

POMORSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W SZCZECINIE



Lek. Joanna Ksel-Hryciów

Ocena stężenia białka szoku termicznego HSP70 w odniesieniu do markera stanu zapalnego oraz czynników angiogennych w ciążach przebiegających z SGA, ciążach powikłanych wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrastania płodów z późnym początkiem oraz w ciążach z późnym stanem przedrzucawkowym.

Rozprawa doktorska w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu

Dyscyplina nauki medyczne

Promotor: prof. dr hab.n.med. Sebastian Kwiatkowski

Szczecin 2024 r.

*Pragnę serdecznie podziękować Panu Promotorowi,
Prof. dr hab. n. med. Sebastianowi Kwiatkowskiemu za nieocenioną pomoc,
poświęcony czas, a także za cenne rady i wskazówki udzielone w trakcie przygotowywania
niniejszej rozprawy.*

Spis treści

1. Wykaz stosowanych skrótów.....	5
2. Wstęp.....	7
2.1 FGR i SGA.....	7
2.1.1 Definicja i diagnostyka.....	7
2.1.2 Czynniki ryzyka.....	9
2.1.3 Kryteria rozpoznania.....	10
2.1.4 Efekty odległe.....	12
2.2 Nadciśnienie w ciąży i stan przedzucawkowy.....	12
2.3 Znaczenie markerów angiogenezy.....	17
2.4 Niewydolność łożyska.....	18
2.5 Białka szoku cieplnego i stres oksydacyjny.....	21
2.6 Cytokiny i markery stanu zapalnego.....	23
3. Cel pracy.....	26
4. Materiał.....	27
5. Metody.....	28
5.1 Badania immunoenzymatyczne.....	29
5.2 Badania immunochemiczne.....	29
5.3 Badanie analityczne moczu.....	29
5.4. Badania ultrasonograficzne.....	29
6. Analiza statystyczna.....	31
6.1 Metody statystyczne.....	31
6.2 Charakterystyka analizowanej grupy badawczej.....	31
6.3 Analiza badanych substancji jako potencjalnych markerów dla różnicowania zaburzeń ciąży w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej.....	35
6.4 Analiza ROC.....	39
6.5 Ocena korelacji pomiędzy badanymi parametrami analizowanych pacjentek.....	46
6.6 Ocena korelacji pomiędzy badanymi parametrami a długością trwania ciąży analizowanych pacjentek.....	47

6.7 Ocena korelacji pomiędzy badanymi parametrami a masą urodzeniową noworodków analizowanych pacjentek.....	47
6.8 Porównanie parametrów pacjentek w grupach SGA I FGR oraz ocena skuteczności biomarkerów w diagnostyce różnicowej.....	48
6.9 Omówienie uzyskanych wyników.....	50
7. Dyskusja.....	54
8. Wnioski.....	64
9. Bibliografia.....	65
10. Streszczenie w języku polskim.....	79
10.1 Wstęp.....	79
10.2 Cel pracy.....	79
10.3 Materiał i metodyka.....	79
10.4 Wyniki.....	80
10.5 Wnioski.....	82
11. Streszczenie w języku angielskim.....	83
11.1 Introduction.....	83
11.2 Aim of the study.....	83
11.3 Material and methodology.....	83
11.4 Results.....	84
11.5 Conclusions.....	85
12. Spis tabel.....	87
13. Spis wykresów.....	88

1. Wykaz stosowanych skrótów

HSP70 (Heat Shock Protein) - białko szoku cieplnego

HsCRP (High sensitivity C Reactive Protein) - wysokoczule białko c-reaktywne

CRP (C Reactive Protein) - białko c-reaktywne

SGA (Small for Gestational Age) - małe dla wieku ciążowego

FGR (Fetal Growth Restriction) - wewnątrzmaciczne ograniczenie wzrastania płodu

PE (Preeclampsia) - stan przedrzucawkowy

WHO (World Health Organization) - Światowa Organizacja Zdrowia

PTGiP - Polskie Towarzystwo Położników i Ginekologów

SF (Symphysis-Fundal) - wysokości dna macicy dla danego wieku ciążowego

BMI (Body Mass Index) - wskaźnik masy ciała

UA (Umbilical Artery) - tętnica pępowinowa

DV (Ductus Venosus) - przewód żylny

UV (Umbilical Vein) - żyła pępowinowa

MCA (Middle Cerebral Artery) - tętnica środkowa mózgu

UtA (Uterine Artery) - tętnica maciczna

EFW (Estimated Fetal Weight) - szacunkowa masa płodu

AC (Abdominal Circumference) - obwód brzucha

HC (Head Circumference) - obwód głowy

BPD (Biparietal diameter) - wymiar dwuciemienny

FL (Femur Length) - długość kości udowej

CPR (Cerebro-Placental Ratio) - współczynnik mózgowo-pępowinowy

PI (Pulsatility Index) - Indeks pulsacji

UA AEDV (Umbilical artery absent end diastolic velocity) - brak przepływu końcowo-rozkurczowego w tętnicy pępowinowej

ISSHP (International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy) - Międzynarodowe Towarzystwo do Badań Nadciśnienia w Cięży

NICE (National Institute for Health and Care Excellence) - Narodowy Instytut Doskonałości Zdrowia i Opieki

FMF (The Fetal Medicine Foundation) - Fundacja Medycyny Płodowej

PlGF (Placental growth factor) - łożyskowy czynnik wzrostu

VEGF (Vascular Endothelial Growth factor) - śródbłonkowy czynnik wzrostu

sFlt-1 (Soluble fms-like Tyrosine Kinase 1) - rozpuszczalna fms-podobna kinaza tyrozynowa 1

uNK (Uterine Natural Killer) - maciczne komórki naturalni zabójcy

DNA (Deoxyribonucleic acid) - kwas deoksyrybonukleinowy

IL-6 (Interleukin-6) - interleukina 6

IL-4 (Interleukin-4) - interleukina 4

IL-10 (Interleukin-10) - interleukina 10

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) - test immunoenzymatyczny

NOTCH - wcięcie wczesnorozkurczowe

UAS (Uterine Artery Score) - skala tętnicy macicznej

2. Wstęp

Procesy biorące udział w utrzymaniu ciąży aż do planowanego terminu porodu oraz zachodzące w organizmie fizjologiczne zmiany, które prowadzą do prawidłowego przebiegu porodu i ciąży związane są niewątpliwie z funkcjonowaniem łożyska. Powikłania ciąży i niepowodzenia położnicze takie jak poronienie, stan przedrzucawkowy, ograniczenie wzrastania płodu, przedwczesne oddzielenia łożyska czy poród przedwczesny mają złożoną etiopatogenezę, ale kluczową rolę w ich rozwoju ma dysfunkcja łożyska. Poznanie nowych biomarkerów związanych z niewydolnością jednostki maciczo-łożyskowej pozwoli w przyszłości na lepsze zrozumienie powyższych patologii ciąży, a opracowane wyniki badań przyczynią się do udoskonalenia diagnostyki PE i FGR, umożliwią wcześniejsze rozpoczęcie leczenia, będą zapobiegać występowaniu powikłań i zwiększą przeżywalność noworodków i matek. Zahamowanie wzrastania płodu, określane mianem hipotrofii, podobnie jak stan przedrzucawkowy są przedmiotem wieloletnich badań i obserwacji. Pomimo to nadal nie udało się jednoznacznie ustalić powodów powstawania powyższych jednostek chorobowych. Powstało wiele hipotez dotyczących wieloczynnikowej etiologii tych schorzeń (1–7).

2.1 FGR i SGA

2.1.1 Definicja i diagnostyka

Ograniczenie wzrastania płodu (FGR - Fetal Growth Restriction) to sytuacja kliniczna, w której płód nie osiąga swojej zaprogramowanej masy urodzeniowej (8–10). Ultrasonograficzne monitorowanie wzrastania płodu jest jednym z najważniejszych elementów opieki prenatalnej. Uzyskane wyniki badania biometrii płodu oraz wartości wskaźników przepływów naczyniowych są analizowane w odniesieniu do siatek centylowych. Rozróżniamy dwa rodzaje siatek centylowych. Pierwszy z nich to siatka referencyjna (deskryptywna), która nie uwzględnia kryteriów wykluczenia czynników ryzyka zaburzeń wzrastania. Przykładem tych siatek są lokalne siatki populacyjne między innymi Hadlock, Williams czy Fenton. Drugi rodzaj siatek to siatka standardowa inaczej preskryptywna biorąca pod uwagę ściśle kryteria wykluczające czynniki, które mogą wpłynąć na wzrastanie płodu. Tego typu siatki jak Intergrowth czy WHO nie zakładają różnic populacyjnych. Aktualnie coraz częściej uważa się iż najbardziej optymalne jest wykorzystywanie lokalnych siatek centylowych tworzonych w sposób wystandaryzowany

(11–14). Zakres normy zawiera się pomiędzy 10 a 90 centylem (15). Niezwykle istotne jest aby pamiętać, że nie każdy płód z przewidywaną niską masą ciała oznacza jego chorobę. W grupie małych płodów możemy różnicować płody konstytucjonalnie małe (SGA - Small for Gestational Age). Płody te charakteryzują się masą poniżej 10 centyla, natomiast w odróżnieniu od płodów z FGR stale i systematycznie przyrastają i uzyskują prawidłowe przepływy naczyniowe. Ich mniejsza masa zazwyczaj uwarunkowana jest czynnikami genetycznymi i nie powoduje typowych powikłań u matki i płodu (16–18). Istotne dla prawidłowego różnicowania SGA od FGR jest dokładne datowanie wieku ciążowego. Wykonanie USG w I trymestrze ciąży między 8 a 14 tygodniem jest złotym standardem oceny wieku ciążowego i zapobiega nieprawidłowej interpretacji wyników badań ultrasonograficznych w kolejnych trymestrach ciąży. Ocena wieku ciążowego na podstawie daty ostatniej miesiączki ma zdecydowanie mniejszą dokładność ze względu na różny czas trwania cyklu u kobiet, wystąpienia owulacji a niekiedy wątpliwością co do daty ostatniej miesiączki (19–22). Do oceny wzrastania płodu przyjęto również metodę oceny wysokości dna macicy. Metoda ta jest uznawana za użyteczną przez PTGiP oraz inne położnicze towarzystwa między innymi brytyjskie i kanadyjskie. Pozwala ona na ocenę zaawansowania ciąży, oszacowanie wielkości płodu a jej stosowanie zalecane jest w grupach niskiego ryzyka wystąpienia patologii ciąży od jej 24 tygodnia. W sytuacji nieprawidłowych pomiarów czyli stwierdzenia odległości od górnego brzegu spojenia łonowego do dna macicy a więc wymiaru SF (SF - Symphysis-Fundal) o 3 bądź ponad 3 cm mniejszej niż szacowany wiek ciążowy, zalecane jest rozszerzenie diagnostyki o badanie ultrasonograficzne. Ograniczeniami tej metody jest nieprawidłowa masa ciała pacjentki a więc otyłość, indeks BMI > 35 oraz obecność mięśniaków macicy zwłaszcza tych zlokalizowanych w przedniej ścianie macicy bądź w dnie (19,23,24). Preferowanym badaniem diagnostycznym dostarczającym zdecydowanie bardziej precyzyjnych wyników jest ultrasonografia płodu. W badaniu ultrasonograficznym, które powinno być wykonane z wyjątkową dokładnością, należy skoncentrować się na poszukiwaniu ewentualnych anomalii płodu, pępowiny czy też łożyska. Ocena biometryczna płodu powinna obejmować podstawowe pomiary płodu oraz powinna identyfikować markery aneuploidii oraz ewentualnych cech zakażenia. W celu odróżnienia SGA od FGR w przypadkach, w których wielkość płodu oszacowana jest poniżej 10 percentyla, należy wykonać dodatkowe badania i pomiary. Do takiej analizy niezbędne jest wykorzystanie indywidualnych, spersonalizowanych wykresów wzrastania, ocena ultrasonograficzna przepływów naczyniowych płodu i matki oraz wykorzystanie biomarkerów angiogenezy. Większość tych metod jest także używana w celu monitorowania

dobrostanu płodu, a także podjęcia ostatecznej decyzji o czasie zakończenia ciąży. Do najistotniejszych pomiarów ultrasonograficznych należy badanie dopplerowskie tętnicy pępowinowej (UA - Umbilical Artery), przewodu żylnego (DV - Ductus Venosus), tętnicy środkowej mózgu (MCA - Middle Cerebral Artery) oraz przepływu przez naczynia maciczne matki (UtA - Uterine Artery). Dodatkowo możemy ocenić profil biofizyczny płodu oraz wykonać ocenę kardiotokograficzną. Wszystkie te parametry biometryczne służą do nadzoru płodu w przypadku postawienia diagnozy zahamowania wzrastania płodu (22,25–27).

2.1.2 Czynniki ryzyka

Ocenę ryzyka wystąpienia w ciąży powikłania jakim jest FGR powinniśmy dokonywać już na początku ciąży w I trymestrze. Z rzetelnie przeprowadzonego wywiadu możemy u pacjentki wyodrębnić grupę czynników ryzyk małych i dużych. Do oszacowania wysokiego ryzyka FGR niezbędne jest stwierdzenie co najmniej jednego dużego bądź trzech małych czynników ryzyka. Dodatkowo podział elementów ryzyka klasyfikowany jest na przyczyny matczyne, ojcowskie, dotychczasowy wywiad położniczy oraz dotychczasowy przebieg aktualnej ciąży.

Do dużych czynników ryzyka możemy zaliczyć niską masę urodzeniową rodziców, a także urodzenie płodu którego, masa szacowana była poniżej 10 centyla. Znacząco ryzyko podnosi również stosowanie używek przez przyszłą matkę, głównie negatywnie wpływa stosowanie kokainy oraz nikotynizm pacjentki. Podobnie przewlekłe choroby matki takie jak zespół antyfosfolipidowy, cukrzyca, choroby nerek czy nadciśnienie tętnicze wpływają niekorzystnie na rozwój łożyska i możliwość wystąpienia powikłań. Małe czynniki ryzyka są związane przede wszystkim z nieprawidłową masą matki zarówno z niskim wskaźnikiem masy ciała jak i z nadwagą i otyłością. Jednocześnie wiek pacjentki powyżej 35 roku życia, stosowanie technik wspomaganego rozrodu, nieprawidłowa dieta a także odstępy między ciążami poniżej 6 miesięcy i powyżej 60 miesięcy możemy zaliczyć do tak zwanych małych czynników ryzyka (28–30). Oprócz ich identyfikacji z wywiadu pacjentki mamy możliwość także prognozowania wystąpienia hipotrofii za pomocą istniejących kalkulatorów online dostępnych na stronach internetowych towarzystw naukowych. Należą do nich kalkulatory Fundacji Medycyny Płodowej FMF (Fetal Medicine Foundation), Perinatology czy też Fetal Medicina Barcelona. Pomiędzy kalkulatorami istnieją różnice wynikające z aktualnych przyjętych przez te towarzystwa rekomendacji. Fetal Medicine Barcelona opiera swoje prognozy co do wystąpienia hipotrofii analizując dane z użyciem hiszpańskich siatek

centylowych. Kalkulator ten analizuje głównie przepływy naczyniowe, nie uwzględniając chorób kobiety ciężarnej takich jak nadciśnienie czy stan przedrzucawkowy, a należy pamiętać iż taka patologia zgodnie z rekomendacjami PTGiP przy współistnieniu hipotrofii kwalifikuje do zaburzeń o 1 stopień zaawansowania wyżej. Kalkulator ten nie uwzględnia także zmienności krótkoterminowej (STV - Short Term Variability) analizowanej w badaniu kardiokograficznym. Zdecydowanie lepszym narzędziem do przewidywania ryzyka FGR wydaje się kalkulator FMF biorący pod uwagę wszystkie parametry znajdujące się w rekomendacjach PTGiP (19,31).

2.1.3 Kryteria rozpoznania

Aby w miarę możliwości dokonać uporządkowania nazewnictwa i jednocześnie ustalenia postępowania w 2016 r. zostały przyjęte założenia konsensusu delfijskiego. Zgodnie z nimi możemy postawić rozpoznanie FGR i jednocześnie dokonać decyzji z jakim typem zaburzeń mamy do czynienia. Kryteria delfijskie identyfikują mniejszą ilość płodów SGA natomiast w lepszy sposób pozwalają zidentyfikować powikłania noworodkowe. Podział na wczesny i późny FGR, którego granicę wieku ciążowego stanowi 32 tydzień ciąży, ułatwia w sposób znaczący ustalenie odpowiedniego postępowania (8). Należy zwrócić uwagę na różnice wynikające z obydwu typów patologii. Różnice te zazwyczaj są widoczne w rozwoju klinicznym. FGR o wczesnym początku w dużej mierze związany jest z niewydolnością łożyska w przeciwieństwie do FGR o typie późnym gdzie niewydolność łożyska ma mniejsze znaczenie a głównym priorytetem i jednocześnie trudnością jest postawienie diagnozy. W sytuacji późnego FGR pojedyncze kryteria rozpoznania stanowi EFW - szacowana masa płodu bądź AC - obwód brzucha poniżej 3 centyla. Dodatkowo rozpoznanie możemy postawić w sytuacji, gdy EFW plasuje się poniżej 10 centyla natomiast obecne są nieprawidłowe przepływy naczyniowe pod postacią $CPR < 5$ centyla lub jeżeli indeks pulsacji w tętnicy pępowinowej przekracza wartość $(UA) > 95$ centyla, bądź też identyfikujemy spowolnienie wzrastania płodu o 2 kwartyle (8,19,32). Hipotrofia o późnym początku pojawia się u około 5% wszystkich noworodków i charakteryzuje się niskim poziomem wykrywalności na poziomie poniżej 50%. W tej grupie wewnątrzmaciczne obumarcie płodów występuję w około 30 - 40% przypadków. Można to wyjaśnić kombinacją wielu przyczyn, przede wszystkim bardzo niską tolerancją płodów donoszonych na niedotlenienie, w porównaniu z grupą wcześniaków, częstszą obecnością czynności skurczowej macicy w późniejszym etapie ciąży, a także występowaniem przypadków

szybkiego upośledzenia funkcji łożyska trudnego do identyfikacji. Na wysoki odsetek obumarć płodów wpływ mają także niskie wskaźniki diagnostyczne. Pomimo faktu, iż ciąża powikłana FGR obarczona jest ośmiokrotnie częstszym występowaniem tego powikłania, ryzyko to ulega zdecydowanemu zwiększeniu w sytuacji niezdiagnozowanego zaburzenia w okresie przedporodowym. Brak diagnostyki, bądź brak postawienia prawidłowego rozpoznania w odpowiednim momencie wpływa na decyzję o kontynuowaniu ciąży i naraża płód na najgorsze powikłanie związane z FGR czyli jego obumarcie. (33). Głównymi problemami w życiu pozapłodowym są zaburzenia natury neurologicznej, sercowo-naczyniowej i metabolicznej. Dodatkową trudnością w tej grupie jest prawidłowe różnicowanie płodu chorego z współistniejącym FGR od zdrowego płodu konstytucjonalnie mniejszego. W ostatnich kilkudziesięciu latach stosowanie parametru diagnostycznego, którym jest współczynnik mózgowo-pępowinowy (CPR - Cerebro-Placental Ratio) nabrało znaczenia w praktyce klinicznej. CPR jest obliczany jako stosunek wartości wskaźnika pulsacji (PI - Pulsatility Index) tętnicy środkowej mózgu (MCA) do wartości wskaźnika pulsacji (PI) tętnicy pępowinowej. Jeśli ten parametr ultrasonograficzny jest nieprawidłowy zgodnie z przeprowadzonymi badaniami należy się spodziewać, że noworodki częściej będą wymagały hospitalizacji na oddziałach intensywnej opieki noworodkowej. Współczynnik CPR informuje nas również, które noworodki w okresie okołoporodowym, będą miały zaburzoną równowagę kwasowo-zasadową. Można więc go wykorzystywać do planowania terminu porodu. CPR w trzecim trymestrze ciąży jest również niezależnym predyktorem wewnątrzmacicznego obumarcia płodu i umieralności okołoporodowej. Jeśli wartość tego współczynnika jest nieprawidłowa wtedy ryzyko obumarcia płodu jest wyższe niż w przypadku płodów z prawidłowym CPR (34–37).

FGR o wczesnym początku można podejrzewać, gdy osiągniemy pomiar AC lub EFW poniżej 10 centyla dla danego wieku ciążowego i jednocześnie indeks pulsacji (PI) w tętnicy pępowinowej (UA) i/lub w tętnicy macicznej (UtA) jest wyższy od 95 centyla dla danego wieku ciążowego. Ciążę powikłaną wczesnym FGR należy także rozpoznać gdy wykonany pomiar ultrasonograficzny wskazuje obwód brzucha (AC) bądź przewidywaną masę płodu (EFW) < 3 centyla dla danego wieku ciążowego, ewentualnie w sytuacji braku przepływu końcowo-rozkurczowego w tętnicy pępowinowej (UA AEDV) (8,19,38).

Cel postępowania w FGR zależy od jego typu i wieku ciążowego, w którym pojawia się problem. W przypadku wczesnego FGR celem lekarzy jest odroczenie terminu porodu albo wydłużenie czasu trwania ciąży do terminu kiedy będzie on możliwy. Chodzi oczywiście o odroczenie terminu porodu do momentu bezpiecznego zakończenia ciąży, kiedy dziecko

będzie bardziej dojrzałe oraz kiedy płuca i reszta organów będą prawidłowo wykształcone. Odroczenie terminu porodu, aby zapewnić przeżycie noworodka staje się coraz bardziej ważne w miarę zaawansowania ciąży. Po przekroczeniu 34 - 38 tygodnia ciąży głównym celem jest zmniejszenie odsetka przyjęć na intensywny oddział noworodkowy. Natomiast powyżej 38 tygodnia ciąży z współistniejącym FGR nie ma uzasadnienia wydłużenie czasu trwania ciąży. Jeśli poród indukowany nie jest możliwy zaleca się wykonanie cięcia cesarskiego. Jest to wspólne zalecanie według wszystkich towarzystw naukowych większość lekarzy na całym świecie mniej więcej zgadza się co do postępowania, sposobu i terminu porodu takich dzieci (39–41).

2.1.4 Efekty odległe

Ze względu na zmieniające się niekorzystnie otaczające nas środowisko, problemy z niepłodnością oraz coraz wyższy wiek matek, od kilkunastu lat obserwowany jest ciągły wzrost odsetka ciąż powikłanych niewydolnością łożyska. Niekorzystne warunki dla rozwoju wewnątrzmacicznego płodu, przyczyniają się do rozwoju powikłań w życiu pozapłodowym. Niesprzyjające warunki prenatalne kształtują nieprawidłowy rozwój między innymi układu oddechowego, nerwowego oraz układu odpornościowego. Konsekwencją tych zaburzeń jest duża podatność noworodków i dzieci na rozwój zakażeń włącznie z poważnymi uogólnionymi reakcjami zapalnymi. Duże badania kliniczne dokumentują problemy noworodków z FGR z zaburzeniami metabolicznymi pod postacią hipo i hiperglikemii a także zaburzeń jonowych. Skutkiem tych powikłań w przyszłości jest tendencja do występowania cukrzycy, otyłości, nadciśnienia, insulinooporności a także dyslipidemii. Biorąc pod uwagę powyższe często dochodzi do wczesnego rozwoju problemów sercowo-naczyniowych. Niezwykle istotnym narządem podatnym na niedotlenienie i niekorzystne warunki jest przede wszystkim mózg płodu. Głównymi problemami w życiu pozapłodowym w związku z tym są zaburzenia neurologiczne, głównie pod postacią porażenia mózgowego, padaczki, trudności w uczeniu się, koncentracji, zaburzeń neurobehawioralnych i innych zaburzeń poznawczych (42,43).

2.2 Nadciśnienie w ciąży i stan przedrzucawkowy

Nadciśnienie tętnicze występujące w ciąży jest powikłaniem stosunkowo częstym i dotyczy około 5 – 10% ciężarnych (44). Choroby przebiegające z podwyższonym ciśnieniem u kobiet w okresie ciąży to częsta przyczyna zgonów ale także innych powikłań położniczych pod

postacią głównie przedwczesnych porodów i co jest z tym związane nieprawidłowościami rozwoju noworodków w przyszłości. Mnogość klasyfikacji patologii związanych z nadciśnieniem w ciąży w najlepszy sposób ukazuje złożoność tego problemu.

Najłatwiejszy podział klasyfikuje nadciśnienie wikłające ciążę na postać przewlekłą, która obecna jest przed ciążą i rozpoznana do jej 20 tygodnia. Najczęściej nadciśnienie takie towarzyszy pacjentce po porodzie po zakończonym okresie połogu i dłużej. Jeśli chodzi o drugą kategorię zaburzeń podział obejmuje nadciśnienie wywołane ciążą oraz stan przedrzucawkowy. Obydwe grupy patologii mogą wzajemnie się nakładać wywołując jednocześnie trudności diagnostyczne (45).

Stan przedrzucawkowy to istotna patologia wikłająca coraz większy odsetek ciąż charakteryzująca się wieloma objawami klinicznymi, natomiast końcowym etapem tej patologii może być niewydolność wielonarządowa, która następuje w przypadku braku wcześniejszej interwencji. Częstość występowania stanu przedrzucawkowego wynosi około 2 - 10%, w zależności od badanej populacji i definicji stanu przedrzucawkowego. Preeclampsia podobnie jak FGR dzielona jest na dwie kategorie zaburzeń w zależności od wieku ciążowego. Zdecydowana większość przypadków bo nawet do około 90% dotyczy preeclampsji późnej czyli związanej z rozwojem powyżej 34 tygodnia ciąży. Ze względu na późną manifestację objawów choroby niezwykle trudna wydaje się diagnostyka i postawienie jak najszybciej rozpoznania (46).

Identyfikacja stanu przedrzucawkowego jest możliwa najczęściej po skończonym 20 tygodniu ciąży jeśli u pacjentki pojawi się zespół objawów pod postacią nadciśnienia i białkomoczu bądź nadciśnienia i cech niewydolności narządowej. Według większości towarzystw naukowych, nieprawidłowe wartości ciśnienia tętniczego definiujemy jako wartości skurczowego ciśnienia krwi ≥ 140 mmHg i/lub rozkurczowego ciśnienie krwi ≥ 90 mmHg w wykonanych dwukrotnych pomiarach w odstępie 4 godzin. Dodatkowym kryterium rozpoznania PE jest stwierdzenie co najmniej jednego z patologicznych objawów takich jak białkomocz bądź objawy sugerujące dysfunkcję innych narządów matki. Zaliczamy do nich ostre uszkodzenie nerek definiowane jako wartość kreatyniny ≥ 90 $\mu\text{mol/L}$, uszkodzenie wątroby objawiające się podwyższonymi stężeniami transaminaz > 40 j.m./l z obecnością lub bez bólu w prawym górnym kwadrancie lub w nadbrzuszu. Kolejnym wykładnikiem PE są powikłania neurologiczne pod postacią rzucawki, zmiany stanu psychicznego, ślepotą, udar, silne bóle głowy bądź mroczki wzrokowe. Powikłania hematologiczne kwalifikujemy gdy stwierdzamy trombocytopenię czyli liczba płytek $< 150\ 000/\mu\text{l}$, rozsiane wykrzepianie wewnątrznaczyniowe czy też hemolizę. Ostatnią grupę kryteriów PE stanowią zaburzenia

maciczno-łożyskowe do których zaliczamy ograniczenie wzrostu płodu, nieprawidłowe przepływy dopplerowskie w tętnicy pępowinowej lub urodzenie martwego dziecka (45). Zgodnie z najnowszymi rekomendacjami zaktualizowanymi w 2018 przez Międzynarodowe Towarzystwo Badań nad Nadciśnieniem w Ciąży (ISSHP) sama obecność białkomoczu nie stanowi bezwzględnego kryterium do postawienia rozpoznania. Zmiana dotycząca braku konieczności występowania białkomoczu jako obowiązkowego elementu PE nastąpiła z uwagi na wysoki odsetek wyników fałszywie ujemnych białkomoczu, zwłaszcza w trakcie stosowania testów paskowych. Patologiczny białkomocz występujący jako jeden z głównych kryteriów PE definiowany jest jako obecność białka powyżej 300 mg w dobowej zbiórce moczu. Do oceny pomiaru białka w moczu stosuje się aktualnie wiele sposobów. Najprostszym z nich jest test paskowy, w którym wyniki uzyskuje się poprzez bezpośrednie porównanie zabarwienia pola testowego paska ze skalą kolorów. Obarczony jest on dużym ryzykiem błędu. Alternatywnym rozwiązaniem oszacowania białkomoczu jest pomiar stosunku białka do kreatyniny w moczu. W dalszym ciągu jednak preferowanym badaniem służącym do ilościowej oceny białkomoczu pozostaje ocena moczu pochodzącego z dobowej zbiórki. Metoda ta jest czasochłonna, a dodatkowo problematyczna dla chorych i przy tym niedokładna z uwagi na często niewystarczające zaangażowanie chorych w rzetelne zbieranie próbek (47,48). Aktualnie stan przedzucawkowy bez białkomoczu traktuje się jako odrębny fenotyp tej patologii. Większość towarzystw naukowych sugeruje odejście od stosowania dotychczasowego podziału stanu przedzucawkowego na stan o łagodnym bądź ciężkim przebiegu z uwagi na niezwykle intensywne tempo nasilenia objawów tej patologii i często nieprzewidywalne pogorszenie stanu klinicznego pacjentki. Istnieje wiele znanych czynników ryzyka dla wystąpienia stanu przedzucawkowego, które ze względu na stopień ryzyka dzielimy na umiarkowane i wysokie. Ich identyfikacja we wczesnej ciąży pozwala na odnalezieniu pacjentek, które będą wymagały zastosowania profilaktyki farmakologicznej (45,46,49).

Wytyczne NICE (NICE - National Institute for Health and Care Excellence) z 2019 r. klasyfikują kobietę z wysokim ryzykiem stanu przedzucawkowego, jeśli w przeszłości występowała u niej choroba nadciśnieniowa w ciąży lub obecna jest inna choroba matki, w tym przewlekła choroba nerek, choroba autoimmunologiczna, cukrzyca, lub przewlekłe nadciśnienie. Kobiety są obarczone umiarkowanym ryzykiem, jeśli są nieródkami, w wieku ≥ 40 lat, mają wskaźnik masy ciała (BMI) ≥ 35 kg/m² bądź w rodzinie występowały stany przedzucawkowe, ciąża wielopłodowa lub odstęp u pacjentki między ciążami przekracza 10 lat. Istnieje oczywiście dodatkowo mnóstwo innych czynników ryzyka mogących wpływać

na rozwój PE (50,51). Między innymi znaczenie mają takie patologie jak zespół policystycznych jajników, zaburzenia oddychania podczas snu, infekcje matki w tym głównie te dotyczące przyzębia, i dróg moczowych oraz infekcja *Helicobacter pylori*. Podobnie jeżeli analizujemy wywiad położniczy do czynników zwiększających ryzyko wystąpienia PE należy krwawienie z dróg rodnych w trakcie ciąży trwające powyżej 5 dni, bądź korzystanie z dawstwa oocytów w procedurze zapłodnienia pozaustrojowego. Wszystkie te czynniki mają jak najbardziej wpływ na modulację przebiegu ciąży z tego powodu niezwykle istotny wydaje się rzeczowo i kompletnie zebrany wywiad z pacjentką (52–55).

Obecnie jedynie stosowanie aspiryny jako profilaktyka rozwinięcia stanu przedrzucawkowego ma solidne dowody poparte licznymi badaniami naukowymi. Według najnowszej wiedzy stosowanie kwasu acetylosalicylowego może zmniejszyć ryzyko rozwoju PE o niemal 80% w grupie pacjentek poniżej 34 tygodnia ciąży oraz o około 63% w grupie wieku ciążowego poniżej 37 tc. Wyniki te zostały opublikowane po przeprowadzeniu wielośrodkowego badania ASPRE (Aspirin vs Placebo in Pregnancies at High Risk for Preterm Preeclampsia). Dla prawidłowego działania farmakologicznego istotne jest wprowadzenie profilaktyki do 16 tygodnia ciąży czyli do momentu zakończenia przekształcania naczyń spiralnych. Ponieważ stwierdzono oporność wśród dużej grupy pacjentek ciężarnych na dawkę kwasu acetylosalicylowego poniżej 100 mg preferowana dawka profilaktyczna powinna wynosić 100 mg - 150 mg (56–58).

Najważniejsze wydaje się zdiagnozowanie pacjentek, które mają podwyższone ryzyko wystąpienia preeclampsji tak, aby można było skorzystać z działania profilaktycznego. W sposób najbardziej dokładny ocenia to specjalnie stworzony przez FMF (The Fetal Medicine Foundation) algorytm postępowania. Uwzględnia on wywiad położniczy oraz obejmuje wykonanie badania USG zawierającego ocenę wskaźnika indeksu pulsacji w tętnicach macicznych, ocenę pomiarów średniego ciśnienia tętniczego oraz wynik badania laboratoryjnego białka (PIGF - Placental Growth Factor). Ryzyko skalkulowane na poziomie 1:100 - 1:150 powinno skłonić lekarza do wdrożenia kwasu acetylosalicylowego. W sytuacji braku możliwości skorzystania z algorytmu i wykonania zalecanych badań decyzję o wprowadzeniu profilaktyki podejmuje się na podstawie wywiadu i obecności jednego dużego czynnika ryzyka bądź co najmniej dwóch mniejszych umiarkowanych czynników (56,57,59,60).

Oprócz ryzyka porodowego, które niesie ze sobą stan przedrzucawkowy występuje również szereg powikłań, które mogą dotknąć zarówno matkę jak dziecko. Są to nie tylko wczesne powikłania ale również konsekwencje odbijające się na odległym zdrowiu matki i jej dziecka.

Jeśli chodzi o krótkoterminowe powikłania u kobiety należy na pewno wymienić krwawienie z naczyń mózgowych, odwarstwienie siatkówki, zespół HELLP i rzucawkę. W aspekcie odległych powikłań należy wspomnieć o zwiększonym ryzyku rozwoju przewlekłego nadciśnienia tętniczego, choroby niedokrwiennej serca, udaru mózgu, zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych oraz rozwoju schyłkowej niewydolności nerek. Zdarzenia te mogą wystąpić nawet w sytuacji poprawy modyfikowalnych czynników ryzyka (61–63).

W aspekcie płodu najbardziej niebezpieczne są wszystkie powikłania związane z wcześniactwem. W odniesieniu do odległych powikłań stwierdzono podatność dzieci urodzonych z cięż powikłanych PE do rozwinięcia nadciśnienia tętniczego. Wykazano również inne niekorzystne efekty odległe do których zaliczyć można, opóźniony rozwój fizyczny i dojrzewanie odruchów czuciowo-ruchowych, zwiększony wskaźnik masy ciała, zmniejszenie funkcji poznawczych oraz zmiany hormonalne. We wczesnym okresie dojrzewania zarówno męskie, jak i żeńskie potomstwo z cięż powikłanych stanem przedrzucawkowym miało podwyższone wartości testosteronu, podczas gdy potomstwo płci męskiej wykazało spadek siarczanu dehydroepiandrosteronu, zmniejszoną objętość jąder i zmniejszone poziomy aldosteronu. Powyższe przemiany hormonalne mogą dawać skutek w postaci zaburzeń prawidłowego dojrzewania i jednocześnie wpływać na rozwój nadciśnienia tętniczego i wzrost ryzyka sercowo-naczyniowego w przyszłości (61,64,65). Aktualnie poza profilaktyką farmakologiczną PE postępowanie w ciążach dotkniętych tą patologią polega głównie na prawidłowym monitorowaniu pacjentki i płodu, stosowaniu leków hipotensyjnych, profilaktyce rzucawki i oczywiście podjęciu decyzji o czasie trwania ciąży. W badaniu PHOENIX podjęto próbę ustalenia postępowania w sytuacji późnego stanu przedrzucawkowego. Głównym celem badania było znalezienie odpowiedzi na pytanie czy planowany poród zmniejsza niekorzystne wyniki u matki, bez zwiększania jednocześnie krótkoterminowych konsekwencji dla niemowląt. Zgodnie z tym badaniem istnieją mocne dowody sugerujące, że planowany poród stanowi lepszą decyzję w porównaniu z postępowaniem wyczekującym. Trzeba jednak przyznać, że w tej sytuacji mamy do czynienia z większą liczbą przyjęć na oddział noworodkowy po porodzie co wynika głównie z wcześniactwa. Ten kompromis należy omówić z kobietami z późnym stanem przedrzucawkowym, aby umożliwić wspólne podejmowanie decyzji o czasie porodu (66).

Lepsze zrozumienie wieloczynnikowej patofizjologii FGR oraz PE o późnym początku, przede wszystkim w aspekcie niewydolności łożyska, może dać pomysł na lepsze, nowocześniejsze metody leczenia, które pozwolą zachować funkcję łożyska przez wiele tygodni ciąży. Nowe czynniki wzrostu łożyska oraz biomarkery krwi matki dają badaczom

duże pole do popisu w tym temacie. Zgodnie z najnowszymi publikacjami poza czynnikami angiogenetycznymi warto zainteresować się grupą białek szoku termicznego oraz markerami stanu zapalnego (67,68).

2.3 Znaczenie markerów angiogenezy

Do prawidłowej implantacji trofoblastu i przemiany kosmówki w łożysko niezbędne są naczyniowe czynniki wzrostu takie jak łożyskowy czynnik wzrostu (PIGF - Placental Growth Factor) oraz śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF - Vascular Endothelial Growth factor). PIGF jest białkiem biorącym udział w patologicznej angiogenezie, która jest skutkiem między innymi niedokrwienia oraz toczących się stanów zapalnych. Rozpuszczalna fms-podobna kinaza tyrozynowa 1 (sFlt-1 - Soluble fms-like Tyrosine Kinase 1) to czynnik proangiogeny, który hamuje proliferację i migrację komórek śródbłonka indukowaną VEGF oraz PIGF. sFlt-1 blokuje więc działanie PIGF na komórki docelowe. Na podstawie wielu badań wysunięto hipotezę, według której uważa się, że nieprawidłowe stężenia powyższych czynników może być markerami stosowanymi zarówno w diagnostyce FGR jak i PE (69–71). Chociaż wiele prospektywnych badań w różnych populacjach wykazało skuteczność wskaźnika angiogenezy, nie ma jednoznacznego konsensusu co do praktycznego wykorzystania tych biomarkerów w wykrywaniu i leczeniu stanu przedrzucawkowego i FGR. Wydaje się jednak zasadne zwłaszcza w rutynowej praktyce klinicznej stosowanie wskaźnika, a więc ilorazu stężenia sFlt-1 i PIGF jako dodatkowego kryteria rozpoznania PE. Coraz częściej uznaje się że nie tylko objawy kliniczne PE ale także podwyższone wartości tego współczynnika powinny być brane pod uwagę w postawieniu trafnej diagnozy. Ocenia się, że zaburzenie równowagi markerów angiogenezy jest jednoznacznym dowodem na toczący się proces stresu łożyskowego, który nawet jeśli aktualnie nie powoduje objawów klinicznych predysponuje ciężarną do rozwoju niewydolności łożyska głównie pod postacią PE (72). Wyniki projektu PROGNOSIS dostarczyły najbardziej wyczerpujących jak dotąd dowodów na dokładność stosunku sFlt-1/PIGF do krótkoterminowego przewidywania stanu przedrzucawkowego, rzucawki ciężarnych oraz zespołu HELLP (62,73). Dziś wiemy że w ciążach o przebiegu fizjologicznym poziom sFlt-1 ulega wzrostowi po około 30-32 tygodniach ciąży, jednocześnie dochodzi wtedy do spadku poziomu PIGF. Sytuacja taka jest związana z naturalnym procesem starzenia się łożyska. W rzeczywistości stres komórkowy w syncytiotrofoblastach, który występuje w ciągu ostatnich 8–10 tygodni ciąży, prowadzi do zmian biochemicznych w poziomach sFlt-1 i PIGF także w normalnych ciążach. Poziomy

sFlt-1 i PIGF w krążeniu zmieniają się u pacjentów z PE i FGR. Zmiany te zaczynają się przed zachorowaniem i utrzymują się w trakcie choroby. U kobiet z preeclampsją sFlt-1 wzrasta około 5 tygodni przed wystąpieniem objawów choroby podczas gdy poziom PIGF spada przed wzrostem sFlt-1 (74). Badanie kliniczno-kontrolne kobiet w ciąży z jawnym stanem przedrzucawkowym i bez niego wykazało, że stosunek sFlt-1/PIGF wynoszący 85 i wyższy był przydatny w potwierdzeniu rozpoznania stanu przedrzucawkowego, podczas gdy stosunek 33 i niższy był przydatny do wykluczenia prawdopodobieństwa rozwinięcia nieuchronnego stanu przedrzucawkowego. Otwarte badanie kliniczne stanu przedrzucawkowego (Preeclampsia Open Study, PreOS) było pierwszym w rutynowej praktyce klinicznej badaniem prospektywnie oceniającym kliniczną użyteczność testu sFlt-1/PIGF w diagnostyce stanu przedrzucawkowego u kobiet ciężarnych z objawami stanu przedrzucawkowego. Badanie to pokazało również wpływ wyniku markerów angiogenezy na decyzję kliniczne podejmowane w przypadku podejrzenia PE (75). Ogólnie stwierdzono że nieprawidłowe wartości biomarkerów angiogenezy są skutkiem stresu oksydacyjnego, nasilającego się stanu zapalnego oraz niedotlenienia. Pozwalają zgodnie z powyższym różnicować płody zdrowe konstytucjonalnie małe w stosunku do wieku ciążowego od tych obciążonych niewydolnością łożyska (76,77). Dodatkowo zaobserwowano podobną dysregulację wskaźnika zarówno w przypadkach PE jak i FGR co potwierdza wspólna etiopatogenezę tych zaburzeń. Udowodniono także, że im wyższe uzyskiwano stosunki sFlt-1/PIGF, tym niższy był wiek ciążowy w momencie porodu i czas od postawienia diagnozy do porodu. Wydaje się zatem, że poziom stosunku sFlt-1/PIGF odzwierciedla także ciężkość i zaawansowanie niewydolności łożyska (77,78).

2.4 Niewydolność łożyska

Istniejący od wielu lat i wprowadzony początkowo przez Redmana koncept dwuetapowej patogenezy stanu przedrzucawkowego ulegał na przełomie lat zmianom i modyfikacjom. W roku 1993 grupa badawcza Redmana i Robertsa dostrzegła wspólną część łączącą etapy powstania i rozwoju stanu przedrzucawkowego pod postacią czynników angiogennych. Obecnie postuluje się o rozpatrywanie powikłań takich jak PE i FGR w aspekcie wspólnej patogenezy i traktowanie ich jako jednej grupy zaburzeń określanych wspólną nazwą zespołów łożyskowych (79–81). Nazwa ta wielokrotnie używana była między innymi przez Anne Cathrine Staff na podstawie przeprowadzonych przez nią badań. Staff przekonuje że wspólna etiopatogeneza zaburzeń w ciąży ma początek w upośledzonej inwazji trofoblastów,

bądź obecności czynników wywołujących stres trofoblastu (82). U podstaw tych nieprawidłowości należy wspomnieć o procesach związanych z immunologią. Prawidłowa tolerancja maczynego układu odpornościowego jest podstawą do rozwoju ciąży. Ponieważ w zarodku występują zarówno antygeny maczynne, jak i ojcowskie, konieczna jest maczynna tolerancja immunologiczna, aby zapewnić silne i prawidłowo funkcjonujące łożysko. Głównymi komórkami, które odpowiadają za powstanie immunologicznej tolerancji oraz jednocześnie pełnią funkcje przeciwzapalną są maczynne doczesnowe limfocyty T regulatorowe (Treg). Dzięki ich obecności nie dochodzi w trakcie implantacji do odrzucenia przez organizm matki powstającej blastocysty. Układ odpornościowy matki jest niezwykle istotny w procesie implantacji i remodelingu naczyń spiralnych. Udział w tych procesach jest wspomagany dzięki obecności komórek uNK (uterine Natural Killers), które mają za zadanie zaadoptować wnikający trofoblast do doczesnej. Istnieje wiele hipotez dotyczących ich roli i nadal nie są one do końca poznane. Najbardziej zadziwiający jest fakt utraty swojej niszczyielskiej funkcji podczas ciąży. Najprawdopodobniej komórki uNK kontrolują funkcję naczyń krwionośnych poprzez wydzielanie angiogenicznych czynników wzrostu. W związku z czym już na tym etapie rozwoju ciąży mamy do czynienia z obecnością czynników angiogennych. Komórki uNK produkują VEGF i PlGF. Jednocześnie PlGF odgrywa rolę w proliferacji komórek uNK (83).

Głównymi mechanizmami odpowiedzialnymi za występowanie FGR i stanu przedrzucawkowego (PE preeclampsia) są zaburzenia funkcji krążenia maczyno-łożyskowego, zmniejszenie przepływu krwi przez łożysko i jego niewydolność (84,85).

Utrudniony przepływ w sposób istotny wpływa na wymianę maczyno-łożyskową, co skutkuje przewlekłym niedotlenieniem oraz zaburzeniem transportu składników odżywczych. Do sytuacji takiej dochodzi na skutek dysfunkcji immunologicznych pomiędzy płodem i łożyskiem a tkankami matki, nieprawidłowej inwazji trofoblastu, zmian zapalnych a także czynników genetycznych. Od dawna wiadomo, że prawidłowy rozwój łożyska u ludzi wiąże się z unikalną przebudową naczyń krwionośnych. Proces ten polega na całkowitym przekształceniu fragmentów doczesnowych i mięśniowych około 100 tętnic spiralnych czyli końcowych odcinków tętnic macicznych. Etiologia zaburzeń placentacji i jej wpływ na rozwinięcie powikłań śródcieżowych pod postacią FGR I PE po raz pierwszy została opisana ponad 30 lat temu (86). Aktualnie postuluje się o dołączenie także innych patologii ciąży, w tym porodów przedwczesnych, poronień oraz przedwczesnego odpływania płynu owodniowego do grupy zaburzeń, których wspólną etiopatogenezę stanowi proces zaburzonej placentacji łożyska. Brosens i wsp. dokonali analizy histopatologicznej łożysk na podstawie,

której powstała klasyfikacja powikłań położniczych w zależności od rodzaju wadliwej głębokiej placentacji. W sytuacji częściowego przekształcenia tętnic spiralnych mamy zazwyczaj do czynienia z rozwojem powikłań pod postacią porodu przedwczesnego, przedwczesnego odpływania płynu owodniowego oraz FGR bez współistniejącego nadciśnienia. Całkowity brak remodelingu tętnic spiralnych związany jest z patogenezą stanu przedrzucawkowego natomiast ostatni typ nieprawidłowego rozwoju naczyń spiralnych, wiąże się dodatkowo z komponentą zatorową i daje objawy pod postacią stanu przedrzucawkowego z współistniejącym FGR, przedwczesną ablacją łożyska bądź zawałem łożyska któremu może towarzyszyć zgon płodu (87–90).

W przebiegu ciąży fizjologicznej inwazja trofoblastu jest podzielona na dwa etapy. Pierwszy z nich ma miejsce między 8 a 12 tc. i polega na wnikaniu cytotrofoblastu pozakosmkowego w ściany tętnic spiralnych powodując utratę komórek śródbłonna naczyń. Podczas drugiego etapu, który ma miejsce pomiędzy 13 a 18 tc. mamy do czynienia z wbudowywaniem się trofoblastu w warstwę mięśniową naczyń spiralnych. Konsekwencją tych procesów jest remodeling, który powoduje, że naczynia tętnicze z wysokooporowym przepływem stają się naczyniami przypominającymi naczynia żyłne, w których dominuje przepływ niskooporowy. Proces przebudowy jest obecny ponadto w całej przestrzeni doczesnej, a także w pozostałych poziomach drzewa naczyniowego macicy, a więc tętnicach łukowatych oraz promieniowych. Dodatkowo zachodzące zmiany obejmują również wykształcenie anastomoz tętniczo-żylnych. Prawidłowa transformacja naczyń z utratą komórek śródbłonna oraz redukcją włókien mięśniowo-elastycznych zapewnia ciągłą dostawę krwi utlenowanej do przestrzeni międzykomórkowej bez względu na panujące warunki w organizmie matki (91,92).

Drugim elementem tworzącym patogenezę chorób związanych z niewydolnością łożyska jest proces różnicowania trofoblastu. W sytuacji zaburzenia różnicowania trofoblastu kosmkowego dochodzi do wczesnej redukcji wielkości łożyska i rozwoju ciężkiego FGR. Druga sekwencja zakłada nieprawidłowe ukrwienie maciczno-łożyskowego i patologiczną przemianę trofoblastu pozakosmkowego. Skutkiem jest powstanie stresu oksydacyjnego i rozwoju kolejnych poszczególnych etapów FGR z towarzyszącym PE (93).

2.5 Białka szoku cieplnego i stres oksydacyjny

W ciągu ostatnich lat badacze w każdej dziedzinie medycyny poświęcają czas na analizowanie stresu oksydacyjnego jako przyczynę wielu problemów zdrowotnych. Podobnie

proponuje się diagnostykę stresu oksydacyjnego związanego z ciążą i porodem. Udowodniono, że jest on cechą zarówno samego porodu fizjologicznego jak i stanów patologicznych takich jak między innymi preeclampsia. Prawidłowy poród wiąże się ze zmianami łożyskowymi w kilku szlakach związanych ze stresem oksydacyjnym. Proces ten występuje, gdy produkcja reaktywnych form tlenu przewyższa wewnętrzną obronę antyoksydacyjną organizmu. Reaktywne formy tlenu mogą powodować utlenienie tłuszczów, białek, DNA i w następstwie tego przyczynić się do uszkodzenia tkanek. Patogenne produkty procesów utleniania niszczą błony komórkowe w efekcie wpływając na nieprawidłowe funkcjonowanie komórek, a następnie ich obumieranie w mechanizmie apoptozy. Może to wywoływać różnorodne odpowiedzi komórkowe w zależności od ciężkości urazu i lokalizacji w której powstają reaktywne formy tlenu. Analizując przebieg ciąży fizjologicznej badacze zaobserwowali iż wraz z zaawansowaniem ciąży w łożysku ilość reaktywnych form tlenu zmniejsza się, jednocześnie dochodzi do wzrostu aktywności biokatalizatorów takich jak dysmutaza nadtlenkowa i katalaza. Zarówno jeden jak i drugi enzym to znane substancje o działaniu antyoksydacyjnym. Wyniki badań wskazują na ochronną rolę łożyska w zapobieganiu występowaniu stresu oksydacyjnego i zabezpieczeniu płodu przed działaniem szkodliwych form tlenu. Istnieją niepodważalne dowody na łożyskowy stres oksydacyjny w stanie przedrzucawkowym. Dowodem na to są zwiększone stężenia nadtlenuków lipidów powstających w procesie ich peroksydacji. W trakcie rozwoju patologii ciąży takiej jak preeclampsia widoczne jest zaburzenie równowagi między substancjami antyoksydacyjnymi a oksydacyjnymi. Powodem tego jest nie tylko mała dostępność antyoksydantów ale także nieprawidłowe ich funkcjonowanie. Niewłaściwe działanie komórek oraz ich apoptoza indukowana stresem oksydacyjnym jest regulowana przez białka szoku cieplnego (94). (HSP - Heat Shock Protein) są tradycyjnie klasyfikowane na podstawie ich masy cząsteczkowej, ale ostatnie wytyczne dotyczące nomenklatury ludzkich białek szoku cieplnego opierają się na symbolach genów, które zostały przypisane przez Komitet ds. Nomenklatury Genetycznej HUGO. Jest to wysoce zróżnicowana rodzina białek (95). Dzięki licznym badaniom, wyodrębniono poszczególne podgrupy białek, scharakteryzowane na podstawie ich funkcji. Te różnorodne funkcje są skutkiem odmiennej lokalizacji białek w komórce, a także oddziaływaniami białek w trakcie zaistnienia bodźców stresogennych (96). HSP są indukowane w odpowiedzi na różne rodzaje stresu komórkowego, w tym szok cieplny, stres oksydacyjny, promieniowanie ultrafioletowe, uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne, infekcje wirusowe, niedobór składników odżywczych, niedotlenienie, uszkodzenia fizyczne, niedokrwienie i chemikalia. Białka HSP są głównymi chaperonami czyli białkami

opiekuńczymi, które zwiększają odpowiedź na różne bodźce stresowe i przywracają prawidłową strukturę białka. HSP70 zaliczane jest do jednych z najlepiej poznanych białek. Wewnątrzkomórkowe indukowalne HSP70 może pośredniczyć w działaniu cytoochronnym, przeciwapoptotycznym i immunologicznym (97). Z uwagi na wzrost stężeń białek HSP w momencie obecności wolnych rodników, działania czynników infekcyjnych czy wzrostu temperatury, można postawić hipotezę, że HSP stanowią ważny parametr informujący o toczących się procesach patologicznych u ciężarnych takich jak PE i FGR, a więc sytuacji, w których występuje uszkodzenie śródbłonna naczyń, pogorszenie perfuzji łożyska, a co za tym idzie pojawienie się wolnych rodników i hipoksji łożyska (98–100). Można przypuszczać, że opisane mechanizmy powodują w tych stanach wzrost syntezy białek HSP (101,102).

Nadal niewiele wiadomo na temat funkcjonowania i roli białek szoku cieplnego (HSP) we krwi pacjentek oraz w krwi pępowinowej w ciążach zarówno fizjologicznych jak i w patologich ciąży (103). Większość doniesień naukowych związanych jest z oceną stężeń i ekspresji białek szoku cieplnego w tkance łożyskowej tak jak w badaniu przeprowadzonym przez Szaha i wsp. oceniających HSP o różnej masie cząsteczkowej w każdym trymestrze ciąży fizjologicznej. Stwierdzili oni uderzające różnice stężeń HSP w zależności od lokalizacji w doczesnej i łożysku podczas prawidłowej ciąży. HSP70 było obecne w każdym trymestrze ciąży, natomiast w przeciwieństwie do innych białek szoku cieplnego w tym HSP 60 i 27 jego stężenie ulegało obniżeniu wraz z postępem ciąży (104). Kilka lat później powstała kolejna praca Hnat i wsp. której celem było porównanie ekspresji immunohistochemicznej białka szoku cieplnego-70 oraz markera peroksydacji lipidów w tkankach łożyska ciąż z prawidłowym ciśnieniem tętniczym, stanem przedrzucawkowym i ciążami z ograniczeniem wzrostu wewnątrzmacicznego. Wyniki tego badania wskazywały na lokalnie występujący stres oksydacyjny w śródbłonu naczyniowym łożysk w ciążach powikłanych preeclampsją i FGR (105). W kontekście badań wykonywanych w surowicy krwi pacjentek zostało przeprowadzone badanie Fukushima i wsp. analizując białka szoku cieplnego HSP70 jako nowego markera diagnostycznego u pacjentów w grupie wysokiego ryzyka porodu przedwczesnego i stanu przedrzucawkowego. Korzystając z oceny immunoenzymatycznej HSP70 wykazano istotnie wyższe poziomy tego białka w grupie pacjentek, u których poród odbył się przedwcześnie, w porównaniu do pacjentek, których dzieci urodziły się w terminie porodu. Uzyskano również znacznie wyższe poziomy HSP70 w surowicy kobiet z ciążami powikłanymi stanem przedrzucawkowym (106). W dalszym ciągu rola krążącego HSP70 w ciążach prawidłowych i patologicznych nie jest w pełni poznana i konieczne są dalsze badania w celu zajęcia się tym ważnym problemem. Ocena

tęgo typu nowego biomarkera, może pomóc w przewidywaniu niekorzystnych zdarzeń w ciąży u matki i zmniejszać w przyszłości powikłania okołoporodowe. Aby tego dokonać konieczne jest przeprowadzanie dalszych badań prospektywnych obejmujących coraz większe grupy badanych. Są to główne ograniczenia powyższych badań w których analizowane są nieliczne przypadki. Dodatkowo pomiędzy badaczami w dalszym ciągu brak jednoznacznych wniosków nawet w aspekcie analizy stężeń białek w przebiegu ciąży fizjologicznych. Jedno z bardziej aktualnych badań przeprowadzonych przez Molvareca i wp. wskazuje na wzrost stężenia HSP70 wraz z wiekiem ciążowym, natomiast obniżanie się jego poziomu wraz z wiekiem matki. Wzrost poziomów HSP70 w surowicy wraz z zaawansowaniem ciąży w warunkach fizjologicznych badacze tłumaczą zwiększeniem wydalania tego białka wraz z fragmentami trofoblastu z rosnącego łożyska do krążenia matki. Natomiast związany z wiekiem spadek poziomów HSP70 w surowicy obserwowany u zdrowych kobiet w ciąży jest zgodny z wcześniejszymi ustaleniami dotyczącymi kobiet nieciążarnych i może odzwierciedlać zmniejszoną zdolność komórek do reagowania na stres i syntezy Hsp wraz z wiekiem (107). W 2009 roku podjęto próbę analizy i znalezienia wspólnej drogi w patogenezie stanu przedrzucawkowego poprzez udowodnienie korelacji pomiędzy podwyższonymi wartościami HSP70 a nieprawidłowymi markerami ogólnoustrojowego stanu zapalnego w tym między innymi CRP. Stosunek pomiędzy zwiększonymi poziomami HSP70 w surowicy krwi i CRP stwierdzony w badaniu Molvareca sugeruje, że krążące HSP70 może być zaangażowane w rozwój matczynej ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej w stanie przedrzucawkowym (108). Podobne wnioski dotyczące podwyższonych poziomów krążącego HSP70 udowodniono w kilku innych chorobach związanych z obecnością stanu zapalnego takich jak ostre zespoły wieńcowe, zapalenie mięśnia sercowego i przewlekła obturacyjna choroba płuc (109,110).

2.6 Cytokiny i markery stanu zapalnego

Białko c-reaktywne (CRP - C Reactive Protein) należy do grupy białek, których stężenie zmienia się między innymi podczas występowania w organizmie infekcji i stanu zapalnego. Jego wzrost związany jest także z uszkodzeniem komórek, chorobami autoimmunologicznymi jak również z rozwojem chorób nowotworowych. Wysokoczułe białko c-reaktywne (HsCRP - High sensitivity C Reactive Protein) jest to wskaźnik analogiczny do CRP, z tym że HsCRP pozwala wykrywać nawet bardzo małe ilości białka CRP. Jest to białko ostrej fazy a jego produkcja zachodzi głównie w komórkach wątroby.

Sugeruje się, że oznaczanie HsCRP jest bardziej czułe niż konwencjonalne pomiary CRP i zapewnia wyższą precyzję w diagnozowaniu stanu zapalnego. Wnioski z wielu przeprowadzonych badań wskazują na istotne korelacje pomiędzy wartościami stężenia HsCRP we krwi matek a występowaniem powikłań położniczych w tym głównie problemów związanych z nieprawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego (111–114). Wyniki badań nie są jednak jednoznaczne. Wolf i wsp. oraz Tjoa i wsp. wykazali w swoich analizach podwyższony poziom CRP u kobiet w pierwszym trymestrze ciąży, u których następnie doszło do rozwoju stanu przedrzucawkowego, wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu lub cukrzycy ciążowej, podczas gdy inni badacze nie wykryli takiej zależności (115,116). Wydaje się, że oznaczenie stężeń białka CRP jest użytecznym wskaźnikiem biochemicznym wyrażającym czynność śródbłonna i jego prawidłowe funkcjonowanie. Zwłaszcza w sytuacji stosowania testów immunoenzymatycznych typu ELISA a więc metody charakteryzującej się wysoką czułością, swoistością i powtarzalnością wyników, a dodatkowo łatwością jej wystandaryzowania. Warto zauważyć że HsCRP jest jednym z najczęściej używanych markerów do oceny wystąpienia ryzyka sercowo-naczyniowego, jest także kluczowym parametrem w prognozowaniu i przewidywaniu wystąpienia chorób układu krążenia. Jest to niezwykle interesujące zważając na to iż kobiety z dodatnim wywiadem preeclampsji mają zwiększone ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych w przyszłości. Taka zależność przynajmniej częściowo pomaga nam wyjaśnić znaczenie ryzyka rozwoju powyższych chorób u kobiet u których wystąpił stan przedrzucawkowy (117,118). Wiadomo, że mechanizmy obejmujące nieprawidłowe wartości czynników angiogennych i cytokin prozapalnych odgrywają kluczową rolę w procesie nieprawidłowego kształtowania się łożyska i rozwoju jego niewydolności. Ciąża ze względu na swoje fizjologiczne zmiany w układzie odpornościowym jest określana często jako stan przewlekłego i łagodnego stanu zapalnego, który ulega nasileniu wraz z zaawansowaniem ciąży (119). O ile w pełni kontrolowany stan zapalny związany z ciążą prawidłową jest jak najbardziej pożądaną cechą o tyle w sytuacji utraty tej kontroli może dojść do powstania patologii ciąży związanej z nieprawidłowym funkcjonowaniem jednostki maciczno-łożyskowej. W grupie czynników prozapalnych należy wspomnieć przede wszystkim o interleukinie-6 (IL-6), która jest jednym z najsilniejszych induktorów produkcji CRP w wątrobie. Oprócz obecności cytokin prozapalnych obecne są również cytokiny przeciwzapalne, które pomagają regulować odpowiedź immunologiczną. Do grupy tych cytokin należy między innymi interleukina IL-10 i IL-4, które odgrywają ważną rolę w prawidłowej ciąży, zapewniając równowagę układu odpornościowego. Tak więc brak harmonii pomiędzy stężeniami cytokin prozapalnych i

przeciwzapalnych prowadzi do stanu nadmiernie wyrażonego przewlekłego zapalenia w obrębie łożyska. W układzie naczyniowym wysokie stężenie IL-6 przyczyniają się do dysfunkcji śródbłonna a więc cechy typowej dla zespołów niewydolności łożyska (94,111,120,121).

3. Cel pracy

Celem rozprawy była ocena potencjalnej roli HSP70 oraz HsCRP w patogenezie zaburzeń należących do spektrum niewydolności łożyska oraz próba wykazania związku pomiędzy powyższymi białkami a markerami angiogenezy. Cel ten realizowano poprzez:

1. Ocenę stężenia markera stanu zapalnego (HsCRP) we krwi matek z rozpoznanym stanem przedrzucawkowym, matek płodów z SGA oraz FGR po 34 tc.
2. Ocenę stężenia białka szoku termicznego HSP70 we krwi pępowinowej u noworodków z SGA, FGR, po 34 tc. oraz noworodków matek ze stanem przedrzucawkowym
3. Ocenę zależności pomiędzy markerami angiogenezy i parametrem stanu zapalnego oraz stężeniem HSP70 u pacjentek z ciążą powikłaną FGR, stanem przedrzucawkowym i ciążami przebiegającymi z SGA po 34 tc.

4. Materiał

Materiał badawczy stanowiły 172 pacjentki hospitalizowane w Klinice Położnictwa i Ginekologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie w latach 2018-2022. Badaniem objęte zostały pacjentki po 34 tygodniu ciąży, u których w badaniu USG stwierdzono przewidywaną niską masę urodzeniową płodu, oraz pacjentki z rozpoznaniem stanu przedrzucawkowego. Pacjentki te zostały podzielone na cztery grupy.

- pierwsza grupa - 39 kobiet z stwierdzonym u płodów SGA.
- druga grupa - 47 pacjentek z ciążą powikłaną FGR.
- trzecia grupa - 38 ciężarnych ze zdiagnozowanym stanem przedrzucawkowym.
- czwarta grupa - 48 zdrowych pacjentek o prawidłowym przebiegu ciąży, które stanowiły grupę kontrolną.

5. Metody

Pobieranie materiału biologicznego (krwi, moczu) od pacjentek do planowanych oznaczeń miało miejsce po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej działającej przy Pomorskim Uniwersytecie Medycznym w Szczecinie (nr uchwały KB-0012/126/18).

Włączenie pacjentek do badania następowało po uzyskaniu pisemnej zgody na udział w powyższym projekcie. Wszystkie uczestniczki były informowane w trakcie rozmowy o celu wykonywanych procedur oraz o anonimowości przeprowadzanego badania. Próbkki krwi uzyskane od pacjentki były zakodowane numerycznie. Określenie stężeń biomarkerów (HsCRP oraz HSP70) zostało wykonane przy użyciu testów immunoenzymatycznych (ELISA).

Badanie obejmowało niżej wymienione procedury:

1. Pobranie krwi pacjentki na surowicę (na skrzep) – odwirowanie przez 10 minut 1000 x g, temperatura pokojowa- odciążenie surowicy, odpowiednie znakowanie, przechowywanie i zamrożenie w temp -80 stopni (oznaczenia HsCRP). Pobranie krwi z żyły pępowinowej po porodzie na surowicę (na skrzep) – odwirowanie przez 10 minut 1000 x g, temperatura pokojowa – odciążenie surowicy, odpowiednie znakowanie, przechowywanie i zamrożenie w temp -80 stopni (oznaczenie stężenia HSP70).
2. Pobranie krwi pacjentek na surowicę (na skrzep) celem oznaczenia markerów angiogenezy (sFlt-1, PlGF).
3. Pobranie świeżej próbki moczu celem wykonania badania ogólnego moczu umożliwiającego ocenę jakościową obecności białkomoczu.
4. Ocena ultrasonograficzna wewnątrzmacicznego stanu płodu:
 - wykonanie oceny biometrii płodu
 - przeprowadzenie dopplerowskich metod pomiaru przepływów krwi przez tętnicę pępowinową,
 - przeprowadzenie dopplerowskich metod pomiaru przepływów krwi przez tętnicę środkową mózgu,
 - przeprowadzenie dopplerowskich metod pomiaru przepływów krwi przez tętnice maciczne prawą i lewą.

5.1 Badania immunoenzymatyczne

Materiałem stosowanym w oznaczeniach była surowica krwi, pobrana z żyły łokciowej do probówek na skrzep oraz krew z żyły pępowinowej. Krew była następnie odwirowana (10 minut, 1000 x g, temperatura pokojowa), a uzyskana surowica rozdzielona do probówek typu Eppendorf i zamrożona w temperaturze -80° do czasu wykonania oznaczeń.

Pomiar stężenia białka szoku termicznego HSP70 wykonany został wysokoczułą ELISA (Abcam- nr. AB133061, Cambridge, Wielka Brytania). Próby surowicy zostały rozcieńczone za pomocą buforu dołączonego do zestawu, zgodnie z instrukcją. Rozcieńczenie zostało uwzględnione w obliczeniach.

Stężenie białka C-reaktywnego także oznaczono metodą ELISA (Abcam- nr. AB260058, Cambridge, Wielka Brytania). Wykorzystana w badaniach surowica przed rozpoczęciem analiz była rozcieńczana zgodnie z instrukcją producenta, a rozcieńczenie było uwzględniane w obliczeniach.

5.2 Badania immunochemiczne

Materiałem stosowanym w oznaczeniach była krew żylna pobrana od pacjentki z żyły łokciowej. Do ilościowego oznaczenia stężenia sFlt-1 wykorzystano test ECLIA sFlt-1 (Roche Diagnostics). Do ilościowego oznaczenia stężenia PlGF wykorzystano test ECLIA PlGF (Roche Diagnostics). Oznaczenia przeprowadzono metodą automatyczną za pomocą analizatora immunochemicznego Cobas 8000B (INFINITY).

5.3 Badanie analityczne moczu

Materiałem stosowanym w oznaczeniach była świeża próbka moczu pobranego od pacjentki. Do oceny jakościowej obecności białkomoczu jako jednego z kryteriów rozpoznania stanu przedrzucawkowego użyto aparatu Cobas u6500.

5.4. Badania ultrasonograficzne

Badanie ultrasonograficzne mające na celu określenie masy płodu i ocenę wzrastania płodu przeprowadzono analizując parametry biometryczne: wymiar dwuciemieniowy głowy płodu (BPD), obwód głowy płodu (HC), obwód brzucha płodu (HC), długość kości udowej (FL). Wymiar BPD i HC wykonywany był po uwidocznieniu przekroju poprzecznego mózgowia

na wysokości wzgórza oraz symetrycznego obrazu półkul mózgowych. Kąt insonacji był równy 90 stopni. Obwód brzucha mierzono w płaszczyźnie poprzecznej, obrazując żyłę pępowinową na wysokości zatoki wątrobowej oraz widocznej bańki żołądka. Długość kości udowej oceniano używając kąta insonacji 45-90 stopni.

Badanie przepływu przez tętnicę pępowinową wykonywano w wolnej pętli pępowiny, w czasie braku ruchów oddechowych i ruchów płodu. Kąt pomiaru nie przekraczał 10 stopni. Analizowano współczynnik pulsacji.

Badanie przepływu w tętnicy środkowej mózgu wykonywano uwidaczniając koło tętnicze Wilisa. Bramka dopplerowska umieszczana była w 1/3 proksymalnej części tętnicy środkowej mózgu, blisko jej odejścia od tętnicy szyjnej wewnętrznej. Kąt pomiędzy wiązką ultradźwięków a kierunkiem przepływu krwi utrzymywano możliwie najbliżej 0 stopni. Unikano dociskania głowicy zbyt mocno do głowy płodu. Analizie poddano współczynnik pulsacji.

Badanie tętnic macicznych wykonywano wykorzystując opcję kodowania kolorem badania dopplerowskiego i tradycyjne badanie pulsacyjne. Zastosowano sondę przezbrzuszną, oceniając przepływy naczyniowe obustronnie w prawym i lewym dole biodrowym. Pomiarów dokonywano uwidaczniając skrzyżowanie tętnicy macicznej z tętnicą biodrową zewnętrzną. Kąt insonacji nie przekraczał 30 stopni. Analizie poddano trzy parametry: PI (współczynnik pulsacji), NOTCH (wcięcie wczesnorozkurczowe), UAS (skala tętnicy macicznej) (122,123).

6. Analiza statystyczna

6.1 Metody statystyczne

Wyniki przedstawiono jako wartości mediany oraz pierwszego i trzeciego kwartyla. Dla każdej zmiennej, w każdej grupie przeprowadzono ocenę normalności rozkładu przy pomocy testu Shapiro Wilka oraz pomocniczo z użyciem wykresu kwantyl-kwantyl. Porównanie między grupami badanymi a grupą kontrolną przeprowadzono przy pomocy testu T-studenta dla zmiennych o rozkładzie normalnym lub testu U-Manna Whitneya w przypadku rozkładów innych niż normalny. Porównania te zostały przeprowadzone jako niezależne testy z uwagi na nakładanie się jednostek chorobowych pomiędzy pojedynczymi pacjentkami. Celem porównania wszystkich grup jednocześnie, z wyłączeniem przypadków nakładających się, wykonano test Kruskalla wallisa z testem post hoc porównań wielokrotnych. Celem oceny przydatności badanych parametrów jako markerów do predykcji zaburzeń będących przedmiotem pracy zastosowano uogólniony model liniowy oraz analizę krzywej ROC. Wyniki przedstawiono jako wartość czułości i swoistości wraz z proponowanym punktem odcięcia dla badanej zmiennej wyznaczonego przy pomocy indeksu Youdena. Ocenę korelacji przeprowadzono przy pomocy współczynnika Spearmana.

6.2 Charakterystyka analizowanej grupy badawczej

Badaniem objęto 172 pacjentki, w tym:

1. kobiety z stwierdzonym u płodów SGA (płód konstytucjonalnie mniejszy w stosunku do wieku ciążowego) - 39 pacjentek
2. pacjentki z ciążą powikłaną stanem przedrzucawkowym PE - 38 pacjentek
3. pacjentki z ciążą powikłaną FGR (wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrastania płodu) - 47 pacjentek
4. grupa kontrolna - 48 pacjentek

Podstawowe charakterystyki grupy badanej przedstawiono poniżej

Tabela 1. Porównanie parametrów między grupą SGA a grupą kontrolną

	Kontrola			SGA			p	test
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3		
Wiek	32	26,8	34	30	27	33,5	0,534	T-test

Czas zakończenia ciąży	39	39	39	38	38	39		
Dzień	2	1	3,5	3	1,25	5		
Dni ciąży	275	273	279	271	266	275	0,001	T-test
sFlt-1	2800	2012	3618	2776	2157	4032	0,701	T-test
PLGF	224	187	307	180	114	306	0,150	Wilcox
sFlt-1/PIGF	13,6	8,17	17,8	18	7,87	25,9	0,112	Wilcox
Masa ciała matki	80	71,8	89	76	66	84,5	0,223	Wilcox
Masa urodzeniowa płodu	3450	3255	3750	2750	2610	2860	0,00	T-test
Wzrost matki	167	162	170	167	162	170	0,806	T-test
BMI	28,7	25,9	32,6	27,9	24,3	30,9	0,275	Wilcox
HsCRP z krwi matki	1,44	1	2,55	4,55	3,08	6,6	0,00	Wilcox
HSP70 z krwi pępowinowej	0,44	0,385	0,466	0,544	0,487	0,567	0,00	Wilcox
WBC	10,6	9,02	12,6	10,7	9,68	12,1	0,607	T-test
RBC	4,11	3,94	4,31	4,08	3,88	4,38	0,848	T-test
HCT	35,6	34,2	38	35,8	33,9	37,8	0,863	T-test
HB	7,6	7,2	8,1	7,7	7,15	8	0,780	T-test
PLT	226	195	266	230	195	268	0,832	T-test
ASPAT	18	15	21	18	15	21,5	0,794	Wilcox
ALAT	12,5	11	17	12	9,5	15,5	0,214	Wilcox
Kwas moczowy	4,7	4,2	5,12	4,5	4	5,1	0,615	T-test
Fibrynogen	4,1	3,7	4,45	4,4	4,1	4,95	0,013	Wilcox
APTT	27,8	26	29,1	27,9	26,4	28,9	0,811	Wilcox
INR	0,98	0,947	1,02	0,99	0,955	1,04	0,519	T-test
UAPI	0,76	0,668	0,875	0,87	0,795	1,11	0,000	T-test
MCAPI	1,39	1,32	1,66	1,54	1,4	1,74	0,110	Wilcox
UTAP	0,77	0,635	0,997	0,91	0,665	1,03	0,356	Wilcox
UTAL	0,835	0,648	0,97	0,85	0,65	1,04	0,473	Wilcox

Dni ciąży i masa urodzeniowa płodu były istotnie niższe w grupie SGA w porównaniu z grupą kontrolną.

HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej, stężenie fibrynogenu, UAPI były istotnie wyższe w grupie SGA w porównaniu z grupą kontrolną.

Tabela 2. Porównanie parametrów między grupą PE a grupą kontrolną

	Kontrola			PE			p	test
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3		
Wiek	32	26,8	34	31,5	28	36,8	0,562	T-test
Czas zakończenia ciąży	39	39	39	37	35,2	38		
Dzień	2	1	3,5	2	2	3		
Dni ciąży	275	273	279	259	249	270	0,000	T-test
sFlt-1	2800	2012	3618	7516	5114	11380	0,000	T-test
PIGF	224	187	307	83,6	63	124	0,000	Wilcox
sFlt-1/PIGF	13,6	8,17	17,8	81,8	53,1	154	0,000	Wilcox

Masa ciała matki	80	71,8	89	90,5	75	102	0,011	Wilcox
Masa urodzeniowa płodu	3450	3255	3750	2830	2245	3455	0,000	T-test
Wzrost matki	167	162	170	168	162	170	0,919	T-test
BMI	28,7	25,9	32,6	33,5	29	36,6	0,008	Wilcox
HsCRP z krwi matki	1,44	1	2,55	14,7	8,98	22,6	0,000	Wilcox
HSP70 z krwi pępowinowej	0,44	0,385	0,466	0,788	0,604	1,09	0,000	Wilcox
WBC	10,6	9,02	12,6	9,78	8,78	11,5	0,105	T-test
RBC	4,11	3,94	4,31	4,16	4	4,47	0,383	T-test
HCT	35,6	34,2	38	36	34,6	38,2	0,621	T-test
HB	7,6	7,2	8,1	7,75	7,15	8,18	0,563	T-test
PLT	226	195	266	187	140	256	0,016	T-test
ASPAT	18	15	21	19	16	23	0,219	Wilcox
ALAT	12,5	11	17	12	9,25	15	0,556	Wilcox
Kwas moczowy	4,7	4,2	5,12	5,7	4,95	6,75	0,000	T-test
Fibrynogen	4,1	3,7	4,45	5,2	4,42	5,78	0,000	Wilcox
APTT	27,8	26	29,1	27,2	26,3	29,5	0,941	Wilcox
INR	0,98	0,947	1,02	0,96	0,91	0,98	0,012	T-test
UAPI	0,76	0,668	0,875	0,98	0,88	1,16	0,000	T-test
MCAPI	1,39	1,32	1,66	1,24	1,2	1,42	0,001	Wilcox
UTAP	0,77	0,635	0,997	1,24	1,02	1,31	0,000	Wilcox
UTAL	0,835	0,648	0,97	1,2	0,907	1,32	0,000	Wilcox

Dni ciąży, PIGF, masa urodzeniowa płodu, PLT, INR i MCAPI były istotnie niższe w grupie PE w porównaniu z grupą kontrolną.

sFlt-1, sFlt-1/PIGF, masa ciała matki, BMI, HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej, kwas moczowy, stężenie fibrynogenu, UAPI, UTAP i UTAL były istotnie wyższe w grupie PE w porównaniu z grupą kontrolną.

Tabela 3. Porównanie parametrów między grupą FGR a grupą kontrolną

	Kontrola			FGR			p	test
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3		
Wiek	32	26,8	34	29	25	33,5	0,222	T-test
Czas zakończenia ciąży	39	39	39	37	35,5	38		
Dzień	2	1	3,5	2,5	2	4		
Dni ciąży	275	273	279	261	252	270	0,000	T-test
sFlt-1	2800	2012	3618	6320	4386	8154	0,000	T-test
PIGF	224	187	307	85,5	57,9	124	0,000	Wilcox
sFlt-1/PIGF	13,6	8,17	17,8	62	37,3	109	0,000	Wilcox
Masa ciała matki	80	71,8	89	70	63,5	82,5	0,011	Wilcox
Masa urodzeniowa płodu	3450	3255	3750	2300	1955	2530	0,000	T-test
Wzrost matki	167	162	170	165	161	170	0,808	T-test
BMI	28,7	25,9	32,6	26	22,4	30,5	0,017	Wilcox

HsCRP z krwi matki	1,44	1	2,55	14,4	11	17,8	0,000	Wilcox
HSP70 z krwi pępowinowej	0,44	0,385	0,466	0,631	0,56	0,704	0,000	Wilcox
WBC	10,6	9,02	12,6	9,9	8,87	11,5	0,359	T-test
RBC	4,11	3,94	4,31	4,09	3,92	4,36	0,828	T-test
HCT	35,6	34,2	38	36,4	34,7	38,2	0,406	T-test
HB	7,6	7,2	8,1	7,8	7,25	8,2	0,201	T-test
PLT	226	195	266	198	180	268	0,430	T-test
ASPAT	18	15	21	18	14,5	20,5	0,437	Wilcox
ALAT	12,5	11	17	12	9,5	15	0,250	Wilcox
Kwas moczowy	4,7	4,2	5,12	5,1	4,25	5,7	0,064	T-test
Fibrynogen	4,1	3,7	4,45	4,7	4	5,2	0,007	Wilcox
APTT	27,8	26	29,1	26,9	26,4	28,8	0,663	Wilcox
INR	0,98	0,947	1,02	0,97	0,93	1,02	0,471	T-test
UAPI	0,76	0,668	0,875	1,12	0,97	1,25	0,000	T-test
MCAPI	1,39	1,32	1,66	1,35	1,21	1,65	0,212	Wilcox
UTAP	0,77	0,635	0,997	1,25	1,12	1,32	0,000	Wilcox
UTAL	0,835	0,648	0,97	1,18	0,955	1,29	0,000	Wilcox

Dni ciąży, PIGF, masa ciała matki, masa urodzeniowa płodu i BMI były istotnie niższe w grupie FGR w porównaniu z grupą kontrolną.

sFlt-1, sFlt-1/PIGF, HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej, stężenie fibrynogenu, UAPI, UTAP i UTAL były istotnie wyższe w grupie FGR w porównaniu z grupą kontrolną.

Tabela 4. Zestawienie udziału cech jakościowych

Zmienna jakościowa		n	%
CC	0	38	23,46%
	1	124	76,54%
psn	0	124	76,54%
	1	38	23,46%
palenie papierosów	0	127	78,40%
	1	35	21,60%
Białkomocz	0	127	78,40%
	1	35	21,60%
UTA	0	89	54,94%
	1	39	24,07%
	2	24	14,81%
	3	3	1,85%
	4	7	4,32%

W grupie badanej większość pacjentek zostało poddanych cięciu cesarskiemu, co stanowiło 76,54%. Porodu siłami natury dokonało 23,46% pacjentek. Większość pacjentek poddanych badaniu nie paliło papierosów (78,40%). Białkomocz wystąpił u 21,60% pacjentek.

6.3 Analiza badanych substancji jako potencjalnych markerów dla różnicowania zaburzeń ciąży w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej

Poniżej przedstawiono wyniki statystyk opisowych dla HSP70, HsCRP oraz sFlt-1/PIGF

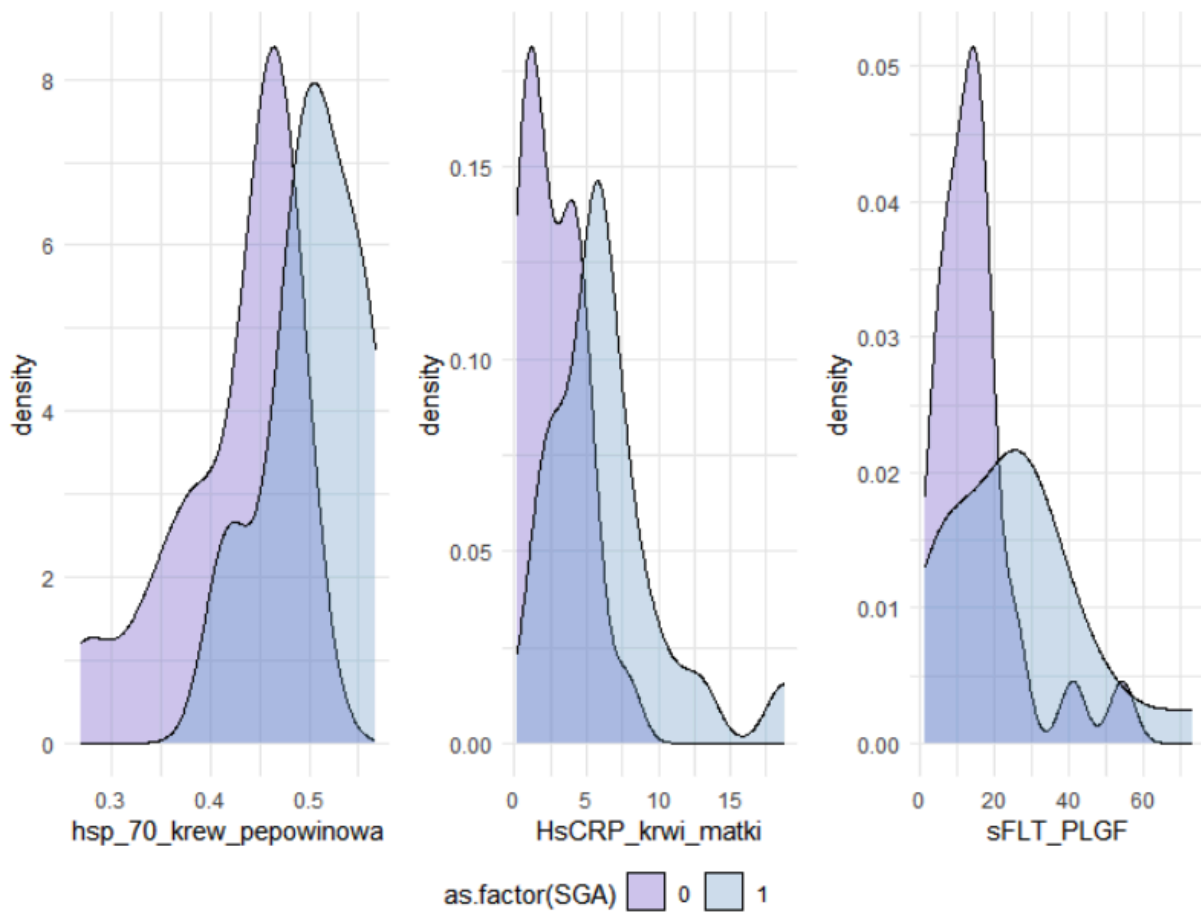
Tabela 5. Statystyka opisowa dla badanych parametrów: q1,3- 1,3 kwartyl

	variable	n	min	max	median	q1	q3
kontrola	HsCRP we krwi matki	48	0,094	7,86	1,44	1	2,55
	HSP70 we krwi pępowinowej	48	0,268	0,567	0,44	0,385	0,466
	sFlt-1/PIGF	48	1,87	54,3	13,6	8,17	17,8
SGA	HsCRP we krwi matki	39	0,996	18,8	4,55	3,08	6,6
	HSP70 we krwi pępowinowej	39	0,416	0,624	0,544	0,487	0,567
	sFlt-1/PIGF	39	1,05	73,1	18	7,87	25,9
FGR	HsCRP we krwi matki	47	2,68	32,2	14,4	11	17,8
	HSP70 we krwi pępowinowej	47	0,502	5,33	0,631	0,56	0,704
	sFlt-1/PIGF	47	2,9	352	62	37,3	109
PE	HsCRP we krwi matki	38	4,08	59,3	14,7	8,98	22,6
	HSP70 we krwi pępowinowej	38	0,487	5,33	0,788	0,604	1,09
	sFlt-1/PIGF	38	3,55	430	81,8	53,1	154

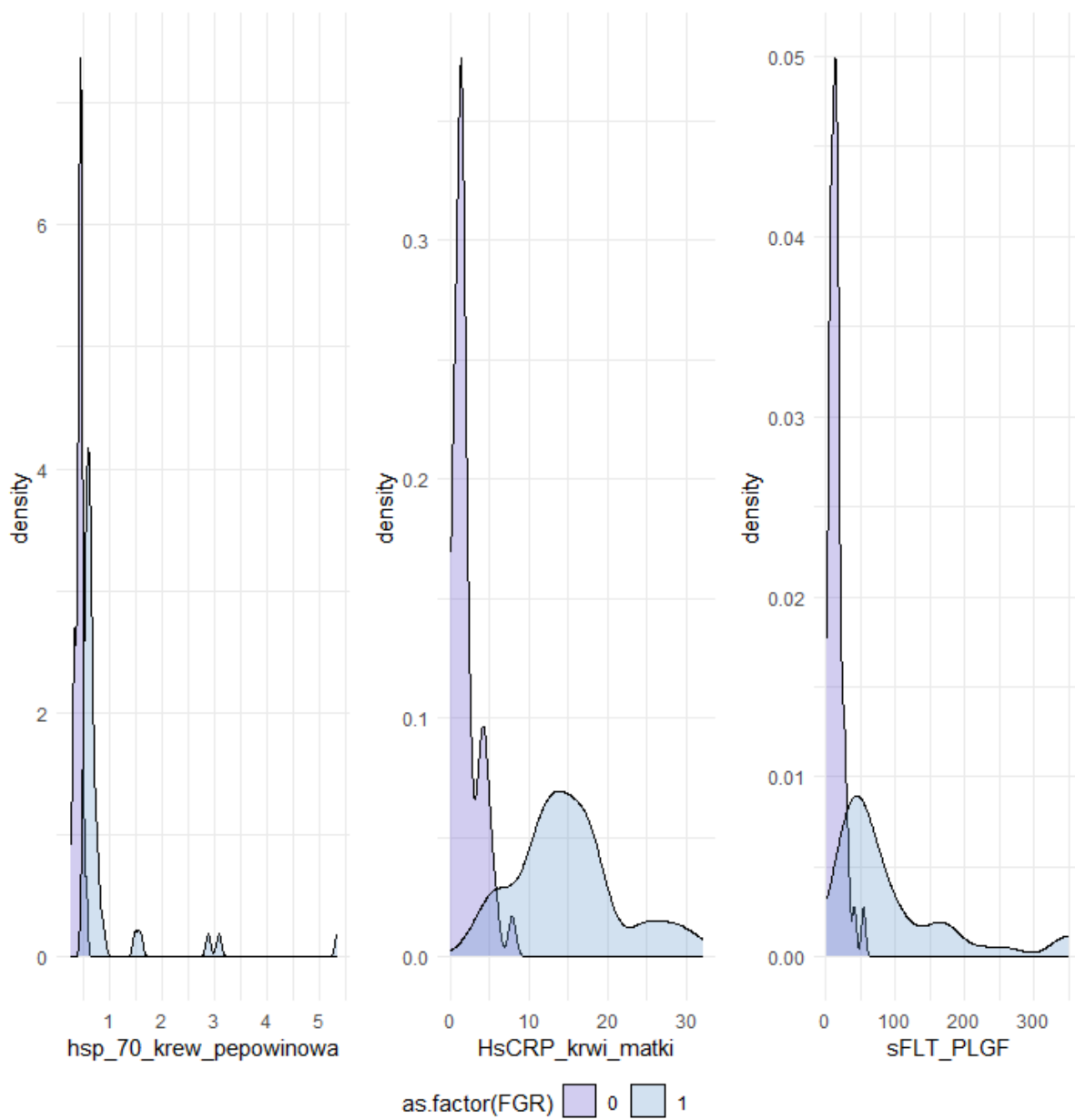
Tabela 6. Statystyka opisowa dla badanych parametrów: iqr - rozstęp międzykwartyłowy, sd - odchylenie standardowe, se - błąd standardowy, 95% CI - przedział ufności.

	variable	iqr	mad	mean	sd	se	95% CI	
kontrola	HsCRP we krwi matki	1,55	1,16	2,02	1,71	0,247	1,54	2,51
	HSP70 we krwi pępowinowej	0,08	0,044	0,42	0,066	0,01	0,4	0,44
	sFlt-1/PIGF	9,64	7,64	15	10	1,44	12,2	17,9
SGA	HsCRP we krwi matki	3,52	2,24	5,26	3,39	0,542	4,2	6,32
	HSP70 we krwi pępowinowej	0,079	0,062	0,526	0,055	0,009	0,508	0,544
	sFlt-1/PIGF	18	14,9	20,1	15	2,41	15,4	24,8
FGR	HsCRP we krwi matki	6,79	5,15	15	6,73	0,982	13	16,9
	HSP70 we krwi pępowinowej	0,144	0,106	0,864	0,841	0,123	0,623	1,11
	sFlt-1/PIGF	71,7	48,3	94	88,6	12,9	68,7	119
PE	HsCRP we krwi matki	13,6	9,15	16,7	11,2	1,82	13,2	20,3
	HSP70 we krwi pępowinowej	0,486	0,284	1,11	0,945	0,153	0,808	1,41
	sFlt-1/PIGF	100	67,4	123	106	17,1	89,4	157

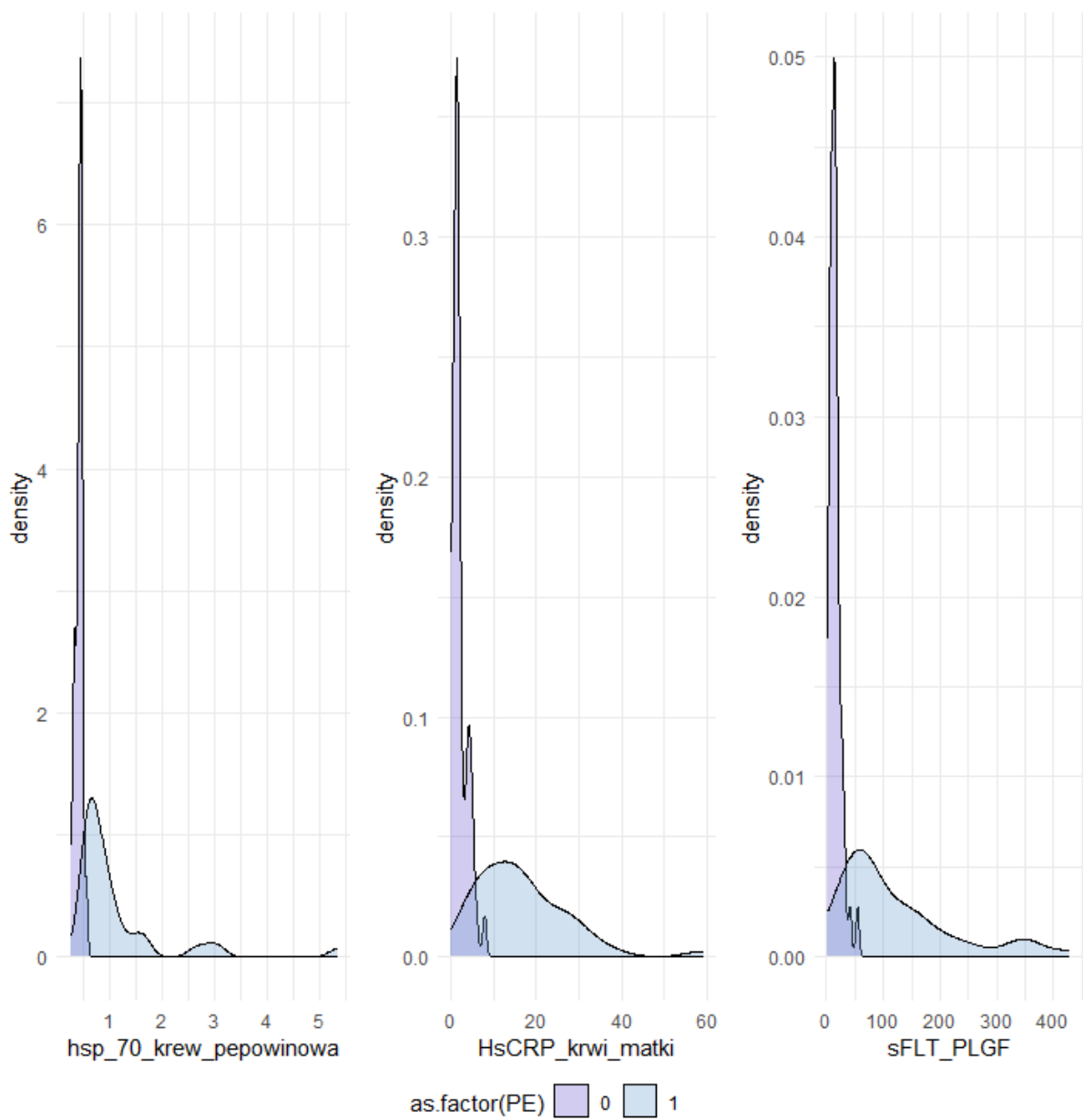
Poniżej przedstawiono rozkłady badanych parametrów z nałożeniem rozkładu grupy kontrolnej dla każdej z grup.



Wykres 1. Histogramy badanych parametrów z podziałem na grupę SGA i kontrolną



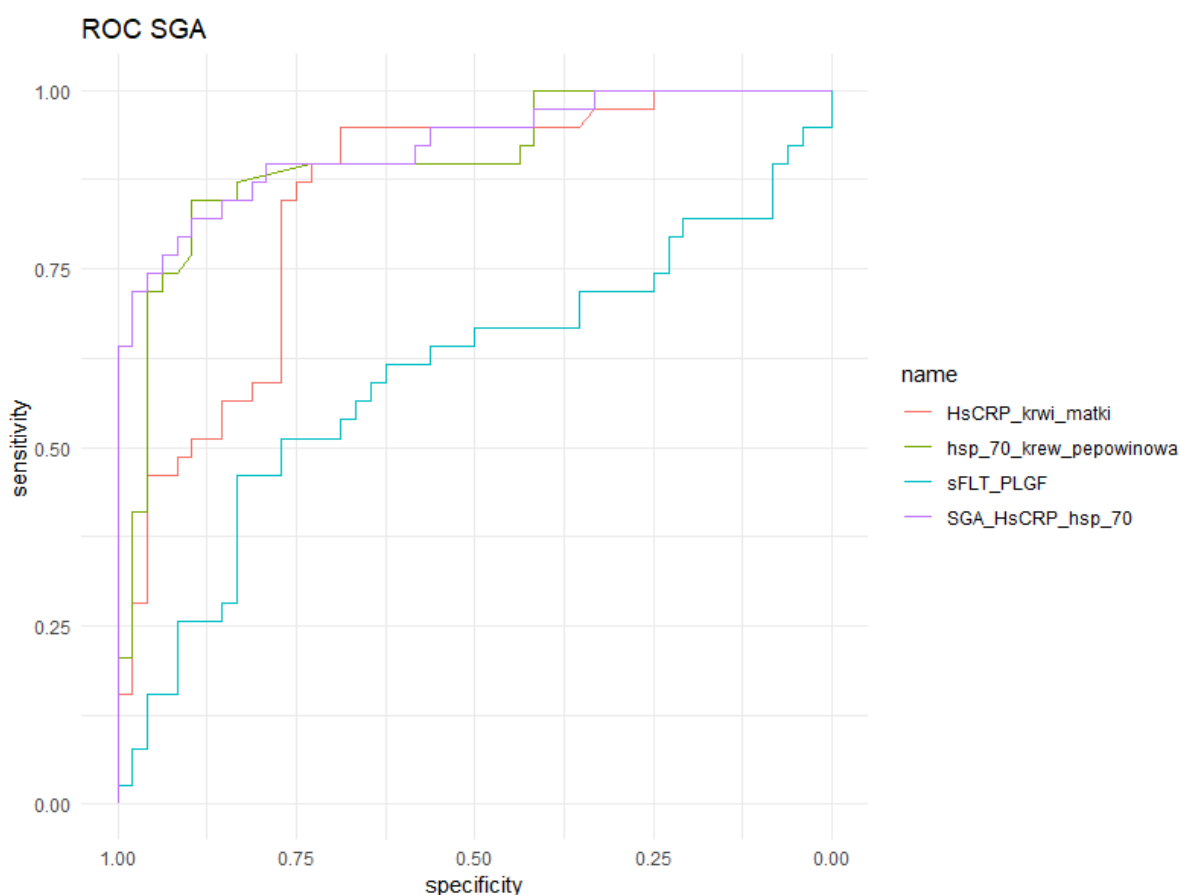
Wykres 2. Histogramy badanych parametrów z podziałem na grupę FGR i kontrolną



Wykres 3. Histogramy badanych parametrów z podziałem na grupę PE i kontrolną

6.4 Analiza ROC

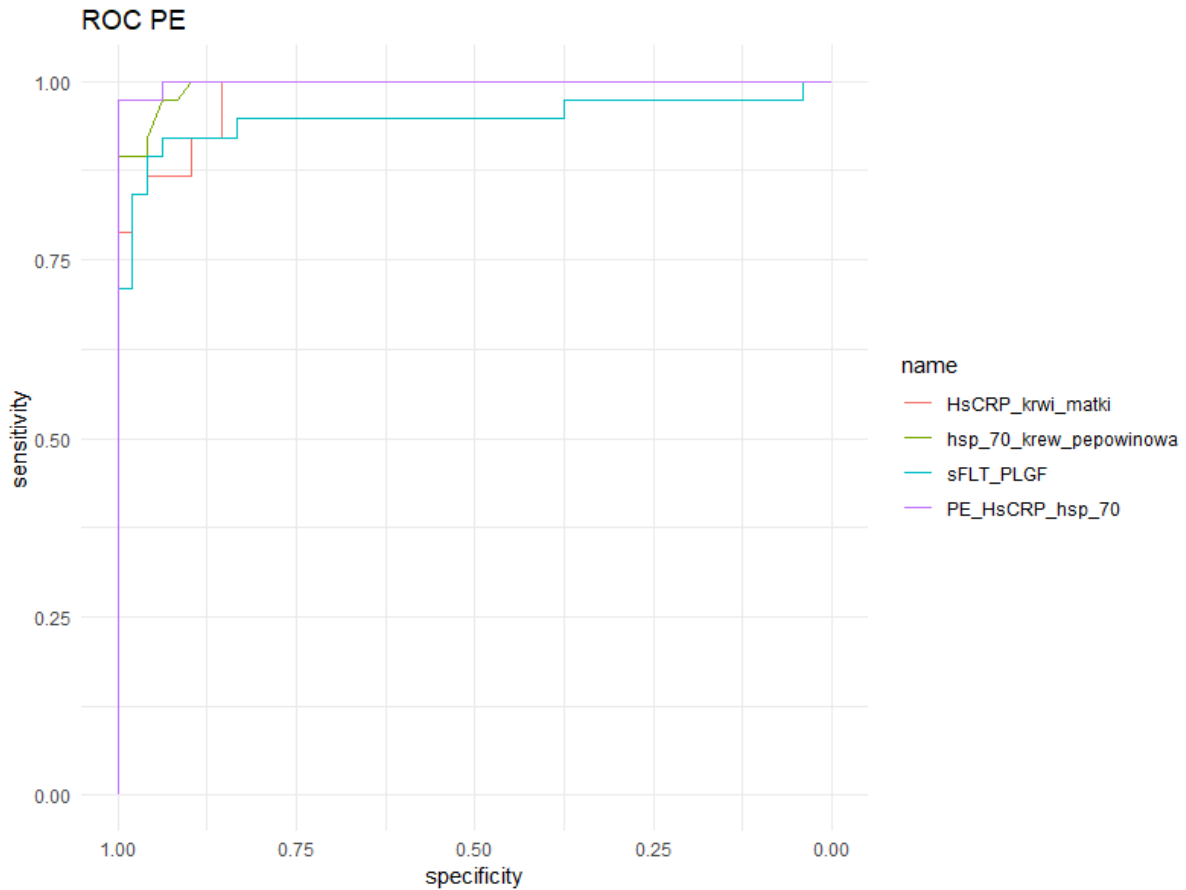
Z uwagi na istotne różnice w stężeniach badanych substancji względem grupy kontrolnej przeprowadzono analizę ROC mającą na celu wyznaczenie optymalnego punktu odcięcia w różnicowaniu między badanymi zaburzeniami a grupą kontrolną. Wyniki zaprezentowano poniżej.



Wykres 4. Krzywe ROC dla zmiennych HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej oraz sFlt-1/PIGF w grupie SGA

HsCRP z krwi matki wykazywał swoistość na poziomie 0.6875 oraz czułość na poziomie 0.9487179 w różnicowaniu z grupą kontrolną. HSP70 z krwi pępowinowej wykazywał swoistość na poziomie 0.8958333 oraz czułość na poziomie 0.8461538, natomiast sFlt-1/PIGF wykazywał swoistość na poziomie 0.8333333 i czułość na poziomie 0.4615385.

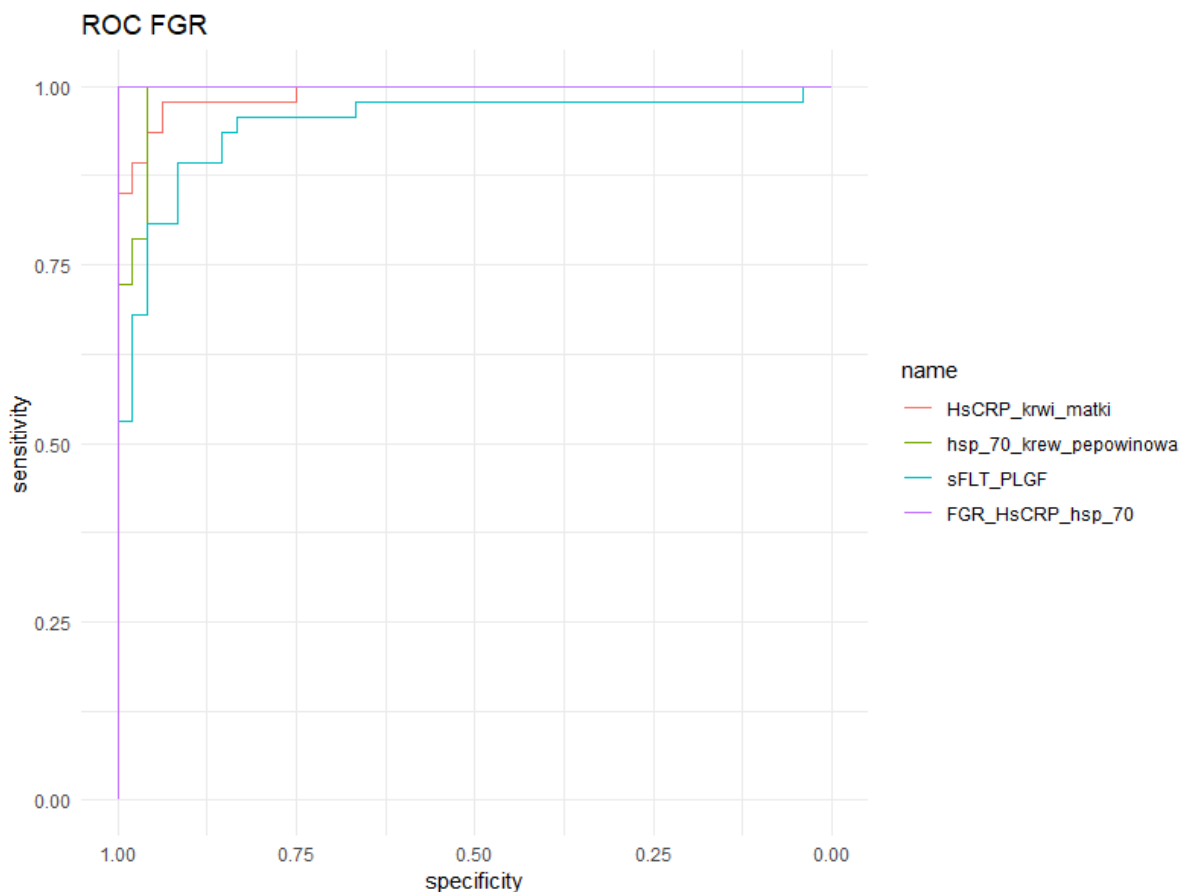
Model wieloczynnikowy, złożony z HSP70 oraz HsCRP cechował się wyższą czułością i swoistością niż pojedyncze parametry, zwracając czułość 0.8205128 oraz swoistość 0.8958333.



Wykres 5. Krzywe ROC dla zmiennych HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej oraz sFlt-1/PIGF w grupie PE

W grupie PE HsCRP z krwi matki wykazywał swoistość na poziomie 0.8541667 oraz czułość na poziomie 1, HSP70 z krwi pępowinowej wykazywał swoistość na poziomie 0.9375 oraz czułość na poziomie 0.9736842, natomiast sFlt-1/PIGF wykazywał swoistość na poziomie 0.9375 i czułość na poziomie 0.9210526.

Model wieloczynnikowy, złożony z HSP70 oraz HsCRP cechował się wyższą czułością i swoistością niż pojedyncze parametry, zwracając czułość 0.9736842 oraz swoistość 1,00.



Wykres 6. Krzywe ROC dla zmiennych HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej oraz sFlt-1/PIGF w grupie FGR

W grupie FGR HsCRP z krwi matki wykazywał swoistość na poziomie 0.9375 oraz czułość na poziomie 0.9787234, HSP70 z krwi pępowinowej wykazywał swoistość na poziomie 0.9583333 oraz czułość na poziomie 1, natomiast sFlt-1/PIGF wykazywał swoistość na poziomie 0.9166667 i czułość na poziomie 0.893617.

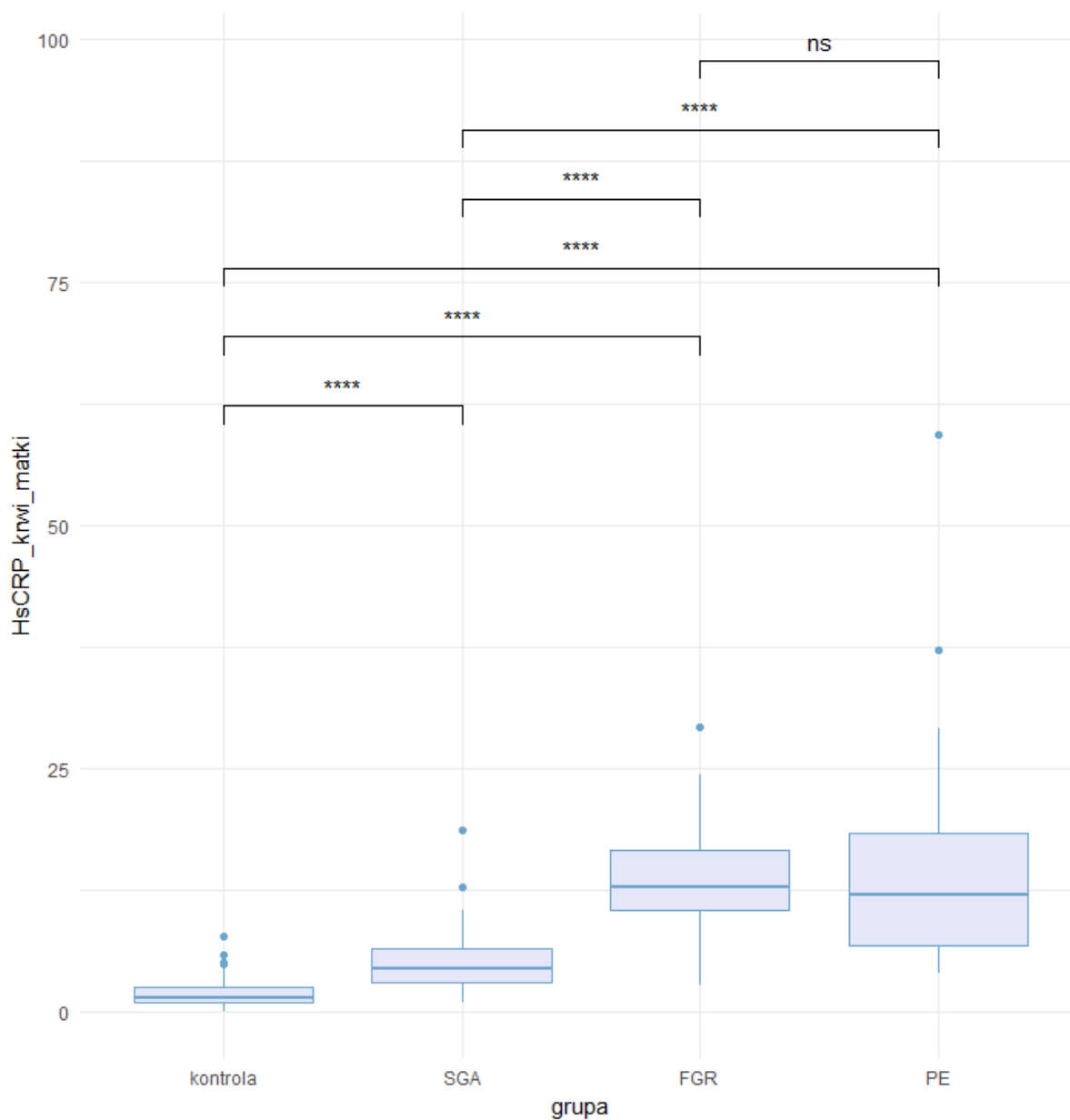
Model wieloczynnikowy, złożony z HSP70 oraz HsCRP cechował się wyższą czułością i swoistością niż pojedyncze parametry, zwracając czułość 1.00 oraz swoistość 1,00.

Tabela 7. Próg, swoistość oraz czułość zmiennych HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej oraz sFlt-1/PIGF w grupach SGA, PE oraz FGR

grupa	zmienna	próg	swoistość	czułość
SGA	HsCRP z krwi matki	1.9491	0.6875	0.9487179
	HSP70 z krwi pępowinowej	0,476347	0.8958333	0.8461538
	sFlt-1/PIGF	20.28046	0,846154	0,666667
PE	HsCRP z krwi matki	4.03275	0.8333333	0.4615385
	HSP70 z krwi pępowinowej	0.4907621	0.9375	0.9736842
	sFlt-1/PIGF	26.42025	0.9166667	0.893617

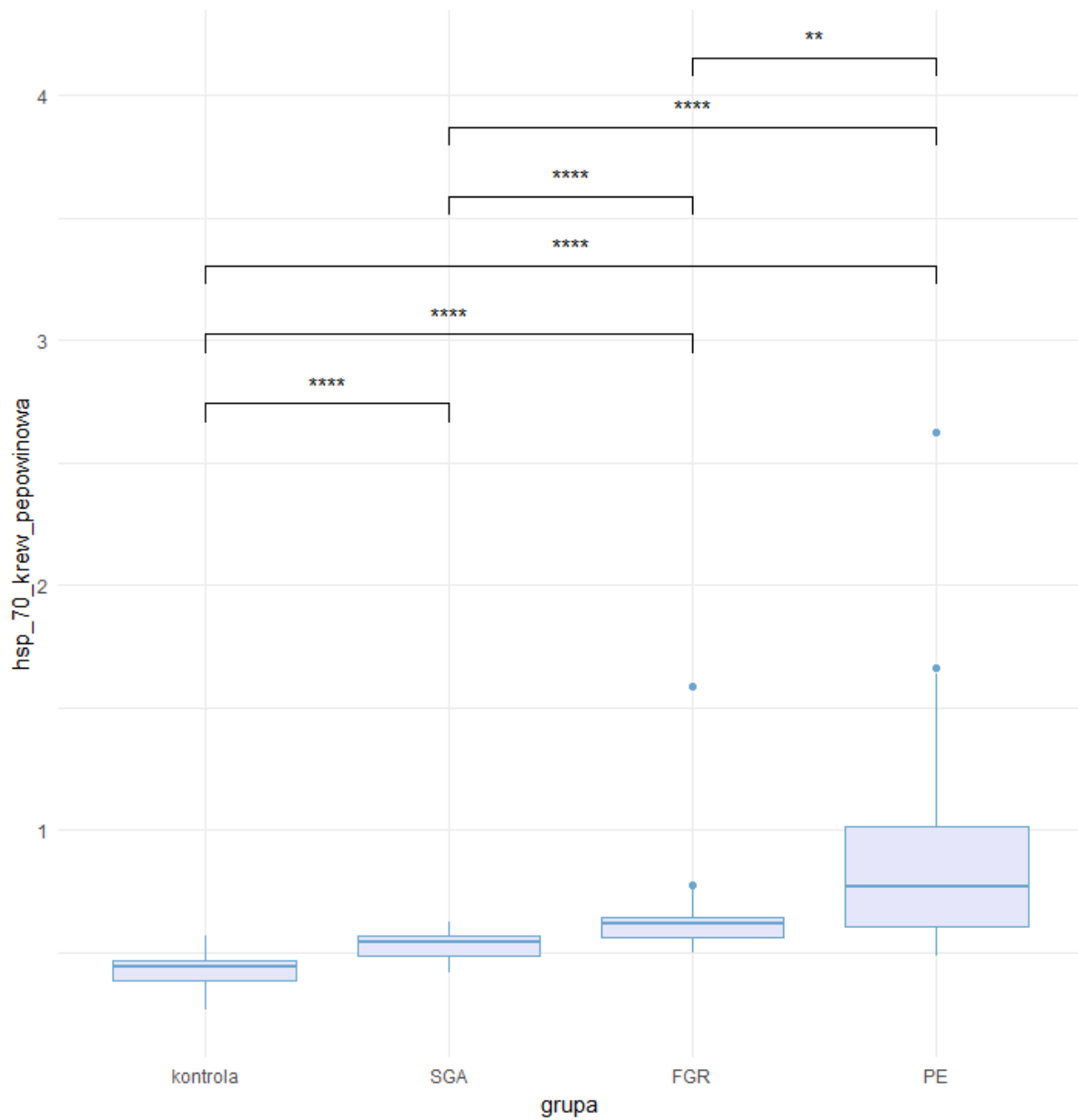
FGR	HsCRP z krwi matki	4,9911	0.9375	0.9787234
	HSP70 z krwi pępowinowej	0,497984	0.9583333	1
	sFlt-1/PIGF	26.42025	0.9166667	0.893617

W następnym etapie dokonano porównania stężeń badanych substancji między badanymi grupami, z wyłączeniem pacjentek u których jednocześnie stwierdzono PE i FGR. W analizie zaobserwowano, że wartości wszystkich trzech parametrów mają tendencję do występowania w coraz wyższych stężeniach w kolejności kontrola, SGA, FGR, PE.



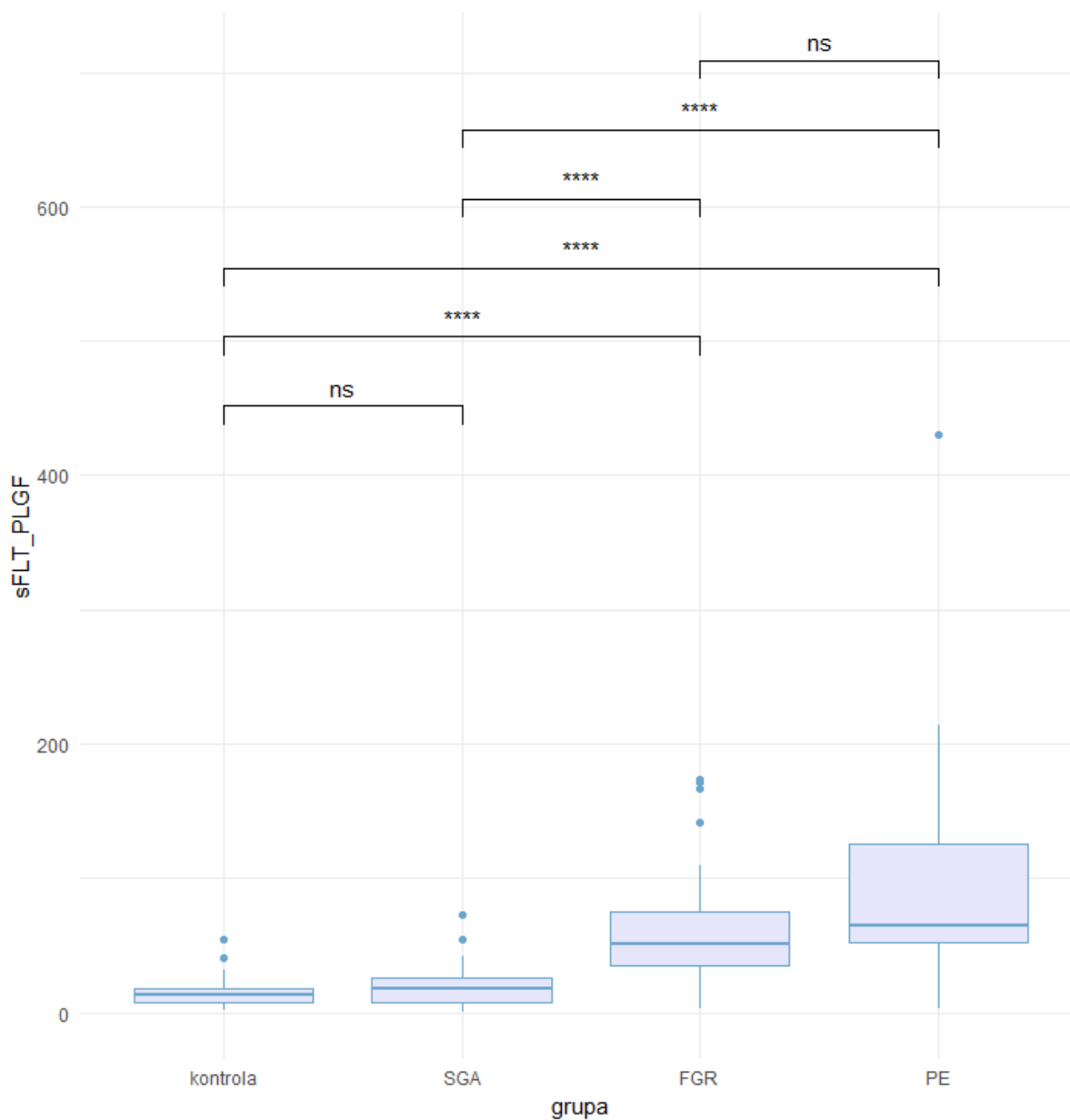
Wykres 7. Porównanie grup kontrolnej, SGA, FGR oraz PE ze względu na HsCRP w krwi matki

Stężenia HsCRP w krwi matki różniły się istotnie między niemal wszystkimi grupami. Jedynie między grupą FGR a grupą PE nie było istotnej różnicy w stężeniach HsCRP w krwi matki.



Wykres 8. Porównanie grup kontrolnej, SGA, FGR oraz PE ze względu na HSP70 w krwi pępowinowej

Stężenia HSP70 w krwi pępowinowej różniły się istotnie między wszystkimi grupami.



Wykres 9. Porównanie grup kontrolnej, SGA, FGR oraz PE ze względu na sFlt-1/PIGF

Stężenia sFlt-1/PIGF były istotnie różne w niemal wszystkich grupach. Jedynie między grupą FGR a grupą PE oraz między grupą kontrolną a SGA nie było istotnej różnicy w stężeniach sFlt-1/PIGF.

6.5 Ocena korelacji pomiędzy badanymi parametrami analizowanych pacjentek

Tabela 8. Korelacja pomiędzy ocenianymi parametrami HSP70, HsCRP oraz sFlt-1/PIGF w poszczególnych grupach pacjentek oraz w obrębie całej badanej grupy

	var1	var2	R	p
kontrola	HsCRP_krwi_matki	hsp_70_krew_pepowinowa	0,21	0,14
	HsCRP_krwi_matki	sFlt-1/PIGF	-0,073	0,62
	hsp_70_krew_pepowinowa	HsCRP_krwi_matki	0,21	0,14
SGA	HsCRP_krwi_matki	hsp_70_krew_pepowinowa	-0,025	0,88
	HsCRP_krwi_matki	sFlt-1/PIGF	0,19	0,24
	hsp_70_krew_pepowinowa	HsCRP_krwi_matki	-0,025	0,88
FGR	HsCRP_krwi_matki	hsp_70_krew_pepowinowa	0,095	0,58
	HsCRP_krwi_matki	sFlt-1/PIGF	0,47	<0,001
	hsp_70_krew_pepowinowa	HsCRP_krwi_matki	0,095	0,58
PE	HsCRP_krwi_matki	hsp_70_krew_pepowinowa	0,38	0,04
	HsCRP_krwi_matki	sFlt-1/PIGF	0,83	<0,001
	hsp_70_krew_pepowinowa	HsCRP_krwi_matki	0,38	0,04
Total	HsCRP_krwi_matki	hsp_70_krew_pepowinowa	0,47	<0,001
	HsCRP_krwi_matki	sFlt-1/PIGF	0,75	<0,001
	hsp_70_krew_pepowinowa	HsCRP_krwi_matki	0,53	<0,001

Zaobserwowano istotne korelacje między stężeniami HsCRP oraz sFlt-1/PIGF w grupie FGR oraz PE. Ponadto w grupie kontrolnej zaobserwowano istotną korelację między HSP70 a sFlt-1/PIGF. Zależność tą obserwowano także w grupie PE, gdzie istotną korelację obserwowano także między HsCRP a HSP70. Analizując zależności pomiędzy parametrami w obrębie całej badanej grupy stwierdzono istotną korelację wartości HsCRP z HSP70, HsCRP z sFlt-1/PIGF oraz HSP70 z HsCRP.

6.6 Ocena korelacji pomiędzy badanymi parametrami a długością trwania ciąży analizowanych pacjentek

Tabela 9. Korelacja pomiędzy ocenianymi parametrami HSP70, HsCRP, sFLT-1/PIGF oraz czasem trwania ciąży w poszczególnych grupach pacjentek oraz w obrębie całej badanej grupy

	var1	var2	R	p
kontrola	HsCRP_krwi_matki	dni_ciazy	-0,11	0,474
	hsp_70_krew_pepowinowa		0,025	0,864
	sFlt-1/PIGF		0,16	0,279
SGA	HsCRP_krwi_matki	dni_ciazy	-0,13	0,42
	hsp_70_krew_pepowinowa		-0,075	0,648
	sFlt-1/PIGF		-0,13	0,44
FGR	HsCRP_krwi_matki	dni_ciazy	0,29	0,0872
	hsp_70_krew_pepowinowa		0,3	0,0676
	sFlt-1/PIGF		0,093	0,582
PE	HsCRP_krwi_matki	dni_ciazy	-0,45	0,0152
	hsp_70_krew_pepowinowa		-0,15	0,445
	sFlt-1/PIGF		-0,57	0,00163
Total	HsCRP_krwi_matki	dni_ciazy	-0,34	<0,001
	hsp_70_krew_pepowinowa		-0,26	<0,001
	sFlt-1/PIGF		-0,38	<0,001

Zaobserwowano istotne korelacje między czasem trwania ciąży a stężeniami HsCRP i wskaźnika sFlt-1/PIGF w PE. Ponadto w obrębie całej badanej grupy analiza korelacji wykazała zależności istotne statystycznie pomiędzy trzema badanymi parametrami (HSP70, HsCRP, sFlt-1/PIGF) a czasem trwania ciąży.

6.7 Ocena korelacji pomiędzy badanymi parametrami a masą urodzeniową noworodków analizowanych pacjentek

Tabela 10. Korelacja pomiędzy ocenianymi parametrami HSP70, HsCRP, sFLT-1/PIGF oraz masą urodzeniową noworodka w poszczególnych grupach pacjentek oraz w obrębie całej badanej grupy

	var1	var2	R	p
kontrola	HsCRP_krwi_matki	masa_urozeniowa_noworodka	0,078	0,597
	hsp_70_krew_pepowinowa		-0,25	0,0911
	sFlt-1/PIGF		-0,11	0,475

SGA	HsCRP_krwi_matki	masa_urodzeniowa_noworodka	-0,12	0,452
	hsp_70_krew_pepowinowa		0,16	0,335
	sFlt-1/PIGF		-0,069	0,676
FGR	HsCRP_krwi_matki	masa_urodzeniowa_noworodka	0,25	0,131
	hsp_70_krew_pepowinowa		0,37	0,0252
	sFlt-1/PIGF		0,018	0,916
PE	HsCRP_krwi_matki	masa_urodzeniowa_noworodka	-0,44	0,0188
	hsp_70_krew_pepowinowa		-0,1	0,614
	sFlt-1/PIGF		-0,57	0,00157
Total	HsCRP_krwi_matki	masa_urodzeniowa_noworodka	-0,34	<0,001
	hsp_70_krew_pepowinowa		-0,052	0,586
	sFlt-1/PIGF		-0,27	<0,001

Zaobserwowano istotne korelacje między urodzeniową masą noworodka a stężeniami HsCRP i wskaźnika sFlt-1/PIGF w PE. Ponadto w obrębie całej badanej grupy analiza korelacji wykazała zależności istotne statystycznie pomiędzy HsCRP i sFlt-1/PIGF a urodzeniową masą noworodka.

6.8 Porównanie parametrów pacjentek w grupach SGA I FGR oraz ocena skuteczności biomarkerów w diagnostyce różnicowej

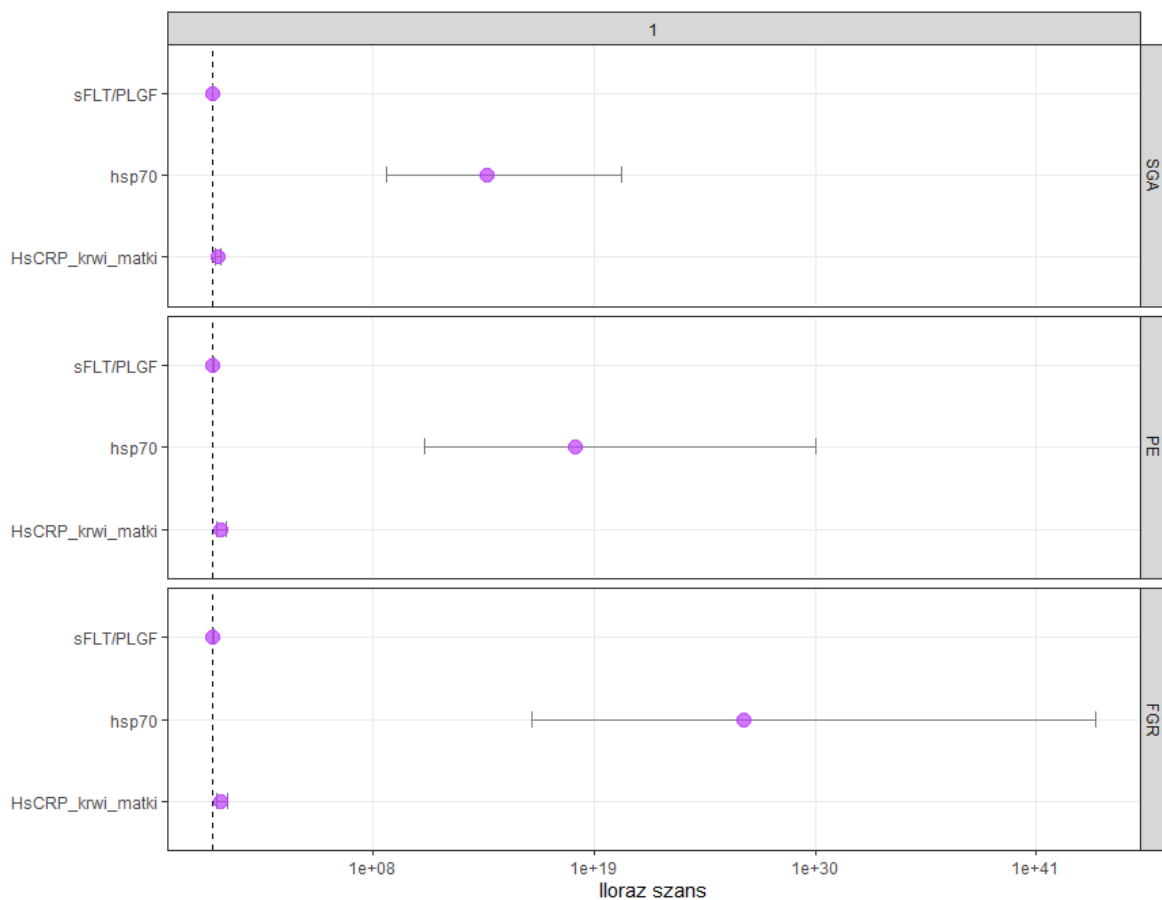
Tabela 11. Porównanie parametrów pacjentek w grupach SGA i FGR

	SGA			FGR			p
	median	q1	q3	median	q1	q3	
WIEK	30	27	33,5	30	24	35	0,694
dni_ciazy	271	266,5	275	261	257	271	0,000
sFlt-1	2776	2157	4031,5	5879	4353	7543	0,000
PIGF	180	114	305,5	95	71	145	0,000
sFlt-1/PIGF	18,034	7,874	25,855	51,028	34,966	75,145	0,000
masa_ciala_matki	76	66	84,5	67	60	74	0,013
masa_urodzeniowa_noworodka	2750	2610	2860	2330	2000	2560	0,000
wzrost_matki	167	162,5	169,5	165	160	168	0,746
BMI	27,92	24,325	30,865	25,39	22,04	27,34	0,018
HsCRP_krwi_matki	4,549	3,084	6,599	12,888	10,521	16,62	0,000
hsp_70_krew_pepowinowa	0,544	0,487	0,567	0,621	0,56	0,642	0,000
WBC	10,66	9,68	12,14	9,9	8,95	11,26	0,342
RBC	4,08	3,88	4,375	4,06	3,92	4,34	0,892
HCT	35,8	33,9	37,75	35,9	34,5	38	0,631
HB	7,7	7,15	8	7,7	7,3	8,2	0,575

PLT	230	195	267,5	216	182	267	0,748
ASPAT	18	15	21,5	18	14	20	0,370
ALAT	12	9,5	15,5	13	10	17	0,566
Kwas_moczowy	4,5	4	5,1	4,9	3,9	5,2	0,666
Fibrynogen	4,4	4,1	4,95	4,5	3,8	5,1	0,963
APTT	27,9	26,35	28,9	27	26,4	28,9	0,636
INR	0,99	0,955	1,045	0,97	0,95	1,03	0,474
UAPI	0,87	0,795	1,11	1,12	0,96	1,27	0,004
MCAPI	1,54	1,405	1,745	1,4	1,22	1,67	0,126
UTAP	0,91	0,665	1,03	1,24	0,99	1,31	0,000
UTAL	0,85	0,65	1,04	1,1	0,93	1,25	0,001

Dni ciąży, PlGF, masa urodzeniowa noworodka, masa ciała matki oraz BMI były istotnie niższe w grupie FGR w porównaniu z grupą płodów SGA.

sFlt-1, sFlt-1/PlGF, HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej, UAPI, UTAP i UTAL były istotnie wyższe w grupie FGR w porównaniu z grupą płodów SGA.



Wykres 10. Porównanie wpływu badanych czynników na ryzyko wystąpienia SGa, FGR i PE.

W wykonanej analizie istotne statystycznie okazały się wyniki dotyczące białka HSP70 oraz białka HsCRP. Najwyższy iloraz szans rozpoznania patologii ciąży uzyskano dla białka szoku cieplnego w grupie FGR.

6.9 Omówienie uzyskanych wyników

W analizie statystycznej wykazano, że wartości stężeń badanych czynników wykazują korelację z obecnością patologii łożyska, która objawia się pod postacią zahamowania wzrastania płodu bądź stanu przedrzucawkowego. Mediana dla stężeń HsCRP w grupie kontrolnej wynosiła 1.44 mg/l i odpowiednio w grupie SGa, FGR i PE przyjmowała poziomy: 4.55 mg/l, 14.4 mg/l, 14.7 mg/l. Podobną zależność uzyskano dla wartości środkowych HSP70. W przypadku tego ocenianego białka mediana dla grupy kontrolnej, SGa, FGR i PE odpowiednio wynosiła: 0.44 ng/ml, 0.54 ng/ml, 0.63 ng/ml i 0.78ng/ml. Wykazana zależność przedstawiająca wzrastające wartości stężeń ocenianych białek w poszczególnych grupach oraz uzyskanie najwyższych wartości obydwu parametrów w grupie

PE, sugeruje występowanie najbardziej nasilonych zmian patologicznych łożyska w przypadku rozpoznania stanu przedzruciawkowego. Dodatkowo wykazano, że poziomy białka HSP70 różni się w sposób istotny statystycznie we wszystkich analizowanych grupach. W przypadku wysokoczułego białka CRP takiej istotności nie stwierdzono jedynie w analizie pacjentek z grupy PE i FGR.

Ponieważ uzyskane wartości analizowanych, potencjalnych markerów okazały się istotne statystycznie względem grupy kontrolnej, przeprowadzono ocenę zdolności tych substancji w diagnozowaniu stanów patologicznych w przebiegu ciąży. Do tego celu zastosowano krzywe ROC. Wyznaczono wartości progowe badanych zmiennych, oraz wyliczono dla nich poziomy czułości i swoistości testowanych białek oraz indeksu sFlt-1/PlGF. Wyniki przedstawiono w tabeli numer 7. Dla przyjętych wartości granicznych HsCRP w grupie pacjentek z SGA, FGR i PE uzyskano swoistość i czułość odpowiednio na poziomach: 68.75% i 94.87%, 93.75% i 97.87% oraz 85.41% i 100%.

W przypadku drugiej analizowanej nowej metody diagnostycznej, czyli testu ELISA HSP70 ryzyko dla wystąpienia FGR, przy wartości progowej równej 0,497984 oszacowano odpowiednio poprzez wyliczenie czułości i swoistości na poziomie 100% i 95.83%. Podobnie postąpiono celem oceny zdolności testu HSP70 dla pojawienia się stanu przedzruciawkowego. W tej grupie pacjentek analogicznie uzyskano czułość i swoistość testu na poziomie 97.36% i 93.75%. Istotne dla przeprowadzanego badania okazało się zastosowanie modeli wieloczynnikowych krzywych ROC badanych substancji. Dzięki ich opracowaniu uzyskano jeszcze wyższą czułość i swoistość testów, w porównaniu z oceną pojedynczych parametrów, co zwiększa skuteczność metod w diagnostyce różnicowej.

Kolejnym etapem przeprowadzanego badania była analiza użyteczności indeksu sFlt-1/PlGF do potwierdzenia niewydolności łożyska, w późnych typach powikłań, oraz odniesienie wartości współczynnika do uzyskanych wyników stężeń dwóch analizowanych białek. W dalszej analizie średnie wartości wskaźnika sFlt-1/PlGF przedstawiono w poszczególnych badanych grupach. Również w przypadku tego parametru najwyższe wartości odnotowano u pacjentek, których ciąża powikłana była PE. Mediana wskaźnika w tym przypadku wynosiła 81,8. Wartości średnie dla tej zmiennej w grupie pacjentek z FGR i SGA wyniosły odpowiednio 62 i 18, natomiast w grupie kontrolnej mediana wskaźnika była równa 13,6. Bilans czynników antyangiogennych i angiogennych oceniany na podstawie indeksu sFlt-1/PlGF, był istotnie różny w niemal wszystkich grupach. Zaobserwowano jednak, iż pomiędzy pacjentkami z FGR, a kobietami ciężarnymi z rozpoznaniem PE, oraz między grupą kontrolną, a matkami płodów z SGA, nie uzyskano istotnie statystycznej różnicy w

stężeniach sFlt-1 i PlGF. Podobnie jak w przypadku HsCRP oraz HSP70, tak i wartości wskaźnika wykazują tendencję wzrostową w charakterystycznej kolejności: grupa kontrolna, SGA, FGR, PE. Dowodzi to na współdziałanie zaburzeń angiogenezy, które w połączeniu z obecnością stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego odgrywają rolę w patogenezie FGR i PE. Na podstawie uzyskanych wyników przedstawiono istotne dodatnie korelacje pomiędzy stężeniami HsCRP, oraz indeksem sFlt-1/PlGF w grupie pacjentek z FGR, oraz pacjentek z PE. Współczynnik korelacji obydwu zmiennych u kobiet z zahamowaniem wzrastania płodu wynosił $r = 0,47$, co świadczy o umiarkowanej sile zależności, oraz $r = 0,83$ w grupie pacjentek z ciążą powikłaną stanem przedrzucawkowym, co z kolei wskazuje na silny związek dla badanych parametrów. Ponadto dodatnie korelacje stwierdzono także w grupie pacjentek ze stanem przedrzucawkowym pomiędzy HSP70 a indeksem sFlt-1/PlGF, oraz pomiędzy HsCRP a stężeniami HSP70. Odpowiednio współczynniki Spearmana w tej grupie kobiet dla analizowanych parametrów wynosiły odpowiednio $r = 0,4$ i $r = 0,38$, przy uzyskanej wartości istotności statystycznej w obydwu przypadkach $p = 0,04$. Dodatkowo otrzymano także istotnie statystycznie zależności pomiędzy badanymi substancjami w obrębie całej badanej grupy pacjentek, wskazując na istotne korelacje pomiędzy wartościami HsCRP z HSP70, HsCRP z sFlt-1/PlGF oraz HSP70 z HsCRP. Wyniki przedstawiono w tabeli numer 8. Następnie podjęto próbę wykazania związku pomiędzy wartościami dwóch białek i wskaźnika, a długością trwania ciąży. Dzięki zastosowaniu tej metody odkryto istotną ujemną korelację w całej populacji udowadniając jednocześnie, że wzrost wartości białek i wskaźnika ma wpływ na skrócenie trwania ciąży. Analogicznie postąpiono z masą urodzeniową noworodka chcąc potwierdzić, że również na tej płaszczyźnie zachodzą zależności w odniesieniu do HSP70, HsCRP oraz sFlt-1/PlGF. Zaprezentowane w tabeli numer 10 rezultaty wyrażają istotne statystycznie powiązania w obrębie całej grupy, masy noworodka z wartością białka HsCRP oraz współczynnika sFlt-1/PlGF przy $p < 0,001$. Istotną korelację uzyskano również analizując grupę FGR. W tej populacji stwierdzono związek pomiędzy masą płodu a wartością białka HSP70 przy $p = 0,00252$ i $r = 0,37$. Wyniki te w jasny sposób przedstawiają możliwości diagnostyczne badanych substancji i pozwalają dostrzec jednocześnie potencjał nowego biomarkera jakim jest HSP70, w diagnostyce różnicowej dwóch odmiennych, często błędnie interpretowanych stanów ciąży jakim są FGR i SGA. Dokonując oceny parametrów w tych dwóch grupach wykazano wiele istotnych statystycznie różnic. Poza już zidentyfikowanymi czynnikami ryzyka jak mniejsza masa ciała matki i mniejsze BMI matki, które należą aktualnie do tak zwanych małych czynników ryzyka wystąpienia FGR, potwierdzono skuteczność wskaźnika sFlt-1/PlGF oraz odkryto

istotne różnice w stężeniach białka szoku cieplnego. Chcąc podkreślić jego znaczenie w pracy oszacowano ryzyko na podstawie oceny ilorazu szans wystąpienia zaburzeń wzrastania płodu. OR = 3,03 wskazuje, że stosując marker HSP70 w próbach identyfikacji płodów FGR zwiększamy szanse na prawidłową diagnozę przeszło trzykrotnie. Odkrycie to wydaje się jedną z głównych zalet niniejszego opracowania, także z uwagi na niewielką ilość w piśmiennictwie analiz dotyczących patologii ciąży związanych z niewydolnością łożyska i udziału tych białek w ich etiopatogenezie.

7. Dyskusja

Biorąc pod uwagę opracowania badaczy na całym świecie, oraz analizę statystyczną dotyczącą częstości występowania, takich powikłań ciąży jak FGR i PE można wnioskować, iż mimo dużej wiedzy na temat etiopatogenezy tych schorzeń, nadal poszukiwane są nowe metody diagnostyczne, a także skuteczna profilaktyka i leczenie umożliwiające zmniejszenie częstości występowania powikłań związanych z niewydolnością łożyska. Ograniczenie wzrastania płodu to sytuacja, która towarzyszy około 5-10% ciąż i pod względem śmiertelności okołoporodowej zajmuje drugie miejsce. Zwraca uwagę fakt, iż praktycznie połowa ciąż powikłanych FGR typu późnego nie zostaje zdiagnozowana. Wynika to z faktu, że ultrasonograficzna ocena wzrastania płodów ma niezaprzeczalne ograniczenia. Obecnie strategia monitorowania wzrostu płodów opiera się na zaleceniach dotyczących opieki perinatalnej i aktualnego w dzienniku ustaw Rzeczypospolitej Polskiej rozporządzenia ministra zdrowia dotyczącego zakresu świadczeń medycznych w trakcie trwania ciąży. Zgodnie z tą ustawą badanie ultrasonograficzne powinno być przeprowadzone w trakcie ciąży czterokrotnie. Pomiędzy ostatnim badaniem ultrasonograficznym wykonywanym niezwłocznie po 40 tygodniu ciąży, a trzecim badaniem przeprowadzanym pomiędzy 27 a 32 tygodniem ciąży istnieje różnica 8, a nawet 13 tygodni, w trakcie których nie mamy możliwości, bez wykonania badania USG potwierdzenia, bądź wykluczenia zahamowania wzrastania płodu (124). Dodatkowo po potwierdzeniu ultrasonograficznym szacowanej niskiej masy płodu pojawia się problem wyselekcjonowania i identyfikacji z tej heterogennej grupy, płodów z zaburzeniami wzrastania. Rozróżnienie pomiędzy patologią jaką jest FGR i płodami konstytucjonalnie małymi, ma ogromne znaczenie kliniczne pod względem korelacji z wynikami okołoporodowymi. Zazwyczaj wykrywanie płodów SGA jest pierwszym krokiem w diagnostyce zaburzeń wzrastania. W populacji pacjentek z niskim ryzykiem wystąpienia nieprawidłowości, odnalezienie chorych płodów jest niezwykle trudne, ze względu na niski wskaźnik podejrzeń i zazwyczaj nie interwencyjną formę dalszej opieki oferowanej większości kobiet z tej grupy (125,126). Również stan przedrzucawkowy należący do patologii ciąży związanych z niewydolnością łożyska przysparza dużych problemów diagnostycznych, zwłaszcza jeśli mowa o późnym typie zaburzeń. Biorąc pod uwagę, że PE to schorzenie o wieloczynnikowej etiologii, jest mało prawdopodobne, aby można było zastosować jedną skuteczną strategię do przewidywania wszystkich podtypów PE.

W przypadku wczesnej postaci stanu przedrzucawkowego, przeprowadzane badania przesiewowe w kierunku oceny ryzyka wystąpienia tego schorzenia, w I trymestrze ciąży są bardzo satysfakcjonujące. Podobnie stosowanie kwasu acetylosalicylowego w grupie pacjentek z wysokim ryzykiem rozwinięcia stanu przedrzucawkowego przynosi korzyści w typie PE dotyczącym wieku ciążowego poniżej 34 tygodnia ciąży (56–59,127,128). Jeśli chodzi o wskaźnik wykrywalności i przewidywania PE o typie późnym jest on niestety mniej zadowalający. Dalsze trwające badania powinny w sposób priorytetowy zajmować się poszukiwaniem lepszych modeli diagnostycznych, oraz nowych biomarkerów charakterystycznych dla późnego PE, zwłaszcza, że odsetek późnego typu zaburzenia, jest znacznie wyższy niż typu wczesnego. Częstość występowania PE o wczesnym i późnym początku wynosi odpowiednio 30% i 70% w krajach rozwijających się, oraz 10% i 90% w krajach rozwiniętych. Tradycyjne podejście do przewidywania stanu przedrzucawkowego za pomocą pojedynczego biomarkera lub testu, którego celem jest zidentyfikowanie pojedynczego czynnika maczynego i łożyskowego, zostaje coraz częściej zastąpione podejściem obejmującym różnorodne strategie. Taka koncepcja przewidywania PE zdecydowanie lepiej odpowiada złożonej patofizjologii zaburzenia i pozwala na zrozumienie, że zarówno nieprawidłowe funkcjonowanie łożyska, jak i predyspozycje zdrowotne matki są kluczowymi czynnikami w określaniu ciężkości i czasu wystąpienia choroby (127,128).

W prezentowanej pracy podjęto się oceny stężeń białek HSP70 i HsCRP oraz wartości wskaźnika sFlt-1/PlGF jako markerów diagnostycznych i prognostycznych wystąpienia patologii ciąży, związanych z niewydolnością funkcji łożyska. Decyzja o wyborze powyższych substancji związana była z potencjalnym udziałem stanu zapalnego, stresu oksydacyjnego oraz dysproporcji czynników angiogennych i antyangiogennych w rozwoju badanych nieprawidłowości w trakcie ciąży.

Niejednokrotnie udowodniono, że prawidłowo funkcjonujący organizm kobiety umożliwia za pomocą regulacji stanu zapalnego, na fizjologiczną implantację a następnie rozwój ciąży. Optymalna adaptacja układu odpornościowego matki jest niezbędna dla prawidłowego funkcjonowania łożyska. Pomimo coraz większej zgodności, co do udziału stanu zapalnego w patologiach ciąży związanych z jego niewydolnością, wykrycie mediatorów stanu zapalnego w krążeniu maczynym jest nadal kontrowersyjne. O ile we wczesnym etapie ciąży obecność stanu zapalnego jest niezbędnym elementem fizjologii ciąży, o tyle w późniejszym etapie, może przyczyniać się do rozwoju patologii z uwagi na brak maczyny tolerancji na antygeny płodu. Wielu badaczy wykazywało w przypadku stwierdzenia stanu przedrzucawkowego dodatnią korelację, pomiędzy jego rozwojem, a podwyższonymi

wartościami markerów zapalnych. Jeżeli chodzi o udowodnienie podobnej zależności w grupie pacjentek z płodami FGR posiadamy bardzo ograniczoną ilość publikacji. W 2003 roku Tjoa i inni przeprowadzili badanie w I trymestrze ciąży, oceniając ryzyko wystąpienia PE i FGR, w zależności od poziomów matczynego stężenia CRP. Wyniki tego badania rzeczywiście, potwierdziły stawianą przez badaczy hipotezę, że średnie wartości CRP na początku rozwoju płodu, są znacznie podwyższone u kobiet ze zdiagnozowanym w późniejszym etapie ciąży stanem przedzucawkowym, oraz w grupach pacjentek z zahamowaniem wzrastania płodu (115). Ocenę wystąpienia powikłań ciążowych przeprowadzał również Vecchie, który zaproponował analizę wartości CRP w surowicy matek w drugim trymestrze ciąży. Na podstawie analizy krzywej ROC stwierdzono, że stężenie białka CRP, zapewniało istotną dokładność prognostyczną w odniesieniu do wystąpienia działań niepożądanych, zarówno u matki jak i płodu (129). Aby w bardziej szczegółowy sposób określić wartości parametrów zapalnych, w przedstawionej pracy zastosowano wysokoczułe białko CRP. Można w łatwy sposób zilustrować różnicę pomiędzy CRP a HsCRP wspominając o zakresach wykrywalności tego białka. CRP oznaczane metoda tradycyjną wykrywa wartości od 5 mg/l do 1000 mg/l, podczas gdy wartości HsCRP mieszczą się w zakresie od 0,5 do 10 mg/l. Mówiąc inaczej, HsCRP mierzy i potwierdza obecność nawet śladowych ilości CRP we krwi. Jest to metoda z wyboru ze względu na wyższą precyzję, dokładność oraz powtarzalność wyników.

Próbie oceny profilu zapalnego w różnych powikłaniach ciąży podjęła grupa badawcza Brien i inni, którzy analizowali kilka mediatorów stanu zapalnego w różnych powikłaniach ciąży. Rozpatrywali oni między innymi wartości HsCRP w ciążach przebiegających z FGR, ze stanem przedzucawkowym, oraz w porodach przedwczesnych. Wyniki zostały także odniesione do grupy kontrolnej złożonej z pacjentek w ciążach niepowikłanych. Praca wykazała istotne zmiany zapalne w ciążach niepowikłanych przed porodem potwierdzając, że normalny poród jest także związany z podwyższonym statusem prozapalnym, chociaż nie w takim wysokim stopniu, jak w ciążach patologicznych. Profile stanu zapalnego okazały się specyficzne dla każdego powikłania ciąży, co może pomóc w zrozumieniu udziału stanu zapalnego w ich obrazie klinicznym. Wartości HsCRP były istotnie wyższe u pacjentek z PE oraz FGR w porównaniu do grupy kontrolnej (130). Dodatnią korelację pomiędzy markerami zapalnymi (IL-6 i HsCRP) wykazał zespół Kwiatkowski i inni. Także w ich opracowaniu można zauważyć tendencję do podwyższonych wartości czynników zapalnych w grupach badanych patologii związanych z niedokrwieniem łożyska, w odniesieniu do grupy kontrolnej (131). Opracowanie Kara z 2019 roku również podało, iż średnie stężenia mediatorów HsCRP, SA i

IL-6 w surowicy krwi matek były wyższe w grupie pacjentek z PE i FGR, w porównaniu z grupą kontrolną. Na podstawie braku istotnie statycznych wyników badacze wysnuli podejrzenie, że za wspólną etiopategonezę powyższych schorzeń, odpowiada miejscowy i subkliniczny stan zapalny, a nie zapalenie ogólnoustrojowe. Zwrócili oni również uwagę na możliwe maskowanie przez samą obecność ciąży, która jest związana z procesem zapalnym, wahań i nieprawidłowości niektórych czynników zapalnych (132). Badania dotyczące stanu przedrzucawkowego prowadzone były również przez Cana. Jego wyniki pochodzące z 2011 roku potwierdzają słuszność uzyskanych przez mnie wyników. Poziomy HsCRP w grupie pacjentek z ciężkim przebiegiem stanu przedrzucawkowego, były istotnie wyższe niż w grupie z łagodnym stanem przedrzucawkowym i pacjentek z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego (133). Hwang z kolei przeprowadzał analizę wartości białka HsCRP w grupie pacjentek z stanem przedrzucawkowym, w odniesieniu do zdrowych kobiet ciężarnych. Poddał on również ocenie wartości czynnika zapalnego, w zależności od wieku trwania ciąży. Uzyskane wyniki wskazują na dodatnia korelację z czasem trwania ciąży oraz udowadniają zależność pomiędzy wartościami HsCRP, a występowaniem i stopniem nasilenia stanu przedrzucawkowego (134). Dowód na to, że PE jest związany z chorobą zapalną organizmu dostarczył także Farzadnia, który przeprowadził swoje badania w 2013 roku (135). Kumru także wskazał na obecność zależności pomiędzy wartościami stężeń HsCRP a diagnozą PE. Zaświadczył, że HsCRP w surowicy wzrasta u kobiet z PE. Na podstawie swoich wyników dowiódł, iż podwyższony poziom HsCRP we krwi pacjentek w stanie przedrzucawkowym był skorelowany także z parametrami klinicznymi i biochemicznymi tej patologii (136).

Z niewielu opracowań zajmujących się oceną stanu zapalnego, jako objawu dysfunkcji łożyska w przebiegu FGR należy przytoczyć badanie Karli. Celem jego było porównanie stężeń prokalcytoniny i HsCRP w próbkach surowicy matki i krwi pępowinowej płodu z wewnątrzmacicznym ograniczeniem wzrastania. Ich wyniki wskazują, że podwyższone poziomy HsCRP przyczyniają się do procesu zapalnego w grupie chorych płodów z FGR, w przeciwieństwie do braku podobnej korelacji w przypadku wartości prokalcytoniny (137). Jedną z najnowszych publikacji jest praca Kirici z marca 2023 oceniająca zmiany stężeń markerów stanu zapalnego w surowicy matki w ciążach z wewnątrzmacicznym ograniczeniem wzrostu. W artykule tym ocenie przed porodem podlegały następujące substancje: HsCRP, wskaźnik sedymentacji erytrocytów (ESR), czynnik martwicy nowotworu (TNF- α) oraz interleukiny (IL-6 i IL-10). Badanie to potwierdziło gorsze wyniki okołoporodowe noworodków z rozpoznaniem FGR, które związane były z uzyskaniem

niższych wartości w punktacji Apgar, oraz z niższą wartością pH gazometrii krwi pępowinowej. Dodatkowo praca wskazuje na zależność i udowadnia wyższe wartości ESR, HsCRP, IL-6 i TNF- α w grupie płodów z zahamowaniem wzrastania. Kirici jest przekonany o udziale mediatorów zapalnych w patogenezie FGR i pokłada dużą nadzieję na przyszłość, że wyeliminowanie tego specyficznego rodzaju zapalenia w trakcie ciąży, pomoże zapobiegać rozwojowi patologii jaką jest FGR (138).

Kolejnym analizowanym biomarkerem w prezentowanej pracy jest białko szoku cieplnego (HSP70). Jest to rodzaj molekularnego opiekuna, a jego rola polega głównie na kształtowaniu homeostazy białek. Procesy, za które odpowiedzialny jest HSP70 odbywają się zarówno, w warunkach fizjologicznych, jak i w obecności czynników stresogennych, i opierają się przede wszystkim na kontroli jakości i metabolizmu białek. Zgodnie z różnorodnymi spełnianymi funkcjami w organizmie, badania biochemiczne i genetyczne zaczęły wiązać ten biomarker z szeregiem chorób, między innymi z chorobami nowotworowymi, infekcyjnymi oraz zaburzeniami neurodegeneracyjnymi. Licznie przeprowadzane badania potwierdzają i upatrują przyszłość leczenia tych chorób, poprzez stosowanie inhibitorów HSP70 w postępowaniu farmakologicznym (139–141). Także w położnictwie i ginekologii coraz częściej można znaleźć doniesienia sugerujące, że podwyższone poziomy białka szoku cieplnego (HSP70) w surowicy oraz w tkankach, odzwierciedlają ogólnoustrojowy stan zapalny, stres oksydacyjny i uszkodzenie komórek u kobiet z PE, FGR, oraz w przypadku występowania porodów przedwczesnych. Wskazują tym samym na wpływ tej substancji na rozwój płodu i indukowanie patologii związanych z ciążą.

Badanie z 2020 roku Lai skupiało swą uwagę nie tylko na ocenie HSP70, ale również analizowało poziom tlenu azotu (NO), jako czynnika zapewniającego prawidłowy przepływ krwi przez łożysko, a także odżywienie płodu. Wybór obydwu substancji w opracowaniu uzasadniono zależnością pomiędzy nimi. Wysokie stężenia HSP70 hamują syntezę enzymu-syntazy tlenu azotu (NOS) w układzie naczyniowym i zmniejszają zawartość NO w krążeniu, w ten sposób wpływają negatywnie na perfuzję maciczno-łożyskową, zaburzając rozwój płodów. Pacjentki zakwalifikowane do testu zostały podzielone na trzy grupy: kontrolną, ciążę powikłaną PE z FGR oraz ciążę z PE bez FGR. Dodatkowym atutem badania było opracowanie modeli zwierzęcych, oraz interpretacja wyników zarówno z surowicy, jak i z tkanek łożyska. Podsumowując tą publikację należy przyznać, że ekspresja HSP70 w surowicy i tkankach łożyska była zwiększona, podczas gdy zawartość NO, zmniejszona u pacjentów z PE w porównaniu z grupą kontrolną. Dotyczyło to zarówno grupy z współistniejącym FGR jak i bez. Warto zauważyć również w modelu zwierzęcym, że

nadekspresja HSP70 miała wpływ na osiągnięta niższą masę płodów, oraz powodowała zmniejszoną liczbę urodzeń żywych. Autorzy badania zasugerowali na podstawie swoich wyników, że hamowanie ekspresji HSP70 może poprawiać wzrastanie płodów. Jednocześnie publikacja dostarcza teoretycznych podstaw do stworzenia nowych metod profilaktyki i leczenia PE i FGR opartych na supresji białek szoku cieplnego (100).

Jedynym odnalezionym badaniem oceniającym wartości białka szoku cieplnego we krwi pępowinowej była praca prezentowana przez Zhu z 2014 roku. W publikacji tej do wykrycia stężeń HSP70 w surowicy matki i krwi pępowinowej zastosowano test ELISA podobnie jak w badaniu przeprowadzonym przez mnie. Celem detekcji białka w łożysku użyto barwienie immunohistochemiczne, natomiast do wykrycia ekspresji mRNA HSP70 zastosowano półilościową metodę odwrotnej transkrypcji. Analizie podlegały pacjentki z nadciśnieniem indukowanym ciążą, łagodnym i ciężkim stanem przedrzucawkowym. Wartości uzyskanych stężeń HSP70 w grupach z łagodnym i ciężkim PE, były znacząco wyższe, niż w grupie kontrolnej oraz w grupie z nadciśnieniem ciążowym. Jednocześnie zaobserwowano istotnie statycznie wyższe poziomy HSP70 w grupie z ciężkim przebiegiem stanu przedrzucawkowego. Podobne zależności uzyskano również w ocenie materiału tkankowego jakim jest łożysko. Ekspresja mRNA HSP70 w grupie z ciężkim stanem przedrzucawkowym była istotnie wyższa, niż w grupie z nadciśnieniem ciążowym i łagodnym stanem przedrzucawkowym. Badanie to wskazuje nie tylko na obecność czynnika HSP70 w patogenezie zaburzeń związanych z nadciśnieniem w ciąży, ale również potwierdza dodatnią korelację z nasileniem ciężkości tych patologii (142).

Mając na uwadze, że większość badaczy analizowała ekspresję HSP na poziomie białek w tkance łożyskowej, Hromadnikova wraz ze swoim zespołem skupiła się na ocenie ekspresji HSP na poziomie mRNA surowicy matek, w przebiegu ciąż powikłanych FGR i PE. W swoim opracowaniu odniosła uzyskane wyniki także do oceny parametrów ultrasonografii dopplerowskiej. Przegląd jej danych nie wykazał oddziaływania wartości PI w tętnicy pępowinowej, PI w tętnicy środkowej mózgu oraz CPR na uzyskane poziomy mRNA HSP70 w krążeniu matczynym. Stwierdzono, że ekspresja genu HSP70 w próbkach osocza matki u pacjentek z powikłaniami związanymi z ciążą, jest wyższa w porównaniu z ciążami o przebiegu fizjologicznym. Hromadnikova podobnie jak Molvarec uważa, że stres oksydacyjny, który powoduje niedokrwienie łożyska oraz innych narządów, jak również współistniejący stan zapalny mogą przyczyniać się do nadekspresji HSP70 (107,108,121,143). Stres oksydacyjny w przebiegu PE i FGR analizował także Barut. Jego badanie przeprowadzono w celu porównania ekspresji HSP70 i syntazy tlenu azotu (eNOS)

w próbkach tkanek łożyska pobranych z ciąż fizjologicznych i powikłanych niewydolnością łożyska. Po przebadaniu 135 łożysk, uzyskano informacje, że wartości HSP70 i eNOS były wyższe w stanie przedrzucawkowym i FGR, w porównaniu z normalnymi tkankami łożyska w grupie kontrolnej. Korelacja pomiędzy ekspresją HSP70 i eNOS, która została potwierdzona przez Baruta przekonuje, że stres oksydacyjny ma wpływ na funkcjonowanie śródbłonna i proces przebudowy i tworzenia naczyń krwionośnych w tkance łożyska podczas stanu przedrzucawkowego przebiegającego z FGR lub bez niego. Badacze stawiają hipotezę, że obecność stresu oksydacyjnego związanego z długim czasem trwania nieodpowiedniej funkcji łożyska jest jednym z wielu potencjalnych przyczyn zaburzeń w trakcie ciąży. Kilku naukowców zwróciło uwagę na fakt odmiennej ekspresji białek szoku cieplnego w dysfunkcji łożyska w zależności od jego strefy. Z uwagi na powyższe powstało kilka prac oceniających również tą zależność (144). Abdulsid zaobserwował wzrost poziomów HSP70 w centralnej części łożyska w porównaniu do jego zewnętrznych części (102). Wataba przeprowadzał ocenę immunohistochemiczną 27 łożysk z ciąż powikłanych FGR, oceniając ekspresję czterech białek szoku cieplnego: HSP27, HSP60, HSP70 i HSP90. Po zakończeniu badań poinformował, że ekspresja białek była wyższa w materiale pochodzącym z patologicznych łożysk, w porównaniu z grupą kontrolną. Taką korelację zaobserwowano zarówno w komórkach syncytiotrofoblastu jak i cytotrofoblastu. Dowiódł także, że stężenia wszystkich typów HSP zmniejszyły się w obydwu typach komórek wokół obszaru zawału, co dostarcza informacji o lokalnym reagowaniu komórek na czynniki stresogenne (145). Wyniki Padminiego także wykazały nadekspresję dwóch typów białek szoku cieplnego (HSP70 i HSP90) w komórkach śródbłonna wyizolowanych z łożysk powikłanych stanem przedrzucawkowym (146).

W 2018 roku Saghafi przeprowadził przegląd systematyczny publikacji dotyczących oceny HSP70 w ciążach powikłanych PE. Dostarczył on na podstawie dogłębnej analizy 7 wyselekcjonowanych artykułów, dowody na istnienie istotnego związku między stężeniami HSP70 a stanem przedrzucawkowym (98). Powoływał się między innymi na opracowanie Peracoli z 2016 roku, który przeprowadził podobne badanie wykazujące wyższy poziom HSP70 w surowicy, u pacjentów z ciążą powikłaną stanem przedrzucawkowym o wczesnym początku (114). Wielokrotnie tematyką tą zajmował się także Molvarec. Przeprowadzając w 2011 roku badanie kliniczno-kontrolne, oceniał nie tylko HSP70, ale także inne krążące cytokiny, chemokiny, cząsteczki adhezyjne i czynniki angiogenne, u kobiet w ciąży ze stanem przedrzucawkowym. On również potwierdził, że zwiększone stężenie HSP70 w surowicy kobiet w stanie przedrzucawkowym współistniały z obecnością prozapalnych cytokin w

krążeniu (107,108,121). Zafascynowanie grupą białek szoku cieplnego można dostrzec również w badaniach Yllasa. Jego nowatorskie badania na modelach zwierzęcych, starały się udowodnić korzystny efekt leczniczy, poprzez zastosowanie preparatu uzyskanego z róży mirtu (*Rhodomyrtus tomentosa*). Roślina ta od dawna jest znana i wykorzystywana jako źródło naturalnych antyoksydantów oraz substancji przeciwzapalnych, zwłaszcza w branży kosmetycznej. Yllasi pokazuje na modelu zwierzęcym, że podaż tej rośliny w ciążach powikłanych PE z nadekspresją HSP70 wpływa pozytywnie na osiągnięta przez płody masę ciała, oraz zmniejsza jednocześnie stężenia białek szoku cieplnego. Niejednokrotne potwierdzenie zależności tych białek z powstawaniem patologii ciąży, które związane są z dysfunkcją łożyska, faktycznie wskazuje na możliwość opracowania skutecznego leczenia antyoksydacyjnego, które będzie nie tylko zmniejszać objawy chorób ale być może także w przyszłości im zapobiegać (147).

Pisząc na temat dysfunkcji łożyska i chorób w przebiegu tej patologii należy poddać analizie, również uzyskane wyniki dotyczące markerów angiogenezy. Głównymi przyczynami nieprawidłowo działającego łożyska jest zaburzenie procesu inwazji trofoblastu, oraz nieprawidłowy remodeling naczyń spiralnych u matki. Za markery tych nieprawidłowości od dawna uznaje się sFlt-1 i PlGF, a wartość wskaźnika uzyskanego jako iloraz tych białek za badanie decydujące o potwierdzeniu, bądź wykluczeniu stanu przedrzucawkowego. Ponieważ nadal nie odkryto metod leczniczych dysfunkcji łożyska nasze możliwości opierają się głównie na wyselekcjonowaniu pacjentek z wysokim ryzykiem nieprawidłowości, wdrożeniu profilaktyki farmakologicznej, oraz zwiększeniu nadzoru nad matką i płodem. Kliniczną użyteczność wskaźnika sFlt-1/PlGF jako markera dysfunkcji łożyska ocenił w 2023 roku między innymi Stepan. Według niego w późniejszym okresie ciąży stosunek sFlt-1/PlGF wykazuje znaczną przewagę diagnostyczną nad samodzielnie ocenionym PlGF z uwagi wyższą czułość i swoistość w rozpoznawaniu i monitorowaniu PE. Wykazał on także dodatnią wartość kliniczną wskaźnika, podkreślając, że może wykluczyć on rozwój PE w okresie od 1 do 4 tygodni po przeprowadzonym badaniu. Wskazuje także na użyteczność wykonywania powtórnych pomiarów sFlt-1 i PlGF, zwłaszcza w monitorowaniu dysfunkcji łożyska i podejmowaniu decyzji o terminie zakończenia ciąży. Podobne wnioski dotyczyły wskaźnika sFlt-1/PlGF w przewidywaniu FGR oraz porodu przedwczesnego (148).

Kolejny przykład wykazujący pozytywne zależności pomiędzy markerami angiogenezy a występowaniem FGR i PE typu późnego przedstawiono w publikacji Birdir. Zespół ten miał na celu ocenić poziomy sFlt-1, PlGF oraz białka PAPP-A w surowicy matek w trzecim trymestrze ciąży i odnieść uzyskane wyniki do rozpoznania FGR i PE po 34 tygodniu ciąży.

W badaniu odkryto silny związek poziomów sFlt-1, PlGF i stosunku sFlt-1/PlGF w surowicy matki z późnym typem PE i FGR. Poziomy sFlt-1 były podwyższone, odwrotnie do poziomu PlGF, który osiągał niższe wartości w grupie pacjentek dotkniętych dysfunkcją łożyska. Po przeanalizowaniu krzywej ROC uzyskano informacje o zdolności predykcyjnej biomarkerów angiogenezy do rozpoznawania FGR i PE o późnym początku. Autorzy badania zaznaczyli również, że z uwagi na etiologię FGR związana z niewydolnością łożyska, wyższe wartości wskaźnika mogą nie tylko przewidywać wystąpienie patologii, ale również ułatwić odróżnienie przypadków FGR, od konstytucjonalnie małych płodów, co przysparza niekiedy problemów przy wykonywaniu jedynie badania ultrasonograficznego (149). Badanie Nanjo również skupiało uwagę na ocenie krążących czynników angiogennych u pacjentek z FGR, PE oraz nadciśnieniem ciążowym, w przeciągu tygodnia przed porodem. Uzyskano wiele wniosków, z których najistotniejsze pokazują iż pacjenci w grupie z samodzielnym FGR mieli podobne tendencje, jak pacjenci z PE w poziomach czynników angiogennych. W szczególności na uwagę zasługuje grupa do której zakwalifikowano pacjentki z współistniejącymi dwiema patologiami (PE + FGR). To właśnie w niej zaobserwowano najbardziej znaczące różnice w stosunku markerów angiogenezy w porównaniu z grupą kontrolną. To badanie również potwierdza korelację wartości wskaźnika z ciężkością przebiegu patologii łożyska (150). Analogiczna praca została opracowana także przez polskich badaczy z Lublina. Dymara i inni oceniali poziomy w surowicy czynników anti- i pro angiogennych, w ciążach ze stanem przedrzucawkowym i/lub ograniczeniem wzrastania płodu. Potwierdzili tym samym hipotezę Nanjo. Stan antyangiogeny, który powstaje na skutek braku równowagi pomiędzy czynnikami angio- i antyangiogennymi, z przesunięciem na korzyść tych drugich, jest obecnie jednym z najlepiej udokumentowanych elementów patofizjologii w dysfunkcji łożyska (150,151).

Jak można zauważyć poziomy biomarkerów, które mogłyby przewidywać FGR są tak samo intensywnie badane, jak ma to miejsce w przypadku PE. Jest to widoczne poprzez powstające licznie metaanalizy i przeglądy systematyczne dotyczące tych zagadnień. Jedną z takich publikacji opracowaną przez Chen i jego zespół badawczy analizowała na podstawie ośmiu badań z udziałem 339 pacjentów z ciążami powikłaniami i 5111 osób należących do grupy kontrolnej, możliwości diagnostyczne wskaźnika dla zahamowania wzrastania płodów. Wartość stosunku sFlt-1 do PlGF > 33 wykazywał czułość diagnostyczną dla FGR na poziomie 63% przy swoistości rzędu 84%. W przypadku wyższych wartości wskaźnika powyżej 85 osiągnięto wyższą czułość w granicach 79%. Przegląd ten wskazuje na słuszność stosowania wskaźnika, w połączeniu z oceną czynników ryzyka u matki oraz badaniem

ultrasonograficznym podczas badań przesiewowych w kierunku identyfikacji płodów z zahamowaniem wzrastania oraz płodów SGA (152). Tematyką dotyczącą nadciśnienia w ciąży w kontekście przydatności oceny biomarkerów angiogenezy prowadził Leanos-Miranda. Chciał on wykazać związek między sFlt-1 i PlGF, a stopniem nasilenia dysfunkcji w przebiegu zaburzeń związanych z nadciśnieniem. Do badania włączono 689 kobiet z różnymi zaburzeniami nadciśnieniowymi w ciąży. Pacjenci zostali podzieleni na 5 grup w zależności od ciężkości nasilenia patologii. Stwierdzono, że wartości wskaźników anigogennych u pacjentek z nadciśnieniem indukowanym ciążą i stanem przedrzucawkowym, były istotnie różne w odniesieniu do grupy kontrolnej i dodatkowo wykazane różnice były coraz bardziej widoczne, wraz ze wzrostem ciężkości patologii. Kolejną obserwacją autorów było zauważenie, że pacjenci z ciężką postacią nadciśnienia indukowanego ciążą uzyskali wyższe wartości wskaźnika w porównaniu, do pacjentów z łagodnym nadciśnieniem i łagodnym przebiegiem PE. Jednocześnie pacjenci ci uzyskali niższe wartości wskaźnika w porównaniu z pacjentami, których ciąż powikłana była ciężkim stanem przedrzucawkowym (153).

Po przeanalizowaniu dostępnego piśmiennictwa nasuwa się wniosek, iż największe problemy diagnostyczne dotyczą aktualnie płodów dotkniętych zahamowaniem wzrastania o typie późnym, oraz ich diagnostyce różnicowej ze zdrowymi płodami konstytucjonalnie małymi. Okazuje się, że dostępne schematy postępowania i stosowane metody nie są wystarczające dla klinicyстів, aby w sposób zadowalający minimalizować ryzyko związane z zaburzeniami funkcji łożyska. W związku z powyższym istnieje pilna potrzeba znalezienia lepszych sposobów identyfikacji tej zagrożonej grupy pacjentek i płodów. Wczesne rozpoznanie zaburzeń wydaje się najistotniejsze, gdyż umożliwia właściwe monitorowanie stanu płodu, minimalizując w ten sposób nie tylko ryzyko przedwczesnego porodu, ale również niedotlenienia wewnątrzmacicznego i zgonu płodu. W prezentowanej pracy podjęto próbę poznania biomarkerów, które ułatwiłyby taką diagnostykę. Obserwowane wyższe wartości wskaźników angiogenezy, białka stanu zapalnego oraz białka szoku cieplnego zarówno u pacjentek ze stanem przedrzucawkowym, jak i pacjentek z FGR w porównaniu z grupą kontrolną, oraz płodami SGA, sugerują wspólną etiopatogenezy tych zaburzeń. Powyższe dane analizujące białka HSP70, hsCRP oraz wskaźnik sFlt-1/PlGF zdecydowanie mogą okazać się pomocne w codziennej praktyce lekarzy położników oraz perinatologów, umożliwić wyselekcjonowanie chorych płodów i ich matek i jednocześnie objąć tą grupę należytą opieką.

8. Wnioski

1. Stężenia HsCRP we krwi matek były wyższe w ciążach powikłanych FGR i PE, co potwierdza udział procesów zapalnych w mechanizmie powstawania obydwu patologii.
2. Wyższe stężenia białka HSP70 w krwi pępowinowej były związane z ciążami przebiegającymi z dysfunkcją łożyska, a uzyskane wyniki potwierdzają rolę stresu oksydacyjnego w ich etiopatogenezie.
3. Otrzymane znaczące różnice w stężeniach białka HSP70 u pacjentek z płodami SGA oraz płodami FGR pozwalają uznać to białko za potencjalny marker przydatny w diagnostyce różnicowej.
4. Wyższe wartości wskaźnika markerów angiogenezy łożyskowej sFlt-1/PIGF potwierdzają jego znaczącą rolę w rozpoznawaniu patologii ciąży związanych z niewydolnością łożyska.
5. Oceniane w badaniu trzy parametry (HsCRP, HSP70, wskaźnika sFlt-1/PIGF) miały tendencję do występowania w coraz wyższych wartościach w kolejności kontrola, SGA, FGR, PE, co wskazuje na najsilniejszą korelację powyższych parametrów ze stanem przedrzucawkowym.
6. Potwierdzone zależności mogą być podstawą do opracowania nowych metod profilaktyki i nowych algorytmów diagnostycznych w analizowanych w badaniu patologiach ciąży.

9. Bibliografia

1. Joe Leigh Simpson, Henry Galan, Steven G. Gabbe, Jennifer R. Niebyl, Eric R. M. Jauniaux, Mark Landon, et al. Wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrastania płodu. In: Romuald Dębski, Przemysław Oszukowski, editors. *Położnictwo tom 2 - ciąża prawidłowa i powikłania*. Edra Urban & Partner;
2. Brodsky D, Christou H. Current concepts in intrauterine growth restriction. *J Intensive Care Med*. 2004 Dec;19(6):307–19.
3. ACOG Practice bulletin no. 134: fetal growth restriction. *Obstet Gynecol*. 2013 May;121(5):1122–33.
4. Gathiram P, Moodley J. Pre-eclampsia: its pathogenesis and pathophysiology. *Cardiovasc J Afr*. 2016 Apr;27(2):71–8.
5. Pennington KA, Schlitt JM, Jackson DL, Schulz LC, Schust DJ. Preeclampsia: multiple approaches for a multifactorial disease. *Dis Model Mech*. 2012 Jan;5(1):9–18.
6. Ness RB, Sibai BM. Shared and disparate components of the pathophysiologies of fetal growth restriction and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Jul;195(1):40–9.
7. Villar J, Carroli G, Wojdyla D, Abalos E, Giordano D, Ba'aqeel H, et al. Preeclampsia, gestational hypertension and intrauterine growth restriction, related or independent conditions? *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Apr;194(4):921–31.
8. Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, Papageorghiou A, Baschat AA, Baker PN, et al. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016 Sep;48(3):333–9.
9. Mamelle N, Cochet V, Claris O. Definition of fetal growth restriction according to constitutional growth potential. *Biol Neonate*. 2001;80(4):277–85.
10. ACOG Practice Bulletin No. 204: Fetal Growth Restriction. *Obstet Gynecol*. 2019 Feb;133(2):e97–109.
11. de Onis M, Habicht JP. Anthropometric reference data for international use: recommendations from a World Health Organization Expert Committee. *Am J Clin Nutr*. 1996 Oct;64(4):650–8.
12. Liauw J, Mayer C, Albert A, Fernandez A, Hutcheon JA. Which chart and which cut-point: deciding on the INTERGROWTH, World Health Organization, or Hadlock fetal growth chart. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2022 Jan 10;22(1):25.
13. Villar J, Altman DG, Victora CG, Bhutta ZA, Ohuma EO, Kennedy SH. Fetal growth

- and ethnic variation--authors' reply. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014 Oct;2(10):774–5.
14. Albert PS, Grantz KL. Fetal growth and ethnic variation. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014 Oct;2(10):773.
 15. Gardosi J, Mongelli M, Wilcox M, Chang A. An adjustable fetal weight standard. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995 Sep;6(3):168–74.
 16. Hepburn M, Rosenberg K. An audit of the detection and management of small-for-gestational age babies. *Br J Obstet Gynaecol.* 1986 Mar;93(3):212–6.
 17. Albu AR, Horhoianu IA, Dumitrascu MC, Horhoianu V. Growth assessment in diagnosis of Fetal Growth Restriction. Review. *J Med Life.* 2014 Jun 15;7(2):150–4.
 18. Osuchukwu OO, Reed DJ. Small for Gestational Age. In: *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
 19. Kwiatkowski S, Torbe A, Borowski D, Breborowicz G, Czajkowski K, Huras H, et al. Polish Society of Gynecologists and Obstetricians Recommendations on diagnosis and management of fetal growth restriction. *Ginekol Pol.* 2020;91(10):634–43.
 20. Savitz DA, Terry JWJ, Dole N, Thorp JMJ, Siega-Riz AM, Herring AH. Comparison of pregnancy dating by last menstrual period, ultrasound scanning, and their combination. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Dec;187(6):1660–6.
 21. Barr WB, Pecci CC. Last menstrual period versus ultrasound for pregnancy dating. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet.* 2004 Oct;87(1):38–9.
 22. Borowski D, Pietryga M, Basta P, Cnota W, Czuba B, Dubiel M, et al. Practice guidelines of the Polish Society of Gynecologists and Obstetricians - Ultrasound Section for ultrasound screening in uncomplicated pregnancy - 2020. *Ginekol Pol.* 2020;91(8):490–501.
 23. Morse K, Williams A, Gardosi J. Fetal growth screening by fundal height measurement. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2009 Dec;23(6):809–18.
 24. McDermott J. Fundal Height Measurement. *Screen Obstet Gynecol.* 2006 Dec 31;326–43.
 25. Salomon LJ, Alfirevic Z, Da Silva Costa F, Deter RL, Figueras F, Ghi T, et al. ISUOG Practice Guidelines: ultrasound assessment of fetal biometry and growth. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2019 Jun;53(6):715–23.
 26. Baschat AA. Planning management and delivery of the growth-restricted fetus. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018 May;49:53–65.
 27. Ciobanu A, Wright A, Syngelaki A, Wright D, Akolekar R, Nicolaides KH. Fetal

- Medicine Foundation reference ranges for umbilical artery and middle cerebral artery pulsatility index and cerebroplacental ratio. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019 Apr;53(4):465–72.
28. Gaudineau A. [Prevalence, risk factors, maternal and fetal morbidity and mortality of intrauterine growth restriction and small-for-gestational age]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2013 Dec;42(8):895–910.
 29. Papastefanou I, Nowacka U, Buerger O, Akolekar R, Wright D, Nicolaides KH. Evaluation of the RCOG guideline for the prediction of neonates that are small for gestational age and comparison with the competing risks model. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2021 Dec;128(13):2110–5.
 30. The Investigation and Management of the Small-for-Gestational-Age Fetus. RCOG Green-top Guideline No. 31. 2013.
 31. Arthuis CJ, Chatzakis C, Stirnemann J, Sotiriadis A, Salomon LJ. VP35.11: Fetal growth prescriptive charts evaluation: a systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2021 Oct 1;58(S1):89–312.
 32. Bruin C, Damhuis S, Gordijn S, Ganzevoort W. Evaluation and Management of Suspected Fetal Growth Restriction. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2021 Jun;48(2):371–85.
 33. Schlembach D. Fetal Growth Restriction - Diagnostic Work-up, Management and Delivery. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2020 Oct;80(10):1016–25.
 34. Khalil A, Morales-Roselló J, Townsend R, Morlando M, Papageorghiou A, Bhide A, et al. Value of third-trimester cerebroplacental ratio and uterine artery Doppler indices as predictors of stillbirth and perinatal loss. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016 Jan;47(1):74–80.
 35. Morales-Roselló J, Khalil A, Morlando M, Bhide A, Papageorghiou A, Thilaganathan B. Poor neonatal acid-base status in term fetuses with low cerebroplacental ratio. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015 Feb;45(2):156–61.
 36. Vollgraff Heidweiller-Schreurs CA, van Osch IR, Heymans MW, Ganzevoort W, Schoonmade LJ, Bax CJ, et al. Cerebroplacental ratio in predicting adverse perinatal outcome: a meta-analysis of individual participant data. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2021 Jan;128(2):226–35.
 37. Rizzo G, Mappa I, Bitsadze V, Słodki M, Khizroeva J, Makatsariya A, et al. Role of Doppler ultrasound at time of diagnosis of late-onset fetal growth restriction in

- predicting adverse perinatal outcome: prospective cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2020 Jun;55(6):793–8.
38. Dall'Asta A, Brunelli V, Prefumo F, Frusca T, Lees CC. Early onset fetal growth restriction. *Matern Health Neonatol Perinatol*. 2017;3:2.
 39. Figueras F, Gratacos E. Stage-based approach to the management of fetal growth restriction. *Prenat Diagn*. 2014 Jul;34(7):655–9.
 40. Gordijn SJ, Beune IM, Ganzevoort W. Building consensus and standards in fetal growth restriction studies. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018 May;49:117–26.
 41. Boers KE, Vijgen SMC, Bijlenga D, van der Post JAM, Bekedam DJ, Kwee A, et al. Induction versus expectant monitoring for intrauterine growth restriction at term: randomised equivalence trial (DIGITAT). *BMJ*. 2010 Dec 21;341:c7087.
 42. Colella M, Frérot A, Novais ARB, Baud O. Neonatal and Long-Term Consequences of Fetal Growth Restriction. *Curr Pediatr Rev*. 2018;14(4):212–8.
 43. Mylrea-Foley B, Thornton JG, Mullins E, Marlow N, Hecher K, Ammari C, et al. Perinatal and 2-year neurodevelopmental outcome in late preterm fetal compromise: the TRUFFLE 2 randomised trial protocol. *BMJ Open*. 2022 Apr 15;12(4):e055543.
 44. Agrawal A, Wenger NK. Hypertension During Pregnancy. *Curr Hypertens Rep*. 2020 Aug 27;22(9):64.
 45. Brown MA, Magee LA, Kenny LC, Karumanchi SA, McCarthy FP, Saito S, et al. The hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis & management recommendations for international practice. *Pregnancy Hypertens*. 2018 Jul;13:291–310.
 46. August P, Sibai BM, others. Preeclampsia: Clinical features and diagnosis. *UpToDate* Accessed Dec. 2017;22.
 47. Phelan LK, Brown MA, Davis GK, Mangos G. A prospective study of the impact of automated dipstick urinalysis on the diagnosis of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2004;23(2):135–42.
 48. Cade TJ, Gilbert SA, Polyakov A, Hotchin A. The accuracy of spot urinary protein-to-creatinine ratio in confirming proteinuria in pre-eclampsia. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2012 Apr;52(2):179–82.
 49. Bouter AR, Duvekot JJ. Evaluation of the clinical impact of the revised ISSHP and ACOG definitions on preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2020 Jan;19:206–11.
 50. Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. London; 2019.
 51. Prejbisz A, Dobrowolski P, Kosiński P, Bomba-Opoń D, Adamczak M,

- Bekiesińska-Figatowska M, et al. Management of hypertension in pregnancy: prevention, diagnosis, treatment and long-term prognosis. *Kardiol Pol.* 2019 Aug 23;77(7–8):757–806.
52. Bahri Khomami M, Joham AE, Boyle JA, Piltonen T, Silagy M, Arora C, et al. Increased maternal pregnancy complications in polycystic ovary syndrome appear to be independent of obesity-A systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* 2019 May;20(5):659–74.
 53. Pamidi S, Pinto LM, Marc I, Benedetti A, Schwartzman K, Kimoff RJ. Maternal sleep-disordered breathing and adverse pregnancy outcomes: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2014 Jan;210(1):52.e1-52.e14.
 54. Rustveld LO, Kelsey SF, Sharma R. Association between maternal infections and preeclampsia: a systematic review of epidemiologic studies. *Matern Child Health J.* 2008 Mar;12(2):223–42.
 55. Bellos I, Daskalakis G, Pergialiotis V. Helicobacter pylori infection increases the risk of developing preeclampsia: A meta-analysis of observational studies. *Int J Clin Pract.* 2018 Feb;72(2).
 56. Poon LC, Shennan A, Hyett JA, Kapur A, Hadar E, Divakar H, et al. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: A pragmatic guide for first-trimester screening and prevention. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet.* 2019 May;145 Suppl 1(Suppl 1):1–33.
 57. Mazer Zumaeta A, Wright A, Syngelaki A, Maritsa VA, Da Silva AB, Nicolaides KH. Screening for pre-eclampsia at 11-13 weeks' gestation: use of pregnancy-associated plasma protein-A, placental growth factor or both. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2020 Sep;56(3):400–7.
 58. Rolnik DL, Nicolaides KH, Poon LC. Prevention of preeclampsia with aspirin. *Am J Obstet Gynecol.* 2022 Feb;226(2S):S1108–19.
 59. Chaemsaitong P, Sahota DS, Poon LC. First trimester preeclampsia screening and prediction. *Am J Obstet Gynecol.* 2022 Feb;226(2S):S1071-S1097.e2.
 60. Pedroso MA, Palmer KR, Hodges RJ, Costa F da S, Rolnik DL. Uterine Artery Doppler in Screening for Preeclampsia and Fetal Growth Restriction. *Rev Bras Ginecol E Obstet Rev Fed Bras Soc Ginecol E Obstet.* 2018 May;40(5):287–93.
 61. Turbeville HR, Sasser JM. Preeclampsia beyond pregnancy: long-term consequences for mother and child. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2020 Jun 1;318(6):F1315–26.
 62. Hund M, Allegranza D, Schoedl M, Dilba P, Verhagen-Kamerbeek W, Stepan H.

- Multicenter prospective clinical study to evaluate the prediction of short-term outcome in pregnant women with suspected preeclampsia (PROGNOSIS): study protocol. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2014 Sep 18;14:324.
63. Alonso-Ventura V, Li Y, Pasupuleti V, Roman YM, Hernandez AV, Pérez-López FR. Effects of preeclampsia and eclampsia on maternal metabolic and biochemical outcomes in later life: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism*. 2020 Jan;102:154012.
 64. Alsnes IV, Janszky I, Åsvold BO, Økland I, Forman MR, Vatten LJ. Maternal Preeclampsia and Androgens in the Offspring around Puberty: A Follow-Up Study. *PloS One*. 2016;11(12):e0167714.
 65. Lu HQ, Hu R. Lasting Effects of Intrauterine Exposure to Preeclampsia on Offspring and the Underlying Mechanism. *AJP Rep*. 2019 Jul;9(3):e275–91.
 66. Chappell LC, Brocklehurst P, Green ME, Hunter R, Hardy P, Juszczak E, et al. Planned early delivery or expectant management for late preterm pre-eclampsia (PHOENIX): a randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 2019 Sep 28;394(10204):1181–90.
 67. Umapathy A, Chamley LW, James JL. Reconciling the distinct roles of angiogenic/anti-angiogenic factors in the placenta and maternal circulation of normal and pathological pregnancies. *Angiogenesis*. 2020 May;23(2):105–17.
 68. Cuffe JSM, Holland O, Salomon C, Rice GE, Perkins AV. Review: Placental derived biomarkers of pregnancy disorders. *Placenta*. 2017 Jun;54:104–10.
 69. Verlohren S, Brennecke SP, Galindo A, Karumanchi SA, Mirkovic LB, Schlembach D, et al. Clinical interpretation and implementation of the sFlt-1/PlGF ratio in the prediction, diagnosis and management of preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2022 Mar;27:42–50.
 70. Kwiatkowski S, Dołęgowska B, Kwiatkowska E, Rzepka R, Torbè A, Bednarek-Jędrzejek M. A Common Profile of Disordered Angiogenic Factor Production and the Exacerbation of Inflammation in Early Preeclampsia, Late Preeclampsia, and Intrauterine Growth Restriction. *PloS One*. 2016;11(10):e0165060.
 71. Rana S, Burke SD, Karumanchi SA. Imbalances in circulating angiogenic factors in the pathophysiology of preeclampsia and related disorders. *Am J Obstet Gynecol*. 2022 Feb;226(2S):S1019–34.
 72. Stepan H, Hund M, Andrzejek T. Combining Biomarkers to Predict Pregnancy Complications and Redefine Preeclampsia: The Angiogenic-Placental Syndrome. *Hypertens Dallas Tex 1979*. 2020 Apr;75(4):918–26.
 73. Huhn EA, Kreienbühl A, Hoffmann I, Schoetzau A, Lange S, Martinez de Tejada B, et

- al. Diagnostic Accuracy of Different Soluble fms-Like Tyrosine Kinase 1 and Placental Growth Factor Cut-Off Values in the Assessment of Preterm and Term Preeclampsia: A Gestational Age Matched Case-Control Study. *Front Med*. 2018;5:325.
74. Redman CWG, Staff AC. Preeclampsia, biomarkers, syncytiotrophoblast stress, and placental capacity. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Oct;213(4 Suppl):S9.e1, S9-11.
 75. Hund M, Verhagen-Kamerbeek W, Reim M, Messinger D, van der Does R, Stepan H. Influence of the sFlt-1/PlGF ratio on clinical decision-making in women with suspected preeclampsia--the PreOS study protocol. *Hypertens Pregnancy*. 2015 Feb;34(1):102–15.
 76. Garcia-Manau P, Mendoza M, Bonacina E, Garrido-Gimenez C, Fernandez-Oliva A, Zanini J, et al. Soluble fms-like tyrosine kinase to placental growth factor ratio in different stages of early-onset fetal growth restriction and small for gestational age. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2021 Jan;100(1):119–28.
 77. Andrikos A, Andrikos D, Schmidt B, Birdir C, Kimmig R, Gellhaus A, et al. Course of the sFlt-1/PlGF ratio in fetal growth restriction and correlation with biometric measurements, fetomaternal Doppler parameters and time to delivery. *Arch Gynecol Obstet*. 2022 Mar;305(3):597–605.
 78. Herraiz I, Simón E, Gómez-Arriaga PI, Martínez-Moratalla JM, García-Burguillo A, Jiménez EAL, et al. Angiogenesis-Related Biomarkers (sFlt-1/PlGF) in the Prediction and Diagnosis of Placental Dysfunction: An Approach for Clinical Integration. *Int J Mol Sci*. 2015 Aug 13;16(8):19009–26.
 79. Roberts JM, Hubel CA. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta*. 2009 Mar;30 Suppl A(Suppl A):S32-37.
 80. Burton GJ, Redman CW, Roberts JM, Moffett A. Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications. *BMJ*. 2019 Jul 15;366:l2381.
 81. Brosens I, Pijnenborg R, Vercruyse L, Romero R. The “Great Obstetrical Syndromes” are associated with disorders of deep placentation. *Am J Obstet Gynecol*. 2011 Mar;204(3):193–201.
 82. Staff AC. The two-stage placental model of preeclampsia: An update. *J Reprod Immunol*. 2019 Sep;134–135:1–10.
 83. Kosińska-Kaczyńska K. Placental Syndromes-A New Paradigm in Perinatology. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Jun 16;19(12).
 84. Kwiatkowski S, Kwiatkowska E, Rzepka R, Torbe A, Dolegowska B. Ischemic placental syndrome--prediction and new disease monitoring. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*.

- 2016;29(12):2033–9.
85. Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2001 Sep;38(3 Pt 2):718–22.
 86. Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Annu*. 1972;1:177–91.
 87. Brosens I, Puttemans P, Benagiano G. Placental bed research: I. The placental bed: from spiral arteries remodeling to the great obstetrical syndromes. *Am J Obstet Gynecol*. 2019 Nov;221(5):437–56.
 88. Brosens JJ, Pijnenborg R, Brosens IA. The myometrial junctional zone spiral arteries in normal and abnormal pregnancies: a review of the literature. *Am J Obstet Gynecol*. 2002 Nov;187(5):1416–23.
 89. Khong Y, Brosens I. Defective deep placentation. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011 Jun;25(3):301–11.
 90. Romero R, Kusanovic JP, Kim CJ. Placental bed disorders in the genesis of the great obstetrical syndromes. *Placent Bed Disord*. 2010;271–89.
 91. Szekeres-Bartho J, Markert UR, Varla-Leftherioti M. Immunology in reproduction. *J Reprod Immunol*. 2015 Apr;108:1.
 92. Moser G, Windsperger K, Pollheimer J, de Sousa Lopes SC, Huppertz B. Human trophoblast invasion: new and unexpected routes and functions. *Histochem Cell Biol*. 2018 Oct;150(4):361–70.
 93. Kaufmann P, Black S, Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod*. 2003 Jul;69(1):1–7.
 94. Takehara Y, Yoshioka T, Sasaki J. Changes in the levels of lipoperoxide and antioxidant factors in human placenta during gestation. *Acta Med Okayama*. 1990 Apr;44(2):103–11.
 95. Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ, Kubota H, Tanguay RM, Bruford EA, et al. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress Chaperones*. 2009 Jan;14(1):105–11.
 96. Li Z, Srivastava P. Heat-shock proteins. *Curr Protoc Immunol*. 2004 Feb;Appendix 1:Appendix 1T.
 97. Pockley AG. Heat shock proteins as regulators of the immune response. *Lancet Lond Engl*. 2003 Aug 9;362(9382):469–76.

98. Saghafi N, Pourali L, Ghavami Ghanbarabadi V, Mirzamarjani F, Mirteimouri M. Serum heat shock protein 70 in preeclampsia and normal pregnancy: A systematic review and meta-analysis. *Int J Reprod Biomed*. 2018 Jan;16(1):1–8.
99. Mrkaic A, Rosenn B, Stojanovic I, Tivari S. Troponins, heat shock proteins and glycogen phosphorylase BB in umbilical cord blood of complicated pregnancies. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2017 Dec;30(24):2978–84.
100. Lai H, Nie L, Zeng X, Xin S, Wu M, Yang B, et al. Enhancement of heat shock protein 70 attenuates inducible nitric oxide synthase in preeclampsia complicated with fetal growth restriction. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2022 Jul;35(13):2555–63.
101. Jee B, Dhar R, Singh S, Karmakar S. Heat Shock Proteins and Their Role in Pregnancy: Redefining the Function of “Old Rum in a New Bottle”. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:648463.
102. Abdulsid A, Hanretty K, Lyall F. Heat shock protein 70 expression is spatially distributed in human placenta and selectively upregulated during labor and preeclampsia. *PloS One*. 2013;8(1):e54540.
103. Li DG, Gordon CB, Stagg CA, Udelsman R. Heat shock protein expression in human placenta and umbilical cord. *Shock Augusta Ga*. 1996 May;5(5):320–3.
104. Shah M, Stanek J, Handwerger S. Differential localization of heat shock proteins 90, 70, 60 and 27 in human decidua and placenta during pregnancy. *Histochem J*. 1998 Jul;30(7):509–18.
105. Hnat MD, Meadows JW, Brockman DE, Pitzer B, Lyall F, Myatt L. Heat shock protein-70 and 4-hydroxy-2-nonenal adducts in human placental villous tissue of normotensive, preeclamptic and intrauterine growth restricted pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 2005 Sep;193(3 Pt 1):836–40.
106. Fukushima A, Kawahara H, Isurugi C, Syoji T, Oyama R, Sugiyama T, et al. Changes in serum levels of heat shock protein 70 in preterm delivery and pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2005 Feb;31(1):72–7.
107. Molvarec A, Tamási L, Losonczy G, Madách K, Prohászka Z, Rigó JJ. Circulating heat shock protein 70 (HSPA1A) in normal and pathological pregnancies. *Cell Stress Chaperones*. 2010 May;15(3):237–47.
108. Molvarec A, Rigó JJ, Lázár L, Balogh K, Makó V, Cervenak L, et al. Increased serum heat-shock protein 70 levels reflect systemic inflammation, oxidative stress and

- hepatocellular injury in preeclampsia. *Cell Stress Chaperones*. 2009 Mar;14(2):151–9.
109. Mathur S, Walley KR, Wang Y, Indrambarya T, Boyd JH. Extracellular heat shock protein 70 induces cardiomyocyte inflammation and contractile dysfunction via TLR2. *Circ J Off J Jpn Circ Soc*. 2011;75(10):2445–52.
110. Hacker S, Lambers C, Hoetzenecker K, Pollreisz A, Aigner C, Lichtenauer M, et al. Elevated HSP27, HSP70 and HSP90 alpha in chronic obstructive pulmonary disease: markers for immune activation and tissue destruction. *Clin Lab*. 2009;55(1–2):31–40.
111. Catarino C, Santos-Silva A, Belo L, Rocha-Pereira P, Rocha S, Patrício B, et al. Inflammatory disturbances in preeclampsia: relationship between maternal and umbilical cord blood. *J Pregnancy*. 2012;2012:684384.
112. Black KD, Horowitz JA. Inflammatory Markers and Preeclampsia: A Systematic Review. *Nurs Res*. 2018 Jun;67(3):242–51.
113. Rebelo F, Schlüssel MM, Vaz JS, Franco-Sena AB, Pinto TJP, Bastos FI, et al. C-reactive protein and later preeclampsia: systematic review and meta-analysis taking into account the weight status. *J Hypertens*. 2013 Jan;31(1):16–26.
114. Peraçoli JC, Bannwart-Castro CF, Romão M, Weel IC, Ribeiro VR, Borges VTM, et al. High levels of heat shock protein 70 are associated with pro-inflammatory cytokines and may differentiate early- from late-onset preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2013 Dec;100(2):129–34.
115. Tjoa ML, van Vugt JMG, Go ATJJ, Blankenstein MA, Oudejans CBM, van Wijk IJ. Elevated C-reactive protein levels during first trimester of pregnancy are indicative of preeclampsia and intrauterine growth restriction. *J Reprod Immunol*. 2003 Jun;59(1):29–37.
116. Wolf M, Kettyle E, Sandler L, Ecker JL, Roberts J, Thadhani R. Obesity and preeclampsia: the potential role of inflammation. *Obstet Gynecol*. 2001 Nov;98(5 Pt 1):757–62.
117. Harskamp RE, Zeeman GG. Preeclampsia: at risk for remote cardiovascular disease. *Am J Med Sci*. 2007 Oct;334(4):291–5.
118. Lee G, Tubby J. Preeclampsia and the risk of cardiovascular disease later in life--A review of the evidence. *Midwifery*. 2015 Dec;31(12):1127–34.
119. Baker BC, Heazell AEP, Sibley C, Wright R, Bischof H, Beards F, et al. Hypoxia and oxidative stress induce sterile placental inflammation in vitro. *Sci Rep*. 2021 Mar 31;11(1):7281.
120. Harmon AC, Cornelius DC, Amaral LM, Faulkner JL, Cunningham MWJ, Wallace K,

- et al. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 2016 Mar;130(6):409–19.
121. Szarka A, Rigó JJ, Lázár L, Beko G, Molvarec A. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC Immunol*. 2010 Dec 2;11:59.
 122. Salomon L, Alfirevic Z, Berghella V, Bilardo C, Chalouhi G, Costa FDS, et al. ISUOG Practice Guidelines (updated): performance of the routine mid-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2022;59(6):840–56.
 123. Szymon Bednarek, Mariusz Dubiel, A. Lewandowska, G.H. Bręborowicz. Diagnostyka prenatalna w praktyce. Warszawa : Wydaw. Lek. PZWL; 2015.
 124. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 16 sierpnia 2018 r. w sprawie standardu organizacyjnego opieki okołoporodowej.
 125. Monier I, Blondel B, Ego A, Kaminiski M, Goffinet F, Zeitlin J. Poor effectiveness of antenatal detection of fetal growth restriction and consequences for obstetric management and neonatal outcomes: a French national study. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2015 Mar;122(4):518–27.
 126. Reboul Q, Delabaere A, Luo ZC, Nuyt AM, Wu Y, Chauleur C, et al. Prediction of small-for-gestational-age neonate by third-trimester fetal biometry and impact of ultrasound-delivery interval. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Mar;49(3):372–8.
 127. Robillard PY, Dekker G, Chaouat G, Elliot MG, Scioscia M. High incidence of early onset preeclampsia is probably the rule and not the exception worldwide. 20th anniversary of the reunion workshop. A summary. *J Reprod Immunol*. 2019 Jun;133:30–6.
 128. Tan MY, Syngelaki A, Poon LC, Rolnik DL, O’Gorman N, Delgado JL, et al. Screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks’ gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Aug;52(2):186–95.
 129. Vecchié A, Bonaventura A, Carbone F, Maggi D, Ferraiolo A, Carloni B, et al. C-Reactive Protein Levels at the Midpregnancy Can Predict Gestational Complications. *BioMed Res Int*. 2018;2018:1070151.
 130. Brien ME, Boufaied I, Bernard N, Forest JC, Giguere Y, Girard S. Specific inflammatory profile in each pregnancy complication: A comparative study. *Am J*

- Reprod Immunol N Y N 1989. 2020 Dec;84(6):e13316.
131. Kwiatkowski S, Dołęgowska B, Kwiatkowska E, Rzepka R, Marczuk N, Loj B, et al. Maternal endothelial damage as a disorder shared by early preeclampsia, late preeclampsia and intrauterine growth restriction. *J Perinat Med*. 2017 Oct 26;45(7):793–802.
 132. Kara AE, Guney G, Tokmak A, Ozaksit G. The role of inflammatory markers hs-CRP, sialic acid, and IL-6 in the pathogenesis of preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Eur Cytokine Netw*. 2019 Mar 1;30(1):29–33.
 133. Can M, Sancar E, Harma M, Guven B, Mungan G, Acikgoz S. Inflammatory markers in preeclamptic patients. *Clin Chem Lab Med*. 2011 Sep;49(9):1469–72.
 134. Hwang HS, Kwon JY, Kim MA, Park YW, Kim YH. Maternal serum highly sensitive C-reactive protein in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet*. 2007 Aug;98(2):105–9.
 135. Farzadnia M, Ayatollahi H, Hasan-Zade M, Rahimi HR. A Comparative Study of Serum Level of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (sVCAM-1), Intercellular Adhesion Molecule-1(ICAM-1) and High Sensitive C - reactive protein (hs-CRP) in Normal and Pre-eclamptic Pregnancies. *Iran J Basic Med Sci*. 2013 May;16(5):689–93.
 136. Kumru S, Godekmerdan A, Kutlu S, Ozcan Z. Correlation of maternal serum high-sensitive C-reactive protein levels with biochemical and clinical parameters in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2006 Feb 1;124(2):164–7.
 137. Karlı P, Özdemir AZ, Ayan D. Maternal Serum and Fetal Cord Blood C-Reactive Protein Levels but not Procalcitonin Levels Are Increased in Idiopathic Intrauterine Growth Restriction. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2019 Aug 30;25:6512–7.
 138. Kırıcı P, Çağıran FT, Kalı Z, Tanrıverdi EF, Mavral N, Ecin SM. Determination of maternal serum pro-inflammatory cytokine changes in intrauterine growth restriction. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2023 Mar;27(5):1996–2001.
 139. Nylandsted J, Brand K, Jäättelä M. Heat shock protein 70 is required for the survival of cancer cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;926:122–5.
 140. Powers MV, Clarke PA, Workman P. Death by chaperone: HSP90, HSP70 or both? *Cell Cycle Georget Tex*. 2009 Feb 15;8(4):518–26.
 141. Powers MV, Clarke PA, Workman P. Dual targeting of HSC70 and HSP72 inhibits HSP90 function and induces tumor-specific apoptosis. *Cancer Cell*. 2008 Sep 9;14(3):250–62.
 142. Zhu J, Li M, Li L. [Expression and significance of heat shock protein 70 in maternal

- serum, umbilical cord blood and placenta of patients with hypertensive disorders complicating pregnancy]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2014 Sep;49(9):676–80.
143. Hromadnikova I, Dvorakova L, Kotlabova K, Kestlerova A, Hympanova L, Novotna V, et al. Circulating heat shock protein mRNA profile in gestational hypertension, pre-eclampsia & foetal growth restriction. *Indian J Med Res*. 2016 Aug;144(2):229–37.
144. Barut F, Barut A, Dogan Gun B, Kandemir NO, Aktunc E, Harma M, et al. Expression of heat shock protein 70 and endothelial nitric oxide synthase in placental tissue of preeclamptic and intrauterine growth-restricted pregnancies. *Pathol Res Pract*. 2010 Sep 15;206(9):651–6.
145. Wataba K, Saito T, Takeuchi M, Nakayama M, Suehara N, Kudo R. Changed expression of heat shock proteins in various pathological findings in placentas with intrauterine fetal growth restriction. *Med Electron Microsc Off J Clin Electron Microsc Soc Jpn*. 2004 Sep;37(3):170–6.
146. Padmini E, Lavanya S, Uthra V. Preeclamptic placental stress and over expression of mitochondrial HSP70. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(9):1073–80.
147. Ilyas S, C Situmorang P. Role of Heat Shock Protein 70 (HSP70) after Giving Nanoherbal Haramonting (*Rhodomyrtus tomentosa*) in Preeclamptic Rats. *Pak J Biol Sci PJBS*. 2021 Jan;24(1):139–45.
148. Stepan H, Galindo A, Hund M, Schlembach D, Sillman J, Surbek D, et al. Clinical utility of sFlt-1 and PlGF in screening, prediction, diagnosis and monitoring of pre-eclampsia and fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2023 Feb;61(2):168–80.
149. Birdir C, Droste L, Fox L, Frank M, Fryze J, Enekwe A, et al. Predictive value of sFlt-1, PlGF, sFlt-1/PlGF ratio and PAPP-A for late-onset preeclampsia and IUGR between 32 and 37 weeks of pregnancy. *Pregnancy Hypertens*. 2018 Apr;12:124–8.
150. Nanjo S, Minami S, Mizoguchi M, Yamamoto M, Yahata T, Toujima S, et al. Levels of serum-circulating angiogenic factors within 1 week prior to delivery are closely related to conditions of pregnant women with pre-eclampsia, gestational hypertension, and/or fetal growth restriction. *J Obstet Gynaecol Res*. 2017 Dec;43(12):1805–14.
151. Dymara-Konopka W, Laskowska M, Grywalska E, Hymos A, Błażewicz A, Leszczyńska-Gorzela B. Similar Pro- and Antiangiogenic Profiles Close to Delivery in Different Clinical Presentations of Two Pregnancy Syndromes: Preeclampsia and Fetal Growth Restriction. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 4;24(2).
152. Chen W, Wei Q, Liang Q, Song S, Li J. Diagnostic capacity of sFlt-1/PlGF ratio in fetal

growth restriction: A systematic review and meta-analysis. *Placenta*. 2022 Sep;127:37–42.

153. Leños-Miranda A, Méndez-Aguilar F, Ramírez-Valenzuela KL, Serrano-Rodríguez M, Berumen-Lechuga G, Molina-Pérez CJ, et al. Circulating angiogenic factors are related to the severity of gestational hypertension and preeclampsia, and their adverse outcomes. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Jan;96(4):e6005.

10. Streszczenie w języku polskim

10.1 Wstęp

Zahamowanie wzrastania płodu, określane mianem hipotrofii, podobnie jak stan przedrzucawkowy, są przedmiotem wieloletnich badań i obserwacji. Pomimo to nadal nie udało się jednoznacznie ustalić powodów powstawania powyższych jednostek chorobowych. Powstało wiele hipotez dotyczących wieloczynnikowej etiologii tych schorzeń, z których kluczową rolę w ich rozwoju ma dysfunkcja łożyska. Obecnie coraz częściej postuluje się o rozpatrywanie powikłań ciąży, takich jak PE i FGR w aspekcie wspólnej patogenezy i traktowanie ich, jako jednej grupy zaburzeń określanych wspólną nazwą zespołów łożyskowych. Preeclampsja podobnie jak FGR dzielona jest aktualnie na dwie kategorie zaburzeń w zależności od wieku ciążowego. Zdecydowana większość przypadków dotyczy późnych typów zaburzeń. Ze względu na późną manifestację objawów powyższych chorób niezwykle trudna wydaje się diagnostyka i postawienie jak najszybciej rozpoznania. Poznanie nowych biomarkerów związanych z niewydolnością jednostki maciczo-łożyskowej pozwoli w przyszłości na lepsze zrozumienie powyższych patologii ciąży, a opracowane wyniki badań przyczynią się do udoskonalenia diagnostyki PE i FGR, umożliwią wcześniejsze rozpoczęcie leczenia, będą zapobiegać występowaniu powikłań i zwiększą przeżywalność noworodków i matek.

10.2 Cel pracy

Celem rozprawy była ocena potencjalnej roli HSP70 oraz HsCRP w patogenezie zaburzeń należących do spektrum niewydolności łożyska oraz próba wykazania związku pomiędzy powyższymi białkami a markerami angiogenezy.

10.3 Materiał i metodyka

Materiał badawczy stanowiły 172 pacjentki hospitalizowane w Klinice Położnictwa i Ginekologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie w latach 2018-2022. Badaniem objęte zostały pacjentki po 34 tygodniu ciąży, u których w badaniu USG stwierdzono przewidywaną niską masę urodzeniową płodu, oraz pacjentki z rozpoznaniem stanu przedrzucawkowego. Pacjentki te zostały podzielone na cztery grupy.

- pierwsza grupa - 39 kobiet z stwierdzonym u płodów SGA.
- druga grupa - 47 pacjentek z ciążą powikłaną FGR.
- trzecia grupa - 38 ciężarnych ze zdiagnozowanym stanem przedrzucawkowym.
- czwarta grupa - 48 zdrowych pacjentek o prawidłowym przebiegu ciąży, które stanowiły grupę kontrolną.

Badanie obejmowało następujące procedury: pobranie krwi żyłnej na surowicę od pacjentek, pobranie świeżej próbki moczu od pacjentek, pobranie krwi pępowinowej z żyły pępowinowej po porodzie oraz ocena ultrasonograficzna wewnątrzmacicznego stanu płodu.

Określenie stężeń biomarkerów (HsCRP oraz HSP70) zostało wykonane przy użyciu testów immunoenzymatycznych (ELISA). Pomiar stężenia białka szoku termicznego HSP70 wykonany został wysokoczułą ELISA (Abcam- nr. AB133061, Cambridge, Wielka Brytania). Stężenie białka C-reaktywnego także oznaczono metodą ELISA (Abcam- nr. AB260058, Cambridge, Wielka Brytania). Do ilościowego oznaczenia stężenia sFlt-1 wykorzystano test ECLIA sFlt-1 (Roche Diagnostics). Do ilościowego oznaczenia stężenia PlGF wykorzystano test ECLIA PlGF (Roche Diagnostics). Oznaczenia przeprowadzono metodą automatyczną za pomocą analizatora immunochemicznego Cobas 8000B (INFINITY). Do oceny jakościowej obecności białkomoczu jako jednego z kryteriów rozpoznania stanu przedrzucawkowego użyto aparatu Cobas u6500. Badanie ultrasonograficzne mające na celu określenie masy płodu i ocenę wzrastania płodu przeprowadzono, analizując parametry biometryczne oraz oceniając przepływy dopplerowskie przez tętnicę pępowinową, tętnicę środkową mózgu oraz tętnice maciczne.

10.4 Wyniki

W analizie statystycznej wykazano, że wartości stężeń badanych czynników wykazują korelację z obecnością patologii łożyska, która objawia się pod postacią zahamowania wzrastania płodu bądź stanu przedrzucawkowego. Mediana dla stężeń HsCRP w grupie kontrolnej wynosiła 1.44 mg/l i odpowiednio w grupie SGA, FGR i PE przyjmowała poziomy: 4.55 mg/l, 14.4 mg/l, 14.7 mg/l. Podobną zależność uzyskano dla wartości średnich HSP70. W przypadku tego ocenianego białka mediana dla grupy kontrolnej, SGA, FGR i PE odpowiednio wynosiła: 0.44 ng/ml, 0.54 ng/ml, 0.63 ng/ml i 0.78ng/ml. Ponieważ uzyskane wartości analizowanych, potencjalnych markerów okazały się istotne statystycznie względem grupy kontrolnej, przeprowadzono ocenę zdolności tych substancji w diagnozowaniu stanów patologicznych w przebiegu ciąży. Do tego celu zastosowano krzywe

ROC. Wyznaczono wartości progowe badanych zmiennych, oraz wyliczono dla nich poziomy czułości i swoistości testowanych białek oraz indeksu sFlt-1/PlGF. Dla przyjętych wartości granicznych HsCRP w grupie pacjentek z SGA, FGR i PE uzyskano swoistość i czułość odpowiednio na poziomach: 68.75% i 94.87%, 93.75% i 97.87% oraz 85.41% i 100%. W przypadku drugiej analizowanej nowej metody diagnostycznej, czyli testu ELISA HSP70 ryzyko dla wystąpienia FGR, przy wartości progowej równej 0,497984 oszacowano odpowiednio poprzez wyliczenie czułości i swoistości na poziomie 100% i 95.83%. Podobnie postąpiono celem oceny zdolności testu HSP70 dla pojawienia się stanu przedrzucawkowego. W tej grupie pacjentek analogicznie uzyskano czułość i swoistość testu na poziomie 97.36% i 93.75%. Kolejnym etapem przeprowadzanego badania była analiza użyteczności indeksu sFlt-1/PlGF do potwierdzenia niewydolności łożyska, w późnych typach powikłań, oraz odniesienie wartości współczynnika do uzyskanych wyników stężeń dwóch analizowanych białek. Mediana wskaźnika w przypadku PE wynosiła 81,8. Wartości średnie dla tej zmiennej w grupie pacjentek z FGR i SGA wyniosły odpowiednio 62 i 18, natomiast w grupie kontrolnej mediana wskaźnika była równa 13,6. Podobnie jak w przypadku HsCRP oraz HSP70, tak i wartości wskaźnika wykazują tendencję wzrostową w charakterystycznej kolejności: grupa kontrolna, SGA, FGR, PE. Na podstawie uzyskanych wyników przedstawiono istotne dodatnie korelacje pomiędzy stężeniami HsCRP, oraz indeksem sFlt-1/PlGF w grupie pacjentek z FGR, oraz pacjentek z PE. Współczynnik korelacji obydwu zmiennych u kobiet z zahamowaniem wzrastania płodu wynosił $r = 0,47$, co świadczy o umiarkowanej sile zależności, oraz $r = 0,83$ w grupie pacjentek z ciążą powikłaną stanem przedrzucawkowym. Ponadto dodatnie korelacje stwierdzono także w grupie pacjentek ze stanem przedrzucawkowym pomiędzy HSP70 a indeksem sFlt-1/PlGF, oraz pomiędzy HsCRP a stężeniami HSP70. Odpowiednio współczynniki Spearmana w tej grupie kobiet dla analizowanych parametrów wynosiły odpowiednio $r = 0,4$ i $r = 0,38$. Uzyskane wyniki wskazują także na istotną ujemną korelację w całej badanej populacji, udowadniając jednocześnie, że wzrost wartości badanych białek i wskaźnika sFlt-1/PlGF ma wpływ na skrócenie trwania ciąży. Istotną korelację uzyskano również analizując grupę FGR. W tej populacji stwierdzono związek pomiędzy masą płodu a wartością białka HSP70 przy $p = 0,00252$ i $r = 0,37$.

10.5 Wnioski

Stężenia HsCRP we krwi matek były wyższe w ciążach powikłanych FGR i PE, co potwierdza udział procesów zapalnych w mechanizmie powstawania obydwu patologii. Wyższe stężenia białka HSP70 w krwi pępowinowej były związane z ciążami przebiegającymi z dysfunkcją łożyska, a uzyskane wyniki potwierdzają rolę stresu oksydacyjnego w ich etiopatogenezie. Otrzymane znaczące różnice w stężeniach białka HSP70 u pacjentek z płodami SGA oraz płodami FGR pozwalają uznać to białko za potencjalny marker przydatny w diagnostyce różnicowej. Wyższe wartości wskaźnika markerów angiogenezy łożyskowej sFlt-1/PIGF potwierdzają jego znaczącą rolę w rozpoznawaniu patologii ciąży związanych z niewydolnością łożyska. Oceniane w badaniu trzy parametry (HsCRP, HSP70, wskaźnik sFlt-1/PIGF) miały tendencję do występowania w coraz wyższych wartościach w kolejności kontrola, SGA, FGR, PE, co wskazuje na najsilniejszą korelację powyższych parametrów ze stanem przedrzucawkowym. Potwierdzone zależności mogą być podstawą do opracowania nowych metod profilaktyki i nowych algorytmów diagnostycznych w analizowanych w badaniu patologich ciąży.

11. Streszczenie w języku angielskim

11.1 Introduction

Fetal growth retardation, known as hypotrophy, as well as pre-eclampsia, have been the subject of many years of research and observation. Despite this, the reasons for the formation of the above disease entities have still not been clearly established. A number of hypotheses have emerged regarding the multifactorial etiology of these conditions, of which placental dysfunction has a key role in their development. Nowadays, there is a growing demand to consider complications of pregnancy, such as PE AND FGR in terms of common pathogenesis and treat them, as one group of disorders referred to by the common name of placental syndromes. Preeclampsia, like FGR, is currently divided into two categories of disorders depending on gestational age. The vast majority of cases involve late types of the disorder. Due to the late manifestation of symptoms of the above diseases, it seems extremely difficult to diagnose and make a diagnosis as soon as possible. Learning about new biomarkers associated with the failure of the uteroplacental unit will allow a better understanding of the above pregnancy pathologies in the future, and the developed research results will contribute to improving the diagnosis of PE and FGR, allow earlier initiation of treatment, prevent the occurrence of complications and increase the survival rate of newborns and mothers.

11.2 Aim of the study

The purpose of the dissertation was to evaluate the potential role of HSP70 and HsCRP in the pathogenesis of disorders belonging to the spectrum of placental insufficiency and to try to demonstrate the relationship between the above proteins and markers of angiogenesis.

11.3 Material and methodology

The study material consisted of 172 patients hospitalized in the Department of Obstetrics and Gynecology at the Pomeranian Medical University in Szczecin in 2018-2022. The study included patients after the 34th week of pregnancy who had a predicted low fetal birth weight on ultrasound, and patients with a diagnosis of preeclampsia. These patients were divided into four groups.

- The first group - 39 women with fetal SGA diagnosed.
- The second group - 47 patients with pregnancies complicated by FGR.
- The third group - 38 pregnant women with diagnosed pre-eclampsia.
- The fourth group - 48 healthy patients with normal pregnancies, who constituted the control group.

The study included the following procedures: collection of venous blood for serum from patients, collection of a fresh urine sample from patients, collection of umbilical cord blood from the umbilical vein after delivery, and ultrasound evaluation of intrauterine fetal status.

Determination of biomarker concentrations (HsCRP and HSP70) was performed using immunoenzymatic assays (ELISA). The concentration of heat shock protein HSP70 was measured with a high-sensitivity ELISA (Abcam- No. AB133061, Cambridge, UK). C-reactive protein concentration was also determined by ELISA (Abcam- no. AB260058, Cambridge, UK). For quantitative determination of sFlt-1 concentration, ECLIA sFlt-1 assay (Roche Diagnostics) was used. For quantification of PlGF concentration, the ECLIA PlGF assay (Roche Diagnostics) was used. The determinations were carried out using an automated method with a Cobas 8000B immunochemical analyzer (INFINITY). A Cobas u6500 was used to qualitatively assess the presence of proteinuria as one of the criteria for diagnosing preeclampsia. Ultrasound examination to determine fetal weight and assess fetal growth was performed by analyzing biometric parameters and evaluating Doppler flows through the peptic artery, middle cerebral artery and uterine arteries.

11.4 Results

Statistical analysis showed that the values of the concentrations of the studied factors show a correlation with the presence of placental pathology, which manifests itself in the form of fetal growth retardation or pre-eclampsia. The median for HsCRP concentrations in the control group was 1.44 mg/dL, and in the SGA, FGR and PE groups, respectively, took the levels: 4.55 mg/l, 14.4 mg/l, 14.7 mg/l. A similar relationship was obtained for the median values of HSP70. For this evaluated protein, the median values for the control group, SGA, FGR and PE, respectively, were: 0.44 ng/ml, 0.54 ng/ml, 0.63 ng/ml and 0.78ng/ml. Since the obtained values of the analyzed potential markers turned out to be statistically significant relative to the control group, an evaluation of the ability of these substances in diagnosing pathological conditions in the course of pregnancy was carried out. ROC curves were used for this purpose. The threshold values of the tested variables were determined, and the

sensitivity and specificity levels of the tested proteins and the sFlt-1/PlGF index were calculated for them. For the adopted cutoff values of HsCRP in the group of patients with SGA, FGR and PE, the specificity and sensitivity were obtained at levels of: 68.75% and 94.87%, 93.75% and 97.87%, and 85.41% and 100%. For the second new diagnostic method analyzed, the HSP70 ELISA, the risk for FGR, with a threshold value of 0.497984 was estimated by calculating sensitivity and specificity at 100% and 95.83% respectively. The same was done to assess the ability of the HSP70 test for the appearance of preeclampsia. In this group of patients, analogously, the sensitivity and specificity of the test were obtained at 97.36% and 93.75%. The next stage of the conducted study was to analyze the utility of the sFlt-1/PlGF index for confirming placental insufficiency, in late types of complications, and to relate the value of the index to the obtained results of the concentrations of the two analyzed proteins. The median value of the index in the case of PE was 81.8. The median values for this variable in the group of FGR and SGA patients were 62 and 18, respectively, while in the control group the median value of the index was 13.6. As in the case of HsCRP and HSP70, the values of the index show an increasing trend in a characteristic order: control group, SGA, FGR, PE. Based on the results, significant positive correlations between HsCRP concentrations, and the sFlt-1/PlGF index in the group of patients with FGR, and patients with PE were presented. The correlation coefficient of both variables in women with fetal growth retardation was $r = 0.47$, indicating a moderate strength of the relationship, and $r = 0.83$ in the group of patients with pregnancies complicated by preeclampsia. In addition, positive correlations were also found in the group of patients with preeclampsia between HSP70 and the sFlt-1/PlGF index, and between HsCRP and HSP70 concentrations. The corresponding Spearman coefficients in this group of women for the analyzed parameters were $r = 0.4$ and $r = 0.38$, respectively. The results also indicate a significant negative correlation in the entire study population, proving at the same time that an increase in the values of the studied proteins and the sFlt-1/PlGF index has an impact on shortening the duration of pregnancy. A significant correlation was also obtained by analyzing the FGR group. In this population, an association was found between fetal weight and HSP70 protein values with $p = 0.00252$ and $r = 0.37$.

11.5 Conclusions

HsCRP concentrations in maternal blood were higher in pregnancies complicated by FGR and PE, confirming the involvement of inflammatory processes in the mechanism of both

pathologies. Higher concentrations of HSP 70 protein in cord blood were associated with pregnancies with placental dysfunction, and the results confirm the role of oxidative stress in their etiopathogenesis. The obtained significant differences in HSP70 protein levels in patients with SGA fetuses and FGR fetuses allow us to consider this protein as a potential marker useful in differential diagnosis. Higher values of the placental angiogenesis marker sFlt-1/PIGF confirm its significant role in the diagnosis of pregnancy pathologies associated with placental insufficiency. The three parameters evaluated in the study (HsCRP, HSP70, sFlt-1/PIGF index) tended to have increasingly higher values in the order of control, SGA, FGR, PE, indicating the strongest correlation of the above parameters with pre-eclampsia. The confirmed correlations can be the basis for developing new methods of prevention and new diagnostic algorithms in the pregnancy pathologies analyzed in the study.

12. Spis tabel

Tabela 1. Porównanie parametrów między grupą SGA a grupą kontrolną.....	31
Tabela 2. Porównanie parametrów między grupą PE a grupą kontrolną.....	32
Tabela 3. Porównanie parametrów między grupą FGR a grupą kontrolną.....	33
Tabela 4. Zestawienie udziału cech jakościowych.....	34
Tabela 5. Statystyka opisowa dla badanych parametrów: q1,3- 1,3 kwartył.....	35
Tabela 6. Statystyka opisowa dla badanych parametrów: iqr - rozstęp międzykwartyłowy, sd - odchylenie standardowe, se - błąd standardowy, 95% CI - przedział ufności.....	35
Tabela 7. Próg, swoistość oraz czułość zmiennych HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej oraz sFlt-1/PlGF w grupach SGA, PE oraz FGR.....	41
Tabela 8. Korelacja pomiędzy ocenianymi parametrami HSP70, HsCRP oraz sFlt-1/PlGF w poszczególnych grupach pacjentek oraz w obrębie całej badanej grupy.....	46
Tabela 9. Korelacja pomiędzy ocenianymi parametrami HSP70, HsCRP, sFlt-1/PlGF oraz czasem trwania ciąży w poszczególnych grupach pacjentek oraz w obrębie całej badanej grupy.....	47
Tabela 10. Korelacja pomiędzy ocenianymi parametrami HSP70, HsCRP, sFlt-1/PlGF oraz masą urodzeniową noworodka w poszczególnych grupach pacjentek oraz w obrębie całej badanej grupy.....	47
Tabela 11. Porównanie parametrów pacjentek w grupach SGA i FGR.....	48

13. Spis wykresów

Wykres 1. Histogramy badanych parametrów z podziałem na grupę SGA i kontrolną.....	36
Wykres 2. Histogramy badanych parametrów z podziałem na grupę FGR i kontrolną.....	37
Wykres 3. Histogramy badanych parametrów z podziałem na grupę PE i kontrolną.....	38
Wykres 4. Krzywe ROC dla zmiennych HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej oraz sFlt-1/PlGF w grupie SGA.....	39
Wykres 5. Krzywe ROC dla zmiennych HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej oraz sFlt-1/PlGF w grupie PE.....	40
Wykres 6. Krzywe ROC dla zmiennych HsCRP z krwi matki, HSP70 z krwi pępowinowej oraz sFlt-1/PlGF w grupie FGR.....	41
Wykres 7. Porównanie grup kontrolnej, SGA, FGR oraz PE ze względu na HsCRP w krwi matki.....	43
Wykres 8. Porównanie grup kontrolnej, SGA, FGR oraz PE ze względu na HSP70 w krwi pępowinowej.....	44
Wykres 9. Porównanie grup kontrolnej, SGA, FGR oraz PE ze względu na sFlt-1/PlGF.....	45
Wykres 10. Porównanie wpływu badanych czynników na ryzyko wystąpienia SGA, FGR i PE.....	50