koncentracije urata nije dovoljno dobro za predikciju preeklampsije.[174] Jedna od studija koristila je porast koncentracije urata iznad bazičnih vrijednosti kao kriterij za pozitivan rezultat, preostale su uzele vrijednost od 0,21 do 0,24 mmol/L kao graničnu vrijednost za pozitivan rezultat. Senzitivnost je bila između 0 i 56%, a specifičnost od 77 do 95%.

Slično, druga pregledna studija iz 2006. je zaključila da mjerenje urata u serumu nije upotrebljivo u predviđanju komplikacija kod trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom.[175]

Meta analiza iz 2009. koja se bavila identičnom problematikom, uratima kao prediktivnim parametrom za nastanak maternalnih komplikacija kod trudnoća kompliciranih preeklampsijom zaključila je da su urati upotrebljivi.[176]

Niz novih studija objavljenih u zadnjih nekoliko godina promatra urate kod preeklampsije iz jedne nove perspektive pri čemu oni igraju jednu od ključnih uloga u razvoju i predikciji nastanka bolesti.

Zbog svog značaja, urati su obrađeni u posebnom poglavlju.

Slobodna fetalna DNK

Uz pomoć lančane reakcije polimeraze (*engl; polymerase chain reaction, PCR*) moguće je otkriti slobodnu fetalnu DNK u serumu majke. Holzgreve i suradnici su u svojoj studiji izvjestili da postoji povećana izmjena tvari između fetusa i trudnice kod preeklampsija.[177] Postavljena je hipoteza da se slobodna DNK oslobađa ubrzanom apoptozom citotrofoblasta.[178] Conde-Agudelo i suradnici su zaključili da kvantifikacija slobodnog fetalnog DNK u serumu majke nije upotrebljiva u prediktivne svrhe.[183]

CA-125

Skupina autora u recentnim radovima sugerira da je Ca 125, tumorski biljeg, upotrebljiv i kao prediktor nastanka preklampsije.[179, 284]

Mikroalbuminurija

Svojedobno je mikroalbuminurija intenzivno zaokupljala pažnju istraživača kao potencijalni prediktor nastanka preeklampsije. Conde-Agudelo i suradnici opisuju senzitivnost spomenute metode između 7 i 90% i specifičnosti između 29 i 97% što znači slabu prediktivnu vrijednost.[183] Poon i suradnici također izvještavaju o nezadovoljavajućim senzitivnostim i specifičnostima za urinske albumin:kreatinin omjere.[180]

Testiranja za nasljedne trombofilije

Na temelju dokaza, uključujući podatke iz prospektivnih kohortnih studija možemo zaključiti da nasljedne trombofilije (kao što su mutacija faktora V, protrombinskog gena, protein C i S deficijencija, antitrombin III deficijencija) nisu povezane s preeklampsijom.[181,182]

Testiranje na antifosfolipidna antitijela

Antifosfolipidni sindrom je udružen s pojavom, rane, teške preeklampsije, ali generalizirano testiranje trudničke populacije na prisutnost antifosfolipidnih antitijela (antikardiolipinsko antitijelo, lupus antikoagulant) nije smisleno.

Provokacijski biofizikalni testovi

Promjene u vaskularnom odgovoru karakteristične za preeklampsiju čine podlogu za nekoliko testova za pronalaženje trudnica s povećanim rizikom za razvoj preeklampsije.

"Roll-over" test mjeri potencijalni hipertenzivni odgovor u trudnica od 28-32 tjedna trudnoće koje odmaraju u lijevoj lateralnom položaju i onda se okrenu (*engl; roll-over*) te zauzmu stojeći položaj.

Test izometričkih vježbi koristi isti princip, npr. stiskanje rukometne lopte.

Angiotenzin II provokacijski test se izvodi tako da se postupno povećavaju doze intravenski, te se hipertenzivni odgovor kvantificira.

U svojoj meta analizi Conde-Agudelo i suradnici izvještavaju o senzitivnosti svih spomenutih studija između 55 i 70%, sa specifičnostima oko 85%.[183] Niti jedan od tih testova (angiotenzin II provokacijski test, "roll-over" test, test izometričkih vježbi tzv. test stiska šake) nije u široj kliničkoj upotrebi jer zahtijevaju vrijeme i što je najvažnije, nepouzdani su.

Testiranje majke na serumske analite

Testiranje majke na serumske analite je važna komponenta probirnih programa za Downov sindrom. Rastući broj dokaza sugerira da nerazjašnjene promjene koncentracije određenih analita u serumu majke u prvom i drugom tromjesečju (povišeni alfa-feto protein, humani korionski gonadotropin (hCG), inhibin A, aktivin A, reducirani PAPP-A) jesu prediktivne za pojavu komplikacija u trudnoći uključujući i preeklampsiju. Međutim, ta veza nije dovoljno jaka da bi dovela do promjena u prenatalnoj zaštiti. Testiranje majke na serumske analite samo zbog predviđanja preeklampsije nije indicirano. U tu skupinu spada i placentarni protein 13, za kojeg se smatra da ima ulogu kod implantacije i razvoja placentarnog krvožilja.[184]

Fibronektini

Visoko molekularni, teški glikoproteini sudjeluju u nizu staničnih funkcija, uključujući adheziju i morfologiju, migraciju, fagocitozu i hemostazu.[185] Oslobađaju se iz stanica endotela i ekstracelularnog matriksa nakon endotelijalnog oštećenja. Već 80-ih godina Stubbs i

suradnici su izvjestili o povećanim koncentracijama fibronektina kod preeklampsije.[186] U svojoj preglednoj studiji iz 2007, Leeflang i ostali su zaključili da niti stanični, niti ukupni fibronektin nije klinički upotrebljiv za predikciju preeklampsije.[187]

Oksidativni stres

Hiperhomocisteinemija uzrokuje oksidativni stres i disfunkciju endotelnih stanica i nađena je kod preeklampsije. Iako žene s povišenim homocisteinom u trudnoći imaju tri do četiri puta povišeni rizik za nastanak preeklampsije, ti testovi se nisu pokazali kao klinički upotrebljivi prediktori za nastanak preeklampsije.[188,189]

Ostali potencijalni biljezi oksidativnog stresa, pro-oksidanti ili potencijatori prooksidanata (željezo, transferin, feritin, lipidi u krvi uključujući trigliceride, slobodne masne kiseline i lipoproteine; te antioksidanti, askorbinska kiselina, vitamin E) također se nisu pokazali upotrebljivi kao potencijalni prediktori.[190,191]

Drugi testovi

Potencijalni probirni parametri odnosno testovi koji se nisu pokazali klinički upotrebljivim uključuju: procjenu bubrežne funkcije (kalikrein-kreatinin), procjenu koagulacije i fibrinolitičkog sustava te aktivaciju trombocita; već spomenute biljege vaskularne funkcije (fibronektin, prostaciklin, tromboksan) i oksidativnog stresa (lipidni peroksidi, 8-izoprostan, antioksidanti, antikardiolipinska antitijela, hemoglobin, željezo, transferin, homocistein, hipertrigliceridemija, izoforme albumina); placentarne peptidne hormone (CRH, aktivin, inhibin, hCG), genetske pokazatelje, otpornost na inzulin i promijenjenu osjetljivost na inzulin.

2.6.1.1.5 Standardni hematološko biokemijski pokazatelji te sFlt-1 i PlGF

Standardni hematološko - biokemijski pokazatelji i preeklampsija

Brojne fiziološke promjene javljaju se tijekom trudnoće da bi zadovoljile potrebe rastućeg fetusa i trudnice. Fiziološke, adaptacijske promjene u trudnoći rezultat su povećanog stvaranja hormona (estrogen, progesteron, humani korionski gonadotropin, humani placentalni laktogen), koji zatim djeluju na razne fiziološke, metaboličke i endokrinološke sustave. Većina tih promjena počinje nakon koncepcije i traje do kasne trudnoće.

Nije neobično da usljed fiziološke adaptacije na trudnoću ali i zbog pojave patoloških stanja u trudnoći dolazi do značajnih promjena u vrijednostima standardnih hematološko

biokemijskih parametara. Neke od tih fizioloških promjena u trudnoći dobro su poznante i opisane u literaturi kao npr. snižene vrijednosti hematokrita, odnosno koncentracije hemoglobina, što nazivamo dilucijskom anemijom u trudnoći. Slično, fiziološke bubrežne promjene u trudnoći dovode do snižene koncentracije kreatinina; ono što je normalna vrijednost kod žena koje nisu trudne je nerijetko patološka vrijednost kod trudnica. Usprkos dobro poznatim fiziološkim promjenama u trudnoći, vrlo mali broj laboratorija u svijetu nudi u svojim nalazima referentne vrijednosti za trudničku populaciju. Na žalost, većina laboratorija čak ne navodi niti razlike u referentnim vrijednostima za žensku i mušku populaciju.

Realno je očekivati formiranje i upotrebu referentnih laboratorijskih vrijednosti za trudničku populaciju u bliskoj budućnosti, po uzoru na britanski model (Tablica 6).

Tablica 6. Normalne referentne vrijednosti standardnih biokemijsko hematoloških markera kod trudnica

	Bez trudnoće*	**Prvi trim.**	**Drugi trim.**	**Treći trim.**
Feritin• (ng/mL)	10-150$^{\Delta}$	6-130	2-230	0-116
Hemoglobin• (g/dL)	12-15,8$^{\Delta}$	11,6-13,9	9,7-14,8	9,5-15,0
Hematokrit• (postotak)	35,4-44,4	31,0-41,0	30,0-39,0	28,0-40,0
Željezo, ukupni kapacitet vezivanja, TIBC• (μg/dL)	251-406	278-403	Nije izvješteno	359-609
Željezo, serum• (μg/dL)	41-141	72-143	44-178	30-193
MCH – prosječna količina hemogl. u eritocitu (pg/stanici)	27-32	30-32	30-33	29-32
MCV – prosječni volumen eritrocita (fL)	79-93	81-96	82-97	81-99
Trombociti (x10^9/L)	165-415	174-391	155-409	146-429
MPV - prosječni volumen trombocita (μm^3)	6,4-11,0	7,7-10,3	7,8-10,2	8,2-10,4
Eritrociti (x10^6/mm^3)	4,00-5,20$^{\Delta}$	3,42-4,55	2,81-4,49	2,71-4,43
Leukociti(x10^3/mm^3)	3,5-9,1	5,7-13,6	5,6-14,8	5,9-16,9
Neutrofili (x10^3/mm^3)	1,4-4,6	3,6-10,1	3,8-12,3	3,9-13,1
Limfociti (x10^3/mm^3)	0,7-4,6	1,1-3,6	0,9-3,9	1,0-3,6
Monocit (x10^3/mm^3)	0,1-0,7	0,1-1,1	0,1-1,1	0,1-1,4
Eozinofili (x10^3/mm^3)	0-0,6	0-0,6	0-0,6	0-0,6
Bazofili (x10^3/mm^3)	0-0,2	0-0,1	0-0,1	0-0,1
Transferin (mg/dL)	200-400	254-344	220-441	288-530
Transferin, (UIBC)	22-46•	Nije izvješteno	10-44	5-37
Transferin, (saturacija željeza)	22-46•	Nije izvješteno	18-92	9-98
D-dimer (μg/mL)	0,22-0,74	0,05-0,95	0,32-1,29	0,13-1,7
Internacionalni normalizirani omjer	0,9-1,04$^{\Diamond}$	0,86-1,08	0,83-1,02	0,80-1,09
Aktivirano parcijalno tromboplastinko vrijeme (sek)	26,3-39,4	23,0-38,9	22,9-38,1	22,6-35,0
Protrombinsko vrijeme (sek)	12.7-15.4	9.7-13.5	9.5-13.4	9.6-12.9
Alanin aminotransferaza (U/L)	7-41	3-30	2-33	2-25

Albumin (g/dL)	4,1-5,3$^{\Delta}$	3,1-5,1	2,6-4,5	2,3-4,2
Alkalna fosfataza (U/L)	33-96	17-88	25-126	38-229
Aspartat aminotransferaza (U/L)	12-38	3-23	3-33	4-32
Bilirubin, totalni (mg/dL)	0,3-1,3	0,1-0,4	0,1-0,8	0,1-1,1
Bilirubin, nekonjugirani (mg/dL)	0,2-0,9	0,1-0,5	0,1-0,4	0,1-0,5
Bilirubin, konjugirani (mg/dL)	0,1-0,4	0-0,1	0-0,1	0-0,1
Kreatinin (mg/dL)	0,5-0,9$^{\Delta}$	0,4-0,7	0,4-0,8	0,4-0,9
Gama-glutamil transpeptidaza (U/L)	9-58	2-23	4-22	3-26
Laktat dehidrogenaza (U/L)	115-221	78-433	80-447	82-524
Urea (mg/dL)	7-20	7-12	3-13	3-11
Urati (mg/dL)	2,5-5,6$^{\Delta}$	2,0-4,2	2,4-4,9	3,1-6,3

* Ukoliko nije drugačije specificirano, sve normalne referentne vrijednosti su preuzete iz sedamnaestog izdanja - Harrison's Principles of Internal Medicine.
• Referentne vrijednosti uključuju reference sa i bez nadomjestne terapije željezom.
Δ Normalne referentne vrijednosti specifične za žene.
◊ Referentne vrijednosti su iz Cerneca et al: Coagulation and fibrinolysis changes in normal pregnancy increased levels of procoagulants and reduced levels of inhibitors during pregnancy induce a hypercoagulable state, combined with a reactive fibrinolysis.
Preuzeto i modificirano iz: Abbassi-Ghanavati M, Greer LG. Reference Table of Normal Laboratory Values in Uncomplicated Pregnancies. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom S, Hauth JC, Rouse DJ, Spong CY. Williams Obstetrics, 23rd Edition. New York: McGraw-Hill, 2010. Copyright © 2010 The McGraw-Hill Companies, Inc.

Iz tablice je vidljivo da neki analiti kao što su leukociti i alkalna fosfataza kontinuirano rastu tijekom normalne trudnoće. Slično, gornja granica za normalne D-dimere gotovo se udvostručava od prvoga do trećeg tromjesečja, dok koagulacijski čimbenici značajno rastu. Ukoliko te normalne, trudnoćom uvjetovane promjene ne uzmemo u obzir kada ocjenjujemo laboratorijske nalaze kod trudnica riskiramo da fiziološke promjene proglasimo patološkim. Prikazana tablica ima ograničenja, autori su je sastavili na osnovu dostupnih podataka u relevantnim studijama, ne uzima u obzir mnoštvo varijacija, kao što su npr. rasna pripadnost, zemljopisna lokacija, ili dob dana kad je uzorak uzet.

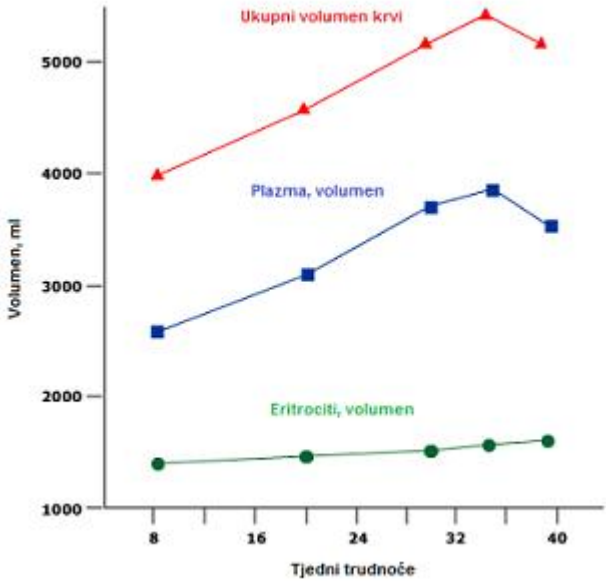
Hematološke promjene u normalnoj trudnoći i kod preeklampsije

Hematološki fiziološki adaptacijski mehanizmi uključuju sljedeće promjene:

- fiziološku anemiju
- neutrofiliju
- blagu trombocitopeniju
- povišene prokoagulantne čimbenike
- smanjenu fibrinolizu

Volumen plazme raste za oko 10-15% od 6 do 12 tjedna trudnoće, zatim slijedi brz porast od 30 – 34 tjedna nakon čega se bilježi tek blagi porast.

Porast volumena plazme oko termina poroda iznosi cca 1100 do 1600 ml što rezultira ukupnim volumenom plazme od oko 4700 do 5200 ml, što je 30 – 50% više nego što nalazimo kod žena koje nisu trudne.[192]



Slika 5. Ukupni volumen krvi, plazmatski volumen i volumen eritrocita u normalnoj trudnoći
Uočljiv je relativno veći porast volumena plazme u odnosu na volumen eritrocita; promjene su izraženije kod višeplodnih trudnoća. Preuzeto i modificirano iz: Shnider, SM, Levinson, G. Anesthesia for Obstetrics, 3rd ed, Williams & Wilkins, Baltimore, p.8.

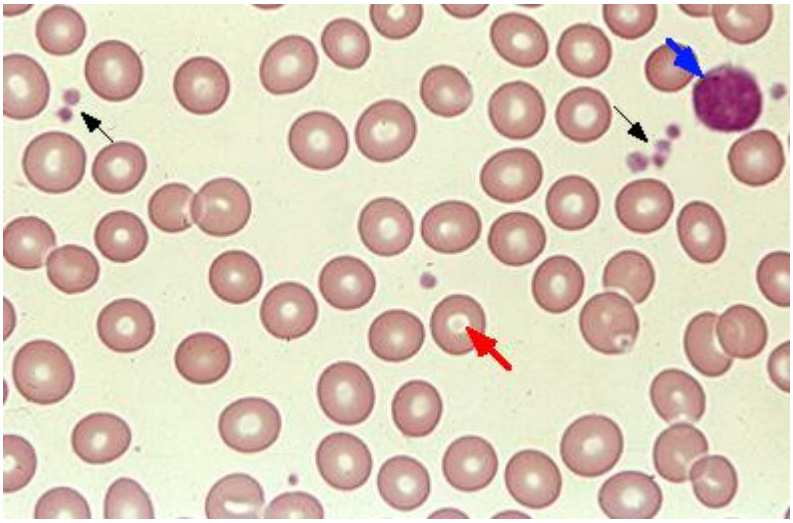
Eritrociti počinju rasti oko 8 - 10 tjedna trudnoće i u terminu poroda. Kod trudnica koje su koristile nadomjestnu terapiju željezom, rastu za 20 - 30% iznad (250 - 450 ml) vrijednosti zabilježenih u žena koje nisu trudne.[192] Kod žena koje nisu koristile preparate željeza, porast je manji i iznosi oko 15 – 20%.[193] Životni vijek eritrocita u trudnoći je nešto kraći.[194]

Relativno veća ekspanzija volumena plazme (30–50%) u odnosu na porast mase hemoglobina odnosno volumena eritrocita (18%) odgovorna je za pojavu fiziološke anemije u trudnoći. Najveća disproporcija između rasta volumena plazme i porasta volumena eritrocita opaža se tijekom kasnog drugog i početkom trećeg tromjesečja (najniži hemoglobin se mjeri između 28 i 36-og tjedna trudnoće).[195]

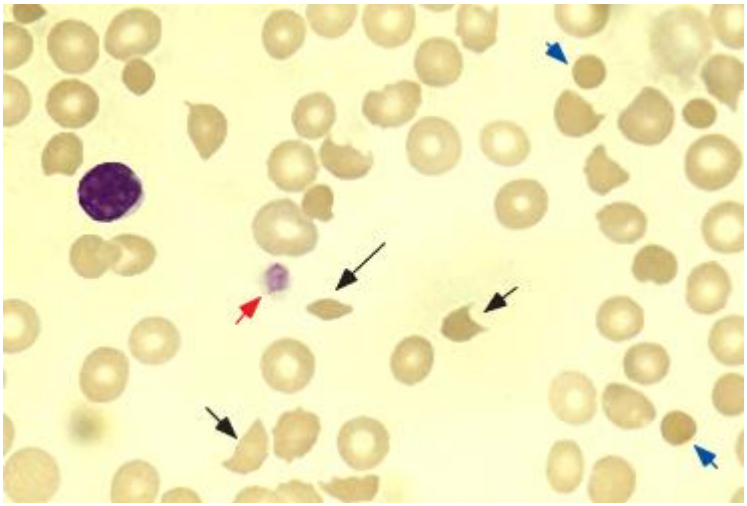
Oko termina dolazi do porasta koncentracije hemoglobina zbog smanje produkcije plazme te kontinuranog rasta mase hemoglobina (slika 5). Svjetska zdravstvena organizacija definira anemiju u trudnoći pri koncentraciji hemoglobina ispod 110 g/L i/ili hematokrita ispod 6,83 mmol/L, odnosno 33% dok se teškom anemijom definiraju one s nalazima hemoglobina ispod 70 g/L, a vrlo teškom ispod 40 g/L.[196]

Prisutnost hemolize kod preeklampsije može dovesti do niskih vrijednosti hematokrita; također, usljed povećane vaskularne permeabilnosti karakteristične za preeklampsiju možemo uočiti i hemokoncentraciju te povećane vrijednosti hematokrita. Istovremena prisutnost hemolize i hemokoncentracije može rezultirati normalnim hematokritom.

Mikroangiopatska hemoliza kod preeklampsije je u krvnom razmazu praćena pojavom shistiocita i "helmet" stanica (oblika kacige), te porastom koncentracije laktat dehidrogenaze (LDH) i haptoglobina u serumu.



Slika 6. Normalni periferni razmaz
Nekoliko trombocita (crne strelice) i normalni limfocit (plava strelica). Eritrociti su slične veličine i oblika. Dijametar normalnog eritrocita bi trebao približno odgovarati jezgri limfocita, centralno bljedilo (crvena strelica) mora otprilike iznositi trećinu dijametra.



Slika 7. Mikroangiopatski razmaz
Prikazan je periferni krvni razmaz kod pacijentice s mikroangiopatskom hemolitičkom anemijom te fragmentacijom eritrocita. Razmaz pokazuje brojne stanice oblika kacige (male crne strelice); mikrosferociti su također vidljivi (plave strelice). Broj trombocita je smanjen, veliki trombocit u centru (crvena strelica) sugerira da je trombocitopenija posljedica povećane destrukcije.

Normalna trudnoća praćena je blagim sistemskim upalnim odgovorom koji počinje u lutealnoj fazi menstruacijskog ciklusa, prije implantacije, te se razvija napredovanjem trudnoće. Zabilježen je porast **CRP-a** (C-reaktivni protein) već od 4 tjedna trudnoće te **leukocitoza**, primarno usljed povećane cirkulacije neutrofila.[197,198]

Broj neutrofila počinje rasti u drugom mjesecu trudnoće i dostiže vrh u drugom ili trećem tromjesečju, kad je ukupni broj leukocita između 9 i 15 x10^9/L.[198]

Studije su pokazale da broj leukocita raste pri porodu, tim više što porod dulje traje, a jedna od studija je izvjestila kao gornju granicu normale od čak 29 x10^9/L. [199]

Leukociti se vraćaju u raspon normalnih referntnih vrijednosti za žensku populaciju koja nije trudna otprilike šesti dan nakon poroda. U tom kontekstu, ako promatramo fiziološke promjene koncentracije leukocita u trudnoći te odnos preeklampsije i leukocita, moramo se prisjetiti da jedan od mogućih uzročnika nastanka preeklampsije jest upala, kao posljedica ostataka sinciciotrofoblasta u majčinoj cirkulaciji.

Fiziološki, normalna trudnoća je prolazno **hiperkoagulabilno** stanje.[200,201] Normalna hemostaza ovisi o interakciji tri glavne komponente; trombocita, endotela i koagulacijske kaskade.[202] Fibrinolitički sustav ima komplementarnu ulogu te je odgovoran za odstranjenje fibrina i razgradnju ugruška. U trudnoći potrebe postavljene pred hemostatski i fibrinolitički sustav trudnice su bitno različite od onih u ne-trudničke populacije.

Opažen je porast niza koagulacijskih čimbenika, promjene endotelijalne funkcije, trombocitne aktivnosti i fibrinolize što rezultira hipekoagulobilnim stanjem. Takvo hiperkoagulabilno stanje je nužno pri porodu placente, događaju koji je potencijalno rizičan za pojavu masivnog krvarenja iz maternice.

Negativna posljedica takvog stanja je povećani rizik za razvoj tromboembolije.

Promjene koagulacijskih čimbenika i inhibitora u normalnoj trudnoći možemo rezimirati: fibrinogen, čimbenici II, VII, VIII, X, XII, and XIII rastu od 20 do 200% [203], von Willebrandov čimbenik raste, antitrombin, protein C, faktor V i faktor IX ostaju nepromijenjeni ili blago rastu[203], aktivnost fibrinolitičkih inhibitora, TAFI (*eng; thrombin activatable fibrinolytic inhibitor*), PAI-1 i PAI-2 (*eng; plasminogen activator inhibitors*) rastu, razina PAI-1 raste značajno[204], totalni protein S antigen, slobodni protein S antigen i protein S aktivnost se smanjuju zbog hormonskih promjena u trudnoći. (Tablica 6. - normalne referentne vrijednosti u trudnoći)

Broj trombocita se u većini normalnih trudnoća kreće između 150 - 450 x10^9/L, iako može biti nešto niži u prosjeku nego kod zdravih žena koje nisu trudne.[205,206] Napredovanjem uredne, nekomplicirane trudnoće većina studija nije primjetila statistički značajne promjene u

broju trombocita.[207,208] Određene studije su dokumentirale blagi, ali statistički značajan pad broja trombocita s napredovanjem trudnoće, ali još uvijek u referentnom intervalu, što može biti posljedica utjecaja manjeg broja žena s blagom gestacijskom trombocitopenijom na rezultate studija.[209,210] Broj trombocita nešto je niži u blizanačkih trudnoća u usporedbi s jednoplodnim trudnoćama, vjerojatno kao posljedica povećanog formiranja trombina.[211]
U studiji koja je obuhvaćala 108 normalnih trudnoća opažen je značajan rast D-dimera, indikatora fibrinske potrošnje i fibrinolitičke aktivnosti, u drugom i trećem tromjesečju trudnoće.[212] Taj porast D-dimera je kasnije potvrđen u više studija.

Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (aPTV) ostaje nepromijenjeno tijekom normalne trudnoće, protrombinsko vrijeme (PV) može biti skraćeno, dok je vrijeme krvarenja (VK) također nepromijenjeno.[213,214]

Kod preeklampsije u usporedbi s urednim trudoćama opaža se značajan rast trombin-antitrombin (TAT) kompleksa, protrombinskog fragmenta 1+2 te razine D-dimera, dok je razina antitrombina i fibrinogena reducirana.[215] Takvi nalazi su relevantni jer razina TAT kompleksa reflektira količinu formiranog trombina in vivo, dok razina D-dimera ukazuje na prisutnost fibrinolize. Preeklampsiju karakterizira i reducirani nivo fizioloških antikoagulanata. U dvije studije razina proteina C se nije mijenjala tijekom normalne trudnoće, sniženi nivo proteina C kod preeklampsije je opažen u jednoj, ali ne i u drugoj studiji.[216,217]

Razina antitrombina se ne mijenja u normalnoj trudnoći, ali može biti snižena kod preeklampsije, dok razina proteina S pada kod normalne trudnoće i preeklampsije.[217] Aktivnost fibrinolitičkog sustava je također promijenjena kod preeklampsije. U studiji od koja sadrži podatke 42 trudnice s preeklampsijom zabilježen je značajan porast tPA (tkivni aktivator plazminogena) dok su vrijednosti urokinaza-tip plazminogen aktivatora ostale nepromijenjene.[218]

Dva inhibitor plazminogen aktivatora, PAI-1 i PAI-2 rastu u normalnoj trudnoći, ukupni porast je veći kod preeklampsije, vjerojatno zbog porasta PAI-1 frakcije jer su vrijednosti PAI-2 smanjene u pacijentica s preeklampsijom, posebno u onih sa slabim ishodima trudnoće.[218,219]

Porast PAI-1 frakcije može biti odraz endotelijalnog oštećenja ili aktivacije trombocita kod preeklampsije, dok pad razine PAI-2 može odražavati promijenjenu placentarnu funkciju.[216]

Jedna od najznačajnijih karakteristika teške preeklampsije je pad broja trombocita, vjerojatno posljedica povećane potrošnje pri intravaskularnoj koagulaciji. Osim spomenute

promjene u broju trombocita, čini se da kod preeklampsije trombociti cirkuliraju u aktivnijem stanju (Tablica 7).

Studija Konijnenberga i ostalih usporedila je ekspresiju površinskih antigena na trombocitima deset trudnoća kompliciranih preeklampsijom u trećem tromjesečju s identičnim brojem urednih trudnoća u istom tromjesečju pomoću protočne citometrije. Trombociti dobiveni od pacijentica s preeklampsijom su pokazivali aktiviranije stanje, što je dokazano povećanom ekspresijom P-selektina, CD 63 i trombocitne endotelijalne adhezijske molekule (PECAM)-1.[220] I druge studije su podržale hipotezu o povišenoj trombocitnoj aktivaciji kod preeklampsije:

- u longitudinalnoj studiji, povišena ekspresija trombocitnog CD63 tijekom prvog tromjesečja je bila korištena kao prediktor nastanka preeklampsije[221]
- topljivi P-selektin raste kod preeklampsije[222]
- u jednoj studiji razina beta-tromboglobulina je bila povišena kod preeklampsije i prethodila je kliničkoj manifestaciji bolesti[223]

Dvije novije presječne (*engl; cross-sectional*) studije su također dokazale povišenu trombocitnu aktivnost kod trudnica s preeklampsijom.[224,225]

Tablica 7. Skraćeni, tablični prikaz promjena hemostaze kod preeklampsije

Koagulacija i fibrinoliza:	
Protein C	Normala / snižen
Protein S	Snižen
Antitrombin III	Snižen
Tkivni aktivator plazminogena	Povišen
Inhibitor plazminogen aktivatora I	Povišen
Inhibitor plazminogen aktivatora II	Snižen
Topljivi fibrin (uterina vena)	Snižen
Trombin-antitrombin III kompleks	Povišen
Fibrin D-dimer	Povišen
Protrombin fragment 1+2	Povišen
Trombin, stvaranje in vitro	Povišen
Trombociti:	
Broj trombocita	Snižen
Aktivacija trombocita	Povišena
Plazma P-selektin	Povišen
Plazma beta-tromboglobulin	Povišen
Endotelijalna funkcija:	
Protokom inducirana vazodilatacija	Snižena
Placentarna NO (dušični oksid) sintaza aktivnost	Snižena
Von Willebrand faktor	Povišen
Fibronektin	Povišen
Topljivi trombomodulin	Povišen

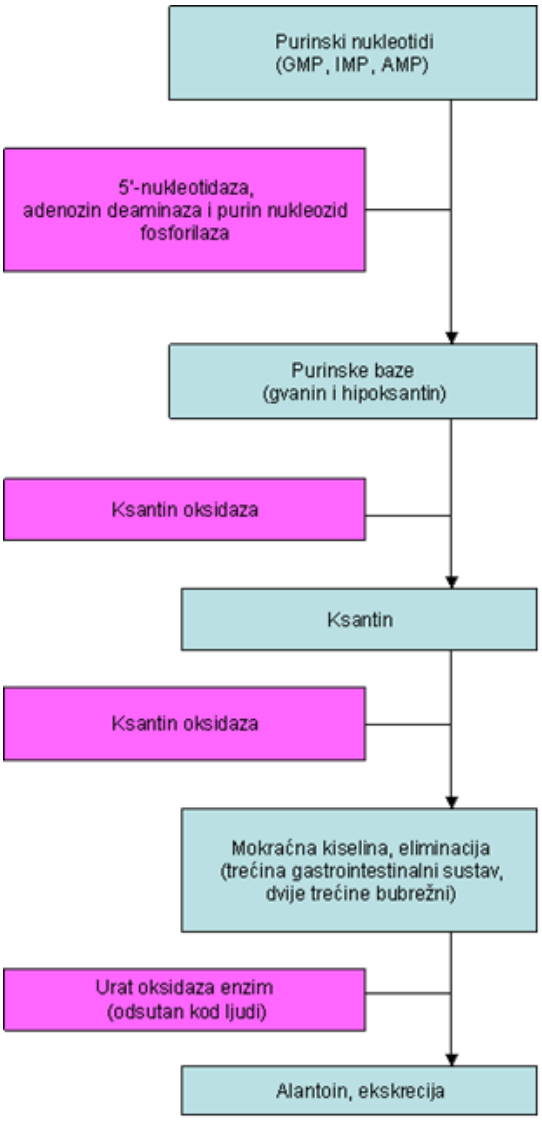
Hiperurikemija kod preeklampsije, iako opisana skoro prije 90 godina, i danas je predmet brojnih istraživanja i kontroverzi.[226] Mokraćna kiselina je završni produkt metabolizma purina (DNK) u ljudskoj vrsti; za razliku od većine sisavaca koji mogu pretvarati urate u alantion, visoko topljivi ekskretorni produkt (Slika 8).[227] Nastaje u jetri kao posljedica razgradnje purina unešenih hranom (odgovarajuća dijeta reducira ekskreciju urata urinom za 40%) ili endogeno sintetiziranih. Da bi održao zadovoljavajuću homeostazu urata ljudski organizam mora regulirati ekskreciju, koja se održava preko probavnog i urinarnog sustava.

Intestinalnom urikolizom (razgradnja urata pomoću bakterija u crijevima) se razgradi otprilike trećina dnevne količine urata, u normalnim uvjetima ta razgradnja je skoro potpuna. Većina ekskrecije se odvija preko bubrega, glomerularnom filtracijom, proksimalnom repsorpcijom i sekrecijom.

Smanjena sposobnost bubrežne ekskrecije je odgovorna za 85-90% primarne ili sekundarne hiperurikemije u koju spada i preeklampsija. Tijekom uredne, nekomplicirane trudnoće, koncentracija urata u serumu pada za 25-35% u ranoj trudnoći, zatim raste da bi oko termina došla na vrijednosti slične onima prije trudnoće.[228]

Nekoliko je potencijalnih izvora nastanka urata kod preeklampsije: poremećena bubrežna funkcija, povećani raspad tkiva, acidoza i povišena aktivnost enzima ksantin oksidaze/dehidrogenaze.[229] Nevezano za trudnoću, hiperurikemija se smatra rizičnim čimbenikom za razvoj hipertenzije, kardiovaskularnih i bubrežnih oboljenja.[229] Smatra se da glavni razlog povišene koncetracija urata kod preeklampsije leži u smanjenom klirensu urata zbog bubrežne disfunkcije, dok manji broj autora hiperurikemiju povezuje s povišenom aktivnošću ksantin oksidaze.[230]

Iako je pregledna studija Cnossen i suradnika iz 2006 koja uključuje 5 radova zaključila da nema dovoljno jakih dokaza o prediktivnoj sposobnosti urata za nastanak preeklampsije, urati su i dalje jedna od glavnih tema na tom području.[174]



Slika 8. Sinteza mokraćne kiseline pomoću katalize s ksantin oksidazom.
Purinski nukleotidi se razgrađuju do purinskih baza, guanina i hipoksantina. Guanin i hipoksantin se zatim kataliziraju do mokraćne kiseline, dok životinje imaju sposobnost razgradnje mokraćne kiseline do alantoina pomoću urat oksidaze. Preuzeto i modificirano iz: Martin AC, Brown MA. Could uric acid have a pathogenic role in preeclampsia? Nat Rev 2010;6(12):744-748.[231]

Grupa autora je objavila studiju u kojoj su pokazali da je serumska koncentracija urata konstantno povišena tijekom trudnoće kod trudnica koje će razviti hiperurikemičnu formu gestacijske hipertenzije ili preeklampsiju u usporedbi s kontrolama, i da te povišene koncentracije urata nisu povezane s usporedno kontroliranom koncentracijom kreatinina.[59]

Noviji koncept kojeg je predstavio Kang s suradnicima pretpostavlja da povišena koncentracija urata kod preeklampsije nije samo biljeg težine bolesti, već direktno doprinosi patogenezi bolesti.[232]

Upotrebljavajući epidemiološke i eksperimentalne dokaze Bainbridgeova i suradnici su predstavili model u kojem urate kod preeklampsija predstavljaju kao promotore upale,

oksidativnog stresa i endotelijalne disfunkcije koji djeluju na placentarnoj razini kao i na materinom krvožilju.[233]

Kasniji rad Bainbridgeove i suradnika je postavio hipotezu da hiperurikemija kod preeklampsije doprinosi pojavi IUZR-a preko redukcije transporta aminokiselina kroz placentu.[234]

Sljedeći rad Bainbridgove i suradnika je opisao pojavu hiperurikemije u desetom tjednu trudnoće kod žena koje će kasnije razviti preeklampsiju. Taj rad je ponudio hipotezu u kojoj hiperurikemija kod trudnica s preeklampsijom doprinosi razvoju bolesti, dijelom i preko oslabljene invazije trofoblasta te remodeliranja spiralnih arterija.[235]

Isto tako Bainbridgeva i suradnici su dokazali porast ksantin oksidaze, sintetičkog enzima za mokraćnu kiselinu u citotrofoblastu i koži žena s preeklampsijom.[236]

Najnovija studija Laughona i suradnika je istraživala odnos hiperurikemije u prvom tromjesečju te njezine učinke na trudnoću.[237] Zaključili su da trudnice s hiperurikemijom u prvom tromjesečju imaju povišeni rizik za razvoj gestacijske hipertenzije i preeklampsije s hiperurikemijom, ali ne i preeklampsije bez hiperurikemije; što je potencijalno važan podatak obzirom da su prijašnje studije pokazale povećani rizik za prijevremeni porod i porod SGA (*eng; small for gestational age*, djeca premala za svoju gestacijsku dob) kod hiperurikemičnih oblika preeklampsije i gestacijske hipertenzije.[238] Također, autori sugeriraju na mogućnost uporabe hiperurikemije u probiru trudnica koje bi kasnije u životu mogle razviti kronične bolesti uključujući hipertenziju, metabolički sindrom, šećernu bolest te kardiovaskularne bolesti. Vjerojatno urati samostalno, čak ni u prvom tromjesečju nisu dovoljno dobri da bi ih opisali kao idealne prediktore, međutim upotreba urata u kombinaciji s drugim parametrima ili pretragama je smislena i vrlo korisna što smo dokazali u našoj studiji.[239]

Kreatinin je katabolički produkt kreatin fosfata koji se koristi u kontrakciji skeletnih mišića. Dnevna proizvodnja kreatina, posljedično kreatinina ovisi o mišićnoj masi koja vrlo malo fluktuira.[227] Kreatinin se, kao i urea izlučuje u potpunosti preko bubrega, tako da ih možemo promatrati kao neku vrst indikatora bubrežne funkcije. Bubrežne bolesti, ili u primjeru preeklampsije zahvaćenost bubrežne funkcije rezultirat će promjenama koncentracije kreatinina i uree. Za razliku od uree, kreatinin je vrlo malo zahvaćen jetrenom funkcijom; u usporedbi s ureom kasnije raste čime može sugerirati kronični proces.

Urea se stvara u jetri i završni je produkt metabolizma proteina. Razgradnjom proteina odnosno aminokiselina nastaje amonijak iz kojeg se stvara urea, koja se krvlju transportira do bubrega gdje bi trebala biti izlučena. Dakle, razina uree u krvi ovisi o metaboličkoj funkciji jetre te ekskretornoj sposobnosti bubrega. Urea je slabiji indikator bubrežne funkcije od

kreatinina. Kao što znamo normalnu trudnoću karakterizira povišena renalna perfuzija te glomerularna filtracija i tubularna resorpcija posljedica čega je fiziološki pad koncentracije kreatinina i uree u trudnoći.

U prvom tromjesečju, klirens kreatinina raste za 50%, nakon čega zadržava stabilnu vrijednost do 34 tjedna trudnoće da bi pao za 16% do termina.[240,241] Kao posljedica navedenih promjena, kreatinin u serumu počinje padati rano u prvom tromjesečju, dosežući vrh u drugom tromjesečju da bi ponovo počeo rasti prema terminu poroda. Prospektivna, presječna studija (*engl. cross-sectional*) rađena na 450 trudnica potvrdila je da je koncentracija kreatinina niža u trudnoći nego izvan trudnoće te da postoji blagi porast u trećem tromjesečju.[242]

Na podlozi rezultata svoje studije Girling JC je preporučila normalne referentne vrijednosti po tromjesečjima i to za prvo tromjesečje ≤85 μmol/l., drugo ≤ 80 μmol/l i za treće tromjesečje do 90 μmol/l. Vrijednost kreatinina iznad 90 μmol/L u pravilu je rezultat bubrežnog oštećenja.[242]

Fiziološke promjene u **jetrenoj funkciji** tijekom normalne trudnoće su u pravilu prolazne. Povišena razina hormona, estrogena (estradiol) i progesterona u trudnoći utječe na jetrene metaboličke, sintetičke i ekskretorne funkcije.[243]

Apsolutni protok krvi kroz jetru u trudnoći je nepromijenjen, ali postotak jetrenog dijela fiziološki povećanog srčanog "outputa" je manji.[244]

AST (aspartat aminotransferaza) u ljudskom organizmu nalazimo u visokim koncentracijama kod visoko metaboličkih tkiva kao što su srčani mišić, jetrene stanice, skeletalni mišići, i u manjoj mjeri u bubrezima, gušterači i eritrocitima.

Alanin aminotransferaza (ALT), za razliku od AST-a, se nalazi većinom u jetri; manje količine se nalaze u bubrezima, srcu i skeletalnim mišićima te ga smatramo specifičnijim enzimom za jetru u odnosu na AST.[227] Obzirom na svoju raspodijeljenost u organizmu, jasno je da kao biljezi hepatocelularnog oštećenja nisu strogo specifični.

Patološke promjene u trudnoći, kao što su preeklampsija, eklampsija, AFLP (*eng; acute fatty liver of pregnancy*), HELLP, intrahepatička kolestaza, hiperemeza trudnice, te niz drugih bolesti koje nisu vezane isključivo za trudnoću mogu utjecati na vrijednosti jetrenih testova. U takvim slučajevima korektna interpretacija jetrenih testova može pomoći opstetričaru u izboru terapije. Jetreni parametri koje često upotrebljavamo primarno nam služe za prepoznavanje jetrenog oštećenja a ne za ocjenu jetrene funkcije. U slučaju oštećenja odnosno nekroze spomenutih stanica dolazi do oslobađanja enzima u cirkulaciju te rasta njihove koncentracije u krvi. Rast spomenutih enzima može biti zabilježen kod niza situacija

(kod izrazitih tjelesnih napora, mišićnih ozljeda, poliomiozitisa, itd.); AST je npr. dugi niz godina upotrebljavan kao parametar u dijagnostici srčanog infarkta.

Blaga povišenja AST i ALT (do vrijednosti 1,5 puta iznad gornje granice referentih vrijednosti) ne znače nužno jetreno oštećenje. Objašnjenje leži u tome, da za razliku od većine ostalih biokemijskih parametara ALT i AST ne prate normalnu zvonoliku distribuciju u populaciji, već nakrivljenu s dugim "repom" na kraju skale.[245,246]

Nadalje, vrijednosti aminotransferaza su više kod pretilih osoba, vjerojatno zbog češće dijagnosticiranih masnih promjena u jetri. Isto tako, zabilježen je pad vrijednosti ALT prilkom gubitka tjelesne težine.[247,248] Teoretski, to bi značilo da bi se gornje referentne vrijednosti aminotransferaza kod pretilih osoba mogle povećati.

Pri interpretaciji jetrenih testova u trudnica, posebno kod onih s preeklampsijom uvijek se moramo prisjetiti da AST i GGT (gama-glutamil transferaza) nisu nužno jetrenog porijekla. AST kao samostalan test ima prednost u odnosu na ALT kod preeklampsije i sindroma HELLP-a jer reflektira potencijalnu hepatoceluarnu nekrozu kao i hemolizu eritrocita.

Jetrene bolesti u trudnoći trebale bi biti promatrane u sklopu tri kategorije: pre-egzistentne bolesti jetre, bolesti jetre specifične za trudnoću te akutne bolesti jetre i bilijarnog sustava u trudnoći.[249]

U prospektivnoj analizi rađenoj na 430 trudnica zaključeno je da su vrijednosti AST, ALT, bilirubina i GGT za oko 20% niže u trudnica u usporedbi sa standardnim laboratorijskim referentnim vrijednostima.[250]

Tablica 8. Normalne vrijednosti jetrenih enzima u trudnoći

Jetreni enzimi	*Ne-trudnice*	*Prvo tromjesečje*	*Drugo tromjesečje*	*Treće tromjesečje*
AST (U/L)	7 - 40	10 – 20	10 -29	11 -30
ALT (U/L)	0 -40	6 – 32	6 -32	6 - 32
Bilirubin (µmol/L)	0 – 17	4 -16	3 – 13	3 -14
GGT (U/L)	11 – 50	5 -37	5 -43	3 -41
Alkalna fosfataza (AP) (U/L)	30 -130	32 -100	43 – 135	133 - 418
Žučne kis. (µmol/L)	5 - 10		5,3 -5,7	5,6 – 6,5

Preuzeto i modificirano iz: Jamjute P, Ahmad A, Ghosh T, Banfield P. Liver function test and pregnancy. J Matern Fetal Neonatal Med. 2009; 22(3): 274-283.[251]

Girling i suradnici su u svojoj studiji došli do sličnih zaključaka.[252] Te razlike u normalnim vrijednostima mogu se objasniti fiziološkom hemodilucijom u trudnoći, ali sigurno doprinose i razlike u spolu te u životnoj dobi karakterističnoj za trudničku populaciju.

Iz toga možemo zaključiti da dio rezultata dobiven od uzoraka trudnica s preeklampsijom bi mogao biti percipran kao normalan, ako upotrijebimo referentne vrijednosti za ne-trudničku populaciju, što može rezultirati pogreškom.

Ruiz–Extremera i suradnici u svojoj su studiji pratili koncentracije ALT od 16-og tjedna trudnoće nadalje, te njihov utjecaj na plod; zaključak je da većina porasta koncentracije ALT je nespecifična, prolazna i nema posljedica za majku ili fetus.[253]

Bacq i suradnici također su opisali u svojem radu prolazni rast ALT u drugom tromjesečju, a objašnjenje tog događaja nije jasno i moguće je da nije povezano s trudnoćom, obzirom na normalne vrijednosti u trećem tromjesečju.[254]

Također, opažen je rast AST i ALT tijekom poroda, vjerojatno je riječ o fiziološkom porastu usljed kontrakcije maternice.[255] Povišene vrijednosti aminotransferaza iznad gornjih referntnih vrijednosti prije poroda moramo gledati kao potencijalno patološke, te razmisliti o daljnoj djagnostici.[256]

LDH kao pokazatelj hepatocelularnog oštećenja je manje specifičan od AST i ALT, iako je disproporcionalno povišen kod ishemičnih jetrenih oštećenja.[257]

Alkalna fosfataza (AP) se može naći u mnogim tkivima ali je uglavnom nalazimo u jetri, epitelu bilijarnog trakta te kostima. Intestinalna mukoza te placenta također sadrže alkalnu fosfatazu.[227] Za razlikovanje porijekla alkalne fosfataze služimo se izoenzimima, koje razlikujemo pomoću elektroforeze te na podlozi njihove toplotne stabilnosti. Često je povišena pri patološkim ili fiziološkim procesima na kostima (rast, cijeljenje poslije fraktura, Pagetova bolest, metastaze, itd), ali i u drugim situacijama, npr. zbog korištenja fenitoina, steroida, kod kolelitijaze, kolecistitisa, kod različitih bolesti jetre, primarne bilijarne ciroze i sl. U urednoj, fiziološkoj trudnoći u trećem tromjesečju alkalna fosfataza raste i placentarnog je porijekla, dio nastaje zbog novog koštanog rasta.[227]

Koncentracije ukupnog bilirubina su snižene tijekom cijele trudnoće.[254,258]

Koncentracije slobodnog bilirubina su snižene kod trudnica u usporedbi s vrijednostima kod žena koje nisu trudne tijekom svih tromjesečja, isto kao i koncentracije konjugiranog bilirubina koje su snižene u drugom i trećem tromjesečju.[254] Hemodilucija je bar parcijalno, odgovorna za pad koncentracije bilirubina obzirom da je albumin protein koji transportira bilirubin.

Aktivnost **GGT** u normalnoj trudnoći je nepromijenjena, odnosno blago snižena u drugom i trećem tromjesečju u usporedbi s ne-trudničkom populacijom. Enzim GGT sudjeluje u transportu amnokiselina i peptida preko stanične membrane i vjerojatno sudjeluje u metabolizmu glutationa.

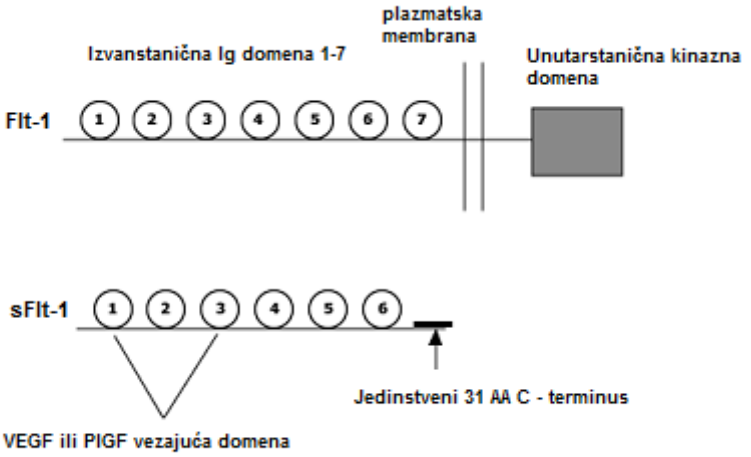
Najveće koncentracije tog enzima se nalaze u jetri i bilijarnom traktu, smatra se senzitivnim indikatorom hepatobilijarnog oštećenja, posebno kod alkoholičara.[227]

Bacq i suradnici u svojoj studiji nisu našli razlike u prvom tromjesečju između serumskog GGT trudnica i žena koje nisu trudne te ne uzimaju oralne kontraceptive. Zabilježili su statistički značajan blagi pad tijekom drugog i trećeg tromjesečja kod trudnica.[254] Značajan pad aktivnosti GGT u serumu je zabilježen u kasnoj trudnoći u usporedbi s uzorcima dobivenih u ranoj trudnoći kod žena s jutarnjim mučninama.[258] Također, zabilježena je povećana aktivnost GGT u ranoj trudnoći kod trudnica s virusnim hepatitisom u usporedbi s trudnicama u kasnijim tjednima trudnoće s istom bolešću.[259] Ti nalazi sugeriraju da spolni hormoni mogu djelovati inhibitorno na jetrenu sintezu GGT, što dovodi do smanjenja GGT u kasnijim tjednima trudnoće. Kao zaključak, možemo reći da su u urednoj trudnoći (osim alkalne fosfataze), vrijednosti jetrenih parametara niže od vrijednosti za ne-trudničku populaciju.

2.6.1.1.6 PlGF, sFlt-1 i preeklampsija

Topljiva fms slična tirozin kinaza 1 (*eng; soluble fms like tyrosin kinase1, sFlt-1*) znana još i kao sVEGFR-1 je prirodni, cirkulirajući antagonist za vaskularni endotelijalni čimbenik rasta (*engl; vascular endothelial growth factor, VEGF*) i placentarni čimbenik rasta (*engl; placental growth factor, PlGF*) otkriven početkom 90-ih godina pregledom ljudske placentarne cDNA biblioteke.[260]

Prozvodi se uglavnom u placenti, manje količine proizvode se u endotelijalnim stanicama, odnosno monocitima.



Slika 9. Proteinska struktura Flt-1 i sFlt-1
Proteinska struktura VEGF receptora i PIGF receptora, Flt-1 i sFlt-1 su prikazani. Flt-1 ima 7 imunoglobulinskih domena (lgG) za koje se misli da posreduju vezanje liganda na VEGF i PIGF. sFlt-1 protein ima jedinstvenu 31 AA C-terminalnu regiju dobivenu alternativnim prekrajanjem te nema transmembransku i citoplazmatsku domenu. Preuzeto i modificirano iz: Karumanchi SA, Lim KH, August P. Pathogenesis of preeclampsia. Dostupno na: http://www.uptodate.com/pathogenesisofpreeclampsia via Internet (Rujan 2011).[153]

Vaskularni endotelijalni čimbenik rasta je endotelijalni specifični mitogen koji ima ključnu ulogu u razvoju angiogeneze.[261,262] Njegove aktivnosti su primarno posredovane preko interakcije sa dva visoko afinitetna tirozin kinaza receptora uključenih u angiogenezu i to VEGFR-1 (*engl; VEGF receptor-1 ili fms-like tyrosine kinase-1[Flt-1])* i VEGFR-2 (*engl; kinase-insert domain region [KDR]/Flk-1*), koji su selektivno izraženi na površini vaskularnih endotelijalnih stanica.

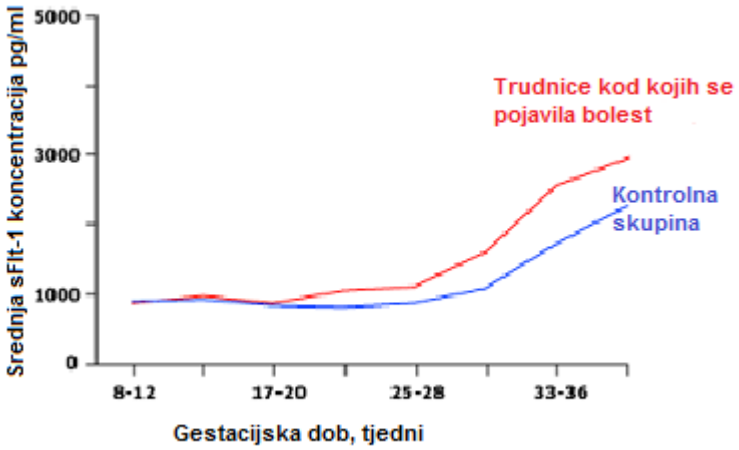
VEGFR-1 ima dvije izoforme: transmembranoznu i topljivu izoformu (sFlt-1 ili sVEGFR-1). Smatra se da je VEGFR-1 ima oko 10 puta slabiju aktivnost kinaze u usporedbi s VEGFR-2.

PlGF je član VEGF obitelji koji se dominantno stvara u placenti (pronađen i u endotelijalnim stanicama, NK stanicama, stanicama koštane srži, keratinocitima) te se veže isključivo na VEGFR-1 receptor.

Poznajemo četiri skraćena oblika placentarnog čimbenika rasta, PlGF-1, PlGF-2, PlGF-3, PlGF-4. PlGF je po svoj veličini mali protein (~30 kDa) tako da se filtrira u urin i bez prisutnog bubrežnog oštećenja.[162] Smatra se da je glavni učinak PlGF na placentarnu angiogenezu u sinergističkom djelovanju s VEGF čimbenikom. Vežući se na VEGFR-1 receptor istiskuje, premješta VEGF koji ostaje slobodan te je na dispoziciji za aktivaciju VEGFR-2, koji ima potentnu aktivnost kinaze. [263] sFlt-1 je antagonist proangiogene biološke aktivnosti cirkulirajućeg VEGF i PlGF; vežući se na njih onemogućava njihovu interakciju sa odgovarajućim receptorima.

Čini se da povećana placentarna ekspresija i sekrecija sFlt-1 igra glavnu ulogu u patogenezi preeklampsije,[142,146,161,264,265] a temelji se na sljedećim opservacijama:

- sFlt-1 apliciran trudnim ženkama štakora inducira albuminuriju, hipertenziju i pojavu glomerularne endotelioze.
- In vitro, odstranjenjem sFlt-1 iz supernatanta kulture preeklamptičnog tkiva vraća se endotelijana funkcija i angiogeneza na normalnu razinu. Obrnuto, egzogena aplikacija VEGF i PlGF mijenja antiangiogeno stanje inducirano viškom sFlt-1.
- U usporedbi s normotenzivnim trudnicama, kod preeklampsije je cirkulirajuća razina sFlt-1 povećana, a razina VEGF i slobodnog PlGF snižena. Studije su pokazale da pad razine PlGF i VEGF nastupa dosta ranije od pojave kliničke manifestacije preeklampsije.
- Podaci iz literature govore da promjene sFlt-1 imaju prediktivnu vrijednost u prognozi nastanka preeklampsije.[161]
- Vrijednosti sFlt-1 rastu tijekom trudnoće u svih trudnica.
- U usporedbi s normotenzivnim kontrolama, trudnice koje će razviti preeklampsiju pokazuju raniji porast koncentracije sFlt-1 (od 21 do 24 tjedna trudnoće u odnosu na period od 33 do 36 tjedna kod normotenzivnih kontrola) i više vrijednosti.[161]

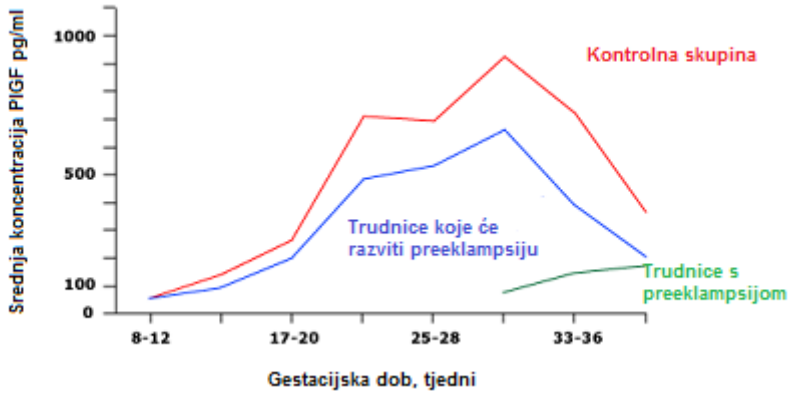


Slika 10. Koncentracija sFlt-1 kod trudnica s preeklampsijom i u kontrolnoj skupini
Preuzeto i modificirano iz: Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, et al. Circulating angigenic factors and the risk of preeclampsia. N Engl J Med. 2004;350(7):672-683.[161]

Levine i suradnici u svom radu su utvrdili da razina sFlt-1 počinje rasti pet tjedana prije kliničke manifestacije preeklampsije.[161]

Koncentracija sFlt-1 kod trudnica s preeklampsijom je bila tri puta viša nego kod normotenzivnih kontrola, s tim da je razina sFlt-1 korelirala s težinom bolesti.[161] Razina PlGF

i VEGF je opadala istovremeno s porastom sFlt-1, što može biti povezano vezanjem spomenutih čimbenika na sFlt-1.[161]



Slika 11. Koncentracija PIGF u različitim skupinama
Preuzeto i modificirano iz: Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, et al. Circulating angigenic factors and the risk of preeclampsia. N Engl J Med. 2004;350(7):672-683.[161]

U drugoj studiji, koncentracija sFlt-1 (sVEGFR-1) korelira s težinom bolesti: sFlt-1 koncentracije su bile više u trudnica s teškom ili ranom (<34 tjedana) preeklampsijom nego u onih s blagom ili kasnom preeklampsijom. Nadalje, trudnice s preklampsijom su imale višu razinu sFlt-1 nego žene koje su ostale normotenzivne dva do pet tjedana prije razvoja kliničke slike preeklampsije.[265]

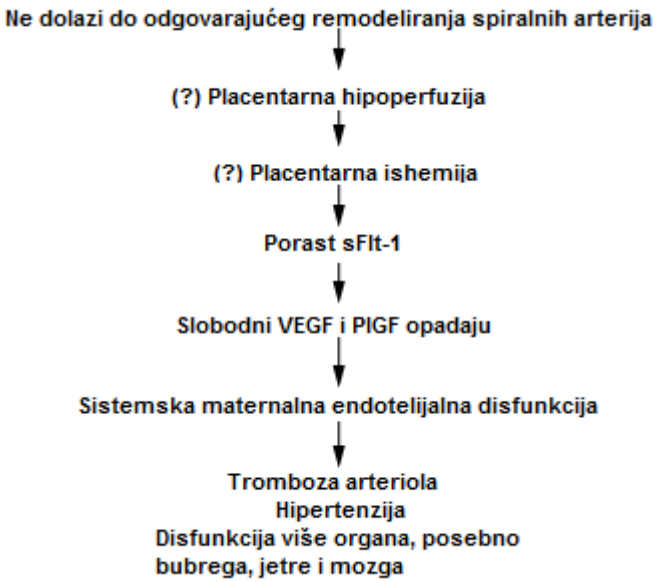
Navedene opservacije sugeriraju glavnu ulogu sFlt-1 u patogenezi, bar nekih značajki preeklampsije, iako "trigger" za povećanu placentarnu produkciju sFlt-1 nije posve znan.[163] Prema podacima iz literature najvjerojatnije je ishemija odgovorna (slika 5).[266]

In vitro placentarni citotrofoblast ima sposobnost povećati produkciju sFlt-1 kad je opskrba s kisikom reducirana.[267]

Povećana ekspresija hipoksijom induciranih transkripcijskih faktora (HIFs) kod posteljica dobivenih od trudnica s preeklampsijom je u skladu s tom hipotezom.[268]

2.6.1.1.7 Hipoteza uloge sFlt-1 u nastanku preeklampsije

Nije razjašnjeno je li povećana sekrecija sFlt-1 odgovorna za rane placentarne razvojne nepravilnosti karakteristične za preeklampsiju ili je to posljedica sekundarnog odgovora na placentarnu ishemiju prouzročenu nekim drugim čimbenikom (Slika 12).
Genetski čimbenici vjerojatno mogu doprinijeti povećanoj produkciji sFlt-1 kao i veličina placente (višeplodna trudnoća).[269]



Slika 12. Shematski prikaz uloge sFlt-1 u nastanku preeklampsije
Preuzeto i modificirano iz: Karumanchi SA, Lim KH, August P. Pathogenesis of preeclampsia. Dostupno na: http://www.uptodate.com/pathogenesisofpreeclampsia via Internet (Rujan 2011).[153]

Kliničke aplikacije spomenutih opservacija još nisu zaživjele u praksi. U budućnosti je za očekivati preventivne i terapeutske postupke koji bi snižavali koncentraciju sFlt-1 preko neke vrste afereze ili lijekova koji na sebe vežu sFlt-1.[270]

Određivanje serumskog sFlt-1 još uvijek je u fazi istraživanja i njegova upotrebljivost u predikciji preeklampsije mora biti valorizirana u prospektivnoj, longitudinalnoj studiji.

Mjerenje omjera sFlt-1:VEGF ili (sFlt-1:PlGF) u urinu je vjerojatno najbolja, najjednostavnija opcija za probirnu metodu kojom bismo pokušali identificirati trudnice s visokim rizikom za nastanak preeklampsije i ujedno potvrdili kliničku dijagnozu.

3 MATERIJALI I METODE

3.1 Ispitanice

3.1.1 Prva studija - retrospektivna

Prvi dio istraživanja, odnosno prva studija je retrospektivna i obuhvaća laboratorijske i antropološke nalaze 208 trudnica dobivene u trećem tromjesečju trudnoće; spomenute trudnice su bile hospitalizirane u razdoblju od siječnja 2002 do prosinca 2007 godine na Ginekološko - porodničkom odjelu celjske bolnice. Od tih 208 trudnica, kod njih 113 je dijagnosticirana preeklampsija, dok kontrolnu skupinu čini 95 zdravih trudnica, s nekompliciranim, urednim trudnoćama, također u trećem tromjesečju trudnoće (32 – 41 tjedan trudnoće).

Unutar skupine od 113 trudnica s preeklampsijom, kod njih 23 je bila dijagnosticirana teška preeklampsija. Zbog relativno malog broja uzoraka, blage i teške preeklampsije svrstane su u istu skupinu.

Dijagnoza preeklampsije je postavljena na podlozi trenutno važećih smjernica (novonastala hipertenzija i proteinurija nakon 20-og tjedna trudnoće kod prethodno normotenzivne trudnice); pacijentice s superponiranom, nakalemljenom preeklampsijom su također uključene u studiju.

Pacijentice s dijagnosticiranim HELLP sindromom te eklampsijom nisu uključene u studiju, jer je bio cilj fokusirati se na preeklampsije. Također, pacijentice s preeklampsijom i pratećim bolestima (bilo koji oblik šećerne bolesti, sistemski lupus eritematodes, ili bilo koja druga kronična bolest) nisu uključene u studiju.

Uredna trudnoća je prepoznata na temelju odsustva kliničkih, biokemijskih i ultrazvučnih patoloških nalaza.

3.1.2 Druga studija - prospektivna

Druga studija je prospektivna i sadrži podatke 69 trudnica dobivenih u drugom i trećem tromjesečju trudnoće (20 – 41 tjedan trudnoće).

Spomenute sudionice su bile hospitalizirane na Ginekološko – porodničkom odjelu celjske bolnice, u razdoblju od lipnja 2010 do studenog 2011.

Kao i u prvoj studiji pacijentice su podijeljene u dvije skupine i to trudnice s preeklampsijom, njih 34 i kontrolna skupina od 35 trudnica koje nisu razvile preeklampsiju.
U ovu studiju smo uključili one trudnice koje su zadovoljavale sljedeće kriterije:

- trudnice starije od 40 godina,
- nulipare,
- dijagnosticirana preeklampsija u prethodnoj/prethodnim trudnoćama,
- BMI ≥ 35,
- dijastolički tlak ≥ 80 mm Hg,
- pozitivna obiteljska anamneza za preeklampsiju,
- trudnice s prethodno dijagnosticiranom hipertenzijom odnosno novonastalom hipertenzijom u trudnoći,
- normotenzivne trudnice s proteinurijom ≥ 300mg/24h,
- trudnice s razmakom između dviju trudnoća dužim od 10 godina.

U studiju nisu uključene hipertenzivne trudnice s manifestnom proteinurijom, te one s pratećim kroničnim bolestima koje povisuju rizik za pojavu preeklampsije (šećerna bolest, bubrežne bolesti, prisutnost antifosfolipidnih antitijela…).

3.2 Metode rada

3.2.1 Prva studija - retrospektivna

U prvoj, retrospektivnoj studiji podaci su prikupljeni pregledom arhivskog materijala Ginekološko - porodničkog odjela Opće bolnice Celje. Pregledani su porodni zapisnici od početka 2002-e godine do kraja 2007-e godine; pregledom je obuhvaćeno otprilke 8000 - 9000 porodnih zapisnika. U studiju su uključene samo one trudnice koje su zadovoljavale navedene, trenutno važeće kriterije za dijagnozu preeklampsije. Također uvjet je bio i napravljen biokemijsko - hematološki profil u potpunosti te ispunjen porodni zapisnik, kako za ispitivanu skupinu, tako i za kontrolnu skupinu nekompliciranih, urednih trudnoća.
Nekompletni porodni zapisnici nisu uključeni u studiju, kao niti oni primjeri kod kojih je preeklampsija bila udružena s drugom bolešću.

Nadalje, uvjet je bio da je trudnica u vrijeme uzimanja uzoraka bila u trećem tromjesečju trudnoće, točnije u vremenskom razdoblju od 32-og do konca 41-og tjedna trudnoće.

Kod svih trudnica uključenih u studiju analizirani su sljedeći pokazatelji:
krvna grupa, tjedni trudnoće, indeks tjelesne mase, porast tjelesne težine u trudnoći te prosječni dijastolički i sistolički krvni tlakovi u trudnoći, proteinurija, urati, urea, kreatinin, hemoglobin, hematokrit, broj eritrocita, trombocita, leukocita, ALT, AST, GGT, bilirubin te alkalna fosfataza u serumu (Tablica 9).

Standardni hematološko - biokemijski parametri određivani su unutar jednog tjedna prije poroda (srednja vrijednost 3,5 dana).

Biokemijski parametri (ALT, AST, GGT, ukupni bilirubin, urea, kreatinin, urati i alkalna fosfataza) određivani su auto analizatorom (Modular, Roche Diagnostics, Basel, Švicarska), a upotrebljavali su se komercijalni kitovi istog proizvođača.

Enzimatske katalitičke koncentracije izvorno su bile iskazane u μkat/l na 37ºC, ali zbog rasprostranjene primjene u kliničkoj praksi pretvorene su u U/L (1 U/L odgovara 16,67 nkat/L).[271]

Hematološki parametri (eritrociti, leukociti, trombociti, hemoglobin i hematokrit) analizirani su Coulter STKS analizatorom s reagensima od istog proizvođača (ISOTONIN III, LYSE S III DIFF, I SCATTER PAK), (Fullerton, California).

Svi uzorci analizirani su na Odjelu za laboratorijsku dijagnostiku, Opće bolnice Celje.

3.2.2 Druga studija - prospektivna

Sudjelovanje u drugoj, prospektivnoj studij ponuđeno je trudnicama koje su bile hospitalizirane na Odjelu za patološku trudnoću, Ginekološko - porodničkog odjela celjske bolnice i zadovoljavale su navedene kriterije za uključenje u studiju.

Uz pismeni pristanak trudnica te uz odobrenje Komisije za medicinsku etiku R. Slovenije uključili smo ih u ispitivanje.

Tijek trudnoća je praćen uobičajenim mjerama antenatalne skrbi (anamneza, mjerenje krvnog tlaka, ginekološki pregledi, laboratorijske pretrage, UZV pregledi, kardiotokografija).

U **drugoj** studiji obradili smo 69 trudnica; kod njih 34 dijagnosticirana je preeklampsija a kao kontrolnu grupu upotrijebili smo preostalih 35 trudnica uključenih u studiju koje nisu razvile preeklampsiju.

Određivane su serumske koncentracije PlGF-a, sFlt-1 te standardni hematološko - biokemijski parametri.

Kao i kod prve studije analizirali smo krvne grupe, tjedne trudnoće, indeks tjelesne mase, porast tjelesne težine u trudnoći te prosječne dijastoličke i sistoličke krvne tlakove u trudnoći, proteinuriju, urate, ureu, kreatinin, hematokrit, hemoglobin, eritrocite, trombocite, leukocite, AST, ALT, GGT, bilirubin, alkalnu fosfatazu.

Dodatno smo određivali u odnosu na prvu studiju, osim PlGF i sFlt-1 u serumu i LDH u serumu (određivan je ukupni LDH, izoenzimi nisu određivani), zatim proteine u urinu, omjer proteina i kreatinina u urinu te kreatinin u urinu.

Novouvedeni parametar u drugoj studiji je i BSA (*engl. body surface area*), tjelesna površina prije i nakon poroda, kojeg smo poput indeksa tjelesne mase izračunali iz tjelesne težine i visine trudnica.

Formula za BSA po Du Boisu:

$$\textbf{BSA (m}^2\textbf{) = 0.20247 x Visina (m)}^{0,725}\textbf{ x Težina (kg)}^{0,425}$$

U drugom dijelu studije nismo se ograničili samo na treće tromjesečje; uključene su trudnice od navršenog 20 tjedna trudnoće, pa nadalje.

Skupine su podijeljene obzirom na gestacijske tjedne trudnoće (≤ 34 tjedna trudnoće) odnosno na kasnu i ranu preeklampsiju.

Iako je uzorak malen (n=69), takva statistička obrada je napravljena zbog visoke cijene određivanja koncentracije angiogenih čimbenika, te činjenice da su veće studije u kojima su se analizirali angiogeni čimbenici - rijetke.

Princip statističke obrade u drugoj studiji je u potpunosti identičan onom primjenjenom u prvoj studiji; za svaki pojedini parametar izračunat je stupanj razlike između ispitivane i kontrolne skupine.

Nakon toga, kao i u prvom dijelu studije napravljena je ROC analiza za odabrane parametre, da bismo na koncu pomoću logističke regresije prikazali najuspješnije modele.

Kao i u prvoj studiji svi uzorci obrađeni su na Odjelu za laboratorijsku medicinu Opće bolnice Celje.

Serumske vrijednosti PlGF i sFlt-1 određivale su se pomoću ECLIA (electrochemiluminiscence immunoassay) tehnike, komercijalnim kitom Cobas®, (Roche Diagnostics GmbH D-68298 Mannheim).

Standardni hematološki i biokemijski parametri određivani su na identičan način kao i u prvoj studiji (Tablica 9).

Tablica 9. Opis ispitanih skupina

PARAMETRI	*I studija*	*II studija*
RR ss, RR ds	DA	DA
PlGF, sFlt-1	-	DA
Urati	DA	DA
Urea	DA	DA
Kreatinin	DA	DA
LDH	-	DA
AST, ALT	DA	DA
Hemoglobin (Hb), Hematokrit (Hct)	DA	DA
Eritrociti (E), Leukociti (L)	DA	DA

GGT, Bilirubin, Alkalna fosfataza	DA	DA
Proteini u urinu	-	DA
Omjer proteina i kreatinina u urinu	-	DA
Kreatinin u urinu	-	DA
Proteini u urinu/test traka	DA	DA
BMI pp, BMI np	DA	DA
Paritet, Krvna grupa	DA	DA

Za svaku trudnoću zabilježen je način dovršenja poroda, definitivne dijagnoze u trudnoći kao i podaci vezani uz spol, porodnu težinu i dužinu novorođenčadi.

3.3 Statistička analiza

Za statističku obradu podataka upotrijebljen je statistički paket MedCalc za Windows 9.3.9.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgija).

Podaci su najprije obrađeni deskriptivnim metodama, prikazani tablično i grafički, a distribucije kvantitativnih obilježja testirane su na normalnost Kolmogorov-Smirnovljevim testom (razina $p<0,05$ smatrana je značajnom) i na homogenost varijanci različitih grupa.

Za prikaz podataka rabile su se mjere centralne tendencije i raspršenosti primjerene nađenim raspodjelama (medijan i raspon te centilne vrijednosti u slučaju raspodjela koje nisu normalne, a aritmetička sredina i standardna devijacija u slučaju normalnih raspodjela).

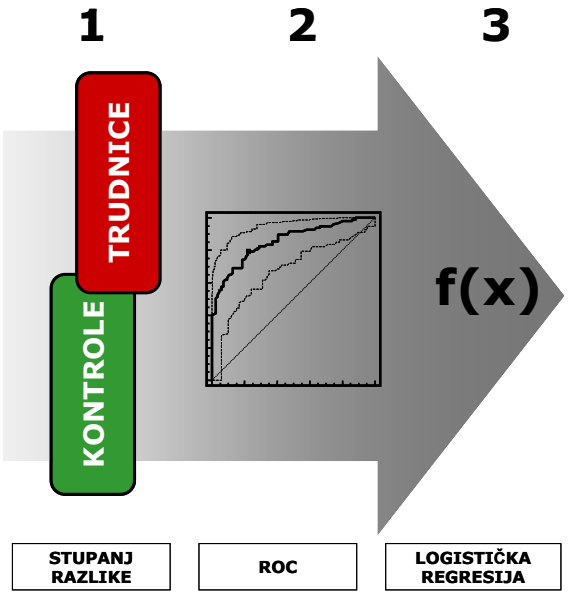
Za testiranje razlike kvantitativnih varijabli između dviju skupina ispitanika upotrijebljen je Studentov t-test, a u slučaju više skupina analiza varijance (ANOVA). U slučaju da raspodjele nisu normalne, rabili su se neparametrijski Mann-Whitneyjev i Kruskall-Wallisov test.

Kao što je navedeno, princip statističke obrade u prvoj i drugoj studiji je u potpunosti identičan; za svaki pojedini parametar izračunat je stupanj razlike između ispitivane i kontrolne skupine.

Za one parametre, odnosno varijable koje su pokazale statistički značajnu razliku, dodatno smo izračunali ROC (*engl; receiver operating characteristics*) krivulje.

Parametri koji su demonstrirali najbolje rezultate ROC analizom, dodatno su analizirani logističkom regresijom, te su korišteni pri izradi optimalnih panela za predikciju nastanka preeklampsije.

Grafički prikaz principa primjenjene statističke analize u prvoj, retrospektivnoj ali i drugoj, prospektivnoj studiji prikazuje Slika 13.



Slika 13 Princip primjenjene statističke analize.
Grafički, prikaz principa trostupanjske statističke analize koja je bila primjenjena u obje studije. Zeleno polje opisuje skupinu trudnica s urednom, nekompliciranom trudnoćom, dok crveno opisuje skupinu trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom u odgovarajućim tjednima trudnoće. Izabrani parametri podvrgnuti su daljnem testiranju ROC analizom, dok su najbolji parametri kombinirani i korišteni u kreiranju optimalnih laboratorijskih, odnosno laboratorijsko – antropoloških panela.

4 REZULTATI

4.1.1 Prva studija - retrospektivna

Rezultati prve, retrospektivne studije, rađene na uzorcima dobivenih od trudnica u trećem tromjesečju, prikazani su tablično i grafički.

Tablica 10 prikazuje deskriptivne podatke za sve ispitivane parametre; istaknuti su oni parametri koji su pokazali statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina; te su prema već spomenutom principu podvrgnuti daljnjem testiranju.

Također, u istoj tablici nalazi se podatak (Dani do dijagnoze) za skupinu trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom koji opisuje srednju vrijednost vremenskog perioda uzimanja uzoraka (3,5 dana prije nastanka preeklampsije) prije pojave bolesti.

Spomenuti vremenski "prozor" od 3,5 dana od uzimanja uzorka do definitivne dijagnoze preeklampsije s kliničkog aspekta je vrlo značajan, jer omogućuje opstetričaru dovoljno vremena da s određenim terapijskim postupcima utječe na ishod trudnoće, te čini cjelokupnu statistiku smislenom.

Pregledom podataka iz Tablice 10, vidljivo je da su izmjereni srednji sistolički i dijastolički tlak bili viši u skupini trudnica s preeklampsijom u usporedbi s vrijednostima izmjerenim u skupini trudnica s urednom, nekompliciranom trudnoćom ($p< 0,05$).

Spomenute statističke značajne razlike u izmjerenim srednjim sistoličkim i dijastoličkim tlakovima između ispitivanih skupina su očekivane, obzirom da se radi o dijagnostičkom kriteriju, tako da tlak kao parametar nije korišten u daljnjoj statističkoj obradi.

Proteinurija kao parametar nije prikazana u Tablici 10, jer je poput povišenog krvnog tlaka obavezan dijagnostički kriterij i mora biti prisutna kod svih uzoraka dobivenih od trudnica s preeklampsijom prema važećim kriterijima, te negativna kod trudnica s urednom, nekompliciranom trudnoćom.

Iako bi bilo smisleno statistički obraditi podatke kod preeklampsija s kvantificiranom proteinurijom, pogotovo kod studija koje bi imale skupine s teškom i blagom preeklampsijom, takva statistička obrada u prvoj studiji ne bi bila moguća.

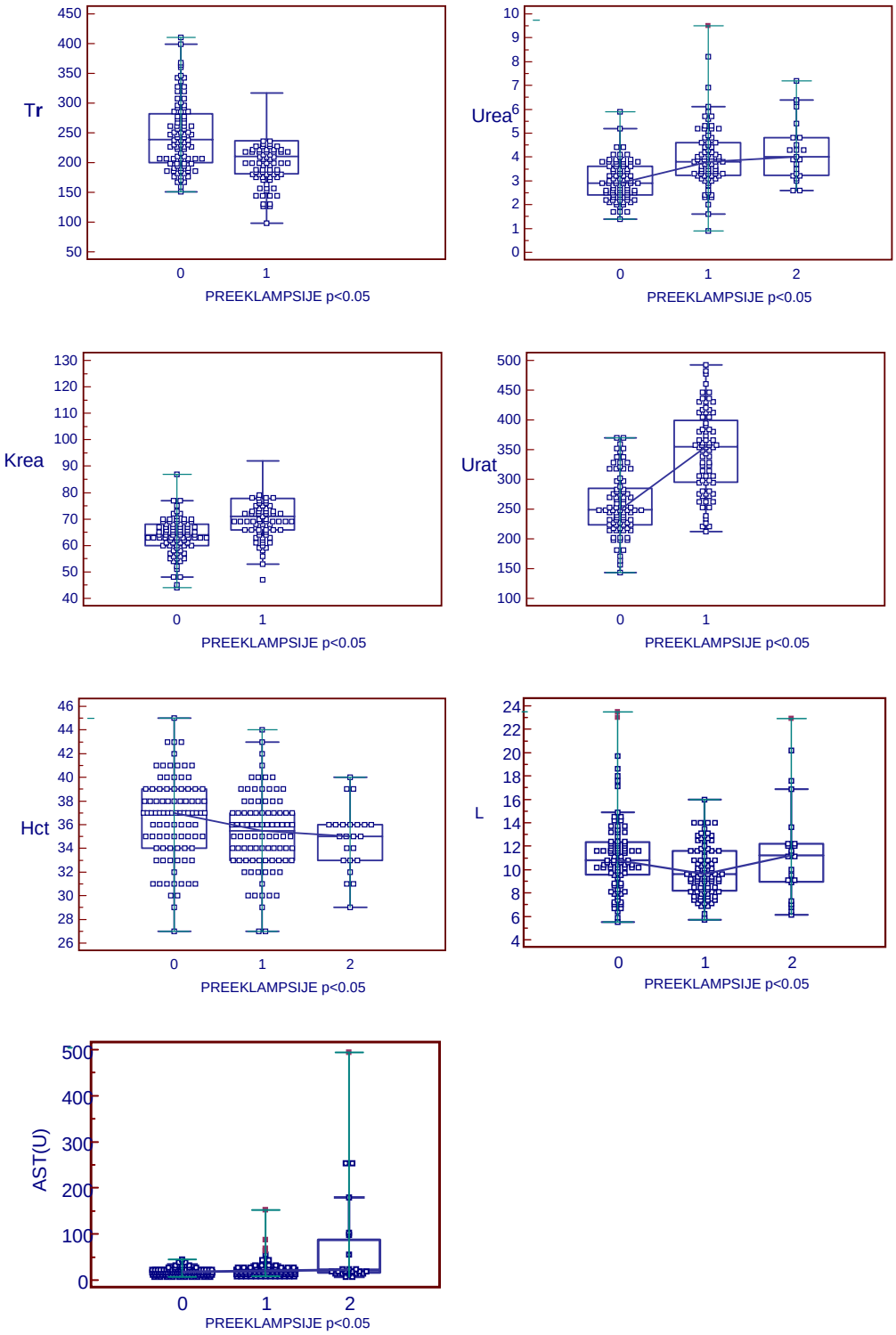
Činjenica je da većina trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom nije imala kvantificiranu proteinsku ekskreciju (određeni proteini u 24 satnom urinu) iz niza razloga, te zbog relativno malog broja teških preeklampsija (n=23), sve su trudnice s preeklampsijom (blagom i teškom) svrstane u istu skupinu.

Tablica 10. Deskriptivna statistika testiranih parametara i razlike između kontrolne i ispitne skupine

	KONTROLE						*PREKLAMPSIJA*						*Razlika*
	N	**Sr. vr.**	**95% CI**	**SD**	**Median**		**N**	**Sr. vr.**	**95% CI**	**SD**	**Median**		**P vrijednost**
Dob (godine)	94	**27,6**	26,64 - 28,66	4,9	27,0		113	**28,2**	27,26 - 29,16	5,1	28,0	*	0,349
Tjedni trudnoće	95	**38,6**	38,14 - 39,08	2,3	39,0		113	**38,1**	37,71 - 38,41	1,9	38,0		0,060*
Dani do dijagnoze	-	-	-	-	-		112	3,5	2,71 – 4,23	4,0	2,0		-
RRds (mmHg)	95	**74**	71,78 - 75,59	9,0	75	*	113	**91**	89,37 - 92,48	8,0	90	*	<0,001*
RRss (mmHg)	95	**122**	119,99 - 124,78	12,0	120	*	113	**143**	141,05 - 145,67	12,0	140		<0,001*
Urati (umol/L)	86	**258**	247,48 - 269,02	50,0	250	*	97	**353**	338,66 - 366,69	70,0	360	*	<0,001*
Kreatinin (umol/L)	88	**63**	61,93 - 64,89	7,0	64	*	102	**72**	70,21 - 74,08	10,0	72		<0,001
Trombociti (10^3/L)	95	**249**	237,44 - 261,29	59,0	240		113	**212**	201,83 - 221,34	52,0	206		<0,001
Urea (mmol/L)	88	**3,0**	2,84 - 3,18	0,8	2,9		102	**4,1**	3,81 - 4,32	1,3	3,9		<0,001
Leukociti (10^9/L)	94	**11,3**	10,62 - 11,94	3,2	10,8		113	**10,2**	9,67 - 10,7	2,8	9,6		0,004
Hct (%)	95	**37**	35,83 - 37,23	3,0	37	*	112	**35**	34,59 - 35,76	3,0	35	*	0,003*
AST (U/L)	93	**20**	18,82 - 21,62	7,0	19		109	**38**	26,11 - 50,55	64,0	22		0,015
Hb (g/L)	95	**121**	118,86 - 123,61	12,0	123	*	113	**118**	116,08 - 120,23	11,0	117	*	0,054*
Eritrociti (10^12/L)	95	**4,2**	4,07 - 4,22	0,4	4,2	*	113	**4,1**	3,98 - 4,12	0,4	4,1	*	0,058*
ALT (U/L)	93	**13**	11,70 - 14,14	6,0	11		109	**35**	18,35 - 51,87	88,0	12		0,108
GGT (U)	92	**10**	8,8 - 10,88	5,0	9		105	**14**	10,8 - 16,54	15,0	9		0,135
Porast težine (kg)	85	**15,9**	14,67 - 17,06	5,6	15,0	*	99	**17,1**	15,86 - 18,35	6,2	17,0		0,292
BMI PP (kg/m2)	89	**26,6**	25,33 - 27,83	5,9	25,3		108	**27,3**	26,2 - 28,49	6,0	25,5		0,334
AP (U/L)	92	**171**	156,86 - 184,52	67,0	156		105	**182**	166,15 - 197,72	82,0	168		0,357
Bilirubin (umol/L)	90	**6,5**	5,74 - 7,19	3,5	5,9		107	**6,8**	5,9 - 7,64	4,5	5,4		0,394

N- broj sudionica. SD – standardna devijacija. p – razina statističke značajnosti itmeđu grupa: '*' označava nezavisne uzorke t-testa za normalno distribuirane parametere; značajnost razlike je izračunata s Mann Whitney testom ; parametri u kurzivu su statistički značajni.

Kod standardnih hematološko – biokemijskih parametara, serumske vrijednosti urata (p<0,001), kreatinina (p<0,001), uree (p<0,001), i AST (p<0,015) su bile značajno više kod trudnica s preeklampsijom u usporedbi s vrijednostima dobivenim u kontrolnoj skupini.



Slika 14. Utvrđivanje stupnja razlike od pojednih parametara
0 – kontrole; 1 – blaga preeklampsija; 2 – teška preeklampsija; Tr – trombociti; Krea. – kreatinin; Hct. – hematokrit; L – leukociti; AST – aspartat aminotransferaza

Vrijednosti trombocita (p<0,001), hematokrita (p<0,03) i leukocita (p<0,04) su bile statistički značajno niže u usporedbi s vrijednostima izračunatim u kontrolnoj skupini iako vrijednosti za leukocite nisu konzistentno pratile težinu bolesti.

Standardni hematološko - biokemijski parametri koji nisu pokazali statistički značajnu razliku (p>0,05) bili su ALT, bilirubin, alkalna fosfataza, gama glutamiltransferaza, hemoglobin i eritrociti.

Također, antropološki parametri - životna dob, indeks tjelene mase (BMI), i paritet nisu pokazali statistički značajnu razliku između istraživane i kontrolne skupine.

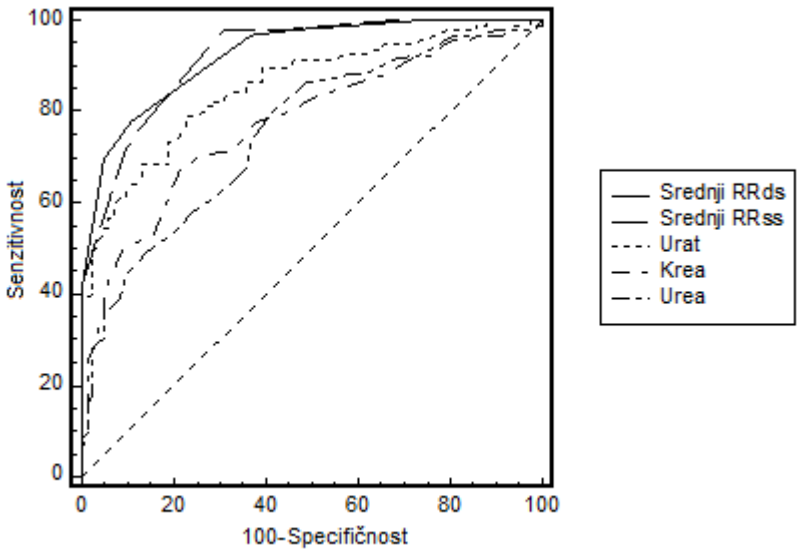
Parametri koji su pokazali statistički značajnu razliku između dviju skupina (urati, trombociti, urea, kreatinin, hematokrit, aspartat aminotransferaza i leukociti) su testirani ROC analizom (Tablica 11).

Tablica 11. ROC analiza testiranih parametara

	Nc	*Np*	*AUC*	*95%CI*	*P (AUC=0.5)*	*c/o*
RRds (mmHg)	95	113	**0,909**	0,862 - 0,945	<0,001	>80
RRss (mmHg)	95	113	**0,905**	0,857 - 0,941	<0,001	>130
Urati (umol/L)	86	97	**0,856**	0,796 - 0,903	<0,001	>288
Kreatinin (umol/L)	88	102	**0,785**	0,720 - 0,841	<0,001	>68
Urea (mmol/L)	88	102	**0,771**	0,705 - 0,829	<0,001	>3,2
Trombociti (10^3/L)	95	113	0,686	0,619 - 0,749	<0,001	<=229
Hematokrit (%)	95	112	0,627	0,557 - 0,693	<0,001	<=36
Leukociti (10^9/L)	94	113	0,618	0,548 - 0,684	0,003	<=10,1
AST (U/L)	93	109	0,599	0,528 - 0,667	0,012	>21,6
Hemoglobin (g/L)	95	113	0,591	0,521 - 0,658	0,022	<=122

Nc– N (kontrole), Np – N (pacijenti), AUC – Površina ispod krivulje, c/o – granične vrijednosti

Usporedba ROC krivulja za RRss i RRds, urate, ureu, i kreatinin je pokazala značajnu razliku između svih vrijednosti (p<0,05), osim između uree/kreatinina i RRss/RRds koji su imali preklapajuće vrijednosti.



Slika 15. ROC krivulja izabranih standardnih hematološko biokemijskih parametara
Prikazane su krivulje samo za one parametre s AUC > 0,7, s tim da tlakovi (srednji sistolički i dijastolički) nisu korišteni u logističkoj regresiji, jer su uz proteinuriju obavezni dijagnostički kriteriji za dijagnozu preeklampsije.

4.1.1.1 Logistička regresija

U svrhu procjene nastanka preeklampsije isti parametri su primjenjeni u analizi logističkom regresijom (bez proteinurije i krvnih tlakova koji su dijagnostički kriteriji).

Na podlozi rezultata dobivenih logističkom regresijom, **upotrebljavajući samo urate i ureu**, uspješno smo klasificirali 79,6% sudionica u studiji (podaci nisu grafički prikazani). Da bi istražili koji su parametri najviše doprinjeli regresijskom modelu, napravljene su dodatne analize logističkom regresijom.

Optimalni laboratorijski model koji je u sebi pored urata i uree uključio i trombocite, hematokrit, leukocite te aspartat aminotransferazu je pravilno klasificirao 83,8% sudionica (Tablica 12).

Tablica 12. Logistička regresija (bez RRds)

	Veličina uzorka	***Kontrole***	***Pacijenti***
Opis	179	85 (47,49%)	94 (52,51%)
Koeficijenti i razine značajnosti			
Varijabla	**Koeficijent**	**P**	
AST (U/L)	0,094	0,003	
Hematokrit (%)	-0,348	<0,001	
Leukociti (10^9/L)	-0,313	0,024	
Trombociti (10^3/L)	-0,011	0,028	
Urati (umol/L)	0,028	<0,001	
Urea (mmol/L)	0,877	0,002	
Konstanta	4,773		
Postotak pravilno klasificiranih: **83,8%** (koeficijent determinacije)			

Iz navedenog možemo zaključiti da su urati i urea demonstrirali najveći doprinos u stvaranju optimalnog laboratorijskog panela za predikciju preeklampsije u trećem tromjesečju, ostavljajući preostalim parametrima doprinos manji od 4% (aspartat aminotransferaza, hematokrit, leukociti, i trombociti). Omjeri rizika (Tablica 13) ukazuju na slab doprinos svakog pojedinačnog parametra (osim donekle uree za koju OR iznosi 2,4).

Tablica 13. Omjeri rizika za pojedine analite dobiveni logističkom regresijom

Varijabla	*OR*	*(95% CI)*
AST (U/L)	1,0989	1,0330 - 1,1691
Hematokrit (%)	0,7058	0,5907 - 0,8433
Leukociti (10^9/L)	0,7315	0,5574 - 0,9600
Trombociti (10^3/L)	0,9891	0,9794 - 0,9988
Urati (umol/L)	1,0284	1,0181 - 1,0388
Urea (mmol/L)	2,4045	1,3826 - 4,1817

4.1.2 Druga studija - prospektivna

Deskriptivna statistika analiziranih parametara druge studije kao i razlike između trudnica s preeklampsijom te kontrolne skupine prikazana je u tablicama (Tablica 14, Tablica 15); istaknuti su oni parametri koji su pokazali statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina.

Izračunata je statistički značajna razlika između ispitivanih skupina kod srednjeg sistoličkog (p=0,041), ali ne i dijastoličkog (p=0,301) tlaka.

Kao i u prvoj studiji, obzirom da se radi o obaveznom dijagnostičkom kriteriju, srednji sistolički tlak nije dalje statistički obrađivan.

Za razliku od prve u drugoj studiji su određeni parametri kojima je kvantificirana proteinska ekskrecija proteina u urinu, i koji su prema očekivanju pokazali statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina (omjer proteina i kreatinina u urinu, p<0,0001, proteini u urinu p=0,002).

Također, obzirom da je proteinurija obavezan dijagnostički kriterij te da ispitivane skupine nisu podijeljene na teške i blage preeklampsije (mali broj uzoraka), spomenuti parametri nisu korišteni pri izradi optimalnih panela za predikciju preeklampsije.

Tablica 14. Deskriptivna statistika testiranih parametara i razlike između kontrola i trudnica s preeklampsijom

	KONTROLE									PREEKLAMPSIJE									
	N	**Sr. vr.**	**95% CI**	**SD**	**Median**	**95% CI**	**Min**	**Max**		**N**	**Sr. vr.**	**95% CI**	**SD**	**Median**	**95% CI**	**Min**	**Max**		**p**
AP (U/L)	35	**156**	148,1 - 164,1	23	154	146,6 - 165,6	113	242		34	**181**	165,2 - 198,0	47	170	160,6 - 186,8	101	305		***0,005$***
ALT (U/L)	35	**9**	7,4 - 12,2	7	8	6,7 - 8,9	3	32		34	**12**	8,8 - 14,9	9	9	7,7 - 11,5	4	44		0,278$
AST (U/L)	35	**15**	12,2 - 18,6	9	13	11,4- 15,5	6	55		34	**20**	14,7 - 25,4	15	14	11,9 - 18,8	7	73		0,132$
BIL	35	**5,9**	5,1 - 6,8	2,5	5,2	4,8 - 5,9	2,9	14,0		34	**5,6**	4,7 - 6,5	2,5	5,2	4,2 - 5,9	2,4	13,6		0,593$
BMInp (kg/m2)	35	**33,9**	31,6 - 36,3	6,9	34,2	29,5- 36,1	21,8	50,2	*	34	**31,1**	29,5 - 32,8	4,6	31,2	28,6 - 32,7	22,8	41,9	*	0,054$
BMIpp (kg/m2)	35	**28,2**	25,9 - 30,6	6,9	26,6	24,6 - 30,78	16,9	45,0	*	34	**25,0**	23,5 - 26,6	4,5	23,7	22,1 - 26,2	18,8	36,0	*	***0,026$***
BSAnp (m2)	35	**2,0**	1,9 - 2,1	0,2	1,9	1,9 - 2,1	2	3	*	34	**1,9**	1,9 - 1,9	0	2	1,8 - 1,9	1,6	2,3	*	***0,013$***
BSApp (m2)	35	**1,9**	1,8 - 1,9	0,2	1,8	1,8 - 1,9	1,4	2,4	*	34	**1,7**	1,683 - 1,786	0,1	1,7	1,658 - 1,798	1,5	2,2	*	***0,005$***
Dob (godine)	35	**29,7**	28,3 - 31,2	4,2	29	28 - 31	22	39	*	34	**29,8**	27,7 - 31,8	5,8	30	27,0 - 31,2	18	42	*	0,948$
Er (10^12/L)	35	**4,0**	3,9 - 4,2	0,3	4,0	3,9- 4,2	3	5	*	34	**4,0**	3,9 - 4,1	0	4	3,9 - 4,3	3,1	4,5		0,8807#
GGT (U/L)	35	**129**	113,6 - 145,4	46,2	123,6	107,2 - 146,4	46,2	265,7	*	34	**144**	124,8 - 163,8	55,9	132,9	118,6 - 150,1	69,6	307,1		0,3162#
Hb (g/L)	35	**117**	114,3 - 120,2	8,6	118	114,2 - 122,3	100	133	*	34	**116**	112,2 - 119,5	10,5	116	113,8 - 122,0	92	131	*	0,560$
Hct (%)	35	**34**	33,3 - 34,9	2,3	34,0	33 - 35	29	38	*	34	**34**	32,8 - 34,7	3	33	32,8 - 35,0	27	39	*	0,570$
Krea (umol/L)	35	**55**	50,7- 59,1	12	53	49,2 - 56,0	38	88		34	**65**	61,2 - 70,1	13	68	56,8 - 72,2	43	96	*	***0,0006#***
L (10^9/L)	35	**10**	9,2 - 10,8	2,4	9,2	8,5 - 10,5	7	17	*	34	**9,7**	9,0 - 10,5	2	10	9,34 - 10,6	6	15	*	0,656$
LDH (U/L)	35	**924**	733,7 - 1114,9	555	756	683,7 - 926,9	360	3275		34	**1202**	881,8 - 1522,9	919	846	719,7 - 1128,1	396	4390		0,132$
PlGF	35	**154,3**	112,9 - 195,7	120,6	124,0	97,9 - 168,1	28,0	730,0		34	**80,412**	66,9 - 93,9	38,8	81,5	60,9 - 93,2	10,0	161,0	*	***0,001$***
PlGF/s-Flt1	35	**0,0586**	0,0310 - 0,0862	0,1	0,0	0,0189 - 0,0490	0,0	0,4		32	**0,00842**	0,0066 - 0,010	0,0	0,0	0,0059 - 0,0097	0,0	0,0	*	***0,001$***
PROTEINURIJA	35				0	0	0	2		34				2	0	0,0	4	*	-
sFlt-1	35	**4712,9**	3790,6 - 5635,3	2685,1	4674,0	3390,9- 5526,8	634,0	11660,0	*	32	**10961,062**	9287,7 - 12634,4	4641,3	10751,0	7982,9 - 11800,3	4323,0	19642,0	*	***< 0,001$***
sFlt-1/PIGF	35	**48,6**	32,3 - 64,9	47,4	33,6	20,4 - 52,8	2,4	194,0		32	**221,8**	118,6 - 325,1	286,4	121,8	102,9 - 167,9	49,6	1488,4		***0,001$***
Srednji RRds (mmHg)	35	**82**	79,4 - 85,7	9	80	80- 90	60	100	*	34	**85**	81,6 - 88,2	9	83	80- 90	60	100	*	0,301$
Srednji RRss (mmHg)	35	**133**	129,0 - 137,2	12	130	130- 140	100	155	*	34	**138**	135,3 - 141,6	9	140	130- 140	120	157	*	***0,041$***
Težinanp(kg)	35	**95**	87,4 - 102,7	22	91	85- 100	58	163		34	**84**	79,8 - 88,4	12	84	80 - 89	62	117	*	***0,0284#***
Težinapp (kg)	35	**79**	71,9 - 86,2	21	75	69,2 - 84,5	45	125	*	34	**67**	63,5 - 71,6	12	67	60 - 72	51	98	*	0,4479
Tjedni tr	35				38	35,6 - 39,0	20	41		34				37	35- 38	27	41		0,4479#
Tr (10^3/L)	35	**238**	214,4- 262,2	70	227	206,0- 252,5	35	378	*	34	**199**	180,8 - 217,5	53	190	175,0 - 219,3	78	328	*	***0,011$***
Trudnoća(1.,2.,3.,)	35				1,0	1 - 2	1	4		34				1	1 - 2	1	5		0,9678#
U-Kreat µmol/L	32	**7911**	6050,6 - 9772,5	5162	6577	4934,9 - 8731,4	915	23772		33	**9411**	7719,9 - 11101,7	4769	8764	6469,9 - 11791,7	1992	20978	*	0,1313#
U-prot	32	**0,12**	0,08 - 0,17	0,13	0,10	0,07 - 0,11	0,0	0,8		34	**2,34**	0,956 - 3,73	3,97	1,04	0,61 - 1,95	0,07	21,70		***0,002$***
Uprot,/kreat g/mol	32	**16**	13,2 - 19,3	8	15	11,5 - 17,5	7	44		33	**254**	137,4 - 370,7	329	84	66,5 - 253,4	10	1525		***< 0,0001#***
Urat (10^3/L)	35	**274**	251,6 - 296,5	65	274	251,2 - 306,5	156	425	*	34	**367**	343,8 - 390,5	67	356	339,7 - 400,3	233	526	*	***< 0,001$***
Urea (mmol/L)	35	**2,9**	2,7 - 3,3	0,8	3,1	2,5 - 3,4	1,5	4,9	*	34	**3,9**	3,6 - 4,3	1,1	3,9	3,5 - 4,4	2,3	7,9		***0,0001#***
Visina (cm)	35	**167**	164,9 - 169,1	6	167	165- 170	149	180	*	34	**164,5**	161,9 - 167,2	8	165	169 - 166	150	181	*	0,127$

AP – alkalna fosfataza, BMInp – indeks tjelesne mase nakon poroda, BMIpp – indeks tjelesne mase prije poroda, BSAnp –površina tijela nakon poroda, BSApp – površina tijela prije poroda, Krea – kreatinin, PlGF – placentarni čimbenik rasta, PlGF/sFlt-1 – omjer angiogenih čimbenika, sFlt-1 – topljiva fms-u slična tirozin kinaza, sFlt-1/PlGF – omjer čimbenika, srednji RRds – srednji dijastolički tlak, Težinanp –težina nakon poroda, Tr – trombociti, U-prot – proteini u urinu, Uprot/kreat – omjer proteina i kreatinina u urinu, Urat – urati, Urea – urea.
* - normalno distribuirani; $ - ANOVA; # Kruskal-Wallis test; kurziv/bold – statistički značajni

Tablica 15. Statistička analiza uzoraka dobivenih kod trudnica s gestacijom manje ili više od 34 tjedna trudnoće (0 – kontrolna skupina; 1 – preeklampsije)

	KONTROLE ≤ 34 tjedana								PREEKLAMPSIJE ≤ 34 tjedana								
	N	**Sr. vr.**	**95% CI**	**SD**	**Median**	**95% CI**	**Min**	**Max**	**N**	**Sr. vr.**	**95% CI**	**SD**	**Median**	**95% CI**	**Min**	**Max**	**p**
AP (U/L)	7	**150**	140,6 - 160,1	10,6	146,9	141,6- 165,3	141	168	7	**210**	149,6 - 270,3	65,2	193,7	144,4 - 291,6	126	304	*0,035*
BMInp (kg/m2)	7	**33,0**	26,2 - 39,9	7,4	34,1	25,4 - 41,2	25,1	45,9	7	**32,1**	26,4 - 37,9	6,2	32,7	24,6 - 39,0	22,8	41,9	0,810
BMIpp (kg/m2)	7	**26,3**	17,9 - 34,5	8,9	25,7	19,2 - 36,4	19	45	7	**26,3**	21,0 - 31,6	5,7	26,2	19,8 - 33,1	19	36	0,982
BSAnp	7	**1,95**	1,7 – 2,2	0,2	1,9	1,6 - 2,2	1,56	2,24	7	**2,00**	1,8 - 2,2	0,2	1,9	1,8 - 2,2	1,77	2,34	0,654
BSApp	7	**1,76**	1,5 – 2	0,3	1,7	1,4 - 2,1	1,37	2,20	7	**1,84**	1,7 - 2,0	0,2	1,8	1,7 - 2,0	1,60	2,17	0,531
Krea (umol/L)	7	**52**	40,4 - 63,6	12,5	53	38,9 - 67,1	38	74	7	**68**	51,9 - 83,7	17,2	56	54,0 - 90,1	52	96	0,073
PlGf (ng/L)	7	**259,143**	54,1 - 464,2	221,7	200	99,3 - 514,5	83	730	7	**48,714**	20,4 - 76,9	30,5	43	11,9 - 85,0	10	87	*0,029*
PlGf/s-Flt1	7	**0,164**	0,0 - 0,3	0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,035	0,412	7	**0,004**	0,0 - 0,0	0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,000672	0,011	*0,007*
s-Flt1(ng/L)	7	**2042**	843,2 - 3240,8	1296,2	2376	647,9 - 3479,1	634	3645	7	**12844**	7790,4 - 17896,7	5463,7	13567	5922,6 - 18837,2	4323	19642	*< 0,001*
s-Flt/PIGF	7	**10,5**	2,4 - 18,6	8,7	7,9	3,1 - 20,5	2,4	28,5	7	**485,3**	10,0 - 960,6	513,9	225,7	96,9 - 1172,9	91	1488,4	*0,031*
Srednji RRss	7	**130**	114,9 - 145,1	16,3	130	109,9 - 145,0	100	150	7	**142**	135,7 - 148,6	6,9	140	134,9 - 150,0	130	150	0,096
Težinanp	7	**89,7**	68,5 - 110,9	22,9	93	65,9 - 116,5	62	122	7	**91**	75,9 - 106,1	16,3	90	72,5 - 111,5	71	117	0,906
Tr (10^3/L)	7	**263**	205,1 - 319,9	62,0	237	206,9 - 339,3	206	376	7	**206**	144,8 - 268,0	66,6	192	136,8 - 281,5	121	284	0,129
U-prot (g/L)	6	**0,07**	0,0 - 0,1	0,05	0,04	0,0 - 0,16	0,04	0,18	7	**2,99**	-5,98911	3,2	1,8	0,2 - 7,531	0,24	8,66	*0,050*
Uprot/kreat (g/mol)	6	**19,1**	5,9 - 32,2	12,5	15,3	10,2 - 38,9	9,9	43,7	7	**366,8**	95,9 - 637,8	292,9	377,5	35,8 - 717,5	33,1	791,5	*0,015*
Urat (umol/L)	7	**204**	164,4 - 244,0	43,0	211	159,4 - 258,0	158	265	7	**357**	297,6 - 416,6	64,3	354	279,8 - 428,1	262	440	*< 0,001*
Urea (mmol/L)	7	**2,5**	1,7 - 3,4	0,9	2,5	1,7 - 3,7	1,5	4,1	7	**4,5**	3,0 - 5,9	1,5	4,1	3,5 - 6,2	3,5	7,9	*0,016*
	KONTROLE >34 tjedana								**PREEKLAMPSIJE > 34 tjedana**								
	N	**Sr. vr.**	**95% CI**	**SD**	**Median**	**95% CI**	**Min**	**Max**	**N**	**Sr. vr.**	**95% CI**	**SD**	**Median**	**95% CI**	**Min**	**Max**	**p**
AP (U/L)	28	**157**	147,6 - 167,3	25,4	155,9	147,6 - 167,9	113	242	27	**174**	158,7 - 189,8	39,3	167,966	157,1 - 183,6	101	305	0,219
BMInp (kg/m2)	28	**34,1**	31,4 - 36,8	6,9	34,0	29,5 - 36,4	21,8	50,1	27	**30,8**	29,2 - 32,5	4,2	29,667	28,3 - 31,9	24,3	41,4	*0,040*
BMIpp (kg/m2)	28	**28,7**	26,2 - 31,2	6,4	28,7	24,4 - 31,2	17	43	27	**24,7**	23,0 - 26,3	4,2	23,5	22,0 - 25,8	19	33	*0,008*
BSAnp	28	**2,04**	1,9 - 2,1	0,2	2,0	1,9 - 2,0	1,62	2,69	27	**1,88**	1,8 - 1,9	0,1	1,8	1,8 - 1,9	1,58	2,13	*0,040*
BSApp	28	**1,89**	1,8 - 1,9	0,2	1,8	1,7 - 1,9	1,45	2,37	27	**1,70**	1,6 - 1,7	0,1	1,7	1,6 - 1,7	1,45	1,97	*< 0,001*
Krea (umol/L)	28	**56**	50,8 - 60,3	12,1	53	49,3 - 56,6	40	88	27	**65**	60,5 - 69,6	11,6	68	58,9 - 72,0	43	85	*0,005*
PlGf (ng/L)	28	**128,071**	104,0 - 152,0	61,8	116,5	91,7 - 153,6	28	250	27	**88,63**	74,1 - 103,1	36,7	83	74,4 - 96,1	27	161	*0,006*
PlGf/sFlt1	28	**0,0324**	0,0 - 0,0	0,02	0,0	0,0 - 0,0	0,005	0,119	25	**0,00942**	0,0 - 0,0	0,0	0,00827	0,0 - 0,0	0,00169	0,0202	*< 0,001*
sFlt-1 (ng/L)	28	**5381**	4400,2 - 6361,1	2528,5	5466,5	4408,3 - 5716,8	1440	11660	25	**10433**	8632,8 - 12235,0	4363,2	9884	7408,9 - 11367,5	4610	19205	*< 0,001*
sFlt-1/PIGF	28	**58,1**	39,3 - 76,9	48,4	48,7	26,7 - 60,7	8,4	194	25	**148,042**	99,2 - 196,8	118,3	120,957	99,5 - 147,0	49,59	592,759	*0,001*
Sred. RRss (mmHg)	28	**134**	129,8 - 138,0	10,6	130	130,0 - 140,0	110	155	27	**137,481**	133,7 - 141,2	9,4	140	130,0 - 140,0	120	157	0,196
Težinanp	28	**96,4**	87,7 - 105,0	22,3	90,5	85,0 - 101,2	58	162	27	**82,296**	77,9 - 86,6	10,8	83	76,9 - 86,1	62	110	*0,005*
Tr (10^3/L)	28	**232**	204,7 - 259,8	71,0	226	192,4 - 252,2	35	378	27	**197**	177,5 - 216,9	49,7	188	175,0 - 219,1	78	328	0,138
U-prot (g/L)	26	**0,13**	0,0 - 0,1	0,13	0,1	0,09 - 0,11	0,04	0,75	27	**2,17**	0,523 - 3,825	4,174	1	0,436 - 2,144	0,07	21,7	*0,005*
Uprot/kreat (g/mol)	26	**15,6**	12,7 - 18,6	7,3	14,5	11,0 - 17,0	7,0	36,9	26	**223,6**	87,6 - 359,7	336,7	78,806	55,6 - 221,3	9,5	1525,4	*0,003*
Urat (umol/L)	28	**291**	268,9 - 314,0	58,1	296,5	261,9 - 319,6	156	425	27	**369**	342,6 - 396,8	68,4	356	339,9 - 402,1	233	526	*< 0,001*
Urea (mmol/L)	28	**3,0**	2,7 - 3,3	0,7	3,1	2,6 - 3,4	1,7	4,9	27	**3,8**	3,4 - 4,2	0,9	3,8	3,1 - 4,4	2,3	5,6	*0,002*

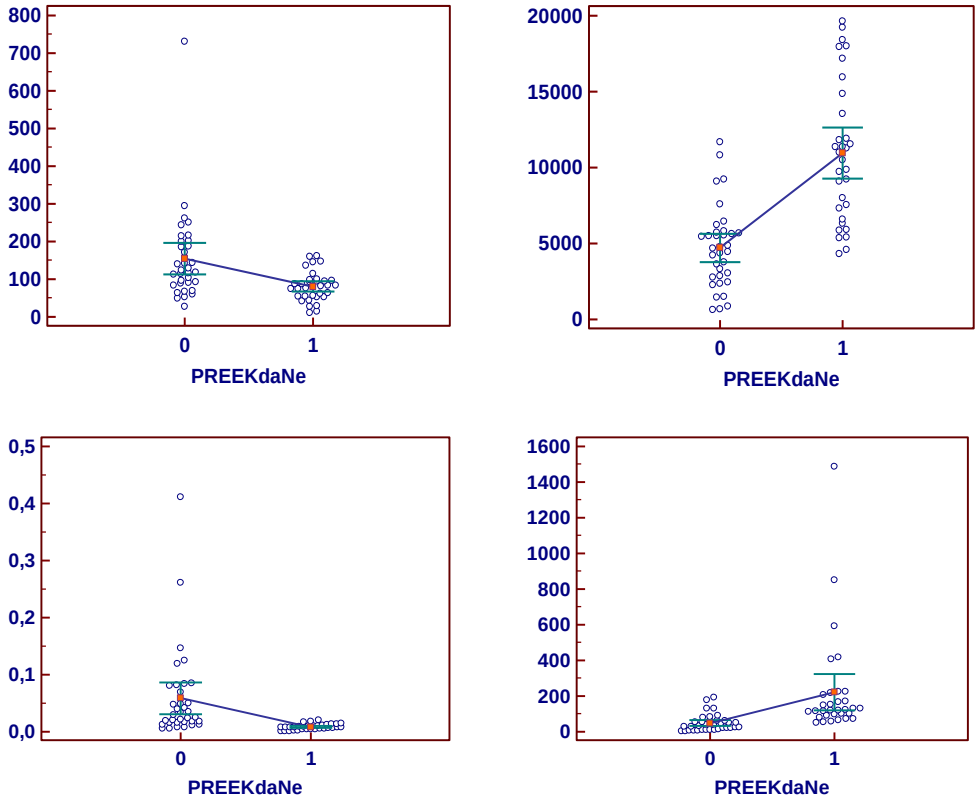
AP – alkalna fosfataza, BMInp – indeks tjelesne mase nakon poroda, BMIpp – indeks tjelesne mase prije poroda, BSAnp –površina tijela nakon poroda, BSApp – površina tijela prije poroda, Krea – kreatinin, PlGF – placentarni čimbenik rasta, PlGF/sFlt-1 – omjer angiogenih čimbenika, sFlt-1 – topljiva fms-u slična tirozin kinaza, sFlt-1/PlGF – omjer čimbenika, srednji RRds – srednji dijastolički tlak, Težinanp –težina nakon poroda, Tr – trombociti, U-prot – proteini u urinu, Uprot/kreat – omjer proteina i kreatinina u urinu. Značajnost razlike je izračunata s jednostrukim ANOVA testom ; parametri u kurzivu su statistički značajni

Kod laboratorijskih parametara u drugoj studiji, angiogeni čimbenici su pokazali statistički značajne razlike između ispitivanih skupina, pojedinačno te izraženi kao omjeri.

Serumske vrijednosti sFlt-1 kao i omjer sFlt-1/PlGF ($p<0,001$) su bile statistički značajno više u trudnica s preeklampsijom nego kod kontrolne skupine.

Serumske vrijednosti PlGF, kao i omjer PlGF/sFlt-1 su bile statistički značajno niže kod trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom ($p<0,001$) u usporedbi s kontrolnom skupinom.

Od 14 sudionica druge studije koje su prilikom uzorkovanja imale gestacijsku dob nižu od 34 tjedna, njih 7 je razvilo preeklampsiju, a kod svih 7 je opažen značajan porast sFlt-1 (s 2042 ng/L u kontrolnoj skupini na 12844 ng/L u trudnica s preeklampsijom, $p<0,001$) odnosno pad koncentracije PlGF (sa 259,1 ng/L u kontrolnoj skupini na 48,7 ng/L u trudnica s preeklampsijom, $p<0,001$) (Tablica 15).

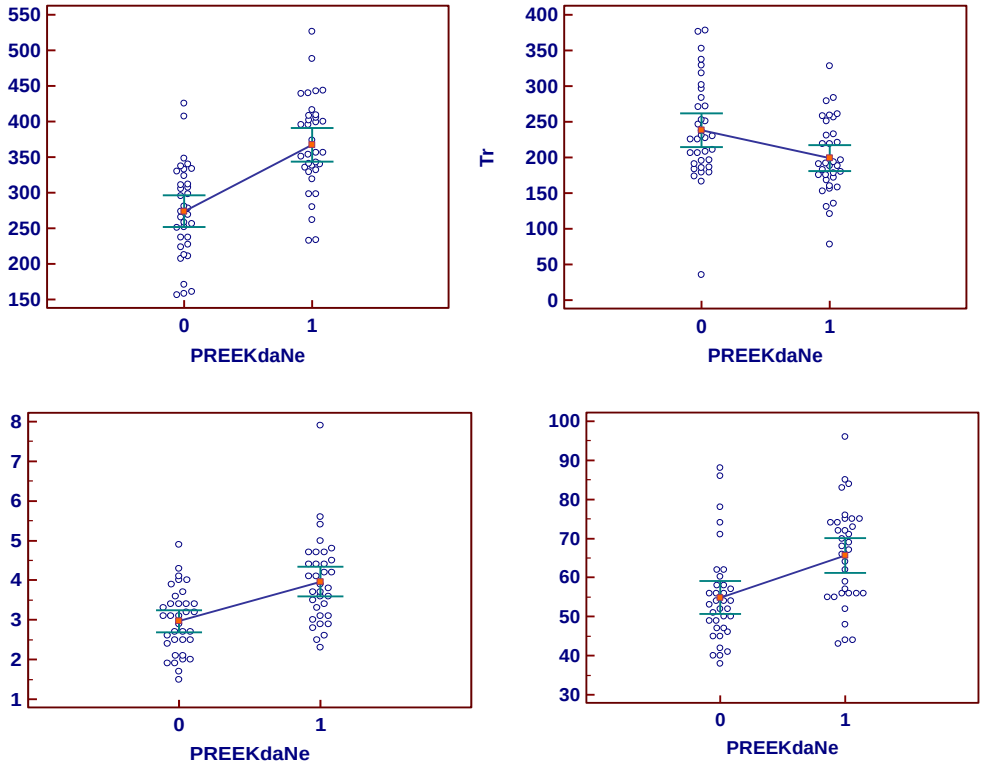


Slika 16. Utvrđivanje stupnja razlike
PlGF (placentarni čimbenik rasta); sFlt-1 (topljiva fms slična tirozin kinaza). Izračunate vrijednosti PlGF te omjera PlGF/sFlt-1 su statistički značajno niže kod trudnica koje su razvile preeklampsiju u usporedbi s kontrolnom skupinom.

Kod standardnih biokemijskih i hematoloških parametara u drugoj studiji zapažena je statistički značajna razlika između trudnica koje su razvile preeklampsiju i kontrolne skupine kod sljedećih parametara: povišene vrijednosti urata ($p<0,001$), kreatinina ($p<0,001$), uree

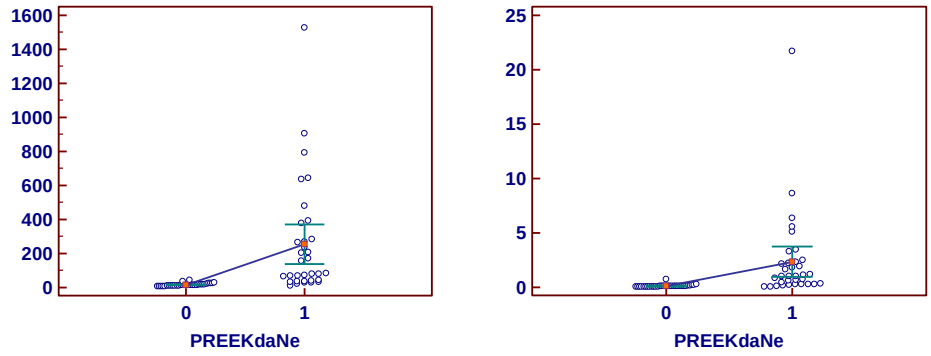
(p<0,001), alkalne fosfataze (p<0,005), te snižene vrijednosti trombocita (p<0,011) bile su u skupini trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom.

Osim kod angiogenih čimbenika i nabrojanih standardnih laboratorijskih parametara statistički značajna razlika je opažena kod antroploških parametara, površine tijela prije (p<0,005) i nakon poroda (p<0,013).



Slika 17. Utvrđivanje stupnja razlike
Tr – trombociti; Krea – kreatinin; Urat – urati, Urea – urea. Grafički prikaz porasta koncetntracije urata, uree i kreatinina, te pad koncentracije trombocita kod trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom u usporedbi s kontrolnom skupinom.

Određeni parametri koje nismo analizirali u prvom dijelu studije su također pokazali statistički značajnu razliku, i to već spomenuti omjer proteina i kreatinina u urinu (p<0,001) te proteini u urinu (p<0,002), kao i već spomenuti BSA prije poroda (p<0,005), i nakon poroda (p<0,013).



Slika 18. Utvrđivanje stupnja razlike
Uprot, kreat – omjer proteina i kretinina u urinu; U-prot – proteini u urinu. Signifikantan proteinurija izražena je u skupini trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom .

Kao i u prvom dijelu studije, parametri koji su pokazali statistički značajne razlike su dodatno analizirani pomoću ROC analize.

4.1.2.1 ROC krivulje

ROC (*engl. reciever operating characteristic curve*) krivulje su napravljene i prikazane (na isti način kao i u prvoj studiji) samo za one parametre koji su se pokazali stastistički značajnim.

Na taj način možemo usporediti dva klasifikacijska modela preko širokog spektra pouzdanosti, tipično generirajući jednu krivulju koja opisuje ovisnost broja stvarno pozitivnih primjera naspram broja lažno pozitivnih primjera detektiranih modelom, ili pak senzitivnost naspram veličini (1-specifičnost).

ROC krivulja (odnosno dijagonala) koja spaja lijevi donji ugao i gornji desni ugao, predstavlja potpuno slučajnu klasifikaciju. Savršeni klasifikator bi u ROC grafu slijedio lijevu i gornju os grafa. Krivulje realnih klasifikatora leže između ova dva slučaja (lijevi gornji trokut grafa).

ROC krivuljom potvrđena je dobra prognostička učinkovitost PlGF, sFlt-1, omjera PlGF/sFlt-1, odnosno omjera sFlt-1/PlGF kod svih trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom (trudnoće s preeklampsijom ≤ 34 tjedana trudnoće te one s > 34 tjedana trudnoće) u usporedbi s kontrolnom skupinom.

Izračunate površine ispod krivulje (*engl; area under the curve,* AUC), su sljedeće: za sFlt-1 iznosi 0,890; 95% interval pouzdanosti (*engl; confidence interval, CI*) = 0,790-0,953; P<0,001; kod granične koncentracije od 5810 ng/L, uz dijagnostičku osjetljivost od 87,5 %, i specifičnost 80%.

Za omjere angiogenih čimbenika je situacija još bolja. Izračunata površina ispod krivulje za omjer sFlt-1/PlGF, odnosno PlGF/sFlt-1 je identična i iznosi 0,895, dok je za PlGF nešto niža; 0,761 uz pripadajuće intervale pouzdanosti, granične vrijednosti te dijagnostičku osjetljivost i specifičnost (Tablica 14, Tablica 15, Tablica 16, Slika 19, Slika 20).

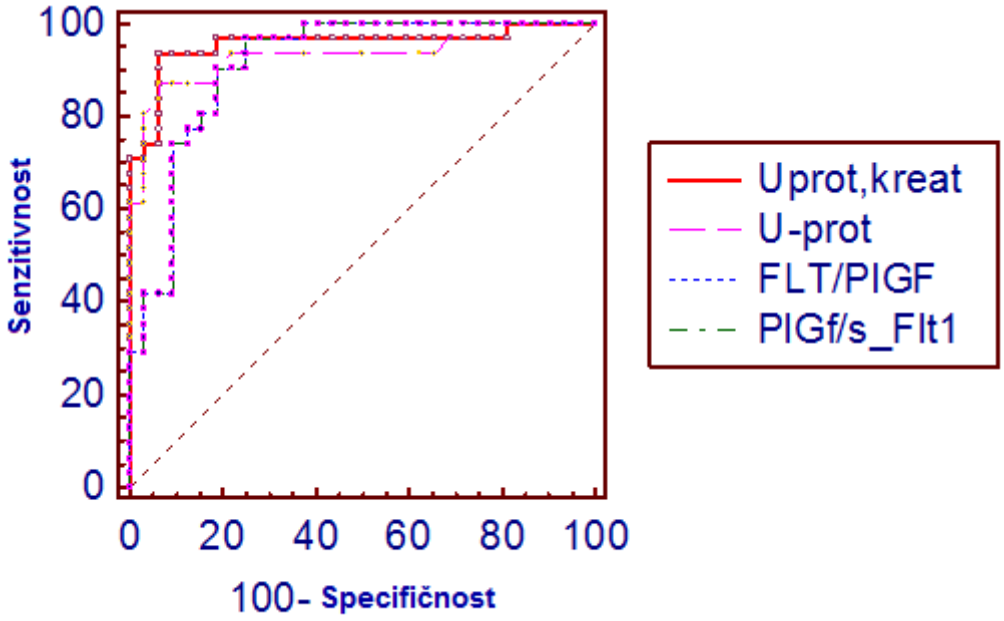
Dodatna dva nova parametra (osim angiogenih proteina i njihovih omjera te LDH) koje smo određivali u drugom dijelu studije su također prikazani, površina ispod krivulje za omjer proteina/kreatinina u urinu iznosi 0,975; za proteine u urinu 0,938 (s tim da je proteinurija jedan od dijagnostičkih kriterija).

Rezultati za urate, ureu i kreatinin su slični onima dobivenim u prvoj studiji. Površina ispod krivulje za urate iznosi 0,847, za ureu 0,775 te za kreatinin 0,741.

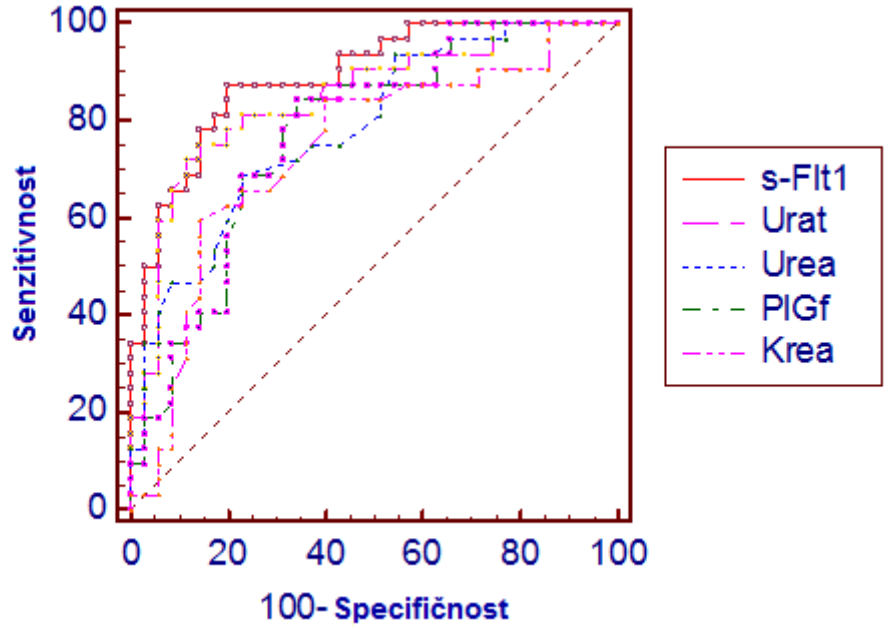
Tablica 16. ROC analiza testiranih parametara

	Nc	Np	AUC	95%CI	P (AUC=0.5)	c/o
U-prot/kreat g/mol	32	33	0,957	0,876 - 0,992	<0,0001	>27,3
U-prot g/L	32	34	0,938	0,849 - 0,982	<0,0001	>0,23
Omjer (sFlt-1/ PlGF)	35	32	0,895	0,795 - 0,956	<0,0001	>61,8382
Omjer (PlGF/sFlt-1)	35	32	0,895	0,795 - 0,956	<0,0001	<=0,0153
sFlt-1 (ng/L)	35	32	0,890	0,790 - 0,953	<0,0001	>5810
Urati (umol/L)	35	34	0,847	0,740 - 0,922	<0,0001	>334
Urea (mmol/L)	35	34	0,775	0,658 - 0,867	<0,0001	>3,4
PlGF (ng/L)	35	34	0,761	0,643 - 0,855	<0,0001	<=100
Kreatinin (umol/L)	35	34	0,741	0,622 - 0,839	0,0001	>54
AF (U/L)	35	34	0,715	0,593 - 0,817	0,0007	>174
Trombociti (10^3/L)	35	34	0,689	0,567 - 0,795	0,0031	<=194
BSApp	35	34	0,687	0,564 - 0,793	0,0041	<=1,83
RRss (mmHg)	35	34	0,630	0,505 - 0,743	0,0475	>135
U-Kreat	32	33	0,609	0,480 - 0,728	0,1266	>10598
AST (U/L)	35	34	0,591	0,466 - 0,708	0,1858	>31,1
LDH (U/L)	35	34	0,591	0,466 - 0,708	0,1858	>1871
RRds (mmHg)	35	34	0,559	0,434 - 0,678	0,3858	>95
Hematokrit (%)	35	34	0,539	0,414 - 0,659	0,5821	<=32
Hemoglobin (g/L)	35	34	0,520	0,396 - 0,642	0,7757	<=102
Leukociti (10^9/L)	35	34	0,502	0,379 - 0,625	0,9767	<=9,4

Nc– N (kontrole), Np – N (pacijenti), AUC – površine ispod krivulje (engl. Area Under the Curve), c/o – cut off values, granična vrijednost, masnim slovima istaknute su AUC>0,7



Slika 19. ROC krivulje četiri najbolja pokazatelja u drugoj studiji, proteina u urinu, omjera proteina i kreatinina u urinu te omjera angiogenih čimbenika. Spomenuti pokazatelji vrlo blizu slijede lijevu i gornju os grafa, pokazujući da se radi o potentnim klasifikatorima. Proteini u urinu nisu dalje obrađivani, jer spadaju u dijagnostičke kriterije.



Slika 20. Prikaz ROC krivulja dva angiogena čimbenika zajedno s najboljim standardnim biokemijsko hematološkim parametrima u drugoj studiji. I pojednično, sFlt-1 je pokazao osjetno bolje rezultate od standardnih laboratorijskih parametara.

4.1.2.1.1 Logistička regresija

Primjenom logističke regresije u drugoj studiji (na isti način kao i u prvom dijelu studije), upotrebljavajući različite parametre pravilno smo klasificirali oko 90%, odnosno u nekim modelima i više od 90% sudionica u studiji. Napravljeno je više modela, od kojih su prikazana tri najuspješnija.

Zajedničko svim modelima koji su postigli najviše postotke klasifikacije jest da smo upotrebljavali PlGF, sFlt-1 te njihove omjere, zajedno s uratima u različitim kombinacijama, odnosno u kombinacijama s drugim parametrima.

Modeli koji sadrže nove angiogene čimbenike u kombinaciji s uratima pravilno klasificiraju oko 85-90 % slučajeva, a dodavajući antropometrijske parametre (tjedni trudnoće, BMI, BSA postotak se diže do visokih 91,04% u najuspješnijem modelu.

4.1.2.1.2 Model 1 (BMI pp, PlGF sFlt-1, urati)

U ovom modelu ispitani su parametri koje prikazuje Tablica 14, a koji su potvrdili statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina. U konačnom modelu 1 zadržani su samo parametri sa statističkom značajnošću. BMI pp, iako nije statistički značajan, zadržan je u testiranom modelu zbog njegova pretpostavljena doprinosa.

Tablica 17. Logistička regresija (bez RRds)

	Veličina uzorka	**Kontrole**	**Preeklampsija**
Opis	**67**	**35**	**32**
	Koeficijenti i razine značajnosti		
Varijabla	**Koeficijent**	**P**	
BMI pp	-0,13406	0,1328	
PlGF	-0,025628	0,0172	
sFlt-1	0,00041768	0,0153	
Urati (umol/L)	0,021509	0,0101	
Konstanta	-4,1161		

Postotak pravilno klasificiranih: 88,06 %

Tablica 18. Omjeri rizika za pojedine analite dobiveni logističkom regresijom

Varijabla	***OR***	***(95% CI)***
BMI pp	0,8745	0,7343 - 1,0416
PlGF	0,9747	0,9544 - 0,9955
s-Flt-1	1,0004	1,0001 - 1,0008
Urati (umol/L)	1,0217	1,0051 - 1,0386
ROC analiza: AUC= 0,953 (95% CI= 0,871 - 0,990)		

Tablica 17 i Tablica 18 prikazuju regresijski model 1 - kojim je moguće pravilno klasificirati 88% trudnica s preklampsijom. Pojedinačni doprinos omjera rizika je nizak što se može objasniti malim brojem sudionica ispitivane skupine.

4.1.2.1.3 Model 2 (BSA pp, PlGF, sFlt-1, urati)

Ovaj model testirao je iste parametre kao i model 1 (Tablica 14), ali je mjera BMI pp zamijenjena s BSA pp (s razinom značajnosti razlike među ispitivanim skupinama, Tablica 14, p=0,005) zbog njegova očekivanog doprinosa regresijskom modelu. U konačnom modelu 2 zadržani su samo parametri sa statističkom značajnošću. Parametar BSA pp u ovom modelu, za razliku od BMI pp iz modela 1, pokazao se statistički značajnim.

Tablica 19. Logistička regresija (bez RRds)

	Veličina uzorka	**Kontrole**	**Preeklampsija**
Opis	**67**	**35**	**32**
	Koeficijenti i razine značajnosti		
Varijabla	**Koeficijent**	**P**	
BSA pp	-9,99039	0,0277	
PlGF	-0,028286	0,0264	
sFlt-1	0,0004834	0,0116	
Urati (umol/L)	1,0269	0,0062	
Konstanta	8,2668		

Postotak pravilno klasificiranih: **91,04 %**

Tablica 20. Omjeri rizika za pojedine analite dobiveni logističkom regresijom

Varijabla	***OR***	***(95% CI)***
BSA pp	0,0000	0,0000 - 0,3348
PlGF	0,9721	0,9481 - 0,9967
s-Flt-1	1,0005	1,0001 - 1,0009
Urati (umol/L)	1,0269	1,0076 - 1,0467
ROC analiza: AUC= 0,968 (95% CI = 0,893 - 0,996)		

Tablica 19 i Tablica 20 prikazuju model 2 za ispitivane parametre, i njime je moguće ispravno klasificirati 91% trudnica s preklampsijom. Kao i u prethodnom modelu, pojedinačni doprinos omjera rizika je nizak što se može objasniti malim brojem sudionica u ispitivanoj skupini.

4.1.2.1.4 Model 3 (sFlt-1, PlGF i urati)

Tablica 14 prikazuje određenu nelogičnost nižih vrijednosti BMI i BSA, te tjelesne težine prije i nakon poroda u skupini trudnica s preeklampsijom u odnosu na kontrolnu skupinu, vjerojatno zbog relativno malog broja sudionica u drugoj studiji. Iz tog je razloga

ispitan i model 3 koji isključuje atropometrijske parametre i temelji se isključivo na laboratorijskim pokazateljima sFlt-1, PlGF te i uratima. Dobivene rezultate prikazuju Tablica 21 i Tablica 22.

Tablica 21. Logistička regresija (bez RRds)

	Veličina uzorka	**Kontrole**	**Preeklampsija**
Opis	**67**	**35**	**32**
	Koeficijenti i razine značajnosti		
Varijabla	**Koeficijent**	**P**	
sFlt-1	0,000484	0,000172	
PlGF	-0,02454	0,010229	
Urati (umol/L)	0,018797	0,007795	
Konstanta	-7,3072		

Postotak pravilno klasificiranih: **85,07 %**

Tablica 22. Omjeri rizika za pojedine analite dobiveni logističkom regresijom

Varijabla	***OR***	***(95% CI)***
sFlt-1	1,0005	1,0001 to 1,0008
PlGF	0,9758	0,9564 to 0,9955
Urati (umol/L)	1,019	1,0035 to 1,0347
ROC analiza: AUC= 0,945 (95% CI= 0,860 - 0,986)		

Rezultati prikazani u tablicama upućuju na mogućnost ispravne klasifikacije 85% trudnica s preklampsijom pomoću ovog modela. Kao i u prethodnim modelima, pojedinačni doprinos omjera rizika nizak je, zbog malog broja sudionica u ispitivanoj skupini.

Iako ovaj model ima niži postotak ispravne klasifikacije u odnosu na prethodne (85% naspram 88% u modelu 1 i 91% u modelu 2) modele, ovaj je model vjerodostojniji jer sadrži isključivo laboratorijske parametre.

Dobiveni rezultati ukazuju na visok predikcijski potencijal kombinacije određivanja angiogenih čimbenika i urata.

5 RASPRAVA

Hipertenzivne bolesti u trudnoći uključuju nekoliko entiteta od kojih je preeklampsija jedan od njih. Aktualni dijagnostički kriteriji za preeklampsiju temelje se na povišenom krvnom tlaku i proteinuriji, čime se nerijetko ignorira široka klinička varijabilnost sindroma. Nerijetko u svakodnevnoj praksi susrećemo trudnice koje imaju izražen samo jedan od dijagnostičkih kriterija (proteinuriju ili hipertenziju) zajedno s drugim patološkim nalazima (trombocitopenija, hiperurikemija, povišeni jetreni enzimi, IUZR...). Takva trudnica vrlo vjerojatno ima preeklampsiju, što ocrtava složenost postavljanja dijagnoze i predviđanja nastanka preeklampsije.

Postoje brojne teorije koje pokušavaju objasniti nastanak i razvoj preeklampsije. Obzirom na svoj značaj (jedan od glavnih uzroka maternalnog i perinatalnog mortaliteta te morbiditeta širom svijeta) i rijetku pojavnost u razvijenom dijelu svijeta (5 - 8%) jasno je da su studije s velikim brojem trudnoća kompliciranih preeklampsijom rijetke. [2,24,25]

Dokazano je da pravovremenim terapijskim postupcima kod trudnoća kompliciranih preeklampsijom možemo osjetno smanjiti maternalni i perinatalni morbiditet i mortalitet, što je dovelo do raznih ideja i koncepata koji su pokušali predvidjeti nastanak preeklampsije, uključujući i ovaj.[4,5,239]

U prvom, retrospektivnom dijelu istraživanja pregledana je arhivska građa Ginekološko - porodničkog odjela Opće bolnice Celje za petogodišnje razdoblje (od siječnja 2002 do prosinca 2007, pri čemu je u bolničkom informatičkom sustavu pretraženo između 8000 - 9000 porodih zapisnika). Izdvojena je dokumentacija 113 trudnica koje su razvile preeklampsiju tijekom trudnoće po važećim smjernicama. Pri pregledu porodnih zapisnika bila je vidljiva prilično konfuzna situacija. Upotreba različitih klasifikacijskih sustava i starih smjernica od strane brojnih opstetričara koji su radili i ispunjavali porodne zapisnike u tom vremenskom razdoblju dovela je do značajno višeg broja dijagnosticiranih preeklampsija, koje po novim smjernicama to nisu.

Takve porodničke zapisnike s dijagnosticiranim preeklampsijama koji nisu zadovoljavali važeće smjernice nismo uključili u studiju, kao niti one koje nisu imali napravljene kompletne laboratorijske pretrage.

Konačnom selekcijom 8000 - 9000 porodnih zapisnika izdvojeno je 113 od trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom, te 95 porodnih zapisnika urednih trudnoća, čije smo podatke uključili u prvi dio studije.

U drugom dijelu istraživanja, u prospektivnoj studiji koja je trajala od svibnja 2010 do studenog 2011, obradili smo 100 trudnica po kriterijima opisanim u prethodnom poglavlju.
Obzirom da je Odjel za laboratorijsku dijagnostiku celjske bolnice bio prvi u Sloveniji i vjerojatno među prvima u regiji koji je uveo metodu određivanja PlGF i sFlt-1 u serumu, kao posljedica priprave uređaja, kalibriranja, odgovarajuće upotrebe reagensa i ostalog, dio uzoraka, konkretnije onaj pri samom uvođenju metode u praksu je propao.
Analizom istraživanih parametara u obje studije došli smo do nekoliko zaključaka. Iako su brojne studije opisuju indeks tjelesne mase kao potencijalni parametar u predikciji preeklampsije, rezultati našega istraživanja to nisu potvrdili.[35,239,272]

Cnossen i suradnici u meta analizi iz 2007 godine su došli do sličnog zaključka, označujući BMI kao prilično slab prediktor za predviđanje nastanka preeklampsije.[273] Najnovija studija Sohlbergove i suradnika izvještava o povišenom riziku za nastanak preeklampsije kod trudnica niskog rasta i visokog BMI.[274] Malo je studija koje su se bavile redukcijom tjelesne težine, a na osnovu predloženih rezultata tih studija redukcija tjelesne težine smanjuje rizik za nastanak preeklampsije.[275,276]

Po rezultatima naše druge, prospektivne studije indeksi tjelesne mase i indeksi tjelesne površine, prije i nakon poroda pokazali su statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina.

Pomalo neočekivano, spomenuti indeksi su bili niži u skupini trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom od onih u kontrolnoj skupini. Objašnjenje je vjerojatno u relativno malom broju sudionica u drugoj studiji, kao i činjenici da je u obje skupine zabilježen značajan broj sudionica s prekomjernom tjelesnom težinom, čak nešto veći broj u kontrolnoj skupini.

Prilikom izrade optimalnih modela pomoću logističke regresije u drugoj studiji upotrijebili smo indeks tjelesne mase prije poroda te indeks tjelesne površine prije poroda, koji je korišten u najboljem modelu.

U prvoj studiji nije određivan indeks tjelesne površine sudionica u studiji, ali indeks tjelesne mase jest. U toj prvoj, retrospektivnoj studiji na većem broju sudionica nismo opazili statistički značajne razlike u indeksima tjelesne mase između ispitivanih skupina.

Postoje podaci u literaturi koji povezuju najrjeđu AB krvnu skupinu s povećanim rizikom za nastanak preeklampsije, što sugerira nasljednu komponentu u nastanku preeklampsije.

U našem istraživanju nije primjećena statistički značajna razlika među krvnim grupama kao niti među rhesus faktorima u ispitivanim skupinama.[277,278] Naravno, treba imati

na umu da je AB krvna grupa najrjeđa (2-3% populacije) te da je broj sudionica u istraživanoj i kontrolnoj skupini s tom krvnom grupom malen.

Nulparitet je poznati rizični čimbenik za razvoj preeklampsije, iako nije najjasnije zašto. Međutim, u oba dijela studije nismo izračunali statistički značajnu razliku među skupinama obzirom na paritet.[30,239]

U oba dijela studije **urati** su pokazali statističke značajne razlike između ispitivanih skupina ($p<0,001$) i od standardnih biokemijsko - hematoloških parametara zajedno s ureom su se pokazali najupotrebljivijima.

Hiperurikemija se često nalazi kod trudnoća kompliciranih preeklampsijom, nerijetko se pojavljuje prije hipertenzije i proteinurije, kliničkih manifestacija bolesti koje se upotrebljavaju za dijagnozu.[59] Iako se hiperurikemija u značajnom broju trudnoća s preeklampsijom javlja prije hipertenzije i proteinurije, tradicionalno se pripisuje oštećenoj bubrežnoj funkciji.

Kao što je navedeno, nekoliko je potencijalnih izvora hiperurikemije kod preeklampsije kao npr. oslabljena bubrežna funkcija, oštećenje tkiva, odnosno povišeni stanični raspad, acidoza, te povišena aktivnost enzima ksantin oksidaze/dehidrogenaze.[229]

Pojava hiperurikemije prije proteinurije i hipertenzije te zapažanje da stupanj težine bolesti raste s porastom koncentracije urata dovela je do hipoteze da urati imaju značajnu ulogu u patogenezi preeklampsije.[232,233,234,235,236] Niz recentnih radova objavljenih od strane autora s Magee-Womens istraživačkog instituta iz Pittsburga, odnosno Sveučilišta u Pittsburgu prezentirao je urate kod preeklampsija u jednoj sasvim novoj perspektivi.[233,234,235,236,237] Zanimljivost je da Laughon i suradnici u svojoj studiji podržavaju koncept preeklampsije kao heterogenog sindroma, navodeći mogućnost da su gestacijska hipertenzija i preeklampsija s hiperurikemijom različiti procesi, različite etiologije od gestacijske hipertenzije i preeklampsije bez hiperurikemije.[237,279]

Nalazi studije Laughona i suradnika sugeriraju da samostalna upotreba urata u predikciji preeklampsije u prvom tromjesečju vjerojatno nije smislena, ali u kombinaciji s drugim biokemijskim parametrima svakako jest, što je u skladu s našim nalazima.[237,239]

Zanimljiv je zaključak studije od Bellomo i suradnika da su serumski urati samostalno pouzdani parametar za predviđanje nastanka preeklampsije kod trudnica kojima je dijagnosticirana gestacijska hipertenzija.[280] Ako usporedimo rezultate retrospektivne i prospektivne studije za urate (u prvoj, retrospektivnoj studiji AUC 0,856, u drugoj studiji AUC 0,847, $p<0,001$ u obje studije) vidjet ćemo da su vrlo slični. S takvim površinama ispod krivulje, urati su bili neizostavan, ključan parametar u kreiranju optimalnog panela za

predikciju preeklampsije u prvoj studiji, te upotrebljeni u stvaranju najboljih modela logističkom regresijom u drugoj studiji.

Na podlozi dobivenih rezultata možemo zaključiti da su urati jedini od standardnih laboratorijskih parametara koji se po svojoj sposobnosti predikcije nastanka preeklampsije mogu usporediti s novim angiogenim čimbenicima.

Prilikom interpretacije rezultata za ureu i kreatinin, pa i urate nužno je prisjetiti se fizioloških promjena u trudnoći koje utječu na njihovu razinu. Fiziološki porast glomerularne filtracije (klirens inulina) i protoka plazme kroz bubrege (klirens para-aminohipurata) za 40-60% u prvom tromjesečju rezultira padom koncentracije uree, kreatinina, urata u krvi.[281] Kod preeklampsije zabilježen je pad glomerularne filtracije i protoka plazme kroz bubrege za oko 30–40% u usporedbi s urednim trudnoćama iste gestacijske dobi. [282,283] Rjeđe se prolongirana renalna hipoperfuzija s posljedičnom akutnom tubularnom nekrozom manifestira kao teška preeklampsija.

U većini primjera kod blagih preeklampsija vrijednosti uree i kreatinina u serumu se nalaze unutar normalnog referentnog intervala za netrudničku populaciju usprkos značajnom padu glomerularne filtracije.

Za očekivati je u bliskoj budućnosti da će se upotreba referentnih laboratorijskih vrijednosti za trudničku populaciju, po uzoru na britanski model proširiti po svijetu.

Ako usporedimo naše rezultate za ureu u prvoj i drugoj studiji (AUC u prvoj studiji 0,771, u drugoj AUC 0,775, $p<0,001$ u obje studije,) vidjet ćemo da su poput rezultata za urate, vrlo slični. Urea je uz urate kao parametar najviše ponudila u prvom dijelu studije i upotrebljena je u logističkoj regresiji prilikom izrade optimalnog panela za predikciju preeklampsije u trećem tromjesečju. Model logističke regresije koji je sadržavao samo urate i ureu u prvoj studiji je točno klasificirao gotovo 80% sudionica (79,6%), dok su dodatna četiri parametra (trombociti, hematokrit, AST i leukociti) podigla uspješnost modela za dodatnih 4% (83,8%) .[239]

Rezultati za kreatinin (AUC u prvoj, retrospektivnoj studiji iznosi 0,785 dok je u drugoj prospektivnoj studiji 0,741) su također vrlo slični i statistički značajni u obje studije.

Urea i kreatinin, iako su se pokazali statistički značajnim i u drugoj studiji, nisu bili dio najboljih modela dobivenih logističkom regresijom, i kao takvi nisu prikazani. Razlog je u tome što smo s novim proangiogenim/antiangiogenim čimbenicima, odnosno njihovim omjerima dobili kvalitetne parametre koji su ponudili u svim modelima više postotke klasifikacije u usporedbi s ureom i kreatininom.

Na osnovu navedenog, odnosno zabilježene statistički značajne razlike u serumskim koncentracijama urata, uree i kreatinina između ispitivane i kontrolne skupine, možemo pretpostaviti da izračunate razlike u najvećem dijelu odražavaju poremećenu bubrežnu funkciju kod trudnoća kompliciranih preeklampsijom.

Također, na osnovi dobivenih rezultata možemo pretpostaviti da se promjene bubrežne funkcije kod trudnoća kompliciranih preeklampsijom javljaju među prvima.

Jetreni testovi su određivani u oba dijela studije. Velikom prospektivnom studijom dokazano je da su vrijednosti AST, ALT, bilirubina, GGT za oko 20% niže kod normalnih trudnoća u usporedbi s referentnim laboratorijskim vrijednostima za netrudničku populaciju.[250]

U dobivenim rezultatima, s izuzetkom serumskog AST-a u prvoj studiji, ostali jetreni testovi (ALT, bilirubin, GGT) se nisu pokazali statistički značajno povišenim kod trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom. Aspartat aminotranferaza je pokazala obećavajuće rezultate u prvoj, ali ne i u drugoj studiji (AUC u prvoj studiji od 0,599 s razinom statističke značajnosti $p<0.015$, u drugoj AUC 0,591, $p=0,132$, što nije statistički značajna razlika).

Za razliku od ALT-a koji se pretežno nalazi u jetrenim stanicama te se smatra enzimom specifičnim za hepatocelularno oštećenje (manje količine su nađene u bubrezima, srcu i skeletalnim mišićima), veći dio AST-a nije jetrenog porijekla.

Kod ljudi AST nalazimo u visokim koncentracijama kod visoko metaboličkih tkiva kao što su srčani mišić, jetrene stanice, skeletalni mišići, i u manjoj mjeri u bubrezima, gušterači i eritrocitima.[227] To znači da možemo očekivati dodatni rast serumskog AST-a u odnosu na ALT kod pogoršanja bolesti, odnosno teških preeklampsija kao posljedicu hemolize ili bubrežnog oštećenja.

Time bismo mogli i objasniti razliku u rezultatima kod AST-a između prve i druge studije (manji broj teških preeklampsija). Uspoređujući rezultate obje studije AST se pokazao boljim parametrom od ALT u smislu prediktivnog potencijala za nastanak preeklampsije.

LDH kao parametar hepatocelularnog oštećenja je manje specifičan od AST i ALT.

Teoretski, očekivali bi porast LDH kod hemolize, bubrežnog oštećenja, odnosno oštećenja većine ciljnih organa, posebice pri teškoj preeklampsiji, no rezultati druge, prospektivne studije to nisu pokazali što možemo djelomično pripisati i manjem broju teških preeklampsija u drugoj studiji. Kao potencijalni parametar za predikciju preeklampsije nije pokazao statistički značajnu razliku u usporedbi s kontrolnom skupinom te shodno tome nije uključen u stvaranje optimalnih laboratorijskih modela u drugoj studiji.

Alkalnu fosfatazu nalazimo u mnogim tkivima, uključujući i placentarno tkivo; za razlikovanje porijekla enzima služimo se izoenzimima.[227] Alkalna fosfataza je pokazala statistički značajnu razliku među ispitivanim skupinama u drugoj studiji (AUC 0,715, p<0,005), ali ne i u prvoj studiji.

Zbog manjeg broja sudionica u drugoj studiji, činjenice da je određivana ukupna alkalna fosfataza, te fiziološkog porasta u normalnoj trudnoći, posebno u trećem tromjesečju trudnoće (placentarno porijeklo, koštani rast pri plodu) nije uključena u stvaranje optimalnih modela u drugoj studiji.

Jedan od najkarakterističnijh koagulacijskih poremećaja, posebno kod teške preeklampsije je trombocitopenija, kao posljedica intravaskularne koagulacije.[212] Konijnenberg i suradnici opisuju povišenu aktivaciju trombocita kod uzoraka dobivenih od trudnica s preeklampsijom u trećem tromjesečju u usporedbi s kontrolama, što navodi na zaključak da trombociti cirkuliraju u aktiviranijem stanju kod preeklampsije (povećana ekspresija P-selektina, CD 63, PECAM-1 na trombocitima).[220] Niz studija je podržao hipotezu povišene aktivacije trombocita kod preeklampsije.[221,222,224]

Statistička analiza u obje studije je pokazala da su trombociti bili statistički značajno niži kod trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom u usporedbi s kontrolnom skupinom (AUC u prvoj studiji je iznosila 0,686; p<0,001, dok je površina ispod krivulje u drugoj studiji iznosila AUC 0,689, uz odgovarajuću razinu statističke značajnosti, p=0,011), što je u skladu s objavljenim studijama.[239] U prvoj studiji trombociti su uz urate i ureu bili uključeni pri izradi optimalnog laboratorijskog panela, te su doprinijeli višem postotku pravilne klasifikacije; međutim poput uree i kreatinina svoje mjesto nisu našli u drugoj studiji zbog novih, prognostički uspješnijih angiogenih čimbenika.

Prilikom interpretacije rezultata za hematokrit, hemoglobin odnosno eritrocite, moramo imati u vidu fiziološku hemodiluciju, kao i hemoreologiju promjena kod preeklampsije (istovremena prisutnost hemolize i hemokoncentracije kod preeklampsije može rezultirati normalnim hematokritom). Također, ne treba zaboraviti da dehidracija utječe na rezultate sva tri parametra, prilikom uzimanja uzoraka svakako je smisleno pozanimati se prehrambenim navikama trudnice.

Hematokrit je bio statistički značajno niži kod trudnica s preeklampsijom u prvoj studiji (AUC 0,627, p<0,03) za razliku od eritrocita i hemoglobina, te je upotrebljen pri stvaranju optimalnog laboratorijskog panela u prvoj studiji.[239] U drugoj studiji niti jedan od spomenutih parametara nije pokazao statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina, djelomično i zbog manjeg broja teških preeklampsija u drugoj studiji.

Ako usporedimo spomenute hematološke parametre u obje studije, s ostalim laboratorijskim pokazateljima hemolize (AST – statistički značajna razlika u prvom dijelu studije između ispitivanih skupina, ali ne u drugoj studiji, LDH – bez statistički značajne razlike u drugoj studiji) uočit ćemo slične rezultate.

Promatrajući rezultate hematoloških parametara, logično bi bilo određivati i haptoglobin, indikator intravaskularne hemolize, ako ne već kao standardni parametar u dijagnostici i terapiji preeklampsije onda bar kod sumnje na tešku preeklampsiju.

Leukociti su određivani u obje studije, ali samo u prvoj studiji su pokazali statistički značajnu razliku između ispitivane i kontrolne skupine (AUC 0,618, $p<0,04$), te su uključeni u izradu optimalnog laboratorijskog panela.[239]

Kao i svi parametri, tako i leukociti imaju svoja ograničenja koje treba imati u vidu prilikom interpretacije rezultata (fiziološka leukocitoza u trudnoći i porodu).[199,198]

U literaturi možemo pronaći priličan broj radova koji se bave upalnim C-reaktivnim proteinom kao mogućim parametrom za predikciju preeklampsije, dok su radovi koji se bave prognostičkim potencijalom leukocita rijetki.[284,285] Iako postoje radovi koji sugeriraju da CRP ima prediktivni potencijal za predviđanje nastanka preeklampsije, veće studije to nisu potvrdile.[286]

Zanimljivost je da u novijim radovima grupa autora predlaže Ca-125, kao mogući probirni biljeg koji odražava težinu upalnog procesa kod preeklampsije, te predlažu graničnu vrijednost od 50 IU/mL za nastanak preeklampsije.[179,284]

U drugom dijelu studije određivali smo omjer proteina/kreatinina u urinu te proteine i kreatinin u urinu s ciljem kvantificiranja proteinurije, kao praktičnu alternativu nepraktičnom 24 satnom skupljanju urina, te manje pouzdanoj test traci.

Problem pri 24-satnom skupljanju urina (koji je i dalje zlatni standard) jest da većina trudnica nema određene proteine u 24-satnom urinu iz niza razloga. Korištenjem omjera proteina/kreatinina u urinu dobili smo mogućnost pouzdane kvantifikacije proteinurije jednokratnim uzimanjem uzoraka. Upotrebu spomenutog omjera podržavaju i preporučuju velike pregledne studije.[287]

sFlt-1, PlGF,

Sredinom 2000-ih godina, kao posljedica napretka u istraživačkom radu odnosno pojavom novih spoznaja o etiopatogenezi preeklampsije, predstavljeni su angiogeni čimbenici koji trenutno dobivaju najviše pažnje stručne javnosti.

Preeklampsija se počela promatrati kao stanje neravnoteže između proangiogenih (PlGF, VEGF) i antiangiogenih čimbenika (sFlt-1, sEng) ključnih pri angiogenezi rastuće posteljice.[142,147,148,149,160,161]

Dobar probirni test za predikciju nastanka preeklampsije mora zadovoljavati nekoliko uvjeta kao što su jednostavnost, zadovoljavajuća brzina izvođenja i dobivanja rezultata, neinvazivnost, pristupačna cijena, odnosno dostupnost velikom broju kliničara/laboratorija. Također, takav probirni test ne bi smio ispostaviti dijete i trudnicu dodatnom riziku. Pored navedenog morao bi pružiti mogućnost prevencije bolesti ili bar rezultirati u boljem ishodu trudnoće, za dijete i majku.

Na podlozi dosadašnjih rezultata te spomenutih uvjeta, vidljivo je da su angiogeni čimbenici trenutno najperspektivniji potencijalni prediktori razvoja preeklampsije.
U drugoj studiji određivali smo proangiogeni čimbenik (PlGF), te antiangiogeni čimbenik (sFlt-1), kao i njihove međusobne omjere (PlGF/sFlt-1; sFtlt-1/PGF) u serumu. Angiogene čimbenike u urinu nismo određivali.

Dodatno smo u drugoj studiji podijelili ispitanice na one s manje od 34 tjedna trudnoće prilkom uzimanja uzoraka, te na one s 34 tjedana trudnoće i više.

Najniža gestacijska dob kad je uzet uzorak je bio u 20-om tjednu trudnoće, a najviša u 41-om tjednu trudnoće. PlGF je određen u 69 trudnica, za razliku od sFlt-1 koji je određen kod 67 trudnica, što je posljedica nešto brže potrošenog reagensa za određivanje sFlt-1.
Neovisno o gestacijskoj dobi kad su uzimani uzorci, svi istraživani angiogeni čimbenici, samostalno, ali i kao omjeri pokazali su statistički značajnu razliku ($p<0,001$) u usporedbi s kontrolnom skupinom. To je očekivan rezultat, obzirom na podatke iz literature. Oni govore o povišenom sFlt-1 i sniženom PlGF otprilike 5 ili čak 10 tjedana prije pojave preeklampsije s porastom sFlt-1 između 16-20 tjedna trudnoće, odnosno padu PlGF u ranom prvom tromjesečju kod trudnica s ranom preeklampsijom.[160,161,288,290]

Kod urednih trudnoća serumska koncentracija PlGF raste od 8-12 tjedna trudnoće, doseže vrh između 29-32 tjedna, i snizuje se od 33-40 tjedna trudnoće.[161,289]

Rezultati za PlGF u našoj studiji su sljedeći; AUC 0,76; $p<0,001$; prosječna vrijednost za sve preeklampsije neovisno o tjednima trudnoće je iznosila 80 ng/L, za kontrole 154 ng/L.
Iz rezultata je vidljivo da su vrijednosti PlGF statistički značajno niže kod trudnica koje su razvile preeklampsiju nego vrijednosti PlGF-a u kontrolnoj skupini, što je u skladu s rezultatima dosad objavljenih studija.[161,163,290] Prema rezultatima multinacionalne studije Verlohrena i suradnika, koja je rađena istom metodologijom i reagensima kao i naša studija, prosječna vrijednost serumske koncentracije PlGF kod trudnica s preeklampsijom je iznosila

76 pg/mL, dok je ta vrijednost iznosila 342 pg/mL u kontrolnoj skupini, s AUC 0,92, što je slično našim rezultatima. [292]

U preglednoj studiji Widmer i suradnici su zaključili da su sve studije konzistentno izvjestile o padu razine PlGF u drugom i trećem tromjesečju kod trudnoća kompliciranih preeklampsijom u usporedbi s kontrolama pri čemu je pad razine PlGF korelirao s težinom preeklampsije kod onih studija koje su istraživale teške preeklampsije.[163]

Potencijalno upotrebljiva zanimljivost pri PlGF-u jest njegova mala molekularna težina i činjenica da se stvara u placenti tijekom trudnoće, zbog čega se smatra da bi njegovo određivanje u urinu bilo jednostavnije, a još uvijek dovoljno pouzdano.

Levine i suradnici su dokazali da tijekom uredne trudnoće urinarni PlGF pokazuje istu krivulju promjena koncentracije poput serumskog PlGF-a.[162]

Ako usporedimo rezultate cijelog niza studija koje se bave angiogenim čimbenicima, uočit ćemo osjetne razlike u svim statističkim pokazateljima.[290]

Opisane razlike u rezultatima između studija mogu se objasniti različitim vremenom uzimanja uzoraka, odnosno ovisnošću o gestacijskoj dobi kad su uzorci uzimani, broju uzoraka, činjenici da li se radi o teškoj ili blagoj preeklampsiji, multiploj trudnoći, te cijelom nizu tehničkih razloga od uzimanja do procesuiranja (različite metode, tehnologije) uzoraka. [161,288,290,294,291]

Na osnovu dosadašnjih saznanja, smatra se da je snižena koncentracija PlGF u serumu i urinu kod preeklampsija posljedica njegovog vezanja na antiangiogene čimbenike prije nego rezultat smanjene placentarne proizvodnje.[290]

U urednoj trudnoći serumske koncentracije sFlt-1 opadaju od 8-12 do 16-20 tjedna trudnoće, postupno rastu oko 26-30 tjedna trudnoće, zatim rapidno rastu između 35-39 tjedna trudnoće, da bi se vratile na normalnu razinu nakon poroda.[161]

Ako usporedimo rezultate angiogenih čimbenika našeg istraživanja međusobno, odnosno sFlt-1 (AUC 0,890, p<0,001) i PlGF (AUC 0,761, p<0,001), možemo zaključiti da je sFlt-1 pokazao bolji prediktivni potencijal. Dapače, rezultati za sFlt-1 u našoj studiji su potvrdili da se radi o potencijalno izvrsnom prognostičkom parametru.

U već spomenutoj preglednoj studiji Widmera i suradnika, zaključeno je da su pregledne studije konzistentno demonstrirale porast razine sFlt-1 nakon 25-og tjedna trudnoće kod preeklampsije, pogotovo kod teške preeklampsije, u usporedbi s kontrolnom skupinom.[163]

Nova, multinacionalna studija Verlohrena i suradnika koja je obuhvaćala veći broj pacijentica kojima su uzimani uzorci pri pojavi bolesti (71 sudionica s preeklampsijom te 280 trudnica u kontrolnoj skupini, pri čemu je korišten automatizirani assay sistem s reagensima

istog proizvođača kao i u našoj studiji; Elecsys®/Cobas®, Roche Diagnostics) je pokazala rezultate slične našim.[292]

Rezultati te studije su pokazali da su prosječne vrijednosti sFlt-1 u skupini trudnica s preeklampsijom (12981 pg/mL naspram 10961 ng/L u našoj studiji) i kontrolnoj skupini (2641 pg/mL naspram 4712 ng/L u našoj studiji) slične našim rezultatima. [292]

Rezultati ROC analize, odnosno površina ispod krivulje (AUC) kod svih preeklampsija (neovisno o tjednima trudnoće) za sFlt-1 je kod Verlohrena iznosila 0,91; dok Moore Simas i suradnici izvještavaju rezultat površine ispod krivulje (AUC) od 0,9 kod preeklampsija prije 34-og tjedna trudnoće što je vrlo slično našem rezultatu (AUC 0,89).[166,292] Relativno slične rezultate objavile su većinom i druge studije, pri čemu se svi slažu s tvrdnjom, da što je viša razina sFlt-1, to je prediktivnija za nastanak preeklampsije.

Studija Salahuddina i suradnika je pokazala dijagnostičku korist određivanja sFlt-1 pri razlikovanju preeklampsije od uredne trudnoće, gestacijske hipertenzije i kronične hipertenzije sa senzitivnošću od 79-90%, specifičnošću od 88-95%, pozitivnom prediktivnom vrijednosti od 6,7-16, te negativnom prediktivnom vrijednosti od 0,1-0,2, i površinom ispod krivulje (AUC) od 0,88-0,94 pri ROC analizi.[293]

Kod 38 trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom Sunderji i suradnici su demonstrirali povišenu razinu sFlt-1 u serumu (medijan 91,514 pg/mL vs 2416 pg/mL; p<0,001) i reduciranu razinu PlGF (medijan 12,1 pg/mL prema 447 pg/mL; p<0,001) u usporedbi s normotenzivnom kontrolnom skupinom (n=338).

Zanimljivost je da kod trudnica s kroničnom hipertenzijom (n=18, sFlt-1 2277 pg/mL; p=0,2; PlGF 364 pg/mL; p=0,1) nisu našli statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolnu skupinu, što potvrđuje tezu Salahuddina i suradnika da angiogeni čimbenici imaju sposobnost razlikovanja preeklampsije od ostalih hipertenzivnih bolesti u trudnoći.[294]

Kako patogenezu preeklampsije karakterizira neravnoteža proangiogenih i antiangiogenih čimbenika, predložen je omjer sFlt-1/PlGF kao potencijalno relevantan parametar za predviđanje i dijagnozu preeklampsije.

Naši rezultati za omjer sFlt-1/PlGF su pokazali (AUC 0,895, p<0,001, prosječna vrijednost u skupini trudnica s preeklampsijom iznosi 221,8; te za kontrolnu skupinu 48,6) da spomenuti omjer angiogenih čimbenika ima bolji prediktivni potencijal od angiogenih čimbenika pojedinačno.

Slične rezultate kod omjera sFlt-1/PlGF izvještavaju Verlohren i suradnici, površina ispod krivulje (AUC) pri ROC analizi kod svih preeklampsija iznosi 0,95, bolje nego kod

sFlt-1 i PlGF pojedinačno, pri čemu je AUC kod ranih preeklampsija 0,97, te kod kasnih, terminskih identičan našem 0,89.[292]

Ako pogledamo različite studije opazit ćemo niz graničnih vrijednosti koje se predlažu kao granice s najvećom dijagnostičkom preciznošću. Npr., De Vivo i suradnici predlažu graničnu vrijednost od 38,46 za sFlt-1/PlGF omjer, dok Verholern i suradnici u svojoj studiji predlažu graničnu vrijednost omjera 85 i više sa senzitivnošću od 82% i specifičnošću od 95%.[292,295]

Granična vrijednost za omjer sFlt-1/PlGF u našoj studiji iznosi 61,83, za koju senzitivnost iznosi 90,6%, a specifičnost 80%.

Prije donošenja definitivnih zaključaka treba prikupiti više dokaza, posebno putem prospektivnih analiza na što većem broju uzorka da bi se odredila optimalna granična vrijednost omjera sFlt-1/PlGF.

Pretpostavljajući da je serijsko mjerenje proangiogenih/antiangiogenih čimbenika potencijalno točnije od jednokratnog mjerenja, Kusanovic i suradnici napravili su studiju u kojoj su trudnicama dva puta uzimali uzorke (između 6 – 15 tjedna, odnosno između 20 - 25 tjedna trudnoće). Razlika u omjeru sFlt-1/PlGF kod trudnica koje su razvile preeklampsiju i kontrola nije bio izražen kao u drugim studijama, ali je ipak ostao prediktivan kod trudnoća koje su završile najkasnije u drugom tromjesečju.

Angiogeni čimbenici pojedinačno određeni u spomenutim tjednima trudnoće također nisu pokazali prediktivni potencijal u smislu kasne, terminske preeklampsije.[291]

Zanimljivi su rezultati nedavne studije u kojoj autori zaključuju da kod trudnica s manje od 34 tjedna trudnoće te sumnjom na preeklampsiju, omjer sFlt-1/PlGF uspješno prognozira nastanak komplikacija unutar 2 tjedna.[296]

Istraživani angiogeni čimbenici i njihovi omjeri bili su neizostavni dio najboljih prognostičkih modela dobivenih logističkom regresijom u drugoj studiji (Tablica 17 - Tablica 22). Ako usporedimo rezultate prve, retrospektivne studije sa standardnim hematološko - biokemijskim čimbenicima i druge prospektivne studije s novim angiogenim čimbenicima vidjet ćemo da je prediktivni potencijal izabranih panela u drugoj studiji narastao za nekoliko postotaka. Za taj su rezultat najviše zaslužni angiogeni čimbenici, pojedinačno i izraženi kao omjer. Od standardnih biokemijsko-hematoloških parametara u drugoj studiji jedino su urati pokazali prediktivni potencijal koji je usporediv s proangiogenim/antiangiogenim čimbenicima (AUC 0,847, $p<0,001$, granična vrijednost 334 μmol/L).

Konkretnije, usporedbom osnovnog modela prve, retrospektivne studije koji je koristio urate i ureu u predikciji nastanka preeklampsije u trećem tromjesečju i uspješno klasificirao 79,6% sudionica, s osnovnim modelom druge studije (Model 3, Tablica 21 i Tablica 22) koji

je koristio sFlt-1 i PlGF pojedinačno te urate u drugom i trećem tromjesečju, postotak uspješno klasificiranih sudionica je narastao na 85,07%. Ta dva osnovna modela su vjerojatno najvjerodostojnija obzirom da su prilkom njihove izrade upotrebljeni isključivo laboratorijski parametri.

Razlika je i u tome što smo s novim angiogenim čimbenicima u drugoj studiji uspješno klasificirali i dio sudionica u nižim tjednima gestacije (≤ 34 tjedana trudnoće), što nismo radili u prvoj studiji.

Drugim modelom prve, retrospektivne studije napravljen pomoću urata i uree, te s dodatna četiri laboratorijska parametra koji su pokazali statistički značajnu razliku između isptivanih skupina smo podigli postotak ispravne klasifikacije sudionica na 83,8%. Identičan princip statističke obrade napravljen je i u drugoj, prospektivnoj studiji kod druga dva modela, pri čemu smo opet koristili sFlt-1 i PlGF zajedno s uratima te smo u modele dodali antropometrijske parametre (indeks tjelesne mase prije poroda u prvom modelu, te indeks tjelesne površine prije poroda u drugom modelu) (Tablica 17-20).

Postoci ispravne klasifikacije su porasli do 88,06% u modelu u kojem je korišten BMI prije poroda, do visokih 91,04% u drugom modelu kod kojeg smo BMI prije poroda zamijenili s BSA. Zanimljivost je da usprkos pojedinačno demonstriranom najboljem rezultatu (AUC 0,895, p<0,001), omjer sFlt-1/PlGF nije našao svoje mjesto među optimalnim panelima u drugoj studiji. Vjerojatan razlog tome je niža osjetljivost PlGF u odnosu na sFlt-1 (i niža površina ispod krivulje) čime je osjetljivost omjera dodatno oslabljena (Tablica 16).

Treba spomenuti da na podlozi dosadašnjih studija, postoji snažna korelacija između omjera sFlt-1/PlGF, PlGF, VEGF, sFlt-1 i sEng, također obećavajućeg antiangiogenog čimbenika kojeg na žalost nismo bili u mogućnosti određivati u ovoj studiji.[148,149,150,297]

Obećavajući rezultati angiogenih čimbenika su doprinijeli njihovoj popularnosti, tako da u literaturi možemo pronaći niz novih studija koje kombiniraju angiogene čimbenike s drugim biokemijskim, ultrazvučnim i ostalim parametrima, u pokušaju predikcije nastanka preeklampsije. Uspješnost takvih studija varira, većina je rađena u prvom tromjesečju, dobar dio je limitiran malim brojem sudionica u studiji, odnosno ograničenom sposobnošću dijagnostike terminske, kasne preeklampsije, koju nerijetko različito percipiraju (nakon 34-og tjedna trudnoće, dio studija nakon 37-og tjedna trudnoće).[164,298]

Ako se prisjetimo uvjeta za dobar probirni test koji bi morali biti zadovoljeni, postaje vidljivo da je dobar dio takvih studija s kliničkog aspekta vrlo upitan.

Prediktivni potencijal angiogenih čimbenika je prepoznala i Svjetska zdrastvena organizacija koja je inicirala veliku prospektivnu studiju u više zemalja u razvoju, na nekoliko

kontinenata, s ciljem ocjenjivanja proangiogenih/antiangiogenih čimbenika kao prediktora nastanka preeklampsije.

Rezimirajući znanstveni doprinos prve, retrospektivne studije, možemo zaključiti da smo potvrdili hipotezu da izabrani standardni laboratorijski parametri imaju značajan prognostički potencijal u predikciji kasne, terminske preeklampsije, koja čini većinu slučajeva. To se prije svega odnosi na urate, ureu i kreatinin, parametre koji primarno održavaju stanje bubrežne funkcije, organa koji među prvima ako ne i prvi pokazuje promjene kod trudnica s dijagnosticiranom preeklampsijom.

Ideja izrade optimalnih laboratorijskih panela u prvoj i drugoj studiji nije bila njihova primjena u kliničkom radu, već statistički dokumentirati ukupni prognostički potencijal izabranih laboratorijskih i antropometrijskih parametara, te pokazati koji od parametara najviše doprinose u prognozi nastanka preeklampsije, odnosno na koje parametre bi trebali biti posebno pozorni u kliničkom radu.

Prvom, retrospektivnom studijom dokazali smo da su izabrani standardni biokemijsko hematološki parametri upotrebljivi kao prediktori nastanka preeklampsije u trećem tromjesečju, podatak koji je klinički vrlo značajan obzirom da se tad dijagnosticira najveći broj preeklampsija te da se radi o laboratorijskim parametrima koji se rutinski određuju po cijelom svijetu i zadovoljavaju cijeli niz kriterija koje bi morao imati dobar probirni test (široko dostupna tehnologija, jednostavnost, brzina, cijena, reproducibilnost, neinvazivnost, ne ispostavljaju trudnicu ni dijete dodatnom riziku).

Dokazali smo da izabrani standardni hematološko biokemijski parametri određeni otprilike 3 dana prije pojave kasne preeklampsije imaju značajan prediktivni potencijal, što je dovoljan vremenski period da terapijskim postupcima utječemo na ishode takvih trudnoća.

Drugom studijom smo dokazali značajan prediktivni potencijal angiogenih čimbenika (pojedinačno i izraženih kao omjer) za predviđanje nastanka preeklampsije u drugom i trećem tromjesečju trudnoće te potvrdili rezultate dosad objavljenih studija za angiogene čimbenike i njihove omjere.[292,293,294]

Znanstveni doprinos druge studije jest i u usporedbi prognostičkog potencijala novih angiogenih čimbenika sa standardnim hematološko-biokemijskim čimbenicima, pri čemu smo uočili da su urati, urea i kreatinin potvrdili prediktivni potencijal za predviđanje nastanka preeklampsije i u drugoj, prospektivnoj studiji. Na podlozi rezultata druge studije možemo zaključiti da su urati jedini od standardnih laboratorijskih parametara koji su s aspekta prognostičkog potencijala za nastanak preeklampsije usporedivi s novim angiogenim čimbenicima.

Omjer sFlt-1/PlGF (AUC 0,895, p<0,001) je pokazao najbolje rezultate, zatim slijedi sFlt-1 (AUC 0,890, p<0,001), dok su urati (AUC 0,847, p<0,001) prema našim rezultatima, čak bolji prediktor od PlGF (AUC 0,761, p<0,001). Nadalje, znanstveni doprinos je i u izradi originalnih optimalnih panela, koji kombiniraju kumulativni prediktivni učinak novih angiogenih čimbenika sa standardnim laboratorijskim i antropometrijskim parametrima, pri čemu su utvrđeni vrlo visoki postoci ispravne klasifikacije 79,6 do 91,04% sudionica u istraživanju.

6 ZAKLJUČCI

1. Standarni biokemijsko - hematološki parametri pojedinačno imaju prediktivni potencijal za predviđanje nastanka preeklampsije u trećem tromjesečju trudnoće, posebice urati i urea, koji obuhvaćeni optimalnim panelom u prvoj, retrospektivnoj studiji ispravno klasificiraju 79,6% trudnica.
2. Stvaranjem optimalnog panela, dodajući parametre (trombociti, leukociti, AST, hematokrit) uspjeli smo točno klasificirati 83,6% sudionica u trećem tromjesečju prve, retrospektivne studije.
3. Ostali parametri u prvoj, retrospektivnoj studiji nisu pokazali prediktivni potencijal (eritrociti, hemoglobin, ALT, GGT, alkalna fosfataza, ukupni bilirubin, BMI, paritet, životna dob, krvna grupa).
4. U drugoj, prospektivnoj studiji koja je rađena na uzorcima dobivenima od 20 tjedna trudnoće nadalje, dokazali smo visok prediktivni potencijal novih proangiogenih/antiangiogenih čimbenika pojedinačno (PlGF, sFlt-1).
5. sFlt-1 je pokazao bolje rezultate u odnosu na PlGF.
6. Omjer sFlt-1/PlGF u serumu pokazao je bolji prediktivni potencijal od spomenutih angiogenih čimbenika pojedinačno.
7. Od standardnih biokemijsko - hematoloških parametara urati, urea te kreatinin su pokazali prediktivni potencijal i u drugoj, prospektivnoj studiji. Od spomenutih parametara jedino su urati našli svoje mjesto među najboljim laboratorijskim panelima druge studije.
8. U usporedbi sa standardnim biokemijsko - hematološkim parametrima, angiogeni čimbenici imaju bolji prediktivni potencijal.
9. Upotrebljavajući nove angiogene čimbenike pri izradi optimalnih panela druge studije uspješno smo klasificirali 85- 91 % sudionica u studiji.
10. Upotrebom novih angiogenih čimbenika u odnosu na standardne laboratorijske parametre pomiče se granica predikcije preeklampsije u niže tjedne trudnoće.
11. Ostali standardni biokemijsko - hematološki parametri (eritrociti, hemoglobin, hematokrit, GGT, AST, ALT, leukociti, trombociti, LDH, dob, paritet), niti u drugoj studiji nisu pokazali prediktivni potencijal.

7 LITERATURA

[1] Sibai BM: Hypertension in pregnancy. Obstet Gynecol Clin North Am. 1992;19(4):615-632.

[2] Report of the National high blood pressure education program working group on high blood pressure in pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2000;183(1):S1-S22.

[3] Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gulmezoglu AM, Van Look PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. Lancet. 2006; 367(9516):1066-1074.

[4] Berg CJ, Chang J, Callaghan WM, Whitehead SJ. Pregnancy-related mortality in the United States 1991–1997. Obstet Gynecol. 2003;101(2):289-296.

[5] Berg CJ, Harper MA, Atkinson SM, Bell EA, Brown HL, Hage ML, Mitra AG, Moise KJ Jr, Callaghan WM. Preventability of pregnancy-related deaths. Obstet Gynecol. 2005;106(6):1228-1234.

[6] European Society of Hypertension and European Society of Cardiology. Smjernice za dijagnosticiranje i liječenje arterijske hipertenzije 2003. Cjeloviti tekst. Hrvatsko kardiološko društvo, Radna skupina za arterijsku hipertenziju. 2004;30-32.

[7] Levine RJ, Ewell MG, Hauth JC, Curet LB, Catalano PM, Morris CD, Choudhary G, Sibai BM. Should the definition of preeclampsia include a rise in diastolic blood pressure of >/= 15 mm Hg to a level < 90 mm Hg in association with proteinuria? Am J Obstet Gynecol. 2000;183(4):787-792.

[8] North RA, Taylor RS, Schellenberg JC. Evaluation of a definition of preeclampsia. Br J Obstet Gynaecol. 1999;106(8):767-773.

[9] Alexander JM, McIntire DD, Leveno KJ, Cunningham FG. Selective magnesium sulfate prophylaxis for the prevention of eclampsia in women with gestational hypertension. Obstet Gynecol. 2006;108(4):826-832.

[10] Sibai BM. Diagnosis and managment of gestational hypertenson and preeclampsia. Obstet Gynecol. 2003;102(1):181-192.

[11] Lain KY, Roberts JM. Contemporary concepts of the pathogenesis and managment of preeclampsia. JAMA. 2002;287(24):3183-3186.

[12] ACOG practice bulletin. Diagnosis and managment of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. American Colllege of Obstetricians and Gynecologists. Int J Obstet Gynecol. 2002;77(1):67-75.

[13] Magloire L, Funai EF. Gestational hypertension. Dostupno: http://www.uptodate.com/gestationalhypertension via Internet (Prosinac 2011).

[14] Barton JR, O'brien JM, Bergauer NK, Jacques DL, Sibai BM. Mild gestational hypertension remote from term: progression and outcome. Am J Obstet Gynecol. 2001;184(5):979-983.

[15] Hauth JC, Ewell MG, Levine RJ, Esterlitz JR, Sibai B, Curet LB, Catalano PM, Morris CD. Pregnancy outcomes in healthy nulliparas who developed hypertension. Calcium for Preeclampsia Prevention Study Group. Obstet Gynecol. 2000; 95(1):24-28.

[16] Habek D, Moslavac S, Habek ČJ. Liječenje hipertenzivne bolesti u trudnoći. Med Jad. 2011;41(1-2):23-35.

[17] Hjartaardottir S, Leifson BG, Geirsson RT, Steinhorsdottir V. Recurrence of hypertensive disorder in second pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2006;194(2):916-920.

[18] Brown MA, Mackenzie C, Dunsmuir W, Roberts L, Ikin K, Matthews J, Mangos G, Davies G . Can we predict recurrence of pre-eclampsia or gestational hypertension? BJOG. 2007;114(8):984-993.

[19] Magnussen EB, Vatten LJ, Smith GD, Romundstadt PR. Hypertensive disorders in pregnancy and subsequently measured cardiovascular risk factors. Obtet Gynecol. 2009;114(5):961-970.

[20] Reubinoff BE, Schenker JG. HELLP syndrome--a syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count--complicating preeclampsia-eclampsia. Int J Gynaecol Obstet. 1991;36(2):95-102.

[21] Sibai BM. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): much ado about nothing? Am J Obstet Gynecol. 1990;162(2):311-316.

[22] Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. Obstet Gynecol. 2004;103(5 Pt 1):981-991.

[23] Haram K, Svendsen E, Abildgaard U. The HELLP syndrome: clinical issues and management. A Review. BMC Pregnancy Childbirth. 2009;9:8.

[24] Saftlas AF, Olson DR, Franks AL, Atrash HK, Pokras R. Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States, 1979-1986. Am J Obstet Gynecol. 1990;163(2):460-465.

[25] Đelmiš J. Hipertenzija i trudnoća. Liječ Vjesn. 2006;128:357–368.

[26] Cunningham FG, Lindeheimer MD. Hypertension in pregnancy. N Engl J Med. 1992;362(14):927-932.

[27] Towers CV, Pircon RA, Nageotte MP, Porto M, Garite TJ. Cocaine intoxication presenting as preeclampsia and eclampsia. Obstet Gynecol. 1993;81(4):545-547.

[28] Broekhuizen FF, Elejalde R, Hamilton PR. Early-onset preeclampsia, triploidy and fetal hydrops. J Reprod Med. 1983;28(3):223-226.

[29] Sibai BM. Magnesium sulfate prophylaxis in preeclampsia: Lessons learned from recent trials. Am J Obstet Gynecol. 2004;190(6):1520-1526.

[30] Duckitt K, Harrigton D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systemic review of controlled studies. BMJ. 2005;330(7491):565.

[31] Van Rijn BB, Hoeks LB, Bots ML, Franx A, Bruinse HW. Outcomes of subsequent pregnancy after first pregnancy with early onset preeclampsia. Am J Obst Gynecol. 2006;195(3):723-728.

[32] Campbell DM, MacGillivray I, Carr-Hill. Pre-eclampsia in second pregnancy. Br J Obstet Gynecol. 1985;92(2):131-140.

[33] 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):1013-1018.

[34] Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. Am J Obstet Gynecol. 1998;179(5):1359-1375.

[35] O'Brien TE; Ray JG, Chan WS. Maternal body mass index and the risk of preeclampsia: a systematic overview. Epidemiology. 2003;14(3):368-374.

[36] Wolf M, Kettyle E, Sandler L, Ecker JL, Roberts J, Thandani R. Obesity and preeclampsia: the potential role of inflammation. Obstet Gynecol. 2001;98(5 Pt 1):757-562.

[37] Stella CL, How HY, Sibai BM. Thrombophilia and adverse maternal-perinatal outcome: controversies in screening and management. Am J Perinatol. 2006;23(8):499-506.

[38] Said JM, Higgins JR, Moses EK, Walker SP, Borg AJ, Monagle PT, Brennecke SP. Inhereted thrombophilia polymorphisms and pregnancy outcome in nulliparous women. Obstet Gynecol. 2010;115(1):5-13.

[39] Murphy RP, Donoghue C, Nallen RJ, D'Mello M, Regan C, Whitehead AS, Fitzgerald DJ. Prospective evaluation of the risk conferred by factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in pregnancy. Aterioscler Thromb Vasc Biol. 2000;20(1):266-270.

[40] Stubblefield PG. Interpregnancy interval and pregnancy outcome. Dostupno: http//:www.uptodate.com/interpregnancyintervalandpregnancyoutcome via Internet (Siječanj 2012).

[41] Conde-Agudelo A, Villar J, Lindeheimer M. Maternal infection and risk of preeclampsia: systematic review and metaanalysis. Am J Obstet Gynecol. 2008;198(1):7-22.

[42] Castles A, Adams EK, Melvin CL, Kelsch C, Boulton ML. Effects of smoking during pregnancy. Five meta-analyses. Am J Prev Med. 1999;16(3):208-215.

[43] Bellomo G, Narducci PL, Rondoni E, Pastorelli G, Stangoni G, Angeli G, Verdecchia P. Prognostic value of 24-hour blood pressure in pregnancy. JAMA. 1999;282(15):1447-1452.

[44] Brown MA, Robinson A, Jones M. The white coat effect in hypertensive pregnancy: much ado about nothing? Br J Obstet Gynaecol. 1999;106(5):474-480.

[45] Bergel E, Carroli G, Althabe F. Ambulatory versus conventional methods for monitoring blood pressure during pregnancy. Cochrane Database Syst Rev. 2002;(2):CD001231.

[46] Higby K, Suiter CR, Phelps JY, Siler-Khodr T, Langer O. Normal values of urinary albumin and total protein excretion during pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 1994;171(4):984-989.

[47] Lindheimer MD, Kanter D. Interpreting abnormal proteinuria in pregnancy: the need for a more pathophysiological approach. Obstet Gynecol. 2010;115(2 Pt 1):365-375.

[48] Thornton CE, Makris A, Ogle RF, Tooher CE, Hennessy A. Role of proteinuria in defining pre-eclampsia: clincal outcomes for woman and babies. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2010;37(4):466-470.

[49] Sibai BM. Eclampsia. VI. Maternal-perinatal outcome in 254 consecutive cases. Am J Obstet Gynecol. 1990;163(3):1049-1054.

[50] Sibai BM, Lindeheimer M, Hauth J, Caritis S, VanDorsten P, Klebanoff M, MacPherson C, Landon M, Miodovnik M, Paul R et al. Risk factors for preelampsia, abruptio placentae, and adverse neonatal outcomes among women with chronic hypertension. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. N Engl J Med. 1998;339(10):667-671.

[51] Waugh JJ, Clark TJ, Divakaran TG, Khan KS, Kilby MD. Accuracy of urinanalysis dipstick techniques in predicting significant proteinuria in pregnancy. Obstet Gynecol. 2004;103(4):769-777.

[52] Smith NA, Lyons JG, McElrath TF. Proteine:creatinine ratio in uncomplicated twin pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2010;203(4):381.e1-4.

[53] Cote AM, Firoz T, Mattman A, Lam EM, von Dadelszen P, Magee LA. The 24-hour urine collection: gold standard or historical practice? Am J Obstet Gynecol. 2008; 199(6):625.e1-6.

[54] Papanna R, Mann LK, Kouides RW, Glantz JC. Protein/creatinine ratio in preeclampsia: a systemic review. Obstet Gynecol. 2008;112(1):135-144.

[55] Visintin C, Mugglestone MA, Almerie MQ, Nherera LM, James D, Walkinshaw S, Guideline Development Group. Management of hypertensive disorders during pregnancy: summary of NICE guidance. BMJ. 2010;341:c2207.

[56] Moran P, Lindheimer MD, Davison JM. The renal response to preeclampsia. Semin Nephrol. 2004;24(6):588-595.

[57] Taufield PA, Ales KL, Resnick LM, Druzin ML, Gertner JM, Laragh JH. Hypocalcuria in preeclampsia. N Engl J Med. 1987;316(12):715-718.

[58] August P, Marcaccio B, Gertner JM, Druzin ML, Resnick LM, Laragh JH. Abnormal 1,25-dihydroxyvitamin D metabolism in preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1992;166(4):1295-1299.

[59] Powers RW, Bodnar LM, Ness RB, Cooper KM, Gallaher MJ, Frank MP, Daftary AR, Roberts JM. Uric acid concentration in early pregnancy amon preeclamptic women with gestational hyperuricemia at delivery. Am J Obstet Gynecol. 2006;194(1):160.

[60] Garovic VD, Wagner SJ, Turner ST, Rosenthal DW, Watson WJ, Brost BC, Rose CH, Gavrilova L, Craigo P, Bailey KR,et al. Urinary podocyte excretion as a marker for preeklampsia. Am J Obstet Gynecol. 2007;196(4):320.e1-7.

[61] Stubbs TM, Lazarchick J,Van Dorsten JP, Cox J, Loadholt CB.. Evidence os accelerated platelet production and consumption in nonthrombocytopenic preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1986;155(2):263-265.

[62] Arias F, Mancilla-Jimenez R. Hepatic fibrinogen deposits in pre-eclampsia. Imunoflorescent evidence. N Engl J Med. 1976;295(11):578-582.

[63] Minakami H, Oka N, Sato T, Tamada T, Yasuda Y, Hirota N. Preeclampsia: a microvesicular fat disease of the liver? Am J Obstet Gynecol. 1988;159(5):1043-1047.

[64] Walters BN. Preeclamptic angina - -a pathognomonic symptom of preeclmapsia. Hypertens Pregnancy. 2011;30(2):117-124.

[65] Cunningham FG, Fernandez CO, Hernandez C. Blindness associated with preeclampsia and eclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1995;172(4pt1):1291-1298.

[66] Carpenter F, Kava HL, Plotkin D. The devolpment of total blindness as a complication of pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 1953; 66(3):641-647.

[67] Lang RM, Pridjian G, Feldman T, Neumann A, Lindheimer M, Borow KM. Left ventricular mechanisms in preeclampsia. Am Heart J. 1991;121(6Pt1):1768-1775.

[68] Bosio PM, McKenna PJ, Conroy R, O'Herlihy C. Maternal central hemodynamics in hypertensive disorders of pregnancy. Obstet Gynecol. 1999;94(6):978-984.

[69] Hankins GD, Wendel GD Jr, Cuningham FG, Leveno KJ. Longitudinal evaluation of hemodynamic changes in eclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1984;150(5Pt1):506-512.

[70] Cotton DB, Lee W, Huhta JC, Dorman KF. Hemodynamic profile of severe pregnancy-induced hypertension. Am J Obstet Gynecol. 1998;158(3pt1):523-529.

[71] Fleming SM, O'Gorman T, Finn J, Grimes H, Daly K, Morrison JJ. Cardiac troponin I in preeclampsia and gestational hypertension. BJOG. 2000;107(11):1417-1420.

[72] Benedetti TJ, Kates R, Williams V. Hemodynamic observation in severe preeclampsia complicated by pulmonary edema. Am J Obstet Gynecol. 1985;152(3):330-334.

[73] Odegard RA, Vatten LJ, Nielsen ST, Salvesen KA, Austgulen R. Preeclampsia and fetal growth. Obstet Gynecol. 2000; 96(6):950-955.

[74] Xiong X, Demianczuk NN, Bukens P, Saunders LD. Association of preeclampsia with high birth weight for age. Am J Obstet Gynecol. 2000; 183(1):148-155.

[75] Rasmussen S, Irgens LM. Fetal growth and body proportion in preeclampsia. Obstet Gynecol. 2003;101(3):575-583.

[76] Xiong X, Demianczuk NN, Saunders LD, Wang FL, Fraser WD. Impact of preeclampsia and gestational hypertension on birth weight by gestational age. Am J Epidemiol. 2002;155(3):203-209.

[77] Powe CE, Ecker J, Rana S, Wang A, Ankers E, Ye J, Levine RJ, Karumanchi SA, Thandani R. Preeclampsia nad risk of large-for-gestational-age infants. Am J Obstet Gynecol. 2011; 204(5):425.e1-6.

[78] Sibai BM, Mercer BM, Schiff E, Friedman SA. Agressive versus expectant managment of severe preeclampsia at 28 to 32 weeks' gestation: a randomized controlled trial. Am J Obstet Gynecol. 1994;171(3):818-822.

[79] Heard AR, Dekker GA, Chan A, Jacobs DJ, Vreeburg SA, Priest KR. Hypertension during pregnancy in South Australia, part1: pregnancy outcomes. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 2004; 44(5):404-409.

[80] Chang JJ, Muglia LJ, Macones GA. Association of early-onset –pre-eclampsia in first pregnancy with normotensive second pregnancy outcomes: a population based-based study. BJOG. 2010;117(8):946-953.

[81] Barton JR, Sibai BM. Prediction and prevention of reccurent preeclampsia. Obstet Gynecol. 2008;112(2 Pt 1):359-372.

[82] Sibai BM, el-Nazer, Gonzales-Ruiz A. Severe preeclampsia-eclampsia in young primigravid women: subsequent pregnancy outcome and remote prognosis. Am J Obstet Gynecol. 1986;155(5):1011-1016.

[83] Trogstadt L, Skrondal A, Stoltenberg C, Magnus P, Nesheim BI, Esklid A. Reccurence risk of preeclampsia in twin and singelton pregnancies. Am J Med Genet A. 2004:126A(1):41-45.

[84] Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams DJ. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systemic review and meta-analysis. BMJ. 2007;335(7627):974.

[85] McDonald SD, Malinowski A, Zhou Q, Yusuf S, Devereaux PJ. Cardiovasculaar sequelae of preeclampsia/eclampsia: a systemic review and meta-analyises. Am J Heart J. 2008;156(5):918-930.

[86] Vikse BE, Irgens LM, Leivestad T, Skjaerven R, Iversen BM. Preeclampsia and the risk of end-stage renal disease. N Engl J Med. 2008;359:800-809.

[87] Paltiel O, Friedlander Y, Tiram E, Barchana M, Xue X, Harlap S. Cancer after pre-eclampsia:follow up of the Jerusalem perinatal study cohort. BMJ. 2004;328(7445):919.

[88] Caledron-Margalit R, Friedlander Y, Yanetz R, Deutsch L, Perrin MC, Kleinhaus K, Tiram E, Harlap S, Paltiel O. Preeclampsia and subsequent risk of cancer: update from Jerusalem perinatal study. Am J Obstet Gynecol. 2009;200(1):63.e1-5.

[89] Douglas KA, Redman CW. Eclampsia in the United Kingdom. BMJ. 1994;309(6966):1395-1400.

[90] Zwart JJ, Richters A, Ory F, de Vries JI, Bloemenkamp KW, van Roosmalen J. Eclampsia in the Netherlands. Obstet Gynecol. 2008;112(4):820-827.

[91] Geographic variation in the incidence of hypertension in pregnancy. World Health Organization International Collaborative Study of Hypertensive Disorders of Pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 1988;158(1):80-83.

[92] Moore-Maxwell CA, Robboy SJ. Placental site trophoblastic tumor arising from antecedent molar pregnancy. Gynecol Oncol. 2004;92(2):708-712.

[93] Nugent CE, Punch MR, Barr M Jr, LeBlanc L, Johnson MP, Evans MI. Persistance of partial molar placenta and severe preeclampsia after selective termination in a twin pregnancy. Obstet Gynecol. 1996;87(5pt2):829-831.

[94] Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblast to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? J Clin Invest. 1997;99(9):2152-2164.

[95] Thou Y, Damsky CH, Chiu K, Roberts JM, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with abnormal expression of adhesion molecules by invasive cytotrophoblasts. J Clin Invest. 1993;91(3):950-960.

[96] Roberts JM, Redman CW. Pre-eclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. Lancet. 1993;341(8858):1447-1451.

[97] Meekins JW, Pijenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Asshe A. A study of placental bed spiral arteries and tropholast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnanies. Br J Obstet Gynaecol. 1994;101(8):669-674.

[98] Brosens I, Pijnenborg R, Vercruysse L, Romero R. The "Great Obstetrical Syndromes" are associated with disorders of deep placentation. Am J Obstet Gynecol. 2011;204(3):193-201.

[99] Cross JC, Werb Z, Fischer SJ. Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle. Science. 1994; 266(5190):1508-1518.

[100] Lim KH, Zhou Y, Janatpour M, McMaster M, Bass K, Chun SH, Fisher SJ. Human cytotrophoblast differentiation/invasion is abnormal in pre-eclampsia. Am J Pathol. 1997;151(6):1809-1818.

[101] Casper FW, Seufert RJ. Atrial natriuretic peptide (ANP) in preeclampsia-like syndrome in a rat model. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 1995;103(5):292-296.

[102] Dekker GA. Risk factors for preeclampsia. Clin Obstet Gynecol. 1999;42(3):422-435.

[103] Palmer SK, Moore LG, Young D, Cregger B, Berman JC, Zamudio S. Altered blood pressure course during normal pregnancy and increased preclampsia at high altitude (3100 meters) in Colorado. Am J Obstet Gynecol. 1999;180(5):1161-1168.

[104] Robertson WB, Brosens I, Dixon HG. The pathological response of the vessels of the placental bed to hypertensive pregnancy. J Pathol Bacteriol. 1967;93(2):581-592.

[105] Redman CW, Sargent IL. Preeclampsia and the systemic inflamatory response. Semin Nephrol. 2004;24(6):565-570.

[106] Makris A, Thornton C, Thornton J, Thomson S, Martin R, Ogle R, Waugh R, McKenzie P, Kirwan P, Hennessy A. Uteroplacental ischemia results in proteinuric hypertension and elevated sFlT-1. Kidney Int. 2007;71(10):977-984.

[107] Robilard PY, Hulsey TC, Perianin J, Janky E, Miri EH, Papiernik E. Association of pregnancy induced hypertension with duration of sexual cohabitation before conception. Lancet. 1994;344(8928):973-975.

[108] Koelman CA, Coumans AB, Nijman HW, Doxiadis II, Dekker GA, Claas FH. Correlation between oral seks and a low incidence of preeclampsia: a role for soluble HLA in seminal fluid? J Reprod Immunol. 2000;46(2):155-166.

[109] Einarsson JI, Sangi-Haghpeykar H, Gardner MO. Sperm exposure and development of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2003;188(5):1241-1243.

[110] Gleicher N. Why much of the pathophisiology of preeclampsia-eclampsia must be of an autoimmune nature. Am J Obstet Gynecol. 2007;196(1):5.e1-7.

[111] Loke YW, King A. Immunology of implantation. Bailliers Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2000;14(5):827-837.

[112] Huang SJ, Chen CP, Schatz F, Rahman M, Abrahams VM, Lockwood CJ. Pre-eclampsia is associated with dendritic cell recruitment into the uterine decidua. J Pathol. 2008;214(3):328-336.

[113] Hiby SE, Walker JJ, O'shaugnessy KM, Redman CW, Carrington M, Trowsdale J, Moffett A. Combinations of maternal KIR nad fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success. J Exp Med. 2004;200(8):957-965.

[114] Saftlas AF, Beydoun H, Triche E. Immunogenetic determinants of preeclampsia nad related pregnancy disorders: a systematic review. Obstet Gynecol. 2005;106(1):162-172.

[115] Xia Y, Wen H, Bobst S, Day MC, Kellems RE. Maternal autoantibodies from preeclamptic patients activate angiotensin receptors on human trophoblast cells. J Soc Gynecol Investig. 2003;10(2):82-93.

[116] Dechend R, Muller DN, Wallukat G, Homuth V, Krause M, Dudenhausen J, Luft FC. AT1 receptor agonistic antibodies, hypertension and preeclampsia. Semin Nephrol. 2004;24(6):571-579.

[117] Zhou CC, Ahmad S, Mi T, Abbasi S, Xia L, Day MC, Ramin SM, Ahmed A, Kellems RE, Xia Y. Autoantibody from women with preeclampsia includes soluble Fms-like tyrosine kinase-1 production via angiotensin type 1 receptor and calcineurin/nuclear factor of activated T-cells signaling. Hypertension. 2008;51(4):1010-1019.

[118] Granger JP, Alexander BT, Bennet WA, Khalil RA. Patophisiology of pregnancy-induced hypertension. Am J Hypertens. 2001;14(6pt2):178S-185S.

[119] AbdAlla S, Lother H, el Massiery A, Quitterer U. Increased AT(1) receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiviness. Nat Med. 2001;7(9):1003-1009.

[120] Zhou CC, Zhang Y, Irani RA, Zhang H, Mi T, Popek EJ, Hicks MJ, Ramin SM, Kellems RE, Xia Y. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce pre-eclampsia in pregnant mice. Nat Med. 2008;14(8):855-862.

[121] Mogren I, Hogberg U, Winkvist A, Stenlund H. Familial occurence of preeclampsia. Epidemiology. 1999;10(5):518-522.

[122] Van Dijk M, Mulders J, Poutsma A, Könst AA, Lachmeijer AM, Dekker GA, Blankenstein MA, Oudejans CB. Maternal segregation of the Dutch preeclampsia locus at 10q22 with a new member of the winged helix gene family. Nat Genet. 2003;37(5):514-519.

[123] Esplin MS, Fausett MB, Fraser A, Kerber R, Mineau G, Carrillo J, Varner MW. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. N Engl J Med. 2001;344(12):867-872.

[124] Lie RT, Rasmussen S, Brunborg H, Gjessing HK, Lie-Nielsen E, Irgens LM. Fetal and maternal contributions to risk of pre-eclampsia: population based study. BMJ. 1998;316(7141):1343-1347.

[125] Arngrímsson R, Sigurõardóttir S, Frigge ML, Bjarnadóttir RI, Jónsson T, Stefánsson H, Baldursdóttir A, Einarsdóttir AS, Palsson B, Snorradóttir S, et al. A genome-wide scan reveals a maternal susceptibility locus for pre-eclampsia on chromosome 2p13. Hum Mol Genet. 1999;8(9):1799-1805.

[126] Moses EK, Lade JA, Guo G, Wilton AN, Grehan M, Freed K, Borg A, Terwilliger JD, North R, Cooper DW, Brennecke SP. A genome scan in families from Australia and New Zealand confirms the presence of a maternal susceptibility locus for pre-eclampsia, on chromosome 2. Am J Hum Genet. 2000;67(6):1581-1585.

[127] Laivuori H, Lahermo P, Ollikainen V, Widen E, Häivä-Mällinen L, Sundström H, Laitinen T, Kaaja R, Ylikorkala O, Kere J. Susceptibility loci for preeclampsia on chromosomes 2p25 and 9p13 in Finnish families. AmJ Hum Genet. 2003;72(1):168-177.

[128] Tuohy JF, James DK. Pre-eclampsia and trisomy 13. Br J Obstet Gynecol. 1992;99(11):891-894.

[129] Bdolah Y, Palomaki GE, Yaron Y, Bdolah-Abram T, Goldman M, Levine RJ, Sachs BP, Haddow JE, Karumanchi SA. Circulating angiogenic proteins in trisomy 13. Am J Obstet Gynecol. 2006;194(1):239-245.

[130] Lachmeijer AM, Arngrimson R, Bastians EJ, Frigge ML, Pals G, Sigurdardóttir S, Stéfansson H, Pálsson B, Nicolae D, Kong A, et al. A genome-wide scan for preeclampsia in the Netherlands. Eur J Hum Genet. 2001;9(10):758-764.

[131] Levine RJ, Hauth JC, Curet LB, Sibai BM, Catalano PM, Morris CD, DerSimonian R, Esterlitz JR, Raymond EG, Bild DE, et al. Trial of calcium to prevent preeclampsia. N Engl J Med. 1997;337(2):69-76.

[132] Hofmeyr GJ, Lawrie TA, Atallah AN, Duley L. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. Cochrane Database Syst Rev. 2010;(8):CD001059.

[133] Roberts JM, Taylor RN, Goldfien A. Clinical and biochemical evidence of endothelial cell dysfunction in the pregnancy syndrome preeclampsia. Am J Hypertens. 1991;4(8):700-708.

[134] Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflamatory response to pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 1999;180(2 Pt 1):499-506.

[135] Friedman SA, Schiff E, Emeis JJ, Dekker GA, Sibai BM. Biochemical corroboration of endothelial involvment in severe preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1995;172(1 Pt 1):202-203.

[136] Hsu CD, Iriye B, Johnson TR, Witter FR, Hong SF, Chan DW. Elevated circulating thrombomodulin in severe preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1993;169(1):148-149.

[137] McCarthy AL, Woolfson RG, Raju SK, Poston L. Abnormal endothelial cell function of resistance arteries from women with preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1993;168(4):1323-1330.

[138] Pascoal IF, Lindeheimer MD, Nalbantian-Brandt C, Umans JG. Preeclampsia selectively imapairs endothelium-dependent relaxation and leads to oscillatory activity in small omental arteries. J Clin Invest. 1998;101(2):464-470.

[139] Taylor RN, Roberts JM. Endothelial cell dysfunction. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG (eds): Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2nd ed. Stamford, CT, Appleton & Lange, 1999, p 395.

[140] Roberts JM, Edep ME, Goldfienn A, Taylor RN. Sera from preeclamptic women specifically activate human umbilical vein endothelial cells in vitro: morphological and biochemical evidence. Am J Reprod Immunol. 1992; 27(3-4):101-108.

[141] Chambers JC, Fusi L, Malik IS, Haskard DO, De Swiet M, Kooner JS. Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia. JAMA. 2001;285(12):1607-1612.

[142] Levine RJ, Qian C, Maynard SE, Yu KF, Epstein FH, Karumanchi SA. Serum sFlt1 concentration during preeclampsia and mid trimester blood pressure in healthy nulliparous women. Am J Obstet Gynecol. 2006;194(4):1034-1041.

[143] Harskamp RE, Zeeman GG. Preeclampsia: at risk for remote cardiovascular disease. Am J Med Sci. 2007;334(4):291-295.

[144] Levine RJ, Vatten LJ, Horowitz GL, Qian C, Romundstad PR, Yu KF, Hollenberg AN, Hellevik AI, Asvold BO, Karumanchi SA. Pre-eclampsia, soluble fms-like tyrosine kinase 1, and the risk of reduced thyroid function: nested case-control and population based study. BMJ. 2009;339:b4336.

[145] Karumanchi SA, Epstein FH. Placental ischemia and soluble fms-like tyrosine kinase 1: cause or consequence of preeclampsia? Kidney Int. 2007; 71(10):956-961.

[146] Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase1(sFlt1) may contribute endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. J Clin Invest. 2003;111(5):649-658.

[147] Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, Bdolah Y, Lim KH, Yuan HT, Libermann TA, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. Nat Med. 2006;12(6):642-649.

[148] Luft FC. Soluble endoglin (sEng) joins the soluble fms-like tyrosine kinase (sFlt.1) receptor as a pre-eclampsia molecule. Nephrol Dial Transplant. 2006;21(11):3052-3054.

[149] Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. N Engl J Med. 2006;355(10):992-1005.

[150] Staff AC, Braekke K, Johnsen GM, Karumanchi SA, Harsem NK. Circulating concentrations of soluble endoglin (CD105) in fetal and maternal serum and in amniotic fluid in preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2007;197(2):176.e1-6.

[151] Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. Science. 2005;308(5728):1592-1594.

[152] Germain SJ, Sacks GP, Soorana SR, Sargent IL, Redman CW. Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles. J Immunol. 2007;178(9):5949-5956.

[153] Karumanchi SA, Lim KH, August P. Pathogenesis of preeclampsia. Dostupno na: http://www.uptodate.com/pathogenesisofpreeclampsia via Internet (Rujan 2011).

[154] Milne F, Redman C, Walker J, Baker P, Bradley J, Cooper C, de Swiet M, Fletcher G, Jokinen M, Murphy D, et al. The pre-eclampsia community guideline (PRECOG): how to screen for and detect onset of pre-eclampsia in the community. BMJ. 2005;330(7491):576-580.

[155] Caughey AB, Stotland NE, Washington AE, Escobar GJ. Maternal ethnicity, paternal ethnicity, and paternal ethnic discordance: predictors of preeclampsia. Obstet Gynecol. 2005;106(1):156-161.

[156] Cnossen JS; ter Riet G, Mol BW, van der Post JA, Leeflang MM, Meads CA, Hyde C, Khan KS. Are tests for predicting pre-eclampsia good enough to make screening viable? A review of reviews and critical appraisal. Acta Obstet Scand. 2009;88(7):758-765.

[157] Conde-Agudelo A, Villar J, Lindegeimer M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. Obstet Gynecol. 2004;104(6):1367-1391.

[158] Briceno-Perez C, Briceno-Sanabria L, Vigil-de Gracia P. Prediction and prevention of preeclampsia. Hypertens Pregnancy. 2009;28(2):138-155.

[159] Giguere Y; Charland M, Bujold E, Bernard N, Grenier S, Rousseau F, Lafond J, Légaré F, Forest JC. Combining biochemical and ultrasonographic markers in predicting preeclampsia: a systematic review. Clin Chem. 2010;56(3):361-375.

[160] Chaiworapongsa T, Romero R, Kim YM, Kim GJ, Kim MR, Espinoza J, Bujold E, Gonçalves L, Gomez R, Edwin S, Mazor M. Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 concentration is elevated prior to the clinical diagnosis of pre-eclampsia. J Matern Fetal Neonatal Med. 2005;17(1):3-18.

[161] Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. N Engl J Med. 2004;350(7):672-683.

[162] Levine RJ, Thandani R, Qian C, Lam C, Lim KH, Yu KF, Blink AL, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM et al. Urinary placental growth factor and risk for preeclampsia. JAMA. 2005;293(1):77-85.

[163] Widmer M, Villar J, Benigni A, Conde-Agudelo A, Karumanchi SA, Lindheimer M. Mapping the theories of preeclampsia and the role of anfiogenic factors: a systemic review. Obstet Gynecol. 2007;109(1):168-180.

[164] Akolekar R, de Cruz J, Fodiart JM, Munaut C, Nicolaides KH. Maternal plasma soluble fms like tyrosine kinase-1 and free vascular endothelial growth factor at 11 to 13 weeks of gestation in preeclampsia. Prenat Diagn. 2010;30(3):191-197.

[165] Buhimschi CS, Baumbusch MA, Dulay AT, Lee S, Wehrum M, Zhao G, Bahtiyar MO, Pettker CM, Ali UA, Funai EF, Buhimschi IA. The role of urinary soluble endoglin in the diagnosis of pre-eclampsia: comparison with soluble fms like tyrosine kinase 1 to placental growth factor ratio. BJOG. 2010;117(3):321-330.

[166] Moore Simas TA, Crawford SL, Solitro MJ, Frost SC, Meyer BA, Maynard SE. Angiogenic factors for the prediction of preeclmpsia in high-risk women. Am J Obstet Gynecol. 2007;197(3):244.e1-8.

[167] Buhimschi CS, Magloire L, Funai E, Norwitz ER, Kuczynski E, Martin R, Richman S, Guller S, Lockwood CJ, Buhimschi IA. Fractional excretion of angiogenic factors in women with severe preeclampsia. Obstet Gynecol. 2006;107(5):1103-1113.

[168] Cnossen JS, Morris RK, ter Riet G, Mol BW, van der Post JA, Coomarasamy A, Zwinderman AH, Robson SC, Bindels PJ, Kleijnen J, et al. 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):701-711.

[169] Chien PF, Arnott N, Gordon A, Owen P, Khan KS.. How useful is uterine artery Doppler flow velocimetry in the prediction of pre-eclampsia, intrauterine growth retardation and perinatal death? An overview. BJOG. 2000;107(2):196-208.

[170] Yu CK, Smith GC, Papageorghiou AT, Cacho AM, Nicolaides KH; Fetal Medicine Foundation Second Trimester Screening Group. An integrated model for the prediction of preeclampsia using maternal factors and uterine artery Doppler velocimetry in unselected low-risk women. Am J Obstet Gynecol. 2005;193(2):429-436.

[171] Poon LC, Kametas NA, Maiz N, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. Hypertension. 2009;53(5):812-818.

[172] Buhimschi IA, Zhao G, Funai EF, Harris N, Sasson IE, Bernstein IM, Saade GR, Buhimschi CS. Proteomic profiling of urine identifies specific fragments of SERPINA1 and albumin as biomarkers of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2008;199(5):551.e1-16.

[173] Heitner JC, Koy C, Kreutzer M, Gerber B, Reimer T, Glocker MO. Differentiation of HELLP patients from healthy pregnant women by proteome analysis--on the way towards a clinical marker set. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2006;840(1):10-19.

[174] Cnossen JS, de Ruyter-Hanhijärvi H, van der Post JA, Mol BW, Khan KS, ter Riet G. Accuracy of serum uric acid determination in predicting pre-eclampsia: a systematic review. Acta Obstet Gynecol Scand. 2006;85(5):519-525.

[175] Thangaratinam S, Ismail KM, Sharp S, Coomarasamy A, Khan KS; Tests in Prediction of Pre-eclampsia Severity review group. Accuracy of serum uric acid in predicting complications of pre-eclampsia: a systematic review. BJOG. 2006;113(4):369-378.

[176] Koopmans CM, van Pampus MG, Groen H, Aarnoudse JG, van den Berg PP, Mol BW. Accuracy of serum uric acid as a predictive test for maternal complications in pre-eclampsia: bivariate meta-analysis and decision analysis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2009;146(1):8-14.

[177] Holzgreve W, Ghezzi F, Di Naro E, Gänshirt D, Maymon E, Hahn S. Disturbed feto-maternal cell traffic in preeclampsia. Obstet Gynecol. 1998; 91(5 pt 1):669-672.

[178] DiFederico E, Genbacev O, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with widespread apoptosis of placental cytotrophoblasts within the uterine wall. Am J Pathol. 1999; 155(1):293-301.

[179] Ozat M, Kanat-Pektas M, Yenicesu O, Gungor T, Danisman N, Mollamahmutoglu L. Serum concentrations of CA-125 in normal and preeclamptic pregnancies. Arch Gynecol Obstet. 2011;284(3):607-612.

[180] Poon LC, Kametas N, Bonino S, Vercellotti E, Nicolaides KH. Urine albumin concentration and albumin-to-creatinine ratio at 11(+0) to 13(+6) weeks in the prediction of pre-eclampsia. BJOG. 2008;115(7):866-873.

[181] Dizon-Townson D, Miller C, Sibai B, Sibai B, Spong CY, Thom E, Wendel G Jr, Wenstrom K, Samuels P, Cotroneo MA, Moawad A, et al. The relationship of the factor V Leiden mutation and pregnancy outcomes for mother and fetus. Obstet Gynecol. 2005;106(3):517-524.

[182] Silver RM, Zhao Y, Spong CY, Sibai B, Wendel G Jr, Wenstrom K, Samuels P, Caritis SN, Sorokin Y, Miodovnik M, et al. Prothrombin gene G20210A mutation and obstetric complications. Obstet Gynecol. 2010;115(1):14-20.

[183] Conde-Agudelo A, Romero R, Lindheimer MD. Tests to predict preeclampsia. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG (eds): Chesley's Hypertensive Disorders of Pregnancy, 3rd ed. New York, Elsevier, In press, 2009, p 191

[184] Chafetz I, Kuhnreich I, Sammar M, Tal Y, Gibor Y, Meiri H, Cuckle H, Wolf M. First-trimester placental protein 13 screening for preeclampsia and intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 2007;197(1):35.e1-7.

[185] Chavarria ME, Lara-Gonzalez L, Gonzalez-Gleason A, Sojo I, Reyes A. Maternal plasma cellular fibronectin concentrations in normal and preeclamptic pregnancies: A longitudinal study for early prediction of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2002;187(3):595-601.

[186] Stubbs TM, Lazarchick J, Horger EO 3rd. Plasma fibronectin levels in preeclampsia: a possible biochemical marker for vascular endothelial damage. Am J Obstet Gynecol. 1984;150(7):885-887.

[187] Leeflang MM, Cnossen JS, van der Post JA, Mol BW, Khan KS, ter Riet G. Accuracy of fibronectin tests for the prediction of pre-eclampsia: A systematic review. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2007;133(1):12-19.

[188] Mignini LE, Latthe PM, Villar J, Kilby MD, Carroli G, Khan KS. Mapping the theories of preeclampsia: The role of homocysteine. Obstet Gynecol. 2005;105(2):411-425.

[189] D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Ientile R, Granese D, Stella NC. Plasma homocysteine in early and late pregnancy complicated with preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. Acta Obstet Gynecol Scand. 2004;83(2):155-158.

[190] Bainbridge SA, Sidle EH, Smith GN. Direct placental effects of cigarette smoke protect women from pre-eclampsia: the specific roles of carbon monoxide and antioxidant systems in the placenta. Med Hypotheses. 2005; 64(1):17-27.

[191] Hubel CA, McLaughlin MK, Evans RW, Hauth BA, Sims CJ, Roberts JM. Fasting serum triglycerides, free fatty acids, and malondialdehyde are increased in preeclampsia, are positively correlated, and decrease within 48 hours postpartum. Am J Obstet Gynecol. 1996;174(3):975-982.

[192] Lund CJ, Donovan JC. Blood volume during pregnancy. Significance of plasma and red cell volumes. Am J Obstet Gynecol. 1967;98(3):394-403.

[193] Hytten, FE, Lind, T. Indices of cardiovascular function. In Hytten FE, Lind T. (eds): Diagnostic indices in pregnancy. Documenta Geigy, Basel 1973.

[194] Lurie S, Mamet Y. Red blood cell survival and kinetics during pregnancy. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2000; 93(2):185-192.

[195] Whittaker PG, Macphail S, Lind T. Serial hematologic changes and pregnancy outcome. Obstet Gynecol 1996; 88(1):33-39.

[196] World Health Organization. Iron Deficiency Anaemia. Assessment, Prevention, and Control. A guide for programme managers. 2001. Dostupno na: http://www.who.int/nutrition/publications/en/ida_assessment_prevention_control.pdf via Internet (Rujan 2011).

[197] Sacks GP, Seyani L, Lavery S, Trew G. Maternal C-reactive protein levels are raised at 4 weeks gestation. Hum Reprod. 2004;19(4):1025-1030.

[198] Kuvin SF, Brecher G. Differential neutrophil counts in pregnancy. N Engl J Med. 1962;266:877-878.

[199] Acker DB, Johnson MP, Sachs BP, Friedman EA. The leukocyte count in labor. Am J Obstet Gynecol. 1985;153(7):737-739.

[200] Greer IA. Thrombosis in pregnancy: maternal and fetal issues. Lancet. 1999;353(9160):1258-1265.

[201] Lindqvist P, Dahlbäck B, Marŝál K. Thrombotic risk during pregnancy: a population study. Obstet Gynecol. 1999;94(4):595-599.

[202] Szecsi PB, Jørgensen M, Klajnbard A, Andersen MR, Colov NP, Stender S. Haemostatic reference intervals in pregnancy. Thromb Haemost. 2010;103(4):718-727.

[203] Hellgren M. Hemostasis during normal pregnancy and puerperium. Semin Thromb Hemost. 2003;29(2):125-130.

[204] Ku DH, Arkel YS, Paidas MP, Lockwood CJ. Circulating levels of inflammatory cytokines (IL-1 beta and TNF-alpha), resistance to activated protein C, thrombin and fibrin generation in uncomplicated pregnancies. Thromb Haemost. 2003;90(6):1074-1079.

[205] Boehlen F, Hohlfeld P, Extermann P, Perneger TV, de Moerloose P. Platelet count at term pregnancy: a reappraisal of the threshold. Obstet Gynecol. 2000;95(1):29-33.

[206] Matthews JH, Benjamin S, Gill DS, Smith NA. Pregnancy-associated thrombocytopenia: definition, incidence and natural history. Acta Haematol. 1990;84(1):24-29.

[207] Tygart SG, McRoyan DK, Spinnato JA, McRoyan CJ, Kitay DZ. Longitudinal study of platelet indices during normal pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 1986;154(4):883-887.

[208] Ahmed Y, van Iddekinge B, Paul C, Sullivan HF, Elder MG. Retrospective analysis of platelet numbers and volumes in normal pregnancy and in pre-eclampsia. Br J Obstet Gynaecol. 1993;100(3):216-220.

[209] Verdy E, Bessous V, Dreyfus M, Kaplan C, Tchernia G, Uzan S. Longitudinal analysis of platelet count and volume in normal pregnancy. Thromb Haemost. 1997;77(4):806-807.

[210] Fay RA, Hughes AO, Farron NT. Platelets in pregnancy: hyperdestruction in pregnancy. Obstet Gynecol. 1983;61(2):238-240.

[211] Tsunoda T, Ohkuchi A, Izumi A, Watanabe T, Matsubara S, Sato I, Minakami H. Antithrombin III activity and platelet count are more likely to decrease in twin pregnancies than in singleton pregnancies. Acta Obstet Gynecol Scand. 2002;81(9):840-845.

[212] Francalanci I, Comeglio P, Alessandrello Liotta A, Cellai AP, Fedi S, Parretti E, Mecacci F, Mello G, Prisco D, Abbate R. D-dimer plasma levels during normal pregnancy measured by specific ELISA. Int J Clin Lab Res. 1997;27(1):65-67.

[213] Rymark P, Berntorp E, Nordsjö P, Liedholm H, Melander A, Gennser G. Low-dose aspirin to pregnant women: single dose pharmacokinetics and influence of short term treatment on bleeding time. J Perinat Med. 1994;22(3):205-211.

[214] Cerneca F, Ricci G, Simeone R, Malisano M, Alberico S, Guaschino S. Coagulation and fibrinolysis changes in normal pregnancy. Increased levels of procoagulants and reduced levels of inhibitors during pregnancy induce a hypercoagulable state, combined with a reactive fibrinolysis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1997;73(1):31-36.

[215] Schjetlein R, Haugen G, Wisløff F. Markers of intravascular coagulation and fibrinolysis in preeclampsia: association with intrauterine growth retardation. Acta Obstet Gynecol Scand. 1997;76(6):541-546.

[216] Halligan A, Bonnar J, Sheppard B, Darling M, Walshe J. Haemostatic, fibrinolytic and endothelial variables in normal pregnancies and pre-eclampsia. Br J Obstet Gynaecol. 1994;101(6):488-492.

[217] Gilabert J, Fernandez JA, España F, Aznar J, Estelles A. Physiological coagulation inhibitors (protein S, protein C and antithrombin III) in severe preeclamptic states and in users of oral contraceptives. Thromb Res. 1988;49(3):319-329.

[218] Roes EM, Sweep CG, Thomas CM, Zusterzeel PL, Geurts-Moespot A, Peters WH, Steegers EA. Levels of plasminogen activators and their inhibitors in maternal and umbilical cord plasma in severe preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2002;187(4):1019-1025.

[219] de Boer K, Lecander I, ten Cate JW, Borm JJ, Treffers PE. Placental-type plasminogen activator inhibitor in preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1988;158(3 Pt 1):518-522.

[220] Konijnenberg A, Stokkers EW, van der Post JA, Schaap MC, Boer K, Bleker OP, Sturk A. Extensive platelet activation in preeclampsia compared with normal pregnancy: enhanced expression of cell adhesion molecules. Am J Obstet Gynecol.1997;176(2):461-469.

[221] Konijnenberg A, van der Post JA, Mol BW, Schaap MC, Lazarov R, Bleker OP, Boer K, Sturk A. Can flow cytometric detection of platelet activation early in pregnancy predict the occurrence of preeclampsia? A prospective study. Am J Obstet Gynecol. 1997;177(2):434-442.

[222] Halim A, Kanayama N, el Maradny E, Nakashima A, Bhuiyan AB, Khatun S, Terao T. Plasma P selectin (GMP-140) and glycocalicin are elevated in preeclampsia and eclampsia: their significances. Am J Obstet Gynecol. 1996;174(1 Pt 1):272-277.

[223] Ballegeer VC, Spitz B, De Baene LA, Van Assche AF, Hidajat M, Criel AM. Platelet activation and vascular damage in gestational hypertension. Am J Obstet Gynecol. 1992;166(2):629-633.

[224] Karalis I, Nadar SK, Al Yemeni E, Blann AD, Lip GY. Platelet activation in pregnancy-induced hypertension. Thromb Res. 2005;116(5):377-383.

[225] Macey MG, Bevan S, Alam S, Verghese L, Agrawal S, Beski S, Thuraisingham R, MacCallum PK. Platelet activation and endogenous thrombin potential in pre-eclampsia. Thromb Res. 2010;125(3):e76-81.

[226] Slemons JM,Bogert LJ.The uric acid content of maternal and fetal blood. J Biol Chem. 1917;32:63–69.

[227] Pagana KD, Pagana TJ, editors. Mosby's manual of diagnostics and laboratory tests, 2 ed. St. Louis: Mosby; 2002.

[228] Lind T, Godfrey KA, Otun H, Philips PR. Changes in serum uric acid concentrations during normal pregnancy. Br J Obset Gynecol. 1984;91(2):128-132.

[229] Johnson RJ, Kang DH, Feig D, Kivlighn S, Kanellis J, Watanabe S, Tuttle KR, Rodriguez-Iturbe B, Herrera-Acosta J, Mazzali M. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? Hypertension. 2003;41(6):1183-90.

[230] Conrad KP, Lindheimer MD. Renal and cardiovascular alterations. In:LindheimerMD,RobertsJM,CunninghamFG,editors. Chesley's hypertensive disorders in pregnancy. Stamford (CT):Appleton & Lange; 1999.

[231] Martin AC, Brown MA. Could uric acid have a pathogenic role in pre – eclampsia? Nat Rev Nephrol. 2010;6(12):744-748.

[232] Kang DH, Finch J, Nakagawa T, Karumanchi SA, Kanellis J, Granger J, Johnson RJ. Uric acid, endothelial dysfunction and pre-eclampsia: searching for a pathogenetic link. J Hypertens. 2004;22(2):229-235.

[233] Bainbridge SA, Roberts JM. Uric acid as a pathogenic factor in preeclampsia. Placenta. 2008;29 Suppl A:S67–S72.

[234] Bainbridge SA, von Versen-Hoynck F, Roberts JM. Uric acid inhibits placental system A amino acid uptake. Placenta. 2009;30(2):195–200.

[235] Bainbridge SA, Roberts JM, von Versen-Höynck F, Koch J, Edmunds L, Hubel CA. Uric acid attenuates trophoblast invasion and integration into endothelial cell monolayers. Am J Physiol Cell Physiol. 2009;297(2):C440-450.

[236] Bainbridge SA, Deng JS, Poberts JM. Increased Xanthine Oxidase in the Skin of Preeclamptic Women. Reprod Sci. 2009;16(5):468–478.

[237] Laughon SK, Catov J, Powers RW, Roberts JM, Gandley RE. First trimester uric acid and adverse pregnancy outcomes. Am J Hypertens. 2011;24(4):489-495.

[238] Roberts JM, Bodnar LM, Lain KY, Hubel CA, Markovic N, Ness RB, Powers RW. Uric acid is as important as proteinuria in identifying fetal risk in women with gestational hypertension. Hypertension. 2005;46(6):1263-1269.

[239] Delić R, Štefanović M. Optimal laboratory panel for predicting preeclampsia. J Matern Fetal Neonatal Med. 2010;23(1):96-102.

[240] Davison JM, Noble MC. Serial changes in 24 hour creatinine clearance during normal menstrual cycles and the first trimester of pregnancy. Br J Obstet Gynecol. 1981;88(1):10-17.

[241] Davison JM, Dunlop W. Ezimokhai M. 24 hour creatinine clearance during the third trimester of normal pregnancy. Br J Obstet Gynaecol. 1980;87(2):106-109.

[242] Girling JC. Re-evaluation of creatinine in pregnancy. J Obstet Gynaecol. 2000;20(2):128-131.

[243] Van Thiel DH, Gavaler JS. Pregnancy-associated seks steroids and their effects on the liver. Semin Liver Dis. 1987; 7(1):1-7.

[244] Laakso L, Routsalainen P, Punnonen R Maatela J. Hepatic blood flow during late pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand. 1971;50(2):175-178.

[245] Sherman KE. Alanine amintransferase in clinical practice. Arch Intern Med. 1991;151(2):260-265.

[246] Quinn PG, Johnston DE. Detection of chronic liver disease: costs and benefits. Gastroenterologist. 1997;5(1):58-77.

[247] Salvaggio A, Periti M, Miano L, Tavanelli M, Marzorati D. Body mass indeks and liver enzyme activity in serum. Clin Chem. 1991;37(5).720-723.

[248] Palmer M, Schaffner F. Effect of weight reduction on hepatic abnormalities in overweight patients. Gastroenterology. 1990;99(5):1408-1413.

[249] Jamjute P, Ahmad A, Ghosh T, Banfield P. Liver function test and pregnancy. J Matern Fetal Neonatal Med. 2009;22(3):274-283.

[250] Rahman TM, Wendon J. Severe hepatic dysfunction in pregnancy. QJM. 2002;95(6):343-357.

[251] Jamjute P, Ahmad A, Ghosh T, Banfield P. Liver function test and pregnancy. J Matern Fetal Neonatal Med. 2009;22(3):274-283.

[252] Girling JC, Dow E, Smith JH. Liver function tests in pre-eclampsia: importance of comparison with a reference range derived for normal pregnancy. Br J Obstet Gynecol. 1997;104(2):246-250.

[253] Ruiz-Extremera A, Lopez-Garrido MA, Barranco E, Quintero MD, Ocete-Hita E, Muñoz de Rueda P, Gila A, Salmerón J. Activity of hepatic enzymes from week sixteen of pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2005;193(6):2010-2016.

[254] Bacq Y, Zarka O, Brechot JF, Mariotte N, Vol S, Tichet J, Weill J. Liver function tests in normal pregnancy: a prospective study of 103 pregnant women and 103 matched controls. Hepatology. 1996;23(5):1030-1034.

[255] Meade BW, Rosalki SB. Serum enzyme activity in normal pregnancy and the newborn. J Obstet Gynaecol Br Commonw. 1963;70:693-700.

[256] Bernuau J. Complications hépatiques de la grossesse. Rev Prat 2003;53(17):1889-1893.

[257] Gitlin N, Serio KM. Ischemic hepatitis: widening horizons. Am J Gastroenterol. 1992;87(7):831-836.

[258] Jarnfelt-Samsioe A, Eriksson B, Waldenstrom J, Samsioe G. Serum bile acids, gamma-glutamyltransferase and routine liver tests in emetic and nonemetic pregnancies. Gynecol Obstet Invest. 1986;21(4):169-176.

[259] Combes B, Shore GM, Cunningham FG, Walker FB, Shorey JW, Ware A. Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity in viral hepatitis: Suppression in pregnancy and by birth control pills. Gastroenterology. 1977;72(2):271-274.

[260] Shibuya M, Yamaguchi S, Yamane A, Ikeda T, Tojo A, Matsushime H, Sato M. Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase gene (flt) closely related to the fms family. Oncogene. 1990;5(4):519-524.

[261] Dvorak HF. Vascular permeability factor /vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. J Clin Oncol. 2002;20(21):4368-4380.

[262] Ferrera N, Davies-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. Endocr Rev. 1997;18(1):4-25.

[263] Park JE, Chen HH, Winer J, Houck KA, Ferrara N. Placenta growth factor. Potentiation of vascular endothelial growth factor bioactivity, in vitro and in vivo, and high affinity binding to Flt-1 but not to Flk-1/KDR. J Biol Chem. 1994;269(41):25646-25654.

[264] Ahmad S, Ahmed A. Elevated placental soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 inhibits angiogenesis in preeclampsia. Circ Res. 2004;95(9):884-891.

[265] Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, Bujold E, Mee Kim Y, Gonçalves LF, Gomez R, Edwin S. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. Young Investigator Award. Am J Obstet Gynecol. 2004;190(6):1541-1547; discussion 1547-1550.

[266] Gilbert JS, Ryan MJ, LaMarca BB, Sedeek M, Murphy SR, Granger JP. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2008;294(2):H541-550.

[267] Nagamatsu T, Fuji T, Kusumi M, Zou L, Yamashita T, Osuga Y, Momoeda M, Kozuma S, Taketani Y. Cytotrophoblasts up-regulate soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression under reduced oxygen: an implication for the placental vascular development and the pathophysiology of preeclampsia. Endocrinology. 2004;145(11):4838-4845.

[268] Rajakumar A, Doty K, Daftary A, Harger G, Conrad KP. Impaired oxygen-dependent reduction of HIF-1 alpha and -2 alpha proteins in pre-eclamptic placentae. Placenta. 2003;24(2-3):199-208.

[269] Bdolah Y, Lam C, Rajakumar A, Shivalingappa V, Mutter W, Sachs BP, Lim KH, Bdolah-Abram T, Epstein FH, Karumanchi SA. Twin pregnancy and the risk of preeclampsia: bigger placenta or relative ishemia? Am J Obstet Gynecol. 2008;198(4):428.e1-6.

[270] Thandani R, Kisner T, Hagmann H, Bossung V, Noack S, Schaarschmidt W, Jank A, Kribs A, Cornely OA, Kreyssig C, et al. Pilot study of extracorporeal removal of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia. Circulation. 2011;124(8):940-950.

[271] Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry (NC-IUB). 'Units of Enzyme Activity'. Eur J Biochem. 1979;97:319-320.

[272] Bodnar LM, Ness RB, Markovic N, Roberts JM. The risk of preeclampsia rises with increasing prepregnancy body mass index. Ann Epidemiol. 2005;15(7):475-482.

[273] Cnossen JS, Leeflang MM, de Haan EE, Mol BW, van der Post JA, Khan KS, ter Riet G. Accuracy of body mass index in predicting pre-eclampsia: bivariate meta-analysis. BJOG. 2007;114(12):1477-1485.

[274] Sohlberg S, Stephansson O, Cnattingius S, Wikström AK. Maternal body mass index, height, and risks of preeclampsia. Am J Hypertens. 2012;25(1)120-125.

[275] Maggard MA, Yermilov I, Li Z, Maglione M, Newberry S, Suttorp M, Hilton L, Santry HP, Morton JM, Livingston EH, Shekelle PG. Pregnancy and fertility following bariatric surgery: a systematic review. JAMA. 2008;300(19):2286-2296.

[276] Mostello D, Jen Chang J, Allen J, Luehr L, Shyken J, Leet T. Recurrent preeclampsia: the effect of weight change between pregnancies. Obstet Gynecol. 2010;116(3):667-672.

[277] Hiltunen LM, Laivuori H, Rautanen A, Kaaja R, Kere J, Krusius T, Paunio M, Rasi V. Blood group AB and factor V Leiden as risk factors for pre-eclampsia: a population-based nested case-control study. Thromb Res. 2009;124(2):167-173.

[278] Spinillo A, Capuzzo E, Baltaro F, Piazzi G, Iasci A. Case-control study of maternal blood group and severe pre-eclampsia. J Hum Hypertens. 1995;9(8):623-625.

[279] Ness RB, Roberts JM. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications. Am J Obstet Gynecol. 1996;175(5):1365–1370.

[280] Bellomo G, Venanzi S, Saronio P, Verdura C, Narducci PL. Prognostic significance of serum uric acid in women with gestational hypertension. Hypertension. 2011;58(4):704-708.

[281] Davison, JM, Dunlop, W. Renal hemodynamics and tubular function normal human pregnancy. Kidney Int. 1980;18(2):152-161.

[282] Lafayette RA, Druzin M, Sibley R, Derby G, Malik T, Huie P, Polhemus C, Deen WM, Myers BD. Nature of glomerular dysfunction in pre-eclampsia. Kidney Int. 1998;54(4):1240-1249.

[283] Moran P, Baylis PH, Lindheimer MD, Davison JM. Glomerular ultrafiltration in normal and preeclamptic pregnancy. J Am Soc Nephrol. 2003;14(3):648–652.

[284] Cebesoy FB, Balat O, Dikensoy E, Kalayci H, Ibar Y. CA-125 and CRP are elevated in preeclampsia. Hypertens Pregnancy. 2009;28(2):201-211.

[285] Ozkaya O, Sezik M, Sezik HT, Eyi EG. Leukocytosis might precede in-hospital eclampsia in preeclamptic women who do not receive magnesium sulfate. J Perinat Med. 2006;34(5):378-382.

[286] Gammill HS, Powers RW, Clifton RG, Van Dorsten JP, Klebanoff MA, Lindheimer MD, Sibai B, Landon MB, Miodovnik M, Dombrowski M, et al. Does C-reactive protein predict recurrent preeclampsia? Hypertens Pregnancy. 2010;29(4):399-409.

[287] Côté AM, Brown MA, Lam E, von Dadelszen P, Firoz T, Liston RM, Magee LA. Diagnostic accuracy of urinary spot protein:creatinine ratio for proteinuria in hypertensive pregnant women: systematic review. BMJ. 2008;336(7651):1003-1006.

[288] Thadhani R, Mutter WP, Wolf M, Levine RJ, Taylor RN, Sukhatme VP, Ecker J, Karumanchi SA. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89(2):770-775.

[289] Hirashima C, Ohkuchi A, Arai F, Takahashi K, Suzuki H, Watanabe T, Kario K, Matsubara S, Suzuki M. Establishing reference values for both total soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and free placental growth factor in pregnant women. Hypertens Res. 2005;28(9):727-732.

[290] Lapaire O, Shennan A, Stepan H. The preeclampsia biomarkers soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor: current knowledge, clinical implications and future application. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2010;151(2):122-129.

[291] Kusanovic JP, Romero R, Chaiworapongsa T, Erez O, Mittal P, Vaisbuch E, Mazaki-Tovi S, Gotsch F, Edwin SS, Gomez R, et al. A prospective cohort study of the value of maternal plasma concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in early pregnancy and midtrimester in the identification of patients destined to develop preeclampsia. J Matern Fetal Neonatal Med. 2009;22(11):1021-1038.

[292] Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, Pape J, Dudenhausen JW, Denk B, Stepan H. An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2010;202(2):161.e1-161.e11.

[293] Salahuddin S, Lee Y, Vadnais M, Sachs BP, Karumanchi SA, Lim KH. Diagnostic utility of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in hypertensive diseases of pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2007;197(1):28.e1-6.

[294] Sunderji S, Gaziano E, Wothe D, Rogers LC, Sibai B, Karumanchi SA, Hodges-Savola C. Automated assays for sVEGF R1 and PlGF as an aid in the diagnosis of preterm preeclampsia: a prospective clinical study. Am J Obstet Gynecol. 2010;202(1):40.e1-7.

[295] De Vivo A, Baviera G, Giordano D, Todarello G, Corrado F, D'anna R. Endoglin, PlGF and sFlt-1 as markers for predicting pre-eclampsia. Acta Obstet Gynecol Scand. 2008;87(8):837-842.

[296] Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, Lim KH, Wenger JB, Thadhani R, Karumanchi SA. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. Circulation. 2012;125(7):911-919.

[297] Masuyama H, Nakatsukasa H, Takamoto N, Hiramatsu Y. Correlation between soluble endoglin, vascular endothelial growth factor receptor-1, and adipocytokines in preeclampsia. J Clin Endocrinol Metab. 2007;92(7):2672-2679.

[298] Youssef A, Righetti F, Morano D, Rizzo N, Farina A. Uterine artery Doppler and biochemical markers (PAPP-A, PIGF, sFlt-1, P-selectin, NGAL) at 11+0 to 13+6 weeks in the prediction of late (> 34 weeks) pre-eclampsia. Prenat Diagn. 2011;31(12):1141-1146.

POPIS KRATICA

ACR	omjer albumina i kreatinina u urinu
AFLP	akutna masna jetra u trudnoći
ALT	alanin-aminotransferaza
AST	aspartat-aminotransferaza
AP	alkalna fosfataza
AT-1	angiotenzin II receptor tip 1
aPTV	aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme
AUC	površina ispod ROC krivulje
BMI	indeks tjelesne mase
BSA	indeks tjelesne površine
B2	bradikininski rreceptor
CI	granice pouzdanosti
CRP	C-reaktivni protein
CŽS	centralni živčani susutav
EVT	ekstravilozni trofoblast
GGT	gama-glutamiltransferaza
HELLP	sindrom (hemoliza, povišeni jetreni enzimi, sniženi trombociti)
HLA	humani leukocitni antigen
ICSI	intracitoplazmatska injekcija spermija
IUZR	intrauterini zastoj fetalnog rasta
KIR	receptor sličan imunoglobulinu ubilačkih stanica
LDH	laktat dehidrogenaza
+LR	pozitivna prediktivna vrijednost
-LR	negativna prediktivna vrijednost
MCV	prosječan volumen eritzrocita
MCH	prosječan sadržaj hemoglobina u eritrocitu
MCHC	prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu
MHC	glavni kompleks gena tkivne podudarnosti
MPV	prosječni volumen trombocita
NK	NK stanice (stanice prirodne ubojice)
NO	dušični oksid
p	razina statističke značajnosti
OR	omjer izgleda
PAPPA	plazmatski protein A povezan s trudnoćom
PCR	lančana reakcija polimeraze
P/C	omjer omjer proteina i kreatinina u urinu
PlGF	placentarni čimbenik rasta
PlGF/sFlt-1	omjer placentarnog čimbenika rasta i topljive fms-slične tirozin kinaze
PAI	inhibitor plazminogen aktivatora
PV	protrombinsko vrijeme
ROC	Reciever Operating Characteristic analysis (analiza osobina rada prijamnika)
RRds	srednji dijastolički tlak
RRss	srednji sistolički tlak
sFlt-1	topljiva fms-slična tirozin kinaza -1
sFlt-1/PlGF	omjer topljive fms-slične tirozin kinaze i placentarnog čimbenika rasta
sEng	topljivi endoglin
SGA	fetus premalen za svoju gestacijsku dob
SLE	sistemski lupus eritematodes
sVEGFR-1	topljivi oblik VEGF receptora 1
SZO	Svjetska zdrastvena organizacija
SŽS	središnji živčani sustav
TGF-β1	transformirajući čimbenik rasta beta 1
tPA	tkivni aktivator plazminogena
VEGF	vaskularni endotelni čimbenik rasta
VK	vrijeme krvarenja

ŽIVOTOPIS

Ratko Delić, dr. med., spec. ginekologije i porodništva rođen je 23.9.1971.god. u Osijeku.

Osnovnu i srednju školu (Zdravstveno obrazovni centar u Zagrebu, smjer laboratorijski tehničar) završio je u Zagrebu.

Studij medicine na Medicinskom fakultetu, Sveučilišta u Zagrebu upisuje 1991. godine i završava u srpnju 1997. godine.

Pripravnički staž obavlja od 1998. - 1999. godine u Domu zdravlja studenata, u Zagrebu.

Godine 2002 zaključuje nostrifikaciju diplome u Sjedinjenim Američkim Državama, te dobija ECFMG® (Educational Comission For Foreign Medical Graduates) certifikat.

Poslijediplomski studij "Fiziologija i imunobiologija", na Biološkom odsjeku Prirodoslovno matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu upisuje 2004.godine.

Specijalistički staž iz ginekologije i porodništva od 2005. – 2010. godine provodi u Općoj bolnici Celje, odnosno Univerzitetnom kliničkom centru Ljubljana, Slovenija te u Univerzitetnom kliničkom centru Brno, Češka Republika.

Specijalistički ispit iz ginekologije i porodništva polaže 2010 godine.

Od 2010. godine do danas je u stalnom radnom odnosu na Ginekološko - porodničkom odjelu Opće bolnice Celje, Slovenija.

U koautorstvu s drugim autorima objavio je 2 znanstvena rada, te aktivno sudjelovao na nekoliko međunarodnih znanstvenih skupova.

Član je Slovenske lječničke komore, Hrvatske lječničke komore, Slovenskog društva ginekologa i porodničara, te Europskog ginekološko onkološkog društva (ESGO).