

UNIVERZITET U BEOGRADU

FARMACEUTSKI FAKULTET

Tijana M. Krnjeta

**UTVRĐIVANJE POVEZANOSTI
GENSKOG POLIMORFIZMA COMT,
TNF- α , TNFR1, IL-1 α I IL-10 SA RIZIKOM
POJAVE RANE PREEKLAMPSIJE I
NJENIH KOMPLIKACIJA**

doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERZITET U BEOGRADU

FARMACEUTSKI FAKULTET

Tijana M. Krnjeta

**UTVRĐIVANJE POVEZANOSTI
GENSKOG POLIMORFIZMA COMT,
TNF- α , TNFR1, IL-1 α I IL-10 SA RIZIKOM
POJAVE RANE PREEKLAMPSIJE I
NJENIH KOMPLIKACIJA**

doktorska disertacija

Beograd, 2016.

**UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHARMACY**

Tijana M. Krnjeta

**ASSOCIATION BETWEEN COMT, TNF- α ,
TNFR1, IL-1 α AND IL-10 GENETIC
POLYMORPHISMS WITH A RISK OF
EARLY PREECLAMPSIA AND IT'S
COMPLICATION**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

PODACI O MENTORU I ČLANOVIMA KOMISIJE

Članovi komisije:

Mentor: Prof. dr Svetlana Ignjatović,
Redovni profesor, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet

Mentor: Prof. dr Ljiljana Mirković,
Vanredni profesor, Univezitet u Beogradu, Medicinski fakultet
Prof. dr Vesna Spasojević Kalimanovska,
Redovni profesor, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet

Datum odbrane: _____

ZAHVALNOST

Zahvaljujem se svojim mentorima, Prof. dr Svetlani Ignjatović i Prof. dr Ljiljani Mirković na inspiraciji, tutorstvu i nesebičnoj podršci koje su pružile prilikom izrade ovog rada. Raditi u industriji biti odsutan sa Klinike predstavljao je poseban izazov za mene, koji sam uspešno savladala samo zahvaljujući njihovoj nesebičnoj podršci. Njihovo znanje i želja za stalnim stručnim usavršavanjem i praćenjem najnovijih informacija i rezultata istraživanja su inspirisale moj rad i verujem da će tako ostati i dalje.

Posebnu zahvalnost dugujem Prof. dr Nadi Majkić-Singh na mom dosadašnjem profesionalnom razvoju, mentorstvu tokom studija i nakon studija i poverenju u stručnoj i profesionalnoj saradnji.

Moja iskrena zahvalnost upućena je i Prof. dr Vesni Spasojević Kalimanovska, što je prihvatila da učestvuje u izradi ove disertacije kao član komisije. Njene sugestije i korekcije su mi bile od velike pomoći.

Duboku zahvalnost dugujem i Mr Sci Drini Topalov i njenom timu laboratorije „Konzilijum“ na izuzetnom radu, stručnosti i pomoći prilikom eksperimentalnog dela rada.

Zahvaljujem se Olgi Radić i kolegama Roche Diagnostics Srbija za razumevanje i podršku tokom mojih doktorskih studija.

Svojim roditeljima dugujem posebnu zahvalnost za ljubav, razumevanje, podršku i inspitaciju koju su mi pružili.

Ovaj rad posvećujem svojim roditeljima,

Radmili i Milanu Krnjeta,

u znak zahvalnosti za njihovu bezgraničnu ljubav,

razumevanje i pruženu podršku

PODACI O DOKTORSKOJ DISERTACIJI

Naslov: Utvrđivanje povezanosti genskog polimorfizma COMT, TNF- α , TNFR1, IL-1 α i IL-10 sa rizikom pojave rane preeklampsije i njenih komplikacija

Rezime

Preeklampsija (PE) se smatra jednim od vodećih uzročnika mortaliteta i morbiditeta majke, kao i perinatalnog mortaliteta i morbiditeta. Posebnu pažnju potrebno je posvetiti ranoj PE i teškom obliku PE, zbog potvrđene korelacije sa jako visokim stepenom morbiditeta i pojavom teških zdravstvenih komplikacija. Mehanizam nastanka PE je još uvek nepoznat. U poslednjih nekoliko godina se kao etiološka hipoteza izdvaja hipoteza kombinovanog prekomernog inflamatornog odgovora i disbalansa angiogenih faktora. Analizom epidemioloških podataka, utvrđeno je da genetski faktori predstavljaju jedan od ključnih faktora rizika za razvoj PE. Katehol-O-metil transferaza (COMT; EC 2.1.1.6) gen i geni inflamatornih citokina predstavljaju gene kandidate za PE sa izuzetnim potencijalom.

Cilj istraživanja bio je da se ispita potencijalna povezanost između Val158Met COMT, TNF- α -857 C>T, TNFR1 36 A>G, IL-1 α 4845 G>T i IL-10 -1082 A>G polimorfizama i rizika razvoja rane preeklampsije (PE) i njenih komplikacija.

Ispitivana populacija je obuhvatila dve grupe. Prvu grupu je činilo 47 pacijentkinja sa ranom PE, dok je drugu grupu činilo 47 zdravih ispitanica (kontrolna grupa). Grupa pacijentkinja sa PE je podeljena u dve podgrupe prema dva različita kriterijuma, težini PE i težini novorođenčeta. Antenatalna nega je izvršena prema protokolu i vodičima dobre kliničke prakse. Deo analizirane EDTA pune krvi zamrznut je na temperaturu -70 °C za DNK ekstrakciju i genotipizaciju. Izolacija DNK urađena je komercijalnim setom za izolaciju DNK (Roche Diagnostics). Detekcija prisustva mutacije gena inflamatornih citokina i COMT enzima je urađena pomoću amplifikacije lančane reakcije DNK, PCR metodom pomoću GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems). Proizvod PCR reakcije za polimorfizam inflamatornih citokina je digestovan EXOsap IT enzimom, NlaIII enzimom (Hin1II Thermo SCIENTIFIC) za COMT polimorfizam. Za analizu je korišćen Sanger sekvencioni metod (inflamatorni citokini) odnosno elektroforeza i vizuelizacija Wilber Lourmat metodom (COMT). Poređenje opštih kliničkih karakteristika je vršeno t-testom ili Wilcox rank sum testom.

Poređenje učestalosti alela i genotipa je izvršeno kontigent analizom ili Fišerovim testom verovatnoće.

Pacijentkinje sa PE su u proseku bile starije i imale veći indeks telesne mase u poređenju sa pacijentkinjama iz kontrolne grupe. U genotipskoj analizi COMT genskog polimorfizma, učestalost PE je bila najmanja u homozigotnoj grupi (OR=0,308; 95% IP=0,096-0,984). U alelskoj analizi, ukoliko se radi o Met alelu, šansa da dođe do PE je dva puta manja u odnosu na Val alel (OR=0,524; 95% IP=0,294-0,937). U autozomno recesivnom modelu, pokazano je da šansa da dođe do PE je gotovo četiri puta manja ukoliko se radi o Me-Met u odnosu na Val-Val/Met-Val (OR=0,277; 95% IP=0,107-0,720). Šansa da dođe do razvoja teške PE je tri puta manja ukoliko je prisutan Met-Met (OR=0,300; 95% IP=0,104-0,863). IL-1 α GT genotip je u genotipskoj analizi pokazao povezanost sa manjom učestalošću PE u heterozigotnoj grupi (OR=0,225; 95% IP=0,081-0,624), dok je još manja bila u homozigotnoj grupi (OR=0,165; 95% IP=0,032-0,867). U autozomno dominantnom modelu pokazano je da je šansa da dođe do PE pet puta manja ukoliko se radi o GT i TT u odnosu na GG (OR=0,208; 95% IP=0,083-0,526). Šansa da dođe do razvoja teške PE odnosno PE bez teških karakteristika je četiri (OR=0,237; 95% IP=0,086-0,652), odnosno deset puta manja (OR=0,105; 95% IP=0,021-0,513) ukoliko se radi o GT i TT alelima u odnosu na GG. Šansa da dođe do PE sa SGA, odnosno PE sa AGA je četiri (OR=0,261; 95% IP=0,098-0,691), odnosno dvanaest puta manja (OR=0,080; 95% IP=0,010-0,670) ukoliko se radi o GT i TT grupi u odnosu na GG grupu.

COMT i IL-1 α mogu biti potencijalni geni kandidati za razvoj rane PE, težeg oblika PE kao i manje telesne mase za gestacijski uzrast novorođenčeta.

Ključne reči: COMT, citokini, polimorfizam, preeklampsija, teška, SGA

Naučna oblast: Medicinske nauke – farmacija

Uža naučna oblast: Medicinska biohemija

UDK broj: 618.3-06:[616.12-008.331.1:543.645(043.3)

REVIEW OF PHD THESIS

Title: Association between COMT, TNF- α , TNFR1, IL-1 α and IL-10 genetic polymorphisms with a risk of early preeclampsia and its complication

Abstract

Preeclampsia (PE) is considered as one of the leading causes of maternal and perinatal mortality and morbidity. Special attention should be paid to the early and severe form of PE, due to the confirmed correlation with a very high morbidity rate and the emergence of serious health complications. The mechanism of PE is still unknown. In the last few years, the hypothesis of combined excessive inflammatory response and imbalance of angiogenic factors was proposed as the etiological hypothesis. By epidemiological data analysis, it was shown that genetic factors are one of the key risk factors for the development of PE. Catechol-O-methyltransferase (COMT; EC 2.1.1.6) gene and genes of inflammatory cytokines are considered as PE candidate genes with exceptional potential.

The goal of this study was to assess the potential association between Val158Met COMT, TNF- α -857 C>T, TNFR1 36 A>G, IL-1 α 4845 G>T and IL-10 -1082 A>G polymorphisms and risk of early-onset preeclampsia (PE) and its complications.

The study included two groups. The first group consisted of 47 early-onset PE patients and the second group consisted of 47 healthy subjects (control group). The PE group was divided into two subgroups according to two different criteria, PE severity and newborn weight. Antenatal care was carried out according to the protocol and good clinical practice guidelines. EDTA whole blood was frozen at -70 °C for DNA extraction and genotyping. DNA isolation was done with a DNA isolation kit (Roche Diagnostics). The detection of the gene mutation presence for inflammatory cytokines and COMT enzyme was performed with the PCR method using GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems). The product of the PCR reaction for inflammatory cytokines polymorphism was digested by the EXOSAP IT enzyme, while the product of the PCR reaction for COMT polymorphism was digested by NlaIII enzyme (Hin1III Thermo Scientific). Sanger sequencing methods (inflammatory cytokines) or electrophoresis and visualization by the Wilber Lourmat method (COMT) were used for further analysis. Comparison of the general clinical characteristics was carried out using

t-test or the Wilcoxon Rank Sum test. Comparison of alleles and genotypes was made by contingency analysis or Fisher probability test.

Patients with PE were in general older and had a higher body mass index in comparison to the control group. The genotype analysis of COMT gene polymorphism showed that the frequency of PE was the lowest in homozygous group (OR = 0.308; 95% CI = 0.096 to 0.984). The allelic analysis showed that in comparison to the Val allele, Met allele was associated with two times lower chances for PE development (OR = 0.524; 95% CI = 0.294 to 0.937). The autosomal recessive model showed that Met-Met was associated with nearly four times lower chances for PE development in comparison to Val-Val / Met-Val (OR = 0.277, 95% CI = 0.107 to 0.720). Met-Met was also associated with three times lower chances for severe PE development (OR = 0.300; 95% CI = 0.104 to 0.863). In genotype analysis, IL-1 α heterozygous genotype was associated with a lower PE incidence (OR = 0.225; 95% CI = 0.081 to 0.624), and homozygous genotype with even lower PE incidence (OR = 0.165; 95% CI = 0.032 - 0.867). Autosomal dominant model showed that in case of GT and TT compared to GG, the chance for PE was five times lower (OR = 0.208; 95% CI = 0.083 to 0.526). In case of GT and TT allele compared to GG, chance for severe PE development was four times lower (OR = 0.237; 95% CI = 0.086 to 0.652) and chance for PE without severe features development was ten times lower (OR = 0.105; 95% CI = 0.021 to 0.513). In case of GT and TT group compared to the GG group, the chance for PE SGA was four times lower (OR = 0.261; 95% CI = 0.098 to 0.691) and the chance for PE AGA was twelve times lower (OR = 0.080; 95% CI = 0.010 to 0.670).

COMT and IL-1 α may be used as candidate genes for early-onset PE and its severe form and SGA complications.

Key words: COMT, cytokines, polymorphism, preeclampsia, severe, SGA

Scientific area: Medical sciences – Pharmacy

Subfield: Medical biochemistry

UDC number: 618.3-06:[616.12-008.331.1:543.645(043.3)]

SADRŽAJ

UVOD	2
CILJEVI RADA	34
METODE RADA.....	35
REZULTATI	40
DISKUSIJA.....	87
ZAKLJUČAK.....	99
LITERATURA	101

1. U V O D

1.1 KLASIFIKACIJA I POSTAVLJANJE DIJAGNOZE PREEKLAMPSIJE

Hipertenzivni poremećaji u trudnoći predstavljaju heterogenu grupu oboljenja čija se klasifikacija razlikuje prema publikacijama objavljenim od strane različitih nacionalnih i/ili internacionalnih udruženja. Do sada se najviše uzima u obzir jedna jednostavna, precizna i praktična klasifikacija koja deli hipertenzivne poremećaje u četiri kategorije: preeklampsija-eklampsija, hronična hipertenzija, hronična hipertenzija sa superponiranom preeklampsijom i gestaciona hipertenzija(1).

Preeklampsija (PE) se definiše kao novonastala hipertenzija plus novonastala proteinurija posle 20-te nedelje trudnoće. Razvoj novonastale hipertenzije se definiše kao perzistentni sistolni krvni pritisak (KP) od 140 mm Hg ili viši, ili dijastolni KP od 90 mm Hg ili viši u dva merenja sa minimalnim vremenskim razmakom od 4 sata, koji se javio nakon 20-te nedelje gestacije kod žena koje su prethodno bile normotenzivne. Optimalno merenje KP podrazumeva merenje kod pacijenta koji je u udobnom sedećem položaju, sa nogama koje nisu prekrštene, čija su leđa i ruke udobno smeštene tako da sredina manžetne za merenje bude u visini desne pretkomore. Trebalo bi savetovati pacijentkinju da se opusti i da ne priča tokom merenja. Idealno bi bilo da prođe 5 minuta u navedenom položaju pre nego što se izvrši merenje. Ako je KP povišen u prvom određivanju, potrebno je da se određivanje ponovi nakon nekoliko minuta, u cilju eliminacijepojave lažno povišenog pritiska. Pored hipertenzije, potrebno je da su kod pacijentkinje ispunjeni dodatni kriterijumi. U najvećem broju slučajeva je to pojava proteinurije. Proteinurija se definiše kao ekskrecija 300 mg ili više proteina u 24h-urinu. U slučajevima kada nije moguće izvršiti sakupljanje 24-h urina, podjednako prihvatljiv kriterijum za dijagnozu je odnos protein/kreatinin, čija vrednost mora preći 0,3 (u slučaju kada su oba parametra određena u jedinicama mg/dL). Samo u slučajevima kada kvantitativne metode nisu dostupne, treba koristiti test trake za kvalitativno određivanje proteina u urinu uz primenu kriterijuma 1+, jer kvalitativne metode pokazuju dosta lažno pozitivnih i lažno negativnih rezultata. U odsustvu proteinurije, dijagnoza PE se može postaviti na osnovu novonastale hipertenzije prema prethodno definisanim kriterijumima uz pojavu trombocitopenije (broj trombocita $< 100.000/\mu\text{L}$), oštećene

funkcije jetre (povišena aktivnost enzima jetre – transaminaza, dva puta od gornje granice referentnog intervala), novorazvijene bubrežne insuficijencije (koncentracija kreatinina u serumu $> 97 \mu\text{mol/L}$ ili udvostručavanje koncentracije kreatinina u serumu u odsustvu drugih bubrežnih oboljenja), plućnog edema ili novonastalih vizuelnih odnosno cerebralnih poremećaja(2).

Težak oblik PE se definiše ispunjavanjem bilo kod od navedenih kriterijuma: sistolni KP od 160 mm Hg ili viši ili dijastolni KP od 110 mm Hg ili viši, u dva merenja sa minimalnim vremenskim razmakom od 4 sata, izmeren kod trudnica kojese u mirovanju (ukoliko prethodno nije započeta antihipertenzivna terapija); trombocitopenija (broj trombocita $< 100.000/\mu\text{L}$), oštećena funkcija jetre (povišena aktivnost enzima jetre – transaminaza, dva puta od gornje granice referentnog intervala ili težak perzistentni epigastrični bol ili bol u gornjem kvadrantu koji ne reaguje na lekove protiv bolova i nije posledica alternativne dijagnoze), progresivna bubrežna insuficijencija (koncentracija kreatinina u serumu $> 97 \mu\text{mol/L}$ ili udvostručavanje koncentracije kreatinina u serumu u odsustvu drugih bubrežnih oboljenja), plućni edem ili novonastali vizuelni odnosno cerebralni poremećaji. Skorije studije ukazuju na minimalnu korelaciju između veličine proteinurije i ishod trudnoće u preeklampsiji, pa tako masivna proteinurija ($> 5 \text{ g} / 24\text{h}$) nije više kriterijum za teškuPE(3,4).

PE sa odsustvom karakteristika „teške PE“ se u literaturi ranije klasifikovala kao blaga PE. Međutim, ovu klasifikaciju odnosno pojam „blage PE“ bi trebalo izbegavati jer se čak i kod PE u odsustvu teških karakteristika javlja visok stepen mortaliteta i morbiditeta. Iz tog razloga preporuka je da se koristi naziv „PE bez teških karakteristika“. Kod određenog broja pacijentkinja javlja se specifična kombinacija laboratorijskih nalaza: hemoliza, povišena aktivnost enzima jetre i nizak broj trombocita; ovaj sindrom se označava kao „HELLP“ sindrom. Navedena konstelacija laboratorijskih nalaza odnosno sindrom se obično smatra podtipom preeklampsije. U slučaju odsustva dodatnih kriterijuma za potvrdu PE, razlikovanje „HELLP“ sindroma od trombocitne trombocitopenijske purpure se obično vrši određivanjem aktivnosti enzima LDH (5).

Eklampsija se definiše kao prisustvo novonastalih *grand mal* epileptičnih napada kod žena sa dijagnostikovanom PE. Eklampsija se može javiti pre, u toku ili nakon porođaja. Predstavlja konvulzivnu fazu PE i smatra se jednom od najtežih manifestacija

oboljenja. Obično joj prethode opominjujući događaji, poput teških glavobolja i hiperrefleksija, ali se može pojaviti i u odsustvu ovih upozoravajućih znaka i simptoma. Dodatni uzroci pojave *grand mal* epileptičnih napada u trudnoći, pored eklampsije, uključuju rupturu aneurizme, krvarenje arterio-venske malformacije ili idiopatska pojava napada. Obično su navedene alternativne dijagnoze prisutne u slučajevima kada se *grand mal* napad javi 48-72h od momenta porođaja ili kod primene terapije antiepilepticima sa magnezijum sulfatom (6).

U trudnoći, hronična hipertenzija se definiše kao hipertenzija sa visokim krvnim pritiskom koji je bio prisutan pre trudnoće ili se razvio u trudnoći, ali pre 20. nedelje gestacije. Ranije je postojala sugestija da u slučajevima kada se visok krvni pritisak razvije u prvoj polovini trudnoće, a onda nestane u drugoj polovini trudnoće, da se oni označavaju kao „prolazna hipertenzija“, ali se sada preporučuje izbegavanje tog termina jer se često dešava nemogućnost izmene odnosno modifikacije naziva u otpusnim listama (2).

Hronična hipertenzija sa superponiranom preeklampsijom se definiše kao razvoj proteinurije nakon 20. nedelje gestacije kod trudnica kod kojih je bila prisutna samo hipertenzija pre 20. nedelje gestacije ili razvoj sledećih karakteristika kod trudnica kod kojih je bila prisutna i hipertenzija i proteinurija pre 20. nedelje gestacije: iznenadno pogoršanje hipertenzije ili potreba za povećanjem doze antihipertenzivnih lekova u prethodno dobro kontrolisanom stanju, iznenadna manifestacija ostalih znaka i simptoma PE poput abnormalnog povećanja aktivnosti enzima jetre, pad broja trombocita na manje od 100.000/ μ L, manifestacija simptoma poput bola u gornjem desnom kvadrantu ili jakih glavobolja, razvoj bubrežne insuficijencije (dvostruko povećanje koncentracije kreatinina ili koncentracija >97 μ mol/L kod žena sa prethodnim odsustvom bubrežnih oboljenja) ili iznenadna pojava konstantnog povećanja izlučivanja proteina urinom (2). Potrebno je napomenuti da prema dokazima navedenim u različitim studijama, dijagnoza superponirane preeklampsije je često pogrešna(7). Što se tiče stratifikacije superponirane PE, ako je jedina manifestacija porast sistolnog KP na nivo iznad 160 mm Hg odnosno dijastolnog KP na nivo iznad 100 mm Hg, onda se to smatra superponiranom PE „bez teških karakteristika“. Prisustvo disfunkcije organa se smatra superponiranom PE „sa teškim karakteristikama“. Tretman pacijentkinja ova dva podtipa superponirane PE se izvodi u skladu sa različitim menadžmentom

pacijentkinja sa PE „sa teškim karakteristikama“ i pacijentkinja sa PE „bez teških karakteristika“ (2).

Gestaciona hipertenzija se karakteriše pojavom hipertenzije nakon 20. nedelje gestacije uz odsustvo pojave proteinurije. Ona bi trebalo da nestane nakon porođaja, odnosno da dođe do normalizacije krvnog pritiska. U slučaju da krvni pritisak ne može da se normalizuje nakon porođaja, potrebno je da se dijagnoza gestacione hipertenzije promeni u hroničnu hipertenziju. Što se tiče ishoda, iako se u gestacionoj hipertenziji mogu detektovati ozbiljni skokovi krvnog pritiska kao kod PE, ipak je ishod uglavnom pozitivan kod žena sa gestacionom hipertenzijom. Uzrok gestacione hipertenzije je još uvek nepoznat. Potrebno je obratiti pažnju na ove pacijentkinje, jer se dešava da pojava hipertenzije prethodi pojavi proteinurije ili disfunkcije drugih organa, i time pojavi PE. Zato ove pacijentkinje zahtevaju ozbiljan nadzor. Dodatan razlog potrebe za intenzivnijim nadzorom je činjenica da ove pacijentkinje imaju povišen rizik pojave hronične hipertenzije kasnije u životu (8, 9).

PE se smatra heterogenim oboljenjem, koje se prema težini oboljenja može klasifikovati i po vremenu nastanka. Rana PE se definiše kao PE koja se javlja pre 34. nedelje gestacije. Kasna PE je PE koja se razvila posle 34. nedelje gestacije. Smatra se da je etiologija nastanka ova dva subtipa (rane i kasne PE) potpuno različita. Potvrđeno je da je rana PE posebno povezana sa višim rizikom pojave životno ugrožavajućih komplikacija kod majke odnosno pojave letalnog ishoda kod ploda (10).

1.2 EPIDEMIOLOŠKI PODACI

Prema rezultatima studije koju su izveli Abalos i saradnici, a koja je obuhvatila pet regiona Svetske zdravstvene organizacije i 29 zemalja, globalna incidencija preeklampsije i eklampsije je 2,16% odnosno 0,28%. Incidencija PE je najviša u regionu Amerike (3,88%), zatim u regionu zapadnog Pacifika (2,16%), regionu Afrike (1,56%), regionu jugoistočne Azije (1,51%), i regionu istočnog mediterana (1,39%); dok je incidencija eklampsije najviša u regionu Afrike (0,55%) praćena regionom jugoistočne Azije (0,26%), regionom Amerike (0,21%) i regionom istočnog Mediterana (0,18%). Faktori rizika za razvoj PE uključuju hroničnu hipertenziju (odnos šansi – *Odds Ratio*(OR): 8,2), bubrežna oboljenja (OR: 4,52), bolesti jetre (OR: 4,07) i anemiju

(OR: 4,06). Preeklampsija se češće javlja kod žena starijih od 35 godina (OR: 1,78), dok eklampsija ima veću incidenciju kod mladih žena (<19 godina) (OR: 1,66) (11). Uočena je pozitivna korelacija između nivoa triglicerida kod trudnice u prvom trimestru i rizika razvoja PE: rizik raste 2,4% na 7% sa porastom nivoa triglicerida od 0,6 mmol/L (2,5-ti percentil) do 2,67 mmol/L (97,5-ti percentil) redom (12). Pacijentkinje koje su pre trudnoće bile gojazne imaju četiri puta viši rizik za razvoj PE u poređenju sa pacijentkinjama koje imaju indeks telesne mase *body mass index* (BMI) u granicama referentnog intervala (8,4% u odnosu na 1,7%). Gestacioni dijabetes je povezan sa dva puta višim rizikom razvoja PE u poređenju sa prisustvom negestacionog dijabetesa (2,26 u odnosu na 4,08%; $p < 0.001$) (13).

U Americi je pokazano da incidencija PE raste tokom trudnoće sa porastom gestacione starosti, sa 0,001% od 20. nedelje gestacije na 0,962% do 40. nedelje gestacije (10). Dodatno, Američke studije su pokazale trend u rastu incidencije od 1979. godine do 2006. godine (OR prevalencije za afroamerikanke 0,76 odnosno 0,29 za belkinje) (14). Žene sa hroničnom hipertenzijom imaju više od 10 puta veći rizik za razvoj rane PE (korigovani odnos hazarda – *Hazard Ratio* (HR): 11,7 [95% interval pouzdanosti – *confidence interval* (CI): 10,1 – 13,6]) odnosno približno 5 puta veći rizik za razvoj kasne PE (korigovani HR: 5,8 [95% CI: 5,4 – 6,3]) u poređenju sa ženama bez hronične hipertenzije. Prvorotkinje se vezuju za dva puta veći rizik razvoja PE (korigovani HR za ranu PE: 2,13 [95% CI: 1,92 – 2,37]; HR za kasnu PE: 2,67 [95% CI: 2,57 – 2,78]) (10).

PE predstavlja jedan od vodećih uzroka mortaliteta i morbiditeta pacijentkinja kao i perinatalnog mortaliteta i morbiditeta (2, 11, 16-17). Posebnu pažnju potrebno je posvetiti ranoj PE i teškom obliku PE, jer je potvrđena njihova korelacija sa jako visokim stepenom morbiditeta i čestom pojavom teških zdravstvenih komplikacija (15). Kod trudnica sa PE i eklampsijom, u odnosu na zdrave žene, viša je incidencija indukovano porođaja (18,5% odnosno 17,8% u odnosu na 10,3%), carskog reza (60,8% odnosno 58,0% u odnosu na 27,7%) i prevremenog porođaja (10,4% odnosno 17,7% u odnosu na 1,9%). Kod trudnica sa potvrđenom dijagnozom eklampsije javlja se eksponencijalno viši rizik mortaliteta odnosno morbiditeta majke (korigovani OR: 42,38 i 59,38, redom). PE značajno povećava rizik mortaliteta majke tokom hospitalizacije zbog porođaja (8,1 [95% CI: 5,5 - 12,1]). Dodatno, PE u kombinaciji sa hroničnom hipertenzijom ili pregestacionim dijabetesom se povezuje sa povećanim rizikom

letalnog ishoda prilikom hospitalizacije u terminu (OR za hroničnu hipertenziju i PE ili eklampsiju: 8,7 [95% CI: 4,6 – 16,3]; OR za pregestacioni dijabetes i PE ili eklampsiju: 8,4 [95% CI: 2,1 – 34,4]) (16). PE i eklampsija dodatno nose sa sobom značajno viši rizik fetalnog, neonatalnog i perinatalnog mortaliteta odnosno značajno češću pojavu prijema na intenzivnu negu (korigovani OR za PE: 3,12; 2,71; 3,02 i 3,45 redom; korigovani OR za eklampsiju: 3,92; 6,58; 4,91 i 7,83 redom) (11). Perinatalni morbiditet je 16 puta veći kod žena sa ranom PE (korigovani OR: 16,41 [95% CI: 14,48 – 18,60] odnosno 2 puta veći kod žena sa kasnom PE (korigovani OR: 2,02 [95% CI: 1,78 – 2,28]) u odnosu na žene bez navedenih oboljenja(10).

Finalno, pokazano je da kod žena sa PE u čak 20-25% slučajeva dolazi do pojave zastoja u rastu (*small for gestational age* – SGA) kod prevremenih porođaja, odnosno u 14-19% slučajeva SGA kod porođaja u terminu (17). Studija u Americi je pokazala jaku povezanost rane PE i kasne PE sa pojavom kongenitalnih anomalija (korigovani HR: 2,59 [95% CI: 1,66 – 4,02] i korigovani HR: 1,49 [95% CI: 1,16 – 1,91] redom) (10). Više multicentričnih studija pokazalo je da se uspešnim nadzorom pacijentkinja značajno smanjuje moribiditet, mortalitet kao i nivo komplikacija koje se javljaju kod PE (18)(19). Primer bi bio indukcija porođaja kod blage PE koja smanjuje rizik razvoja eklampsije (sa 0,85% na 0,19% ($p < 0.001$)) i izvođenja carskih rezova (sa 2,1% na 1,4%), čime je pokazala da može da bude ekonomična terapijska opcija (20). Uspešni nadzor podrazumeva identifikaciju visoko rizičnih pacijentkinja za razvoj PE što je moguće pre, možda čak i pre začeća. Do danas nisu utvrđene metode kojima se precizno može vršiti identifikacija visoko rizičnih pacijentkinja pre začeća. U cilju ispitivanja i predlaganja potencijalnih markera za ranu pouzdanu identifikaciju visokorizičnih pacijentkinja, potrebno je razmotriti mehanizam nastanka PE.

1.3 MEHANIZAM NASTANKA PREEKLAMPSIJE

Patogeneza PE podrazumeva abnormalni razvoj placente. U fiziološkoj trudnoći dolazi do invazije citotrofoblasta u spiralne arterije majke, čime se vrši izmena spiralnih arteriola u tip krvnih sudova kojima je smanjen otpor i povećan kapacitet. Ovaj proces se označava kao remodelovanje spiralnih arterija i počinje krajem prvog trimestra, od 18-te do 20-te nedelje gestacije. Rezultira u zameni endotela i muskularne tunica mediae. Invazija odnosno diferencijacija trofoblasta zahteva izmenu u ekspresiji određenih

citokina, adhezionih molekula, ekstracelularnih matriks molekula, metaloproteinaza i klase Ib glavnog kompleksa tkivne podudarnosti, antigena tkivne podudarnosti (HLA-G). Termin pseudovaskulogeneza podrazumeva termin promene odnosno transformacije epitelijalnih karakteristika (ekspresija adhezionih molekula integrina $\alpha 6/\beta 4$, $\alpha v/\beta 5$ i E-kadherina) u endotelijalne karakteristike (ekspresija integrina $\alpha 1/\beta 1$, $\alpha v/\beta 3$, trombocita, adhezionih molekula endotelijalnih ćelija i VE-kadherina). U ovaj proces je uključen veliki broj transkripcionih faktora, faktora rasta i citokina. Kod trudnica kod kojih će se razviti PE dolazi do nedovoljne i plitke invazije citotrofoblasta koja dovodi do razvoja defektne uteroplacentalne cirkulacije i posledično placentalne ishemije. Navedena pojava se može mikroskopski uočiti u placenti žena kod kojih se razvila PE. Uzorci placente žena uzeti biopsijom kod kojih je došlo do razvoja PE takođe pokazuju uske i stegnute krvne sudove kao rezultat nedovoljne invazije trofoblasta u decidualne arterije majke. Očekivano, osobe sa predispozicijom ka vaskularnoj insuficijenciji, kao što su osobe koje boluju od dijabetes melitusa, trombofilija, sistemskog lupusa eritematozusa, i hronične hipertenzije su sa povećanim rizikom razvoja PE. Žene sa uvećanom placentalnom masom i time manjom prokrvljenošću placente imaju takođe povećan rizik razvoja PE. Navedeni princip smanjene prokrvljenosti je dokazan i u animalnim modelima. *In vitro* i *in vivo* studije su pokazale da trofoblasti placente pacijentkinje sa PE ne podležu izmenama adhezionih molekula i pseudovaskulogenezi. Do sada je predložen veliki broj različitih etiologija nedovoljne invazije trofoblasta, međutim i dalje je glavni uzrok ostao nejasan (21). PE se često u literaturi označava kao bolest "teorije" zbog još uvek nepoznate etiologije. U prošlosti su četiri hipoteze bile predmet obimnog istraživanja.

Prva hipoteza se zasnivala na ideji placentalne ishemije. Smatralo se da je PE dvofazna bolest placente. Naime, u prvoj fazi dolazi do invazije citotrofoblasta placente. Ova invazija je prisutna i u normalnoj trudnoći, ali je značajno izraženija kod PE. Citotrofoblasti sazrevaju do sincitiotrofoblasta koji suprimiraju proliferaciju endotelinih ćelija placente, formirajući strukture poput saća. Dodatno, sincitiotrofoblasti otpuštaju sincitiotrofoblastni faktor koji pokazuje citotoksični efekat na endotelne ćelije. Ovaj proces koji ugrožava spiralne arterije i dovodi do nedovoljnog snabdevanja placente krvlju. Išemija placente u drugoj fazi dovodi do sistemske endotelne disfunkcije. Teorija placentalne ishemije kao uzroka endotelne disfunkcije je predstavljala jedan atraktivan koncept ali je naišla na niz ograničenja. Naime ako je placentalna ishemija

stvarni uzrok disfunkcije endotela, očekivala bi se veća korelacija između majčinskih i fetalnih komponenti u kliničkoj praksi, međutim to nije slučaj. Zatim, hronologija pojave majčinskih komponenti sindroma se ne uklapa u hipotezu placentalne ishemije. Dokazano je da se kod trudnica već u prvom trimestru javlja disfunkcija endotela krvnih sudova. Sa druge strane, proliferacija citotrofoblasta i invazija sincitiotrofoblasta se javlja značajno kasnije, u drugom i trećem trimestru trudnoće, pa se postavlja pitanje mogućnosti invazije trofoblasta kao uzročnika PE. Smatra se da je ipak placentalna ishemija kao posledica invazije sincitiotrofoblasta u stvari karakteristika krajnjeg stadijuma bolesti PE i da se kao takva treba i posmatrati (22).

Druga hipoteza je podrazumevala poremećaj toksično protektivnih aktivnosti lipoproteina veoma male gustine (VLDL). Pokazano je da kod pacijentkinja sa PE dolazi do porasta lipolitičke aktivnosti i do povećanog oslobađanja odnosno porasta koncentracije slobodnih masnih kiselina – *freefatty acids* (FFA) 15 do 20 nedelja pre pojave kliničkih znaka i simptoma PE. FFA se pojačano preuzimaju od strane endotelних ćelija i prevode u trigliceride dovodeći do akumulacije triglicerida u tim ćelijama. Dolazi do smanjenog oslobađanja trombin-stimulisanog prostaciklina, smanjenja nivoa cikličnog guanozin monofosfata i smanjenja sposobnosti endotelnih ćelija da inhibiraju agregaciju trombocita. Dodatno, povećane koncentracije FFA se u cirkulaciji pojačano vezuju za albumin, dovodeći do smanjenja izoelektrične tačke (PI) sa 5,6 na 4,8 čime se redukuje sposobnost albumina da vrši protektivne aktivnosti na VLDL toksične aktivnosti. Odnosno omogućava se VLDL česticama da ispolje svoje citotoksične aktivnosti na endotelnim ćelijama(23). Slično zabrinutosti prethodne hipoteze, teško se može povezati toliko jaka potražnja za energijom koja će dovesti do preteranog oslobađanja FFA i ispoljavanja citotoksičnih aktivnosti VLDL endotelne ćelije sa ranom disfunkcijom endotela još u prvom trimestru trudnoće. Definitivno je dokazano da u PE dolazi do porasta koncentracije FFA i akumulacije triglicerida u ćelijama endotela, ali razlog tome može biti i citokinima posredovan oksidativni stres, izazvan ishemijom reperfuzionih mehanizama ili aktiviranim leukocitima ili oboje (23).

Treća hipoteza je imunomaladaptacija – interakcija između leukocita decidue i citotrofoblasta, kojima se može uzrokovati plitka invazija spiralnih arterija od strane citotrofoblastnih ćelija i endotelna disfunkcija posredovana povećanim oslobađanjem citokina, proteolitičkih enzima i slobodnih radikala u deciduu. Naime poznato je da kada u ljudskom organizmu postoji razlika u glavnom kompleksu gena tkivne

podudarnosti (MHC engl. - *major histocompatibility complex*) između donora i recipijenta, da dolazi do odbacivanja transplantata. Ovaj kompleks gena karakteriše poligenost (sadrži preko 200 gena) i polimorfizam (geni postoje u više alternativnih oblika – alela). Ovaj kompleks gena se kod čoveka naziva HLA (humani leukocitni antigeni). Geni ovog kompleksa su podeljeni u tri klase: klasa I, klasa II i klasa III. Trofoblastne ćelije u kontaktu sa krvlju majke ne pokazuju ekspresiju molekula I klase i II klase MHC, dok u kontaktu sa tkivom majke pokazuju ekspresiju molekula I i II klase MHC. Otuda u prvom trimestru sincitiotrofoblasti i neinvazivni vilusni citotrofoblasti ne pokazuju ekspresiju molekula I klase MHC, već samo ekstravilusni citotrofoblasti na vrhovima ćelijskih kolona i u spiralnim arterijama (24). Geni I klase MHC (kod čoveka HLA) kodiraju sintezu transmembranskih glikoproteina, u koje spadaju visoko polimorfni molekuli HLA-A, HLA-B i HLA-C, koji pokazuju ekspresiju u velikom broju različitih tkiva. Pored navedena tri HLA gena, identifikovana su još tri (HLA-E, HLA-F i HLA-G) dodatna HLA gena koja su homologna prethodno navedenim. HLA-E i HLA-F pokazuju ekspresiju u različitim fetalnim tkivima i tkivima odraslog čoveka. Međutim, HLA-G pokazuje ekspresiju samo na ekstravilusnim trofoblastima u fetoplacentalnoj barijeri, gde nema prisutne ni I odnosno II klase HLA antigena. Ova vrlo ograničena ekspresija ukazuje na moguću ulogu HLA-G u imunološkom odgovoru majke na semialogeni fetus (24). Zanimljivo je da HLA-G gen pokazuje jako mali stepen polimorfizma, koji na kraju ne utiče na ekspresiju proteina. Izuzetak su Afroamerikanci kod čijih su neonatusa sa intrauterinim zastojem u rastu (IUGR, eng. *intrauterine fetal grow restriction*) detektovane mutacije u HLA-G genu u značajnijoj količini (25). Postavlja se pitanje o potencijalnom mehanizmu dejstva izmenjene HLA-G genske ekspresije. U uterusu je detektovano prisustvo velikih granulisanih leukocita, koje pripadaju lozi ćelija ubica ili NK ćelija (engl. *Natural killer cells*). One ubijaju ciljane ćelije koje nemaju dovoljnu HLA ekspresiju. Samim tim citotrofoblasti koji ne pokazuju dovoljnu ekspresiju I klase HLA antigena, će biti eliminisani od strane ovih velikih granulisanih leukocita. Pokazano je da HLA-G na površini invazivnih citotrofoblasta pokazuje protektivni efekat i sprečava dejstvo NK ćelija. Samim tim nedovoljna ekspresija HLA-G na površini invazivnih citotrofoblasta ne može da zaštiti ćelije od imunološkog odgovora NK ćelija majke i citotoksičnog napada. Tokom gestacije, ekstravilusne citotrofoblastne ćelije zadržavaju sposobnost da kontrolišu HLA ekspresiju. Očigledno one moraju da izbegavaju imunološki odgovor majke tokom čitave trudnoće(26). Međutim, citotrofoblastne ćelije samo prolazno pokazuju invazivne

karakteristike. Zanimljivo je da su kod trudnica sa PE potvrđeni niži nivoi ribonukleinskih kiselina HLA-G u horionskom tkivu. Objašnjenje se našlo u smanjenom broju trofoblasta (smanjenoj invaziji trofoblasta) u placenti trudnice koja boluje od PE. Novijim studijama se pokazala dodatna ekspresija HLA-C u trofoblastima, pa se time sada predlaže teorija koordinisane ekspresije HLA-C i HLA-G u sprečavanju prepoznavanja trofoblasta od strane NK ćelije i njenog uništavanja(21,27). Alternativna biološka uloga velikih granuliranih limfocita i drugih CD 56 ćelija decidue je posredna uloga putem citokina koje proizvode ove ćelije kao odgovor na ekspresiju HLA antigena na citotrofoblastima. Ovaj fenomen se označava kao imunotrofizam. Decidualne makrofage i placenta u razvoju proizvode faktore stimulacije kolonija (CSF, eng. *colony stimulating factor*). Oni stimulišu populaciju endometrijalnih makrofaga, sintezu humanog placentalnog laktogene iz trofoblasta i sintezu humanih horionskih gonadotropina, čime neizostavno učestvuju u interakciji decidualnih trofoblasta tokom rane trudnoće (28). Poznato je nekoliko citokina koji predstavljaju integralni deo rane trudnoće i gestacionog razvoja. To su faktor stimulacije kolonije granulocita i makrofaga (GM-CSF), interleukin 1 (IL-1), faktor nekroze tumora alfa (TNF- α), interferon gama (IFN- γ) i faktor stimulacije kolonija 1 (CSF-1). Svi oni su uključeni u povezivanje blastocista i implementaciju, proliferaciju i invaziju trofoblasta. TNF- α , IFN- α , IFN- β , IFN- γ i transformišući faktor rasta 1 beta (TGF- β) se stvaraju u uteroplacentalnoj jedinici i inhibiraju sintezu dezoksiribonukleinske kiseline (DNA) trofoblasta, čime regulišu rast trofoblasta. Suprotno tome, smatra se da interleukin 1 (IL-1), GM-CSF i interleukin 6 (IL-6) stimulišu rast trofoblasta (29). Što se tiče pomoćnih T limfocita, i Th-1 odnosno Th-2 ćelijskog odgovora, smatra se da je trudnoća Th-2 fenomen. Naime, Th-1 ćelije proizvode interleukin 2 (IL-2), IFN- γ i limfotoksine, dok Th-2 ćelije proizvode interleukin 4(IL-4), IL-6 i interleukin 10 (IL-10). Citokini koje proizvode Th-1 ćelije su povezani sa celularnim imunitetom i odloženom reakcijom hipersenzitivnosti, dok citokini Th-2 celularnog odgovora stimulišu produkciju antitela i alergijske reakcije. Citokini Th-1 celularnog odgovora su štetni za trudnoću, a neki citokini Th-2 odgovora inhibiraju sintezu citokina Th-1, pa se zato trudnoća smatra fenomenom Th-2 celularnog odgovora (28). Ova hipoteza je konzistentna sa činjenicom da se stanje mnogih autoimunih oboljenja celularnog imuniteta poboljša u trudnoći, poput npr. reumatoidnog artritisa, dok da se stanje oboljenja povezanih sa autoantitelima pogoršava u trudnoći. Pored citokina, ulogu u regulaciji invazije trofoblasta imaju i insulinu slični faktori rasta (IGF, eng. *insulin-like*

grow factors) i vezujući protein za insulin slične faktor rasta (IGFBP-1, eng. *insulin-like grow factor binding protein 1*). Fetalni i placentalni rast je delom regulisan od strane IGF i IGFBP-1. Nivo IGF-1 pozitivno korelira sa fetalnim rastom i fetalnom masom. IGFB-1 inhibira rast i invaziju trofoblasta, blokirajući dejstvo IGF. Prisustvo povišenog nivoa IGFB-1 u periodu 16. do 24. nedelje gestacije kod trudnica kod kojih je kasnije došlo do razvoja PE i intrauterusnog zastoja u rastu ploda (IUGR, eng. *intrauterine growth restriction*) ukazuje da prekomerna produkcija IGFBP-1 u decidui može biti bar delom uzrok abnormalne placentacije (30). Suprotno Groot i saradnici(31) su pronašli da su nivoi IGFBP-1 u drugom trimestru kod trudnica kod kojih se kasnije razvila PE niži u odnosu na kontrolne. Do danas ova razlika nije u potpunosti razjašnjena i kao potencijalno objašnjenje predlaže se razlika između testova za određivanje faktora rasta i njihovih receptora. Učestvovanje imunološkog mehanizma u etiologiji PE je svakako potvrđeno epidemiološkim podacima. Naime, PE je bolest prvorođene. Pokazano je da kod žena koje su imale prethodno normalnu trudnoću, značajno niža šansa pojave PE. Čak i prethodni abortus obezbeđuje neku zaštitu. Protektivni efekat prethodne trudnoće se međutim gubi promenom partnera i zato se PE može smatrati problemom primipariteteta a ne primipariteteta(32). Postoje brojni naučni radovi o prisustvu imunološkog fenomena kod PE. Kod žena kod kojih će kasnije tokom trudnoće doći do razvoja PE u početku drugog trimestra detektovan je značajno niži broj pomoćnih T limfocita. Antitela usmerena ka endotelnim ćelijama nađena su u 50% žena sa PE u poređenju sa 15% kod kontrolnih subjekata. Depozicije imunoglobulina klase M (IgM), komplementa 3 (C3) i fibrina su detektovane u zidovima spiralnih arterija kod PE. Imunološka patogeneza ukazuje na morfološku sličnost sa odbacivanjem alografta kod transplantacija. Promene se obično javljaju u onim arterijama koje nisu prošle fiziološke promene posredovane invazijom trofoblasta. Ako se postavlja analogija sa odbacivanjem alografta, to je kao da fetus odbacuje majku (33–35). Postavlja se pitanje o povezanosti imunološkog poremećaja sa sistemskom aktivacijom endotelnih ćelija. Decidua sadrži masu ćelija koje su poreklom iz kostne srži. Kada se aktiviraju, te ćelije oslobađaju veliki broj medijatora koji interaguju sa endotelnim ćelijama. Aktivirani neutrofili oslobađaju elastaze i druge toksične proteine, koji mogu da unište ćelije endotela. Nivo elastaze značajno raste kod trudnica sa PE u odnosu na kontrolne trudnice, i korelira sa povišenim nivoom endotelina i antigena faktora VIII, podržavajući njegovu povezanost sa disfunkcijom endotela u PE. Broj elastaza-pozitivnih neutrofila decidue je značajno viša kod pacijetkinja sa PE (41). Što

se tiče uticaja citokina, najviše ispitivani citokini su su TNF- α i IL-1 zbog njihovih dokazanih efekata na endotel, koji je potvrđen u PE. TNF- α i IL-1 pospešuju sintezu trombina, aktivirajućeg faktora trombocita, antigena za faktor VIII i inhibitora I aktivatora plazminogena, permeabilnost endotelnih ćelija, ekspresiju adhezionih molekula 1 (ICAM-1) i vaskularnih ćelijskih adhezionih molekula 1 (VCAM-1) i rast nivoa različitih prostaglandina, dok istovremeno smanjuju aktivnost azot oksid sintetaze. Velikim brojem studija potvrđen je povišen nivo TNF- α u PE, iako su i dalje prisutne dve kontroverze, da li se ovaj porast javlja pre odnosno posle pojave simptoma PE i da li je ovaj rast prisutan samo kod PE gde je detektovan i IUGR. Povišen nivo TNF- α kod trudnica sa PE je potvrđen detekcijom povišenog nivoa solubilnih receptora za TNF- α koji se mogu lakše detektovati zbog produženog poluživota u cirkulaciji. Postavlja se pitanje šta je uzročnik povišene produkcije TNF- α . Potencijalni uzroci mogu biti aktivirani leukociti ili sama placenta. PE pokazuje neke znake reakcije akutne faze pa se postavilo pitanje da li je slučajno prouzrokovana povećanom sintezom IL-6. Naime u PE su detektovani neki aspekti reakcije akutne faze, koja može biti uzrokovana pojačanom produkcijom IL-6. Međutim IL-6 ima direktni negativni uticaj na produkciju TNF- α , pa zato nije moguća prethodno predložena hipoteza. Smatra se da je pojačana produkcija IL-6 posledica negativne sprege koju povišena koncentracija TNF- α vrši. Još jedno dodatno objašnjenje povišene koncentracije IL-6 je povišena koncentracija interferona γ (IFN γ) koji ushodno reguliše ekspresiju sinteze IL-6. Takođe, dolazi do aktivacije endotelnih ćelija koje proizvode adhezivne molekule. Ekspresija navedenih molekula na površini ćelija dovodi do pojačane adhezije inflamatornih ćelija. Ovaj proces je posredovan citokinima koje proizvode inflamatorne i aktivirane endotelne ćelije (22). PE je takođe povezana sa oksidativnim stresom, koji se definiše kao disbalans između prooksidativnih i antioksidativnih agenasa u korist prooksidativnih. Višak prooksidativnih agenasa će dovesti do potencijalnog oštećenja ćelija ili tkiva. Slobodni radikali dovode do formiranja lipidnih peroksida. Pokazano je da je nivo lipidni peroksida povišen u fiziološkoj trudnoći, u poređenju sa zdravom ženom, time sugerišući na mogućnost da fiziološka trudnoća u izvesnom stepenu dovodi do oksidativnog stresa. Kod PE dolazi do još većeg povećanja nivoa lipidnih peroksida u odnosu na fiziološku trudnoću, i oni koreliraju sa visinom krvnog pritiska ali ne i sa perinatalnim ishodom. Preeklamptičke lezije na decidualnim krvnim sudovima podsećaju na aterosklerozne lezije pokazujući fibrozne nekroze zidova krvnih sudova i akumulaciju penastih ćelija koje su karakteristične po prisustvu lipoproteina male

gustine (36). Smatra se da su aktivirani leukociti jedan od glavnih izvora slobodnih radikala. Oni mogu direktno proizvoditi slobodne radikale, ili putem citokina stimulirati ćelije endotela da proizvode slobodne radikale. Slobodni radikali pokazuju sinergistički efekat sa elastazama u procesu oštećenja ćelija endotela. Stimulacijom sinteze lipidnih peroksida pospešuje se produkcija TxA₂ u placenti. Nivo lipidnih peroksida povišen je dodatno u eritrocitima i trombocitima. Lipidne peroksidaze stimulišu prostaglandin H sintazu ali inhibiraju prostaciklin sintazu, dovodeći do pojačane produkcije trombocitog TxA₂. Dodatno, oni povećavaju permeabilnost kapilara, čime potencijalno mogu biti uključeni u pojavu edema i proteinurije i pokreću kaskadni proces tromboze. Lipidni peroksidi povećavaju permeabilnost membrane povećanjem sadržaja holesterola, masnih kiselina i lipoproteina male gustine. Ovaj fenomen je u PE uočen kod trofoblastnih ćelija, eritrocita i trombocita (37). Postavlja se pitanje da li bi se antioksidansima kod pacijentkinja sa PE sprečili neželjeni efekti proizvodjeni slobodnim radikalima i lipidnim peroksidima. Vitamin E je npr. jedan od glavnih liposolubilnih antioksidanata. Prema nekim autorima u PE dolazi do disbalansa između nivoa vitamina E i lipidnih peroksida, tako da dolazi do porasta lipidnih peroksida a smanjenja nivoa vitamina E. Međutim drugi autori nisu mogli da detektuju snižen nivo vitamina E kod pacijentkinja sa PE (22,38). Zatim kod pacijentkinja sa PE pronađen je povišen nivo glutationa i povećana aktivnost glutation peroksidaze. Smatra se da ovaj porast predstavlja kompenzatorni efekat (39). Askorbinska kiselina, α -tokoferol i β -karoten predstavljaju potentne antioksidanse. Pokazano je da je nivo askorbinske kiseline značajno snižen kod pacijentkinja sa PE, dok je α -tokoferol i β -karoten značajno snižen samo u teškim oblicima PE. Preporuka je da te pacijentkinje mogu konzumirati antioksidanse u većem obimu, prvo hidrosolubilne pa onda liposolubilne. Na kraju treba napomenuti da je imunomaladaptacija atraktivna hipoteza za objašnjenje nekih od teških epidemioloških karakteristika PE. Međutim treba naglasiti da iako pacijentkinje sa PE manifestuju imunopatološke karakteristike, i dalje ostaje otvoreno pitanje da li je ova imunološka abnormalnost uzrok ili posledica PE. Imunoglobulini, imuni kompleks, komponente komplementa i depoziti fibrina mogu biti pre posledica začepljenih krvnih sudova. Hipoteza imunomaladaptacije nije isključiva sa hipotezom placentalne ishemije. Smatra se da možda imunomaladaptacija može biti uzrok abnormalne implantacije pa samim tim i placentalne ishemije, a da ishemija placente može dovesti do promene na nivou citokina i pojave oksidativnog stresa (40).

Dugo godina se placentalna ishemija smatrala vodećim uzročnikom u patogenezi PE. Naime pokazano je da kod pacijentkinja sa PE ne dolazi do adekvatne invazije trofoblasta i neophodnog vaskularnog remodelovanja spiralnih arterija, koja onda dovodi do placentalne ishemije (41,42). Međutim, predloženi mehanizam placentalne ishemije kao vodećeg uzročnika PE se dovodi u pitanje jer je pokazano da neadekvatno remodelovanje spiralnih arterija takođe dovodi do zastoja u rastu, bez pojave hipertenzije i/ili proteinurije jer je pokazano da se predlog zasniva na pretpostavci a ne na činjenicama, i da možda postoje drugi fenomeni kojima bi mogao da se objasni mehanizam PE. Naime kriterijumi koje uzročnik potencijalno mora da ispuni se zasnivaju na Bradford-Hill kriterijumima kauzaliteta. U ovom slučaju ne postoji dozno zavisna povezanost (veličina placente ne korelira sa težinom oblika PE), povezanost efekata odnosno specifičnost (neadekvatna invazija trofoblasta se ne javlja samo u slučajevima PE, već je vrlo nespecifična i javlja se i kod drugih komplikacija trudnoće kao i u normalnoj fiziološkoj trudnoći), uzročnost (dokazi pokazuju da glavni faktori rizika za razvoj PE potiču od majke a ne od placente kao embrionalnog faktora) kao i konkretan dokaz o uzročno posledičnoj povezanosti. Dodatno, pokazano je da PE može ponovno da se javi i nakon eliminacije placente, kao i da smanjenje protoka u arteriji uterini ne može da se poveže sa pojavom PE. Sve prethodno navedeno ukazuje na činjenicu da je placentalna ishemija najverovatnije posledica u procesu razvoja PE a ne uzrok(43).

U poslednjih nekoliko godina izdvojile su se dve kao potencijalne teorije nastanka PE, teorija “prekomernog inflamatornog odgovora” i teorija “disbalansa angiogenih faktora”. Redman i saradnici(44) su jedni od promotera teorije “prekomernog inflamatornog odgovora” pretpostavljajući da PE predstavlja samo ekstremni oblik inflamatornog procesa koji je inače prisutan u trudnoći. Naime još pre dve decenije pokazano je da kod hipertenzije u trudnoći dolazi do pojave aktiviranih neutrofila u cirkulaciji, koji mogu biti jedni od uzročnika vaskularne disfunkcije (45). Dalji dokaz pojačane inflamacije u PE podrazumeva pojava nekontrolisane prekomerne aktivacije sistema komplementa. Prekomerna aktivacija sistema komplementa pojačava inflamatorni proces, promovise hemotaksu inflamatornih ćelija uz dodatnu stimulaciju fagocitoze neutrofila i monocita stvaranjem proteolitičkih fragmenata (46). Dodatna činjenica koja ide u prilog navedenoj teoriji je da je kod pacijentkinja sa PE registrovana dominacija citotoksičnog Th-1 imunskog odgovora a smanjen Th-2 ćelijski odgovor.

Naime kod pacijentkinjasa PE dolazi do pojačane aktivacije Th-1 ćelijskog odgovora čije ćelije pojačano proizvode IL-2, IL-12, IFN γ i TNF α . Paralelno pacijentkinje sa PE pokazuju smanjenu ekspresiju Th-2 citokina. Za kraj, kod istih pacijentkinja detektovan je povišen nivo pro-inflamatornih citokina (IL-6 i TNF α) i hemokina (IL-8, IP-10 i MCP-1) (47–51). Međutim, ipak se teorija “prekomernog inflamatornog odgovora” kao jedinog inicijatora dovodi u pitanje jer ne ispunjava kriterijum temporaliteta (pojačan Th-1 odgovor i aktivacija neutrofilija se ne mogu detektovati pre kliničke manifestacije PE), zatim kriterijum dozno-zavisnog odnosa (porast koncentracije pro-inflamatornih citokina ne korelira sa težinom oblika PE) i kriterijum kauzalnosti (terapija visokim dozama kortikosteroida ne dovodi do poboljšanja ishoda kod PE) (22).

Krajem devedesetih godina prošlog veka predložena je teorija angiogenog disbalansa. Ona se zasnivala na pojavi smanjenja aktivnosti vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF, eng *vascular endothelial grow factor*) koji je dovodio do porasta nivoa solubilne forme fms-sličnih tirozin kinaza receptora tip I (sFlt-1, eng. *soluble fms-like tyrosine kinase-1*). VEGF je potentni angiogeni i mitogeni faktor ćelija endotela. On ostvaruje svoj efekat preko 2 tipa receptora, receptor vaskularnog endotelnog faktora rasta tip 1 (VEGF-1) i receptor vaskularnog endotelnog faktora rasta tip 2 (VEGF-2), poznatiji kao Flt-1 odnosno region kinaza domena (Flk/KDR). Alternativnim putem stvara se solubilna forma. Ta solubilna forma sadrži samo ekstracelularni ligand-vezujući domen (bez transmembranskog i intracelularnog domena) i sekretuje se endogeno. Označava se kao sFlt-1. sFlt-1 ima sposobnost da vezivanjem onemogućuje dejstvo VEGF. Isti efekat pokazuje na PlGF čijim vezivanjem onemogućava njegovo dejstvo. Kod pacijentkinja sa PE uočen je povišen nivo sFlt-1, koji se povezuje sa smanjenim nivoom slobodnog PlGF odnosno VEGF u krvi majke. *In vitro* studije su čak pokazale da angiogeni disbalas (višak sFlt-1 a nedostatak PlGF i VEGF) može biti rešen davanjem VEGF odnosno PlGF. Egzogeni transfer gena sFlt-1 kao adenoviralni vektor kod trudnih pacova dovodi do razvoja znakova i simptoma PE. Navedena pojava je uočena čak i kod pacova koji nisu gravidni. U slučaju prethodno opisanog transfera, dolazi do pojave promena na nivou vaskularnog endotela, nezavisno od prisustva placente. Zatim poznate su vazodilatatorne i proangiogene aktivnosti VEGF. Kod genski modifikovanog miša dolazi do smanjenja renalne produkcije VEGF za čak 50%, koja dovodi do glomerularne endotelioze i proteinurije. Poznato je da je kod pacijentkinja koji su primali VEGF signalne antagoniste kao terapiju protiv karcinoma

došlo do razvoja hipertenzije i proteinurije. Višak sFlt-1 koji onemogućava dejstvo PlGF i VEGF se onda može smatrati ključnom komponentom u patogenezi PE. Hipoteza da produkcija sFlt-1 u višku predstavlja ključni uzrok za razvoj PE je podržana skorijim studijama. Međutim ono što ostaje nejasno je sam mehanizam koji dovodi do pojave viška sFlt-1, zatim uloga sFlt-1 koju on ima u razvoju placente i preudovaskulogenezi, i odnos sFlt-1 i PlGF sa već poznatim preostalim faktorima rizika razvoj PE. Dodatno koagulopatija, poremećaj funkcije jetre i abnormalnosti na nivou centralnog nervnog sistema (CNS) se još uvek ne mogu povezati sa poremećajem nivoa sFlt-1(4,18,21).

Međutim Hill i saradnici(52) su predložili hipotezu kombinovanog prekomernog inflamatornog odgovora i disbalansa angiogenih faktora. Ta hipoteza se može objasniti privremenom povezanošću i pravilom da uzrok mora da se javi pre kliničkih znaka. Naime, porast koncentracije antiangiogenih markera, a pad koncentracije proangiogenih markera može se uočiti značajno pre pojave znaka i simptoma PE (sFlt-1 5-10 nedelja, PlGF 9-13 nedelja, a sEng 11-13 nedelja pre pojave znaka i simptoma PE) (53,54). Zatim, pokazano je da stepen porasta koncentracije anti-angiogenih markera odnosno pada koncentracije proangiogenih markera korelira sa stepenom težine PE (55). Finalno, Thadhani i saradnici (56) su pokazali da uklanjanjem anti-angiogenog markera sFlt-1 afereznim protokolom iz plazme trudnice sa PE dolazi do ublažavanja težine PE, vođeno smanjenjem krvnog pritiska i produžavanjem vremena do porođaja. Iako se inflamacija ne može smatrati jedinim uzročnikom, treba je posmatrati kao kofaktor koji pospešuje patologiju oboljenja u slučaju disbalansa angiogenih faktora. Pretpostavlja se da inflamatorni medijatori verovatno imaju lokalne autokrine ili parakrine efekte, koji mogu dovesti do amplifikacije efekta angiogenih faktora (57).

1.4 PREDVIĐANJE RAZVOJA PREEKLAMPSIJE

Izuzetno veliki broj radova i istraživanja je izvedeno u cilju identifikacije demografiskih faktora, biohemijskih ili biofizičkih parametara koji bi samostalno ili u kombinaciji mogli da se koriste u predikciji razvoja PE.

1.5 DEFINISANJE IDEALNOG TESTA ZA PREDIKCIJU RAZVOJA OBOLJENJA

Potrebno je prvo definisati šta predstavlja idealan test za predikciju razvoja određene bolesti. Performanse prediktivnog testa zavise od ukupne incidence bolesti. Naime za procenu performansi nekog skrining testa obično su korišćene karakteristike osetljivosti i specifičnosti. Međutim one se ne fokusiraju na značenje jednog rezultata. Iz tog razloga za procenu vrednosti jednog određenog testa predlaže se korišćenje odnosa verovatnoće (OR, eng. *odds ratio*). OR pokazuje odnos verovatnoće da kod pacijenta koji ima određeno oboljenje odnosno nema određeno oboljenje javi pozitivan rezultat. Incidenca PE je niska, i samim tim skrining testovi sa pozitivnim rezultatom zahtevaju visok OR da bi adekvatno predvideli verovatnoću pojave bolesti, odnosno negativni rezultati zahtevaju nizak OR da pouzdano isključe prisustvo bolesti. Primenljivi OR za pozitivan rezultat treba da bude visok (viši od 10), a OR za negativan rezultat treba da bude nizak (niži od 0,2). Predikcija zahteva dalje praćenje i upravljanje pacijentima. Čak i najpouzdaniji testovi za predikciju razvoja bolesti će imati klinički značaj samo ako se uspešno kombinuju sa preventivnim aktivnostima i/ili odgovarajućom terapijom, odnosno ako se njima postiže bolji ishod za majku i plod.

1.6 FAKTORI RIZIKA ZA RAZVOJ PREEKLAMPSIJE

Postoji čitav niz faktora rizika koji dovode do povećanog rizika razvoja PE. Sažetak je prikazan u Tabeli 1.

Tabela 1. Faktori rizika za razvoj preeklampsije

Faktor rizika za razvoj PE	OR (95% CI)
Prethodna istorija PE	7,19 (5,85 – 8,83)
Antifosfolipidni sindrom	9,72 (4,34 – 21,75)
Već postojeći dijabetes	3,56 (2,54 – 4,99)
Višestruka (blizanačka) trudnoća	2,93 (2,04 – 4,21)
Prva trudnoća	2,91 (1,28 – 6,61)
Porodična istorija PE	2,90 (1,70 – 4,93)
Povišen krvni pritisak na prijemu	1,38 (1,01 – 1,87)
Povišen BMI pre trudnoće	2,47 (1,66 – 3,67)
Povišen BMI na prijemu	1,55 (1,28 – 1,88)
Starost trudnice > 40 god.	1,96 (1,34 – 2,87)

Rizik razvoja PE se povećava dva do četiri puta ako pacijent ima porodičnu istoriju PE, a čak sedam puta ako je pacijentkinja imala PE u prethodnoj trudnoći. Višestruka trudnoća je dodatni faktor rizika, dok trostruka trudnoća nosi još viši rizik. Zanimljivo je da su klasični faktori rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti takođe povezani sa povišenim rizikom razvoja PE, kao i starost trudnice iznad 40 godina, dijabetes, gojaznost i već prisutna hipertenzija. Povišen rizik pojave PE kod žena starijih od 40 godina može se objasniti većom učestalošću hronične hipertenzije i drugih komorbiteta. Teško je utvrditi razlike u incidenci koje se javljaju između različitih rasa, zbog različitih socioekonomskih i kulturoloških faktora kao dodatnih faktora koji utiču na pojavu PE. Međutim izuzetno je važno napomenuti da se najveći broj slučajeva PE javlja u zdravoj populaciji, bez prethodnih faktora rizika (2,58).

Primenom navedenih faktora rizika u pokušaju da se predvidi razvoj PE tokom rane trudnoće, postižu se dosta ograničene performanse (detekcioni nivo 37% za ranu PE, odnosno 29% za kasnu PE, uz 5% lažno pozitivnih rezultata).

1.7.1 PREDIKCIJA RAZVOJA PE KORIŠĆENJEM MERENJA DOPLERA UTERUSNIH ARTERIJA

Sposobnost doplera da merenjem protoka kroz arterije uterine, predvidi razvoj PE intezivno je ispitivana različitim studijama. Povećan index rezistencije protoka u uterinim arterijama dovodi do pojave abnormalnog talasa, prezentovanog ili kao povećana otpornost ili kao pulsativni indeks ili kao konstantno prisustvo unilateralnog ili bilateralnog zareza.

Ultrazvučni pregled sa doplerom predstavlja ne-invazivni metod za procenu fetalne hemodinamike. Pregled uterine i umbilikalne arterije daje informacije o perfuziji uteroplacentalne i fetoplacentalne cirkulacije, dok je dopler različitih fetalnih organa značajan za detekciju hemodinamskih promena koje nastaju kao posledica fetalne hipoksemije.

1.7.2 PROTOK U FETALNIM ARTERIJAMA

Descendentna aorta- brzina protoka u fetalnoj descendnoj aorti se obično meri na donjem torakalnom nivou, iznad dijafragme, držeći sondu pod uglom od 45 stepeni. Može biti teško da se održi mali ugao jer se aorta nalazi anteriorno of fetalne kičme, i paralelno sa abdomenom majke. Taj problem se može prevazići pomeranjem sonde ili bliže fetalnoj glavi ili bliže zadnjici i nagnjanjem sonde.

Diastolna brzina je uvek prisutna tokom drugog i trećeg trimestra normalne trudnoće, a indeks pulsativnosti (PI) ostaje konstantan tokom cele gestacije (59).

Brzina protoka talasa u descendentnoj aorti predstavlja sumaciju protoka i otpora protoku u bubrežima, drugim abdominalnim organima, femoralnim arterijama i placenti. Približno 50 % protoka kroz descendentnu torakalnu aortu se distribuira u umbilikalnu arteriju. U odmakloj gestaciji, PI u umbilikalnoj aretriji opada, zbog redukovanog otpora u placentalnom odeljku, dok, u aorti, PI ostaje konstantan. Odsustvo promena u PI sugeriše na prisustvo kompenzatornog vazokonstriktivnog mehanizma u drugim velikim granama aorte. Srednja brzina protoka krvi raste tokom gestacije do 32 nedelje, a onda ostaje konstantna do 40. nedelje, kada blago opada (59).

Renalna Arterija- kolor dopler omogućava identifikaciju i uzdužni prikaz fetalne renalne arterije, od njenog ishodišta iz abdominalne aorte. Dijastolne brzine mogu biti fiziološki odsutne do 34. nedelje, nakon čega se značajno povećavaju sa odmaklom gestacijom. PI opada linearno sa gestacijom, ukazujući na porast u perfuziji bubrega. (60,61). Ovo je možda objašnjenje za porast produkcije urina koji se pojavljuje u odmakloj gestaciji(62).

Cerebralne Arterije- koristeći Doppler tehniku, moguće je ispitati glavne cerebralne arterije kao što su: unutrašnja karotidna arterija, srednja cerebralna arterija, i prednje i zadnje cerebralne arterije, i to u svrhu procene vaskularne rezistencije u područjima koja su vaskularizovana ovim sudovima.

Poprečni presek fetalnog mozga se dobija na nivou biparijetalnog dijametra. Sonda se dalje pomera prema bazi lobanje na nivo sfenoidne kosti. Korišćenjem Dopplera, srednja cerebralna arterija se može videti kao glavna bočna grana Wilisovog šestougla, i ona ide napred i u polje na granici između prednje i srednje cerebralne fose(63).

1.7.3 OSTALI ARTERIJSKI SUDOVI

Sa uvođenjem novih generacija dopler ultra-zvučnih aparata, postignuta su brojna poboljšanja detekcije protoka krvi, tako da je sada moguće vizuelizovati razne fetalne arterije, uključujući arterije ekstremiteta (femoralne, tibijalne i brahijalne), adrenalne, splenične, mezenterične, pulmonalne i koronarne sudove. Ove mogućnosti su doprinele poboljšanju poznavanja fetalne hemodinamike ali i dalje nisu od velikog značaja za kliničku praksu.

1.7.4 NORMALNE VREDNOSTI DOPLER EHOKARDIOGRAFSKIH INDEKSA

Duktalni PV raste linearno sa gestacijom i njegova vrednost predstavlja najveću brzinu u fetalnoj cirkulaciji u fiziološkim uslovima, dok je PI konstantan(64). Vrednost sistolne brzine preko 140 cm/s je u vezi sa dijastolnom brzinom većom od 35 cm/s, ili sa PI manjim od 1,9 i smatra se posledicom duktalne konstrikcije(64). U principu, primena protočnosti uterinih arterija bolje predviđa razvoj rane PE u odnosu na kasnu PE. Pozitivni OR za ranu PE za ovaj parametar se kretao od 5,0 do 20, a negativni OR

od 0,1 do 0,8. Međutim, bez obzira na kombinaciju brojeva, sam pulsativni indeks nosi sa sobom nisku prediktivnu vrednost za razvoj PE. Studije koje se bave pregledom arterije uterine sa Doppler ultrazvukom pokazuju da kliničkoj manifestaciji preeklampsije prethodi poremećena placentalna perfuzija(65,66). Multicentrična, prospektivna studija koja se bavi pregledom uterine arterije sa dopler ultrazvukom u periodu između 22. i 24. nedelje gestacije, i to na oko 8000 trudnica, pokazala je visoku osetljivost za preeklampsiju kod malih za gestaciono doba u poređenju sa onima koji nisu bili mali za gestaciono doba (69% prema 24 %) (67). Studija koja je obuhvatila više od 30.000 trudnica je pokazala da PI bio viši od 95-og procenta kod 78% onih koje su razvile preeklampsiju i imale porođaj pre 43, nedelje, u poređenju sa 32% kod kojih se razvila kasna preeklampsija(68). Osetljivost i specifičnost pregleda Dopplerom arterije uterine u cilju predikcije preeklampsije varira od 34% do 76%, odnosno 83% do 93 %. Niska osetljivost ovog testiranja limitira njegovu vrednost kao prediktora bolesti (69). Dodatno, ova tehnika pokazuje visoku varijabilnost i slabu prediktivnu tačnost. Finalno pregledom literature je pokazano da ne postoji ni jedna randomizovana klinička studija koja je pokazala poboljšani ishod kod majke ili ploda primenom ovog paramtera (70).

Postoje brojni dokazi da multiparametarski modeli u prvom trimestru imaju potencijala da poprave preciznost predikcije PE i drugih neželjenih pojava u trudnoći. Algoritam koji kombinuje karakteristike majke, zatim nalaz Doppler ultrazvuka i bihemijske parametre u prvom trimestru, ima potencijala da popravi procenat detekcije ranog početka PE na preko 90 %. Dalja istraživanja su potrebna za evaluaciju vrednosti različitih multiparametarskih modela(69).

1.8 PREDIKCIJA RAZVOJA PE PRIMENOM BIOMARKERA

Biomarkeri u predikciji razvoja PE su pre svega bili sastavni deo stratifikacije oboljenja i ciljane terapije. Međutim rezultati studija su pokazali da se navedeni biomarkeri mogu koristiti dodatno i u predikciji oboljenja.

1.8.1 ANGIOGENI BIOMARKERI

Alteracije u broju cirkulišućih antiangiogenih proteina (rastvorljiva fms-like tirozin kinaza 1 (sFlt-1) i rastvorljivi endoglin), i proangiogenih proteina (*placenta growth*

factor (PlGF) i *vascular endothelial growth factor* VEGF)) se procenjuju kao potencijalni biomarkeri za predikciju PE. Varijacije u koncentraciji sFlt-1, PlGF i rastvorljivog endoglina u cirkulaciji majke, prethode kliničkoj pojavi PE nekoliko nedelja do mesec dana. Mnoge studije su se fokusirale na sFlt-1, antiangiogeni protein, kao potencijalni prediktor preeklampsije(71). Ispitujući osetljivost i specifičnost ovog biomarkera, utvrđeno je da što je viša koncentracija, to je izvesnije da će doći do pojave PE(72). Kako se koncentracija sFlt-1 menja samo 4-5 nedelja pre pojave kliničkih simptoma PE, to ga čini nepouzdanim kada se koristi kao jedini skrining biomarker u ranijoj gestaciji. Sa druge strane, koncentracija PlGF počinje da raste između 9-11 nedelja pre pojave hipertenzije i proteinurije, a zatim se rast ubrzava tokom 5 nedelja pre pojave bolesti(73). Postoji više studija koje se bave procenom PlGF kao biomarkera u prvom trimestru, koje u glavnom pokazuju skromne prediktivne vrednosti. Kombinovanje PlGF sa drugim biomarkerima, Doplerom arterije uterine, ipak suštinski poboljšava prediktivnu vrednost. Jedna studija uključuje 7.797 trudnica između 11 i 13 nedelje gestacije(74). Algoritam dobijen logističkom regresijom koji kombinuje indeks uterine pulsativnosti, srednji arterijski pritisak, *pregnancy-associated plasma protein A* (PAPP-A), serumski PlGF, index telesne težine, i eventualno PE u prethodnim trudnoćama, je pokazao sledeće: rana PE je detektovana u 93% slučajeva(74).

Ove studije imaju impresivne rezultate ali radne grupe i dalje ne preporučuju ovakve testove kao rutinske(74). PlGF je mali protein i bubrezi ga lako filtriraju. Merenje urinarnog PlGF u kombinaciji sa merenjem odnosa koncentracija sFlt-1/PlGF u cirkulaciji, je druga moguća strategija za otkrivanje rane PE. U jednoj studiji, istraživači su merili sFlt-1, PlGF i rastvorljivi endoglin kod 1622 pacijentkinja tokom ranog prvog i drugog trimestra(75). Otkrivene su 100% osjetljivosti 98% specifičnost za odnos koncentracija PlGF/rastvorljivi endoglin, kao prediktora rane PE. Druge studije u kojima su korišćeni angiogeni markeri u populaciji sa visokim rizikom, su dale mnogo skromnije rezultate(76).

PROGNOSIS studija (*Prediction of Short-Term Outcome in Pregnant Women with Suspected Preeclampsia Study*) se takođe bavi odnosom koncentracija sFlt-1/PlGF kao prediktora PE. U ovoj studiji se procenjuje odnos ova dva biomarkera, nezavisno od nedelja gestacije u cilju odbacivanja eklampsije, PE i HELLP sindroma (hemoliza, povišeni jetreni enzimi i niski trombociti). Ova studija pretpostavlja odnos markera

dovoljno preciznim da bi se donosile kliničke odluke o hospitalizaciji ili van bolničkom praćenju trudnice. U praksi, veoma visoka negativna prediktivna vrednost je ključna za procenu pacijentkinje sa suspektom PE, jer bi propust u dijagnostici ove bolesti mogao imati devastirajuće posledice na fetus i majku. Opservirana pozitivna prediktivna vrednost odnosa sFlt-1:PIGF je bila 36,7%, što predstavlja poboljšanje u predikciji. Procena proteinurije i merenje krvnog pritiska daju svega oko 20 % pozitivne prediktivne vrednosti u cilju detektovanja PE(77). Generalno, vrednost odnosa sFlt-1:PIGF je pokazao bolje dijagnostičke performanse nego pojedinačni biomarkeri. (78,79). U skorašnjoj studiji se navodi da je PIGF pojedinačno preditovao porođaj u roku od 14 dana za žene se potvrđenom PE pre 35. nedelje gestacije(81). U toj studiji prediktivna vrednost pojedinačno sFlt-1 i PIGF je bila inferiorna u odnosu na vrednost odnosa sFlt-1:PIGF. Kao zaključak PROGNOSIS studije se može uzeti da vrednost cutoff-a od 38 za odnos sFlt-1:PIGF je koristan za predikciju kratkoročnog odsustva PE kod žena kod kojih se sumnja na ovaj poremećaj.

1.8.2 PLACENTALNI PROTEIN 13 I DRUGI MARKERI

Rani maternalni ili fetalni markeri mogu biti korišćeni za otkrivanje placentalne patologije. Oni mogu biti od koristi pri identifikovanju žena kojima je potrebno detaljnije prenatalno praćenje, odnosno, koje bi imale najviše koristi od preventivnih mera kao što su antitrombocitni agensi ili suplementi kalcijuma (81,82). Placentalni protein 13 (PP13) je 32kDa dimerni protein koga isključivo produkuje placenta, i za koji se dugo vremena smatralo da je uključen u normalnu placentaciju i remodelovanje arterija majke(83,84). Različite studije navode redukciju nivoa PP13 mesendžer RNA ekspresije u placentama koje su dobijene od trudnica kod kojih je došlo do rane pojave PE(85). Nicolaidis i sar.(85) su otkrili značajnu redukciju serumskog PP13 između 11 i 13 nedelje gestacije kod trudnica koje su razvile ranu PE. Ovakvi nalazi su kasnije potvrđeni u radovima Spencera i sar.(86). Studija Wortelboer-a i sar.(87), takođe ispituje markere PP13 i PIGF ali i jedan drugi marker- dezintegrin i metaloproteinazu 12 (ADAM 12). Ta studija potvrđuje prediktivnu vrednost PP13 i PLGF za rano otkrivanje PE, a za ADAM 12 se navodi da postoji mala ali značajna redukcija ovog markera kod trudnica sa ranom PE.

1.9 PREVENCIJA PREEKLAMPSIJE

1.9.1 REDUKCIJA FIZIČKE AKTIVNOSTI

Dokazi o pozitivnim efektima mirovanja u cilju prevencije PE potiču iz Cochrane pregleda, odnosno dve studije koje obuhvataju 108 trudnica sa umerenim rizikom za razvoj PE(88). Jedna od studija poredi 32 trudnice od kojih se jedan deo odmarao 4 sata dnevno u levoj lateralnoj poziciji, dok su ostale imale nerestriktivnu aktivnost, i druga, koja obuhvata 74 trudnice, od kojih se jedna grupa odmarala dva puta dnevno po 15 minuta, dok je druga grupa imala nerestriktivnu aktivnost. U obe ove studije je pokazana mala, ali statistički značajna redukcija PE kod trudnica koje su imale režim mirovanja, ali obzirom na mali broj učesnica u studiji, ne mogu se značajne poruke izvući.

1.9.2 MIROVANJE U KREKETU U SVRHU TRETIRANJA HIPERTENZIJE U TRUDNOĆI

Dokazi o efektima mirovanja u cilju poboljšanja ishoda trudnoće kod pacijentkinja sa hipertenzijom su izvučeni iz studija obuhvaćenim Cochrane sistematskim pregledom (89). Studije su bile relativno male, sa ukupnim brojem od 449 učesnica. U dve studije (145 trudnica), je poređeno striktno mirovanje sa mirovanjem u bolničkim uslovima. U druge dve studije je poređeno (304 trudnica) mirovanje u bolničkim uslovima sa rutinskom aktivnošću kod kuće, i to kod pacijentkinja sa hipertenzijom bez proteinurije. U obe studije nije bilo statistički značajne razlike za različite grupe.

Na osnovu ovih studija se može reći da preporuke o strogom mirovanju ili restrikciji u aktivnostima nemaju značaj za prevenciju PE ili hipertenzivnih poremećaja, I to najviše zbog slabog kvaliteta dokaza.

1.9.3 RESTRIKCIJA UNOŠENJA SOLI

Dokazi o uticaju restriktivnog unošenja soli u ishrani kao mere prevencije PE potiču iz Cochranovog sistematskog pregleda. Navedene su dve studije koje obuhvataju 603

trudnice iz Holandije(90). Sve učesnice u studijama su bile nulipare sa normalnim krvnim pritiskom u vreme početka studije. Poređene su dve grupe, prva u kojoj je kod trudnica praktikovano restriktivno unos soli, i druga, u kojoj su trudnice unosile sol kao I obično. Nije bilo statistički značajne razlike u ishodima trudnoće kod poređenih grupa. Preporuka na osnovu pomenutih studija je da restrikcija unosa soli nema uticaja na prevenciju razvoja PE.

1.9.4 UNOŠENJE SUPLEMENATA KALCIJUMA

Cochranovim sistematskim pregledom literature obuhvaćeno je više radova sa više od 15700 trudnica, i ispitivani su efekti rutinske upotrebe suplemenata kalcijuma (najmanje 1 gram dnevno), i to u cilju prevencije PE(91). U svim studijama su poređene grupe trudnica koje uzimaju kalcijum, i grupe trudnica koje ne uzimaju kalcijum, odnosno placebo. Kod svih žena, suplementacija kalcijuma je dovela do gotovo prepolovljavanja rizika od razvoja PE. Kod žena sa niskim rizikom od razvoja PE, došlo je do redukcije rizika za 41%. Najveća redukcija rizika od razvoja PE je zabeležena kod žena sa visokim rizikom, i to za 78%. Preporuke proistekle iz studija su da u područjima sa niskim unosom kalcijuma u ishrani, suplementacija kalcijuma tokom trudnoće (od 1,5 do 2 grama dnevno) dovodi do redukcije rizika od nastanka PE, naročito kod trudnica sa visokim rizikom.

1.9.5 SUPLEMENTI VITAMINA D

Unošenjem suplemenata vitamina D kod trudnica, se bavi 6 radova po izboru Cochranovog pregleda, i obuhvata 1023 trudnice. U studijama se ispituje uticaj unošenja suplemenata samog vitamina D, ili u kombinaciji sa drugim vitaminima i mineralima, uključujući kalcijum(92). Nije utvrđena bitna statistička razlika u ishodu trudnoće, odnosno pojavi PE kod trudnica koje su uzimale suplemente vitamina D, i kod trudnica koje nisu uzimale suplemente.

1.9.6 ANTIOKSIDANSI

U radovima su opisani i efekti različitih antioksidansa u cilju prevencije PE. Cochranov pregled izdvaja 15 studija sa ukupno 22359 trudnica (93). Većina studija je

poredila unošenje jednog ili više vitamina, naročito vitamina E i C, sa placebom. Statističkom obradom je utvrđeno da ovakve terapije nemaju nikakav uticaj na prevenciju PE.

1.9.7 ANTITROMBOCITNA TERAPIJA

Dokazi o efektima antitrombocitne terapije, kao što su aspirin ili dipiridamol, u cilju prevencije PE i sledstvenih komplikacija, Cochranov pregled obrađuje u preko 60 studija koje uključuju 37720 pacijentkinja (94). Ovim ispitivanjem je utvrđeno da male doze acetilsalicilne kiseline (Aspirin 75 mg/dnevno), mogu biti preporučene u cilju prevencije PE, naročito kod žena sa visokim rizikom od razvoja ove bolesti. Ovu terapiju bi trebalo započeti pre 16. nedelje trudnoće.

1.10 TRETMAN PACIJENTKINJAMA SA PREEKLAMPSIJOM I HELLP SINDROMOM

Glavni postulat tretmana trudnica sa umerenom gestacionom hipertenzijom ili PE bez teških karakteristika je bezbednost trudnice i fetusa. Važno je obezbediti porodaj zrelog odojčeta kome neće biti neophodna intenzivna ili prolongirana neonatalna nega(95). Kada se postavi dijagnoza umerene gestacione hipertenzije ili PE bez teških karakteristika, tretman zavisi od evaluacije trudnice i fetusa, gestacione starosti, eventualne ruptur membrane I vaginalnog krvarenja.

1.10.1 PREPOROĐAJNI TRETMAN

Za potrebe postavljanja dijagnoze, sve trudnice bi trebalo da imaju urađenu kompletnu krvnu sliku, biohemijske analize, analize prisustva proteina u 24 časovnom urinu, i da daju anamnestičke podatke o eventualnoj PE(95). Evaluacija fetusa uključuje ultrazvučni pregled prilikom koga se procenjuje težina fetusa i index amnijske tečnosti, zatim nonstress test i biofizički profil. Sledeći kriterijumi predstavljaju indikaciju za bolničko lečenje: 37 nedelja gestacije, suspektna abrupcija placente, ruptur membrane, težina fetusa niža od 50-og percentila, oligohidramnion.

1.10.2 KONTINUIRANA EVALUACIJA

Kontinuirana evaluacija trudnica sa umerenom gestacionom HT ili PE bez teških karakteristika se sastoji u dnevnoj evaluaciji fetusa, proceni fetalne asfiksije, UZ u cilju procene rasta fetusa na svake 3 nedelje, i nedeljne procene količine amnijske tečnosti i nonstress test. Prilikom svakog pregleda se testira krvni pritisak. U slučaju povišenog pritiska radi se nedeljni nonstress test, a potrebno je proveriti eventualnu proteinuriju. Laboratorijska ispitivanja uključuju kompletnu krvnu sliku, jetrene enzime i serumski kreatinin na nedeljnoj osnovi. Pacijentkinjama se savetuje restrikcija unosa soli. Prilikom svakog pregleda, trudnice se savetuju da prijavljuju simptome koji bi ukazali na PE kao što su jake glavobolje, vizuelne promene, bol u epigastrijumu, kratak dah. Savetuju se takođe da se odmah jave u bolnicu u slučaju prisustva kontrakcija, vaginalnog krvarenja, rupture membrane ili smanjenja pokretljivosti fetusa..

Kod trudnica sa umerenom gestacionom HT, progresija u tešku gestacionu HT ili PE se često dešava 1-3 nedelje nakon dijagnoze, dok kod trudnica sa PE bez teških karakteristika, progresija u tešku PE se može desiti u okviru nekoliko dana(96).

Preporuke vodiča kliničke prakse se sastoje u praćenju krvnog pritiska i proteinurije na nedeljnoj osnovi. Primena antihipertenzivne terapije ima za cilj prevenciju teške gestacione HT i eventualne apopleksije. Neki kliničari su rezervisani po pitanju ove terapije zbog mogućih štetnih efekata na fetus kao što je usporen rast fetusa. Od terapije se najčešće koristi Methildopa. Postoje brojne studije koje se bave uticajem ove terapije na sniženje HT i prevencije PE, ali nema konsenzusa u smislu preciznih kliničkih smernica(97). Neki od kliničara savetuju umerenu aktivnost ili potpuno mirovanje u krevetu u cilju poboljšanja HT ili PE bez teških karakteristika. Cochranov pregled sa druge strane navodi da dostupni rezultati studija koji se bave ovom tematikom ne mogu biti adekvatna preporuka za trudnice sa HT (89). Prolongirano mirovanje u krevetu sa druge strane može dovesti do povišenog rizika od nastanka tromboembolije.

Hipertenzija u trudnice ili PE predstavlja poznati rizik za perinatalnu smrt, i predstavlja indikaciju za procenu asfiksije. Ne postoje dovoljne preporuke kada treba početi sa ovim ispitivanjem, kao ni kakva dinamika ispitivanja treba da bude, ni koje vrste testova treba praktikovati(13,14).

Profilaksa magnezijum sulfatom takođe nije potpuno ispitana obzirom da ne postoje dvostruko slepe, placebo kontrolisane studije sa ciljem procene efekata ovog preparata na PE (17,18). Ova terapija nije preporučena za uniformno uzimanje kod PE bez teških komplikacija. Ona ostaje jedna od terapija izbora za pacijentkinje kod kojih dolazi do nagle progresije bolesti i pojave teških simptoma.

Cilj lečenja teške hipertenzije (HT) je prevencija potencijalnih kardiovaskularnih, bubrežnih i cerebrovaskularnih komplikacija. Životno ugrožavajuća stanja koja nastaju kao komplikacija HT opravdavaju upotrebu anti hipertenziva. Cochranov pregled nije našao razliku u rezultatima prilikom upotrebe "Hidralazina" i "Labetalola" ili između "Hidralazina" i beta blokatora(98). Ove studije jednako preporučuju ove lekove dokle god postoji potreba. Moguća komplikacija je ekscesivna hipotenzija i neuro-muskularna blokada. (20).

Teška PE može rezultovati akutnim i dugoročnim komplikacijama za trudnicu i novorođenče(99). Komplikacije za trudnicu su edem pluća, infarkt miokarda (IM), akutni respiratorni distress sindrom (ARDS), koagulopatija, bubrežna insuficijencija. Komplikacije opasne po fetus i novorođenče mogu biti uteroplacentalna insuficijencija, prerani porođaj ili oboje(100). U slučaju ovih neželjenih pojava savetuje se porođaj već od 34. nedelje trudnoće, i to odmah nakon stabilizacije opšteg stanja trudnice. U slučaju teške PE u trudnoći pre 34. nedelje, sa stabilnim stanjem trudnice i fetusa, moguć je i nastavak trudnoće uz adekvatni monitoring majke i fetusa. U cilju bržeg sazrevanja pluća fetusa daju se preparati kortikosteroida(101). Pojava teške proteinurije kod trudnica sa teškom PE ne mora nužno da pogoršava stanje majke i ploda(102). Odluka o ranijem porođaju ne treba da se bazira na pojavi teške proteinurije. U nekim slučajevima je potrebno primeniti ekspektativni stav. On se bazira na neposrednom i detaljnom praćenju svih simptoma, laboratorijskih idijagnostičkih mera u cilju odlaganja porođaja. Ovaj princip traži monitoring majke i fetusa. Monitoring majke se sastoji u proceni vitalnih znakova, unosa tečnosti, diureze. Simptoma PE: glavobolje, vizuelnih ispada, kratkog daha, bolova u epigastrijumu, mučnine, prosustva kontrakcija, abdominalnog bola i krvarenja i to svakih 8 sati. Potrebno je proveravati krvnu sliku, jetrne enzime, kreatinin u serumu i to na dnevnoj osnovi. Monitoring fetusa se sastoji u proceni fetalne asfiksije nonstress testom. Dva puta nedeljno je potrebno proceniti biofizički profil, zatim procenjivati rast fetusa i Doppler umbilikalne arterije. Nagla detorijacija majke i ploda je razlog za prevremeni porođaj(100,103). Kada dodje do indikacija za porođaj,

moguć je i vaginalni porođaj, ali je on često manje verovatan u ranijoj trudnoći(104,105).

1.11 EKLAMPSIJA

Eklampsija se definiše kao nova pojava *grand mal* napada epilepsije kod pacijentkinja sa PE. Epilepsiji prethodi veliki broj simptoma i znakova kao što su HT, proteinurija i edemi, ali svi ti simptomi mogu i da izostanu(106). Nekoliko simptoma mogu da budu najava eklampsije. To su perzistentna okcipitalna ili frontalna glavobolja, zamagljen vid, fotofobija, bol u epigastrijumu ili izmenjen mentalni status (106,107). Napadi u eklampsiji fundamentalno doprinose morbiditetu i mortalitetu majke, naročito u zemljama u razvoju (107). Dugo godina se ovo stanje tretiralo antikonvulzivima(108). Sistematskim pregledom literature je utvrđeno da je magnezijum sulfat superiorna terapija u odnosu na fenitoin i diazepam(109). Kod žena sa eklampsijom je preporuka da se nastavi sa magnezijum sulfatom najmanje još 24 sata nakon poslednje konvulzije. Rezultati 6 radomizovanih studija koje obuhvataju preko 11.000 žena su pokazali da upotreba magnezijuma smanjuje procenat nastanka eklampsije za 50 %(110). Nekoliko studija govore u prilog loših rezultata takozvanog menadžmenta očekivanja kod eklampsije. Ovakav pristup dovodi do povišenog morbiditeta i mortaliteta(107), Postoji generalizovan stav da je kod žena sa eklampsijom indikovani porođaj nakon stabilizacije opšteg stanja.

1.12 HELLP

Ovaj sindrom karakterišu hemoliza, abnormalna funkcija jetre i nizak nivo trombocita (91). Razvoj HELLP sindroma se može desiti i pre i posle porođaja. Klinički tok ovog sindroma često karakteriše nagla i progresivna detorijacija stanja majke i ploda. Obzirom da je sindrom uzrok velikog morbiditeta i mortaliteta, mnogi autori ga smatraju apsolutnom indikacijom za hitan porođaj. Kada dođe do pojave ovog sindroma posle 34. nedelje trudnoće, ili pre 34. nedelje ali u situaciji kada se javi diseminovana intravaskularna koagulopatija, infarkcija jetre ili krvavljenje, bubrežna insuficijencija, edem pluća, abrupcija placente, onda je porođaj hitno indikovani (111). Nega za takve pacijentkinje je adekvatna samo u tercijarnim ustanovama. U cilju redukcije morbiditeta

i mortaliteta, indikovana je terapija antihipertenzivima, kortikosteroidima i magnezijum sulfatom (112).

1.13 GENETSKI FAKTORI RIZIKA

Sa stanovišta epidemiologije, mnoge studije su pokazale povezanost PE sa familijarnom predispozicijom. Pokazane su i varijacije vezane za različite geografske, socioekonomske i rasne karakteristike. Utvrđeno je da žene čije su srodnice u prvom stepenu bolovale od PE, imaju pet puta veću verovatnoću za razvoj bolesti, dok je kod onih sa PE u drugom stepenu srodstva verovatnoća dva puta veća. (113). Utvrđeno je da i očevi geni takođe mogu nositi povišen rizik za nastanak PE. Očevi geni su pokazali značaj za razvoj placente, dok su majčini zaduženi za inhibiciju razvoja placente i utiču na adaptivne i imunološke mehanizme u trudnoći(114).Bitno je spomenuti studiju koju su sproveli Goddard i saradnici (115) i koja je obuhvatila 350 trudnica sa PE i kojima je ispitano preko 190 gena. Utvrđeno značajna gentotipska reakcija koja uzrokuje PE kod 6 gena: IGF1, IL4R, IGF2R, GNB3, CSF1 i THBS4. Ovakav rezultat ispitivanja je potvrdio i prethodne koji govore u prilog multifaktorijalnog i poligenkog uzrokovanja PE (116).

1.13.1 COMT POLIMORFIZAM

Katehol-O-metil transferaza (COMT; EC 2.1.1.6) gen predstavlja jedan od gena kandidata za PE sa izuzetnim potencijalom (20). COMT je jedan od glavnih enzima uključen u inaktivaciju katehol estrogena, koji imaju važnu ulogu u fiziološkom procesu trudnoće i fetalnom razvoju (21). Pokazano je da kod trudnica sa PE dolazi do smanjene aktivnosti COMT enzima i smanjene produkcije 2-metoksiestradiola (2-MeO-E2), koja najverovatnije dovodi do akumulacije faktora 1 alfa indukovano hipoksijom (HIF-1 α) i pojačane produkcije sFlt-1 (22). Skorija studija koja je koristila COMT(-/-) eksperimentalne miševe pokazala je da COMT predstavlja važnu komponentu u fiziološkom razvoju placente i embriona. Dodatno, davanjem 2-MeO-E2 COMT(-/-) eksperimentalnom mišu može se značajno unaprediti njegovo stanje, ukazujući na značaj COMT enzima u trudnoći preko formiranja 2-MeO-E2. U istoj studiji pokazano je da COMT i 2-MeO-E2 imaju važnu ulogu u regulaciji uteroplacentalne vaskularne

homeostaze, krvnog pritiska, glomerularne strukture bubrega i odgovora na tkivnu hipoksiju (20). Genetičkom analizom je pokazano da je jedan od funkcionalnih polimorfizama gena koji kodira sintezu membranskog COMT-a, jedna tačkasta genetička mutacija tj. prisustvo guanina (G) umesto adenina (A) baze na poziciji 472 (COMT 472 A>G), koja dovodi do zamene aminokiseline valin sa metioninom na kodonu 158 (COMT Val158Met) i krajnjeg smanjenja aktivnosti COMT enzima (23). Različite studije pokazale su povezanost tačkaste genetičke varijante COMT 472 A>G i razvoja PE odnosno SGA (24-26). Lim i saradnici i Liang i saradnici su pokazali povezanost tačkaste genetičke varijante COMT 472 A>G sa povećanim rizikom pojave PE. Roten i saradnici (27) su pokazali povezanost tačkaste genetičke varijante COMT 472 A>G sa ponovljenom PE. Suprotne rezultate dobili su Hil i saradnici (28). Oni su pokazali da je majčinski ACCG COMT haplotip, koji ima smanjenu aktivnost COMT enzima i smanjenu produkciju 2-MeO-E2 kod majke, povezan sa smanjenim rizikom pojave PE. Nasuprot tome fetalni ATCA COMT haplotip koji ima smanjenu aktivnost COMT enzima i koji dovodi do smanjene produkcije 2-MeO-E2 na nivou fetusa, dovodi do povećanog rizika pojave PE. Kao potencijalno objašnjenje predlaže se u vidu smanjene aktivnosti COMT enzima na nivou majke koji pokazuje protektivnu ulogu jer omogućava veću aktivnost COMT enzima i veću produkciju 2-MeO-E2 na nivou placente. Potrebno je ispitati da li tačkasta genetička varijanta COMT 472 A>G na nivou majke pokazuje protektivnu ulogu ili predstavlja faktor rizika u razvoju rane PE i njenih komplikacija.

1.13.2 POLIMORFIZAM INFLAMATORNIH CITOKINA

Geni koji utiču na ekspresiju i/ili funkcionalnu aktivnost inflamatornih citokina predstavljaju takođe grupu gena kandidata za PE sa izuzetnim potencijalom. Tokom analize 775SNP u 190 gena, Goddard i saradnici (29) su pokazali da tačkasta genska mutacija rs3783550 u genu za IL-1 α korelira sa rizikom razvoja PE, pri čemu citozin (C) alel dovodi do porasta rizika razvoja PE (OR 1,6; 95% CI 1,19 - 2,07;). Hagerty i saradnici (30) su ispitivali povezanost tačkaste genske mutacije interleukina 1-alfa (IL-1 α) 4845 G>T i rizika razvoja PE. Oni su pokazali da GG genotip značajno povećava rizik razvoja PE (kod crnkinja: OR 11,6; 95% CI 1,5-89,3; kod belkinja: OR 1,7; 95% CI 0,7-3,9). Sledeća grupa tačkastih genskih mutacija kod kojih je ispitivana povezanost sa PE bila je grupa tačkastih genskih mutacija TNF- α -857 C>T i receptora faktora

nekroze tumora-alfa tip 1 (TNFR1) 36 A>G. U jednoj studiji (31) je pokazan njihov sinergistički efekat sa tačkastom genskom mutacijom IL-1 α 4845 G>T, koja dovodi do povećanja rizika razvoja PE 2.3 puta. Ista studija je pokazala povezanost TNFR1 36 AG/GG genotipa sa povećanim rizikom razvoja PE. Finalno, najviše se ispitivala tačkasta genska mutacija interleukina 10 (IL-10) -1082 A>G, sa najvećim brojem publikovanih studija o povezanosti sa rizikom razvoja PE. Međutim meta-analiza je pokazala da ne postoji povezanost tačkaste genske mutacije IL-10 -1082 A>G i rizika razvoja PE (32).

2. C I L J R A D A

U ovom radu su postavljena tri cilja:

1. Za svaku tačkastu genetičku varijantu: COMT 472 G>A, TNF- α -857 C>T, TNFR1 36 A>G, IL-1 α 4845 G>T i IL-10 -1082 A>G ispitati udruženost sa rizikom razvoja rane preeklampsije i njenih komplikacija,teškog oblika rane preeklampsije i rane preeklampsije sa IUGR, genotipski model, nekorigovan i korigovan za uticaj kofaktora;;
2. Za svaku tačkastu genetičku varijantu: COMT 472 G>A, TNF- α -857 C>T, TNFR1 36 A>G, IL-1 α 4845 G>T i IL-10 -1082 A>G ispitati udruženost sa rizikom razvoja rane preeklampsije i njenih komplikacija,teškog oblika rane preeklampsije i rane preeklampsije sa IUGR, alelski recesivni i alelski dominantni model, nekorigovana i korigovana za uticaj kofaktora;
3. Za tačkaste genetičke varijante koje su pokazale statistički značajnu korelaciju, ispitati njihovu interakciju i udruženost te interakcije sa rizikom razvoja rane preeklampsije i njenih komplikacija.

3. METODE RADA

3.1. Vreme i mesto istraživanja

Studija je sprovedena na Klinici za ginekologiju i akušerstvo, Kliničkog centra Srbije u Beogradu u periodu između septembra 2012. godine i decembra 2013. godine.

3.2. Ispitanici – jedinice posmatranja

Studija je odobrena od strane Etičkog komiteta Kliničkog centra Srbije. Svi ispitanici su detaljno informisani o studiji i samo ispitanici koji su potpisali informativni pristanak su ušli u studiju.

Studija je obuhvatila dve grupe ispitanika. Prvu grupu čini 47 pacijentkinja sa ranom PE, dok drugu grupu čini 47 zdravih ispitanica (kontrolna grupa). Grupa pacijentkinja sa PE je podeljena u dve podgrupe prema dva različita kriterijuma. Prema prvom kriterijumu, prva podgrupa čini 33 pacijentkinje sa teškim oblikom PE, dok drugu podgrupu čini 14 pacijentkinja sa oblikom PE bez teških karakteristika. Podela pacijentkinja prema drugom kriterijumu je takođe na dve podrupe, s tim što je umesto prema težini PE, podela bazirana prema težini novorođenčeta. Prvu podgrupu čini 12 pacijentkinja koje su rodile dete sa težinom adekvatnom za gestacionu starost,AGA(eng. *Appropriate for Gestational Age*, AGA), dok drugu podgrupu čini 35pacijentkinja sa težinom novorođenčeta manjom za gestacionu starost,SGA (eng. *Small for Gestational Age*, SGA).

PE, rana PE i teška PE su definisane prema Radnoj grupi Američkog koledža za ginekologiju i akušerstvo za hipertenziju i trudnoću (ACOG 2013). PE se definiše kao nova pojava hipertenzije nakon 20. nedelje gestacije, sistolni krvni pritisak viši od 140 mm Hg odnosno dijastolni krvni pritisak viši od 90 mm Hg u najmanje dva merenja u intervalu dužem od 4 sata, uz detekciju proteinurije, izmereni proteini u 24h-urinu viši od 300 mg ili protein/kreatinin odnos $\geq 0,3$ ili u odsustvu mogućnosti sakupljanja 24-h urina očitani proteini na test traci 1+. U odsustvu detekcije proteinurije može se koristiti

bilo koji od navedenih kriterijuma: trombocitopenija (broj trombocita manji od 100.000/ μ L), bubrežna insuficijencija (koncentracija kreatinina u serumu viša od 97 μ mol/L), smanjena funkcija jetre (aktivnost enzima AST i ALT dva puta viša od gornje granice referentnog intervala), pojava plućnog edema ili pojava cerebralnih odnosno vizuelnih simptoma. Rana PE se definiše kao PE koja se pojavila pre 34. nedelje gestacije. Težak oblik PE se definiše kao pojava hipertenzije, sistolni krvni pritisak viši od 160 mm Hg odnosno dijastolni krvni pritisak viši od 110 mm Hg u najmanje dva merenja u intervalu dužem od 4 sata (ukoliko nije započeta antihipertenzivna terapija), trombocitopenija (broj trombocita manji od 100 000/ μ L), progresivna bubrežna insuficijencija (koncentracija kreatinina u serumu viša od 97 μ mol/L ili dva puta viša od bazalne vrednosti), smanjena funkcija jetre (aktivnost enzima AST i ALT dva puta viša od gornje granice referentnog intervala, težak perzistentan epigastrični bol koji ne reaguje na medikamentoznu terapiju), pojava plućnog edema ili pojava cerebralnih odnosno vizuelnih simptoma.

AGA i SGA su definisani prema distribuciji telesne težine novorođenčadi u srpskoj populaciji (Zavod za statistiku Republike Srbije) za 2010. godinu. SGA se definiše kao telesna masa novorođenčeta ispod 10-tog percentila za odgovarajuću nedelju gestacije prema distribuciji telesne mase novorođenčadi za srpsku populaciju.

Kriterijumi za uključenje bili su:

- potpisan pristanak za ulazak u studiju,
- starost trudnice veća od 18 godina i
- klinički potvrđena dijagnoza PE (za eksperimentalnu grupu).

Kriterijumi za isključenje iz studije bili su:

- trudnoća sa poznatim abnormalnim fetalnim kariotipom
- trudnoća sa poznatom hromozomskom aberacijom
- multifetalna gestacija
- gestaciona hipertenzija bez proteinurije
- hronična hipertenzija
- dijabetes mellitus
- kardiovaskularna bolest

- autoimuno oboljenje
- hronična bolest bubrega

Kontrolnu grupu čine trudnice sa zdravom jednoplodnom trudnoćom koje su trudnoću i porođaj vodile, odnosno sprovele na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije u Beogradu. Ove ispitanice imale su kriterijum za uključenje gestacionu starost 37 i više nedelja u vreme porođaja i trudnoća koja je prošla bez komplikacija.

3.3 Klinička metodologija

Prenatalna nega je sprovedena prema vodičima i protokolima Klinike.

Pacijentkinje su po prijemu na Kliniku pregledane i uzeta im je kompletna anamneza. Pregled je obuhvatio ginekološki i osnovni internistički pregled. Na osnovu anamnestičkog podatka o poslednjoj menstruaciji izračunat je gestacijski uzrast.

Svakoj pacijentkinji su uzete antropometrijske mere, visina i telesna masa (TM), i na osnovu njih izračunat je indeks telesne mase (ITM). Indeks telesne mase izračunat je po formuli: $ITM = TM \text{ (kg)} / TV^2 \text{ (cm)}$.

Sistolni i dijastolni krvni pritisak su mereni u miru, pola sata nakon dolaska u bolnicu, u sedećem položaju.

Svakoj pacijentkinji je uzeta krv za analizu. Analize iz krvi obuhvatile su osnovne laboratorijske analize (krvna slika i biohemija) i specifične (DNK analiza).

DNK priprema i genotipizacija

Deo analizirane EDTA pune krvi je zamrznut na temperaturu od -70°C za DNK ekstrakciju i genotipizaciju. Izolacija DNK iz $200\mu\text{L}$ periferne krvi je urađena komercijalnim setom za izolaciju DNK (Roche Diagnostics), u skladu sa uputstvima proizvođača. Detekcija prisustva mutacije inflamatornih citokina i COMT je urađena pomoću amplifikacije lančane reakcije DNK. Amplifikacija je urađena PCR metodom pomoću GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems). Proizvod PCR reakcije za polimorfizam inflamatornih citokina je razgrađen EXO_{sap} IT enzimom. Sanger sekvencioni metod je korišćen da bi se analizirali očekivani polimorfizmi pomoću uređaja Genetic Analyzer Applied Biosystem 3130. Sekvence su analizirane u Software

Sequencing Analysis 5.2 sa 36 cm kapilarom i POP7 polimerom. Proizvod PCR reakcije za COMT polimorfizam je sečen pomoću enzima N1aIII (Hin1II Thermo SCIENTIFIC). Elektroforetska separacija je urađena u 2.5% agar gelu koji sadrži etidijum bromid. Nakon digestije fragmenti enzima su vizualizovani pod ultraljubičastom svetlošću na transiluminaciji (Wilber Lourmat).

Na porođaju je beležen tip porođaja (carski rez ili vaginalni), gestacijska starost je izračunata i merena je telesna težina novorođenčadi. Pored navedenih, APGAR skor je beležen.

3.4 Statistička metodologija

U ovoj studiji korišćene su deskriptivne i analitičke statističke metode.

Od deskriptivnih, korišćeni su:

- apsolutni i relativni brojevi (n, %)
- mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana)
- mere disperzije (standardna devijacija, interval varijacije, interkvartilni raspon)

Od analitičkih statističkih metoda korišćeni su testovi razlike i analiza povezanosti.

Testovi razlike korišćeni u ovoj studiji su:

- parametarski (t test)
- nemaparametarski (Mann-Whitney U test, Chi-kvadrat test).

Empirijska frekvencija genotipova testirana je u odnosu teorijsku (Hardy-Weinberg equilibrium) pomoću Chi kvadrat testa slaganja za dva stepena slobode. Genotipska i alelska frekvencija je komparirana između svih slučajeva PE i njihovih kontrola Chi-kvadrat testom i binarnom logističkom regresijom. U regresionoj analizi, kao zavisna uzeta je varijabla PE (da/ne), oblik PE (lakši/teži) i težina novorođenčeta (AGA/SGA). Kao nezavisne, korišćeni su genetski polimorfizmi i aleli. U svakoj analizi je računat količnik šansi (eng. Odds Ratio) sa 95% intervalom poverenja. Kao referentna

kategorija u analizi uzet je homozigot za češći alel. U situaciji da neka od kategorija ima frekvenciju 0, korišćena je egzaktna logistička regresiona analiza.

Uzimajući u obzir da se radi o dominantnom modelu i učestalost retkog alela 0,34, moć studije da se detektuje efekat genetike $OR=0,2$ za grešku prvog tipa od 0,05 iznosi $1-\beta=0,78$. Moć studije izračunata je na pomoću kalkulatora Genetic Power Calculator

Svi podaci su obrađeni u R softverskom paketu verzija 3.1.0 (R Core Team 2014).

4. REZULTATI

U studiju je uključeno ukupno 94 ispitanice, od kojih je polovina imala PE, a druga polovina nije (kontrolna grupa).

OPŠTE KARAKTERISTIKE

Od opštih karakteristika koje su analizirane, praćena je starost, gestacijski uzrast u danima, indeks telesne mase, krvni pritisak (sistolni i dijastolni), proteinurija i telesna masa na rođenju.

Kliničke karakteristike pacijentkinja sa PE u poređenju sa kontrolnom grupom

Poređene su kliničke karakteristike pacijentkinja sa PE i kontrolne grupe i rezultati su prikazani u Tabeli 1.

Tabela 1. Kliničke karakteristike pacijentkinja sa PE i kontrolne grupe

	Kontrolna grupa (n=47)	Preeklamsija (n= 47)	p vrednost ^a
Starost (godine)	29,44±4,49	32,14±5,52	0,010
Gestacijski uzrast (dani)	275±9	225±28	<0,001
ITM (kg/m ²)	24,16±4,11	27,77±3,93	<0,001
Sistolni KP (mmHg)	108,62±9,9	162,98±18,61	<0,001
Dijastolni KP (mmHg)	70,17±8,5	104,36±11,68	<0,001
Proteinuria (g/24h)	/	3,74±4,05	
Telesna težina na rođenju (g)	3340,24±445,28	1511,3±784,2	<0,001

^aT test KP- krvni pritisak

Iz rezultata se vidi da postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima starosti, gestacijskom uzrastu i telesnoj masi novorođenčadi, indeksu telesne mase, sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska između grupe pacijentkinja sa PE i kontrolne grupe. Pacijentkinje sa PE su u proseku bile starije i imale veći indeks telesne mase, više vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska u poređenju sa

pacijentkinjama iz kontrolne grupe. Evidentno je da pacijentkinje iz kontrolne grupe nisu imale prisutne proteine u urinu, za razliku od pacijentkinja sa PE. Novorođenčad majki sa PESu imala u proseku, dvostruko manju telesne masu i manji gestacijski uzrast u poređenju sa novorođenčadima majki iz kontrolne grupe.

Kliničke karakteristike u podgrupi pacijentkinja sa teškim oblikom PE bez teških karakteristika

Ispitivane su kliničke karakteristike bolesnica oblikom PE bez teških karakteristika i teškim oblikom PE u odnosu na kontrolnu grupu, rezultati su prikazani u Tabeli 2.

Tabela 2. Kliničke karakteristike bolesnica sa oblikom PE bez teških karakteristika i teškim stepenom PE u odnosu na kontrolnu grupu

	Kontrolna grupa (n=47)	Teži oblik PE (n= 33)	Lakši oblik PE (n=14)	p vrednost		
				KG vs, TPE	KG vs, LPE	TPE vs. KPE
Starost (godine)	29,44±4,49	32,45± 5,22	31,42±6,3	0,008	0,224	0,564
Gestacijski uzrast (dani)	275±9	218±23	241±33	<0,001	<0,001	0,009
ITM (kg/m ²)	24,16±4,11	27,9±4,25	27,46±3,18	<0,001	0,013	0,729
Sistolni KP (mmHg)	108,62±9,9	171,36±15,07	143,21±8,23	<0,001	<0,001	<0,001
Dijastolni KP (mmHg)	70,17±8,5	109,24±9,36	92,86±8,02	<0,001	<0,001	<0,001
Proteinurija (g/24h)	/	4,59±4,41	1,73±2,0			0,030
TT na rođenju (g)	3340,2±445,3	1304,5±536,2	1998,6±1050,8	<0,001	<0,001	0,004

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije KP- krvni pritisak TT – telesna težina

Iz tabele se vidi da postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima starosti, gestacijskom uzrastu i telesnoj masi novorođenčadi, indeksu telesne mase, prosečnim vrednostima sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska između grupe pacijentkinja sa teškim oblikom PEu poređenju sa ispitanicama iz kontrolne grupe. Pacijentkinje sa teškim oblikom PEsu bile u proseku starije i imale veći indeks telesne mase, više prosečne vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska u poređenju sa pacijentkinjama iz kontrolne grupe. Takođe, evidentno je da su novorođenčad majki sa teškim oblikom PEimala dvostruko manju prosečnu telesnu masu i manji gestacijski uzrast u poređenju sa novorođenčadima majki iz kontrolne grupe.

Prosečna starost pacijentkinja sa oblikom PE bez teških karakteristika i ispitanica iz kontrolne grupe su slične, pa je očekivano da nema statistički značajne razlike između ispitivanih grupa. Pacijentkinje sa oblikom PE bez teških karakteristika imaju više prosečne vrednosti ITM, sistolnog i dijastolnog pritiska, i ova razlika je statistički značajna u poređenju sa ispitanicama iz kontrolne grupe. Takođe, postoji statistički značajna razlika u telesnoj težini i gestacijskom uzrastu između ispitivanih grupa, a novorođenčad pacijentkinja sa oblikom PE bez teških karakteristika su lakša u proseku i rođena su u ranijem gestacijskom uzrastu.

Kada su poređene pacijentkinje sa lakšim (oblikom PE bez teških karakteristika) i teškim oblikom PE, vidi se da se one ne razlikuju bitno po i indeksu telesne mase, a postoji razlika u prosečnim vrednostima sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska i proteina u urinu. Novorođenčad majki sa teškim oblikom PE su rođena u ranijem gestacijskom dobu i manje telesne mase u poređenju sa sa novorođenčadi majki sa oblikom PE bez teških karakteristika.

Kliničke karakteristike u podgrupe pacijentkinja sa AGA i SGA u poređenju sa decom ispitanica iz kontrolne grupe

Ispitivane su kliničke karakteristike sa decom malom za gestacijski uzrast u odnosu na kontrolnu grupu, a rezultati su prikazani u Tabeli 3.

Tabela 3. Kliničke karakteristike pacijentkinja sa decom malom za gestacijski uzrast u odnosu na kontrolnu grupu

	Kontrolna grupa (n=47)	SGA (n=35)	AGA (n=17)	p vrednost		
				KG vs. SGA	KG vs. AGA	SGA vs. AGA
Starost (godine)	29,44±4,49	32,06±6,09	32,41±3,55	0,030	0,036	0,828
Gestacijski uzrast (dani)	275±9	219±24	240±34	<0,001	<0,001	0,013
ITM (kg/m ²)	24,16±4,11	27,0±3,37	30,03±4,71	0,003	<0,001	0,010
Sistolni KP (mmHg)	108,62±9,9	163,57±18,92	161,25±18,35	<0,001	<0,001	0,677
Dijastolni KP (mmHg)	70,17±8,5	104,57±11,14	103,75±13,67	<0,001	<0,001	0,818
Proteinurija (g/24h)	/	4,31±4,12	2,07±3,49			0,059
TT na rođenju (g)	3340,2±445,3	1206,3±450,3	2400,8±886,5	<0,001	<0,001	<0,001

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast, SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast KP- krvni pritisak TT – telesna težina

Iz Tabele 3. se vidi da su pacijentkinje koje su rađale decu malu za gestacijski uzrast (SGA) bile starije, imale veće prosečne vrednosti ITM, sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska u poređenju sa pacijentkinjama iz kontrolne grupe, a ta razlika je statistički značajna. Evidentno je da su deca iz ove grupe nižeg prosečnog gestacijskog uzrasta u odnosu na decu ispitanica iz kontrolne grupe.

U podgrupi pacijentkinja sa PE sa decom adekvatnom za gestacijski uzrast (AGA) postoje statistički značajne razlike u ispitivanim parametrima u odnosu na ispitanice iz kontrolne grupe slično kao i u grupi SGA.

Kada se uporede SGA i AGA grupa, vidi se da nema statistički značajne razlike u prosečnim vrednostima starosti, sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska. Pacijentkinje iz grupe SGA imaju više vrednosti proteinurije u poređenju sa pacijentkinjama iz grupe AGA. Pacijentkinje iz AGA grupe imaju veći ITM i rađale su decu manje telesne mase u poređenju sa pacijentkinjama iz grupe SGA.

Testiranje Hardy-Weinberg ravnoteže na genskim lokusima COMT, IL-1 α , IL10, TNF- α , TNFR1 u kontrolnoj grupi ispitanica

Ispitivana je Hardy-Weinberg ravnoteža na genskim lokusima u kontrolnoj grupi ispitanica, rezultati su prikazani u Tabeli 4.

Tabela 4. Hardy-Weinberg ravnoteža na genskim lokusima

HWE u KG (n= 47)	D	χ^2	p vrednost
COMT	0,032	2,1942	0,3338
IL-1 α	0,174	0,805	0,6686
IL10	0,214	0,0474	1,000
TNF- α	0,215	0,0686	1,000
TNFR1	-0,219	0,0504	1,000

D-devijacija od HWE, χ^2 - hi kvadrat, HWE – Hardy-Weinberg equilibrium, KG – kontrolna grupa

Iz tabele se vidi da D vrednosti za IL10, TNF- α i TNFR1 ukazuju da verovatno postoji ozbiljno odstupanje od Hardy-Weinbergove ravnoteže (HWE) u ispitivanim lokusima, međutim uzorak je premali da bi to bilo dokumentovano i statističkim testom. Sa druge strane, sa priličnom sigurnošću možemo da tvrdimo da su HWE pretpostavke održive u slučaju COMT lokusa i, u nešto manjoj meri, IL-1 α lokusa.

COMT polimorfizam kod pacijentkinja sa PE i podrupama PE u poređenju sa kontrolnom grupom

Ispitivane su učestalosti COMT-a prema opštem, alelskom, autozomno dominantnom i autozomno recesivnom tipu nasleđivanja.

Opšti model

Distribucija pacijentkinja po COMT genotipovima (wild type, heterozigot, homozigot) prema opštem modelu je prikazana u Tabeli 5.

Tabela 5. Distribucija ispitanica po COMT genotipovima u PE i kontrolnoj grupi

COMT	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
WT	10 (43,5%)	13 (56,5%)	1	
Heterozigot	17 (39,5%)	26 (60,5%)	1,176 (0,422-3,283)	0.756
Homozigot	20 (71,4%)	8 (28,6%)	0,308 (0,096-0,984)	0.047

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Na osnovu Chi-kvadrat testa utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika između ove tri grupe po ishodu ($X^2=7,418$; $p=0,025$). Iz rezultata se vidi da je učestalost PE najveća u heterozigotnoj grupi, dok je najmanja u homozigotnoj, što je i statistički značajno. Učestalosti wild type i heterozigotnih genskih varijanti je slična.

Dalja analiza obuhvatila je ispitivanje učestalosti COMT genotipova (wild type, heterozigota, homozigota) prema podgrupama pacijentkinja sa lakšim i teškim oblikom u poređenju sa kontrolnom grupom i rezultati su prikazani u Tabeli 6.

Tabela 6. Distribucija pacijentkinja po COMT genotipovima u podgrupama pacijentkinja sa lakšim i teškim oblikom PE

COMT	KG	TPE	LPE	Ukupno
WT	10 (43,5%)	10 (43,5,%)	3 (13,0%)	23
Heterozigot	17 (39,5%)	17 (39,5%)	9 (20,9%)	43
Homozigot	20 (71,4%)	6 (21,4%)	2 (7,1%)	28
Ukupno	47 (50,0%)	33 (35,1%)	14 (14,9%)	94

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Iz Tabele 6 se vidi da je distribucija pacijentkinja sa TPE veća nego LPE, ali je ova razlika najveća kada su u pitanju homozigot u odnosu na ostale dve grupe. Testirajući ove distribucije chi-kvadrat testom utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između ispitivanih grupa ($X^2=8,135$; $p=0,084$).

Logistički regresioni model sa TPE i LPE kao zavisnim i genotipom COMT kao nezavisnom je prikazan u tabeli 7.

Tabela 7. Logistički model sa COMT genotipovima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

COMT	TPE OR (95% IP)	p vrednost	LPE OR (95% IP)	p vrednost
WT	1		1	
Heterozigot	1,000 (0,331-3,018)	1,000	1,765 (0,385-8,087)	0,465
Homozigot	0,300 (0,085-1,063)	0,062	0,333 (0,048-2,328)	0,268

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije OR – Odds ratio (količnik šansi) IP-interval poverenja

Logističkom regresionom analizom je pokazano da je količnik šansi da dođe do TPE ili LPE 0,3 odnosno tri puta manja šansa da dođe do TPE ili LPE ukoliko se radi o homozigotu umesto WT, ali bez statističke značajnosti. Kada je u pitanju heterozigot, skoro dva puta je veća šansa da dođe do LPE u odnosu na WT, ali i ovaj količnik šansi je bez statističke značajnosti.

Ispitivane su učestalosti COMT genotipova (wild type, heterozigota, homozigota) prema podgrupama pacijentkinja sa AGA i SGA u poređenju sa kontrolnom grupom i rezultati su prikazani u Tabeli 8.

Tabela 8. Distribucija pacijentkinja po COMT genotipovima u podgrupama pacijentkinja sa AGA i SGA

COMT	KG	AGA	SGA	Ukupno
WT	10 (43,5%)	3 (13,0%)	10 (43,5%)	23
Heterozigot	17 (39,5%)	7 (16,3%)	19 (44,2%)	43
Homozigot	20 (71,4%)	2 (7,1%)	6 (21,4%)	28
Ukupno	47 (50%)	12 (12,8%)	35 (37,2%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Na osnovu distribucije pacijentkinja utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između grupa po učestalosti ($X^2=7,497$; $p=0,111$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA u odnosu na kontrolnu grupu, prikazano u Tabeli 9

Tabela 9. Logistički regresioni model sa COMT genotipovima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

COMT	AGA	p vrednost	SGA	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
WT	1		1	
Heterozigot	1,373 (0,288-6,544)	0,691	1,118 (0,374-3,337)	0,842
Homozigot	0,333 (0,048-2,328)	0,268	0,300 (0,085-1,063)	0,062

AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast
OR – Odds ratio (količnik šansi) IP-interval poverenja

Iz Tabele 9 se vidi da je šansa da dođe do AGA i SGA tri puta manja ukoliko se radi o homozigotu u odnosu na heterozigot ali je samo šansa za SGA blizu konvencionalnog nivoa značajnosti. Šansa da dođe do AGA i SGA je veća u odnosu na WT ukoliko se radi o heterozigotu, ali ni ove šanse nisu statistički značajne.

Alelski model

Ispitivan je alelski model za COMT gen u grupi pacijentkinja sa preeklampsijom i kontrolnoj grupi i distribucija i količnik šansi su prikazani u tabeli 10.

Tabela 10. Distribucija COMT alela u grupi pacijentkinja sa PE i kontrolnoj grupi i logistički model

COMT	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
Val	37 (41,6%)	52 (58,4%)	1	
Met	57 (57,6%)	42 (42,4%)	0,524 (0,294-0,937)	0,029
Ukupno	94 (50,0%)	94 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Hi-kvadrat testom je utvrđeno da je razlika između alela statistički značajna ($X^2=4,801$; $p=0,028$), a količnik šansi pokazuje da ukoliko se radi o nosiocima Met alelu, šansa da dođe do PE je dva puta manja u odnosu na nosioce Val alela.

Ispitivana je distribucija alela COMT genaprema podgrupama PE (lakši i teški oblik), rezultati su prikazani u Tabeli 11.

Tabela 11. Distribucija COMT alela prema podrupama PE

COMT	KG	TPE	LPE	Ukupno
Val	37 (41,6%)	37 (41,6%)	15(16,9%)	89
Met	57 (57,6%)	29 (29,3%)	13 (13,1%)	99
Ukupno	94 (50,0%)	66 (35,1%)	28 (14,9%)	188

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Učestalost TPE je veća u Val grupi u odnosu na Met, dok je LPE slična u obe grupe. Statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike po učestalosti ($X^2=4,850$; $p=0,088$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE u odnosu na kontrolnu grupu, prikazano u Tabeli 12.

Tabela 12. Logistički regresioni model sa COMT alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

COMT	TPE	p vrednost	LPE	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
Val	1		1	
Met	0,509 (0,269-0,963)	0,038	0,563 (0,240-1,316)	0,185

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije IP- interval poverenja

Met alel ima veću učestalost u kontrolnoj grupi, a logističkom regresijom je pokazano da prisustvo ovog alela dva puta smanjuje šansu da dođe do TPE i ova šansa je statistički značajna. Slična je distribucija i sa LPE, ali u ovom slučaju izostaje značajnost.

Distribucija alela COMT gena prema podgrupama PE (AGA i SGA) je prikazana u Tabeli 13.

Tabela 13. Distribucija COMT alela prema podrupama PE (AGA i SGA)

COMT	KG	AGA	SGA	Ukupno
Val	37 (41,6%)	39 (43,8 %)	13 (14,6%)	89
Met	57 (57,6%)	31 (31,3%)	11 (11,1%)	99
Ukupno	94 (50,0%)	70 (37,2%)	24 (12,8%)	188

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Evidentno je da postoje razlike u distribuciji alela sa AGA, odnosno KG, ali statističkom analizom nije dobijena značajna razlika po učestalostima ($X^2=4,818$; $p=0,090$).

Zatim je urađena logistička regresiona analiza za svaki ishod posebno (Tabela 14).

Tabela 14. Logistička regresiona analiza sa AGA i SGA kao zavisnim i COMT alelima kao nezavisnim

COMT	AGA OR (95% IP)	p vrednost	SGA OR (95% IP)	p vrednost
Val	1		1	
Met	0,516 (0,276-0,966)	0,039	0,549 (0,223-1,355)	0,194

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Kao i u prethodnom slučaju, šansa da dođe do AGA ili SGA je dva puta manja ukoliko se radi o Met alelu u odnosu na Val alel. Regresionim modelom je utvrđeno da je šansa za AGA statistički značajna dok za SGA nije.

Autozomno dominantni model

Distribucija pacijentkinja u odnosu na varijante COMT alela (ValVal vs Val-Met, Met-Met), prema autozomno dominantnom modelu prikazana je u Tabeli 15.

Tabela 15. Distribucija pacijentkinja prema varijantama COMT alela (AD model)

COMT	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
Val-Val	10 (43,5%)	13 (56,5%)	1	
Met-Met / Met-Val	37 (52,1%)	34 (47,9%)	0,707 (0,274-1,822)	0,473
Ukupno	47 (50,0%)	47 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Kao što se vidi iz tabele, distribucija pacijentkinja u obe grupe je slična, a statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike po učestalosti ($X^2=0,518$; $p=0,472$).

U sledećoj analizi je ispitivana distribucija alela COMT gena prema podgrupama PE (lakši i teži oblik) prema AD tipu nasleđivanja (Tabela 16).

Tabela 16. Distribucija COMT alela (AD) prema podrupama PE

COMT	KG	TPE	LPE	Ukupno
Val-Val	10 (43,5%)	10 (43,5%)	3(13,0%)	23
Met-Met / Met Val	37 (52,1%)	23 (32,4%)	11 (15,5%)	71
Ukupno	47 (50,0%)	33 (35,1%)	14 (14,9%)	94

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Distribucija u grupama je vrlo slična sa nešto većim procentom TPE u Val-Val grupi ali bez značajnosti razlike ($X^2=0,937$; $p=0,626$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 17).

Tabela 17. Logistički regresioni model sa COMT alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

COMT	TPE	p vrednost	LPE	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
Val-Val	1		1	
Met-Met / Met-Val	0,622 (0,224-1,723)	0,361	0,991 (0,231-4,247)	0,990

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Šansa da dođe do TPE je manja ukoliko je prisutan Met-Met ili Met-Val, ali ova šansa nije statistički značajna. Isti alel nema nikakav uticaj za nastanak LPE.

Ispitivana je distribucija alela COMT gena prema podgrupama PE (AGA i SGA) prema AD tipu nasleđivanja i rezultati su prikazani u Tabeli 18.

Tabela 18 Distribucija COMT alela (AD) prema podgrupama PE (AGA, SGA)

COMT	KG	AGA	SGA	Ukupno
Val-Val	10 (43,5%)	3 (13,0%)	10 (43,5%)	23
Met-Met Met Val	37 (52,1%)	9 (12,7%)	25 (35,2%)	71
Ukupno	47 (50,0%)	12 (12,8%)	35 (37,2%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Iz Tabele 18. se vidi da je učestalost vrlo slična a statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike između ispitivanih grupa ($X^2=0,580$; $p=0,748$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 19) .

Tabela 19. Logistički regresioni model sa COMT alelima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

COMT	AGA	p vrednost	SGA	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
Val-Val	1		1	
Met-Met / Met-Val	0,811 (0,184-3,568)	0,781	0,676 (0,245-1,860)	0,448

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Iz Tabele 19. Se vidi da grupa Met-Met / Met-Val ima manju šansu za AGA ili SGA u odnosu na Val – Val ali ova šansa nije statistički značajna ni u jednom od modela.

Autozomno recesivni model

Distribucija pacijentkinja u odnosu na varijante COMT alela (Val-Val/Met-Val vs. Met-Met), prema autozomno recesivnom modelu prikazana je u Tabeli 20.

Tabela 20. Distribucija pacijentkinja prema varijantama COMT alela (AR model)

COMT	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
Val-Val/Met-Val	27 (40,9%)	39 (59,1%)	1	
Met-Met	20 (71,4%)	8 (28,6%)	0,277 (0,107-0,720)	0,008
Ukupno	47 (50,0%)	47 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Kao što se vidi iz Tabele, distribucija pacijentkinja se dosta razlikuje i evidentno je da je daleko veći procenat PE u grupi Val-Val/Met-Val, a statističkom analizom je utvrđeno da postoji statistički značajna razlika između ispitivanih grupa ($X^2=7,325$; $p=0,007$). Šansa da dođe do PE je gotovo četiri puta manja ukoliko se radi o nosiocu Met-Met u odnosu na nosioca sa Val-Val/Met-Val.

U sledećoj analizi je ispitivana distribucija alela COMT gena prema podgrupama PE (lakši i teži oblik) prema AR tipu nasleđivanja (Tabela 21).

Tabela 21. Distribucija COMT alela (AR) prema podrupama PE

COMT	KG	TPE	LPE	Ukupno
Val-Val/Met-Val	27 (40,9%)	27 (40,9%)	12 (18,2%)	66
Met-Met	20 (71,4%)	6 (21,4%)	2 (7,1%)	28
Ukupno	47 (50,0%)	33 (35,1%)	14 (14,9%)	94

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Distribucija u grupama je vrlo slična sa nešto većim procentom TPE u Val-Val/Met-Val grupi a takođe i LPE. Statističkom analizom je utvrđeno da je ova razlika statistički značajna ($X^2=07,396$; $p=0,025$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 22).

Tabela 22. Logistički regresioni model sa COMT alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

COMT	TPE	p vrednost	LPE	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
Val-Val/Met-Val	1		1	
Met-Met	0,300 (0,104-0,863)	0,026	0,225 (0,045-1,120)	0,068

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Šansa da dođe do TPE je manja ukoliko je prisutan Met-Met, a ova šansa je statistički značajna ukoliko je u pitanju TPE, a blizu konvencionalnog nivoa značajnosti kada je u pitanju LPE.

Ispitivana je distribucija alela COMT gena prema podgrupama PE (AGA i SGA) prema AR tipu nasleđivanja i rezultati su prikazani u Tabeli 23.

Tabela 23. Distribucija COMT alela (AR) prema podrupama PE (AGA, SGA)

COMT	KG	AGA	SGA	Ukupno
Val-Val/Met-Val	27 (40,9%)	29 (43,9%)	10 (15,2%)	66
Met-Met	20 (71,4%)	6 (21,4%)	2 (7,1%)	28
Ukupno	47 (50,0%)	35 (37,2%)	12 (12,8%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Iz tabele se vidi da je učestalost AGA i SGA daleko veća u Val-Val/Met-Val grupi, a statističkom analizom je utvrđeno da postoji statistički značajna razlika između ispitivanih grupa po AGA/SGA ($X^2=7,326$; $p=0,026$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 24).

Tabela 24.. Logistički regresioni model sa COMT alelima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

COMT	AGA	p vrednost	SGA	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
Val-Val/Met-Val	1		1	
Met-Met	0,279 (0,098-0,800)	0,018	0,270 (0,053-1,371)	0,114

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Vidimo da grupa Met-Met ima tri do četiri puta manju šansu za AGA ili SGA u odnosu na Val-Val/Met-Val ali ova šansa je statistički značajna samo kada je u pitanju AGA, dok nema značajnosti kada je u pitanju SGA.

IL-1 α polimorfizam kod pacijentkinja sa preeklampsijom i podrupama PE u poređenju sa kontrolnom grupom

Ispitivane su učestalosti IL-1 α prema opštem, alelskom, autozomno dominantnom i autozomno recesivnom tipu nasleđivanja.

Opšti model

Distribucija pacijentkinja po IL-1 α genotipovima (wild type, GT, TT) prema opštem modelu je prikazana u Tabeli 25.

Tabela 25. Distribucija ispitanica po IL-1 α genotipovima u PE i kontrolnoj grupi

IL-1 α	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
GG	22 (36,7%)	38 (63,3%)	1	
GT	18 (72,0%)	7 (28,0%)	0,225 (0,081-0,624)	0,004
TT	7 (77,8%)	2 (22,2%)	0,165 (0,032-0,867)	0,033

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Na osnovu chi-kvadrat testa utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika između ove tri grupe po ishodu ($X^2=11,884$; $p=0,002$). Iz rezultata se vidi da je učestalost PE najveća u genotipu GG, dok je daleko manja u genotipovima GT i TT, potvrđujući statističku značajnost.

Dalja analiza obuhvatila je ispitivanje učestalosti IL-1 α genotipova (GG, GT, TT) prema podgrupama pacijentkinja sa lakšim i teškim oblikom u poređenju sa kontrolnom grupom i rezultati su prikazani u Tabeli 26.

Tabela 26. Distribucija pacijentkinja po IL-1 α genotipovima u podgrupama pacijentkinja sa lakšim i teškim oblikom preeklampsije

IL-1 α	KG	TPE	LPE	Ukupno
GG	22 (36,7%)	26 (43,5,%)	12 (20,0%)	60
GT	18 (58,1%)	6 (24,0%)	1 (4,0%)	25
TT	7 (70,0%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)	9
Ukupno	47 (50,0%)	33 (35,1%)	14 (14,9%)	94

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Iz tabele se vidi da je distribucija pacijentkinja sa TPE veća nego LPE, ali je ova razlika najveća kada su u pitanju GG u odnosu na ostale dve grupe. Testirajući ove distribucije hi-kvadrat testom utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika između ispitivanih grupa ($X^2=12,582$; $p=0,013$).

Logistički regresioni model sa TPE i LPE kao zavisnim i genotipom IL-1 α kao nezavisnom je prikazan u Tabeli 27.

Tabela 27. Logistički model sa IL-1 α genotipovima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

IL-1 α	TPE OR (95% IP)	p vrednost	LPE OR (95% IP)	p vrednost
GG	1		1	
GT	0,282 (0,095-0,834)	0,022	0,102 (0,012-0,860)	0,036
TT	0,121 (0,014-1,060)	0,056	0,262 (0,029-2,388)	0,235

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije OR – Odds ratio (količnik šansi) IP-interval poverenja

Logističkom regresionom analizom je pokazano da je količnik šansi da dođe do TPE ili LPE manji od 1, odnosno manja šansa da dođe do TPE ili LPE ukoliko se radi o GT umesto GG, i obe šanse su statistički značajne. Kada je u pitanju TT, šansa da dođe do TPE je gotovo 8 puta manja ukoliko pacijentkinja ima TT u odnosu na GG i ova šansa je na samoj granici konvencionalnog nivoa značajnosti. Kada je u pitanju LPE šansa da dođe do LPE je četiri puta manja ukoliko ima TT, ali ova šansa nije statistički značajna.

Ispitivane su učestalosti IL-1 α genotipova (GG, GT, TT) prema podgrupama pacijentkinja sa AGA i SGA u poređenju sa kontrolnom grupom i rezultati su prikazani u Tabeli 28.

Tabela 28. Distribucija pacijentkinja po IL-1 α genotipovima u podgrupama pacijentkinja sa AGA i SGA

IL-1 α	KG	AGA	SGA	Ukupno
GG	22 (36,7%)	11 (18,3%)	27 (45,0%)	23
GT	18 (58,1%)	0 (0%)	7 (28,0%)	43
TT	7 (70,0%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)	28
Ukupno	47 (50%)	12 (12,8%)	35 (37,2%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Na osnovu distribucije pacijentkinja utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika između grupa po učestalosti ($X^2=13,804$; $p=0,007$). Iz tabele se vidi da je SGA u većem procentu od AGA, ali isto tako je evidentno da je SGA u najvećem procentu u GG grupi, kao i AGA.

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 29).

Tabela 29. Logistički regresioni model sa IL-1 α genotipovima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

IL-1 α	AGA*		SGA	
	OR (95% IP)	p vrednost	OR (95% IP)	p vrednost
GG	1		1	
GT	0,085 (0-0,582)	0,008	0,317 (0,112-0,895)	0,030
TT	0,293 (0,005-2,783)	0,481	0,116 (0,013-1,019)	0,052

AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast
 OR – Odds ratio (količnik šansi) IP-interval poverenja *Egzaktna logistička regresija

Iz tabele 29. se vidi da je šansa da dođe do SGA tri, odnosno 8 puta manja ukoliko se radi o TT u odnosu na GG i ove šanse su statistički značajne (TT je na samoj granici konvencionalnog nivoa značajnosti). Šansa da dođe do AGA i SGA je veća u odnosu na GG ukoliko se radi o GTu, ali ni ove šanse nisu statistički značajne. Šansa da dođe do AGA je takođe tri puta manja ukoliko je TT u mesto GG, dok je šansa da dođe do AGA više od deset puta manja ukoliko se radi o GT.

Alelski model

Ispitivan je alelski model za IL-1 α gen u grupi pacijentkinja sa PE i kontrolnoj grupi i distribucija i količnik šansi su prikazani u Tabeli 30.

Tabela 30. Distribucija IL-1 α alela u grupi pacijentkinja sa PE i kontrolnoj grupi i logistički model

IL-1 α	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
G	62 (42,8%)	83 (57,2%)	1	
T	32 (74,4%)	11 (25,6%)	0,257 (0,120-0,549)	<0,001
Ukupno	94 (50,0%)	94 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Chi-kvadrat testom je utvrđeno da je razlika između alela statistički značajna ($X^2=13.297$; $p<0,001$), a količnik šansi pokazuje da ukoliko se radi o T alelu, šansa da dođe do PE je četiri puta manja u odnosu na G alel.

Ispitivana je distribucija alela IL-1 α gena prema podgrupama PE (lakši i teži oblik), rezultati su prikazani u Tabeli 31.

Tabela 31. Distribucija IL-1 α alela prema podgrupama PE

IL-1 α	KG	TPE	LPE	Ukupno
G	62 (42,8%)	58 (40,0%)	25 (17,2%)	145
T	32 (74,4%)	8 (18,6%)	3 (7,0%)	43
Ukupno	94 (50,0%)	66 (35,1%)	28 (14,9%)	188

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Učestalost TPE je veća u G grupi u odnosu na T, dok je LPE takođe sa većim procentom u G grupi. Statističkom analizom je utvrđeno da postoji značajna razlika po učestalosti ($X^2=13,319$; $p<0,001$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE ukoliko je prisutan T alel, u odnosu na G alel (Tabela 32).

Tabela 32. Logistički regresioni model sa IL-1 α alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

IL-1 α	TPE	p vrednost	LPE	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
G	1		1	
T	0,267 (0,114-0,627)	0,002	0,233 (0,065-0,829)	0,025

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije IP- interval poverenja

Logističkom regresijom je pokazano da prisustvo T alela četiri puta smanjuje šansu da dođe do TPE, odnosno LPE i ova šanse su statistički značajne.

Distribucija alela IL-1 α gena prema podgrupama PE (AGA i SGA) je prikazana u Tabeli 33.

Tabela 33. Distribucija IL-1 α alela prema podgrupama PE (AGA i SGA)

IL-1 α	KG	AGA	SGA	Ukupno
G	62 (42,8%)	22 (15,2%)	61 (42,1%)	145
T	32 (74,4%)	2 (4,7%)	9 (20,9%)	43
Ukupno	94 (50,0%)	24 (12,8%)	70 (37,2%)	188

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Evidentno je da postoje razlike u distribuciji alela sa AGA, odnosno KG, a statističkom analizom dobijena je značajna razlika po učestalostima ($X^2=13.505$; $p=0,001$).

Zatim je urađena logistička regresiona analiza za svaki ishod posebno (Tabela 34).

Tabela 34. Logistička regresiona analiza sa AGA i SGA kao zavisnim i IL-1 α alelima kao nezavisnim

IL-1 α	AGA		SGA	
	OR (95% IP)	p vrednost	OR (95% IP)	p vrednost
G	1		1	
T	0,176, (0,039-0,797)	0,024	0,286 (0,126-0,649)	0,003

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Kao i u prethodnom slučaju, šansa da dođe do SGA ili AGA je četiri, odnosno osam puta manja ukoliko se radi o T alelu u odnosu na G alel. Regresionim modelom je utvrđeno da su obe šanse statistički značajne.

Autozomno dominantni model

Distribucija pacijentkinja u odnosu na varijante IL-1 α alela (GG vs. GT i TT), prema autozomno dominantnom modelu (AD model) prikazana je u Tabeli 35.

Tabela 35 Distribucija pacijentkinja prema varijantama IL-1 α alela (AD model)

IL-1 α	KG	PE	OR (95% IP)	P vrednost
GG	22 (36,7%)	38 (63,3%)	1	
GT i TT	25 (73,5%)	9 (26,5%)	0,208 (0,083-0,526)	0,001
Ukupno	47 (50,0%)	47 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Kao što se vidi iz tabele, distribucija pacijentkinja sa PE je u daleko većem procentu u GG grupi, a statističkom analizom je utvrđeno da postoji statistički značajna razlika po učestalosti ($X^2=11.796$; $p=0,001$). Logističkom regresionom analizom je utvrđeno da je šansa da dođe do PE pet puta manja ukoliko se radi o GT i TT alelu.

U sledećoj analizi je ispitivana distribucija alela IL-1 α gena prema podgrupama PE (lakši i teži oblik) prema AD tipu nasleđivanja (Tabela 36).

Tabela 36. Distribucija IL-1 α alela (AD) prema podrupama PE

IL-1 α	KG	TPE	LPE	Ukupno
GG	22 (36,7%)	26 (43,3%)	12 (20,0%)	60
GT i TT	25 (73,5%)	7 (20,6%)	2 (5,9%)	34
Ukupno	47 (50,0%)	33 (35,1%)	14 (14,9%)	94

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Distribucija u grupama ukazuje da daleko veći procenat TPE i LPE je u GG grupi i ta razlika je statistički značajna ($X^2=11,796$; $p=0,002$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE u ukoliko se radi o GT i TT alelu u odnosu na GG alel (Tabela 37.).

Tabela 37. Logistički regresioni model sa IL-1 α alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

IL-1 α	TPE		LPE	
	OR (95% IP)	p vrednost	OR (95% IP)	p vrednost
GG	1		1	
GT i TT	0,237 (0,086-0,652)	0,005	0,105 (0,021-0,513)	0,005

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Šansa da dođe do TPE i LPE je četiri, odnosno deset puta manja ukoliko se radi o GT i TT alelima u odnosu na GG. Obe ove šanse su statistički značajne.

Ispitivana je distribucija alela IL-1 α prema podgrupama PE (AGA i SGA) prema AD tipu nasleđivanja i rezultati su prikazani u Tabeli 38.

Tabela 38. Distribucija IL-1 α alela (AD) prema podgrupama PE (AGA, SGA)

IL-1 α	KG	AGA	SGA	Ukupno
GG	22 (36,7%)	11 (18,3%)	27 (45,0%)	60
GT i TT	25 (73,5%)	1 (2,9%)	8 (23,5%)	34
Ukupno	47 (50,0%)	12 (12,8%)	35 (37,2%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Iz tabele se vidi da je procenat AGA i SGA daleko veća u grupi GG, a razlika između grupa je statistički značajna ($X^2=12.613$; $p=0,002$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA ukoliko se radi o GT i TT u odnosu na GG alel (Tabela 39).

Tabela 39. Logistički regresioni model sa IL-1 α alelima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

IL-1 α	AGA	p vrednost	SGA	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
GG	1		1	
GT i TT	0,080 (0,010-0,670)	0,020	0,261 (0,098-0,691)	0,007

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Šansa da dođe do SGA, odnosno AGA je četiri, odnosno dvanaest puta manja ukoliko se radi o GT i TT grupi u odnosu na GG grupu. Obe šanse su statistički značajne.

Autozomno recesivni model

Distribucija pacijentkinja u odnosu na varijante IL-1 α alela (GG i GT vs. TT), prema autozomno recesivnom modelu prikazana je u Tabeli 40.

Tabela 40. Distribucija pacijentkinja prema varijantama IL-1 α alela (AR model)

IL-1 α	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
GG i GT	40 (50,6%)	39 (49,4%)	1	
TT	7 (46,7%)	8 (53,3%)	1,172 (0,388-3,543)	0,778
Ukupno	47 (50,0%)	47 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Kao što se vidi iz tabele 40, distribucija pacijentkinja je vrlo slična , a statističkom analizom je utvrđeno da ne postoji statistički značajna razlika između ispitivanih grupa ($X^2=0,079$; $p=0,778$).

U sledećoj analizi je ispitivana distribucija alela IL-1 α gena prema podgrupama PE (lakši i teži oblik) prema AR tipu nasleđivanja (Tabela 41).

Tabela 41. Distribucija IL-1 α alela (AR) prema podrupama PE

IL-1 α	KG	TPE	LPE	Ukupno
GG i GT	40 (50,6%)	32 (30,5%)	13 (12,4%)	105
TT	7 (46,7%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)	9
Ukupno	47 (50,0%)	33 (28,9%)	14 (12,3%)	114

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Distribucija u grupama je vrlo slična sa nešto većim procentom TPE u GG i GT grupi, a LPE je gotovo identičan u obe grupe. Statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike između ispitivanih grupa ($X^2=1,685$; $p=0,431$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE ukoliko se radi o TT umesto GG i GT alelu (Tabela 42).

Tabela 42. Logistički regresioni model sa IL-1 α alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

IL-1 α	TPE		LPE	
	OR (95% IP)	p vrednost	OR (95% IP)	p vrednost
GG i GT	1		1	
TT	0,179 (0,021-1,527)	0,116	0,440 (0,049-3,915)	0,461

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Šansa da dođe do TPE odnosno LPE je osam, odnosno dva puta manja ukoliko se radi o TT alelu umesto GG i GT alelu. Nijedna od navedenih šansi nije statistički značajna.

Ispitivana je distribucija alela IL-1 α gena prema podgrupama PE (AGA i SGA) prema AR tipu nasleđivanja i rezultati su prikazani u Tabeli 43.

Tabela 43. Distribucija IL-1 α alela (AR) prema podgrupama PE (AGA, SGA)

IL-1A	KG	AGA	SGA	Ukupno
GG i GT	40 (47,1%)	11 (12,9%)	34 (40,0%)	85
TT	7 (77,8%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)	9
Ukupno	47 (50,0%)	12 (12,8%)	35 (37,2%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalna za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Iz tabele 43. se vidi da je učestalost SGA daleko veća u GG i GT grupi, a statističkom analizom je utvrđeno da nema statistički značajne razlike između ispitivanih grupa po AGA/SGA ($X^2=3.381$; $p=0,227$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA ukoliko se radi o TT alelu umesto GG i GT alelu (Tabela 44.).

Tabela 44. Logistički regresioni model sa IL-1 α alelima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

IL-1 α	AGA	p vrednost	SGA	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
GG i GT	1		1	
TT	0,519 (0,058-4,684)	0,559	0,168 (0,020-1,435)	0,103

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Iz tabele 44. se vidi da je šansa da dođe do SGA odnosno AGA sedam, odnosno dva puta manja ukoliko se radi o TT alelu umesto GG i GT alelu. Ipak, nijedna od navedenih šansi nije statistički značajna

IL-10 polimorfizam kod pacijentkinja sa preeklampsijom i podrupama PE u poređenju sa kontrolnom grupom

Ispitivane su učestalosti IL-10 prema opštem, alelskom, autozomno dominantnom i autozomno recesivnom tipu nasleđivanja.

Opšti model

Distribucija pacijentkinja po IL-10 genotipovima (GG, GA i AA) prema opštem modelu je prikazana u Tabeli 45.

Tabela 45. Distribucija ispitanica po IL-10 genotipovima u PE i kontrolnoj grupi

IL-10	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
GG	25 (52,1%)	23 (47,9%)	1	
GA	19 (46,3%)	22 (53,7%)	1,259 (0,546-2,901)	0,589
AA	3 (60,0%)	2 (40,0%)	0,725 (0,111-4,733)	0,725

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Na osnovu Chi-kvadrat testa utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između ove tri grupe po ishodu ($X^2=0.503$; $p=0,791$). Iz rezultata se vidi da je učestalost PE vrlo slična u sve tri ispitivane grupe sa malim varijacijama.

Dalja analiza obuhvatila je ispitivanje učestalosti IL-10 genotipova (GG, GA, AA) prema podgrupama pacijentkinja sa lakšim i teškim oblikom u poređenju sa kontrolnom grupom i rezultati su prikazani u Tabeli 46.

Tabela 46. Distribucija pacijentkinja po IL-10 genotipovima u podgrupama pacijentkinja sa lakšim i teškim oblikom PE

IL-10	KG	TPE	LPE	Ukupno
GG	25 (52,1%)	17 (35,4%)	6 (12,5%)	48
GA	19 (46,3%)	15 (36,6%)	7 (17,1%)	41
AA	3 (60,0%)	1 (20,0%)	1 (20,0%)	5
Ukupno	47 (50,0%)	33 (35,1%)	14 (14,9%)	94

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Iz tabele 46. se vidi da je distribucija pacijentkinja sa TPE veća nego LPE, a distribucija grupa po ishodu je vrlo slična. Testirajući ove distribucije chi-kvadrat testom utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između ispitivanih grupa ($X^2=1,006$; $p=0,922$). Logistički regresioni model sa TPE i LPE kao zavisnim i genotipom IL10 kao nezavisnom je prikazan u Tabeli 47.

Tabela 47. Logistički model sa IL-10 genotipovima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

IL-10	TPE OR (95% IP)	p vrednost	LPE OR (95% IP)	p vrednost
GG	1		1	
GA	1,161 (0,465-2,900)	0,749	1,535 (0,443-5,320)	0,499
AA	0,490 (0,047-5,117)	0,551	1,389 (0,122-15,812)	0,791

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije OR – Odds ratio (količnik šansi) IP-interval poverenja

Logističkom regresionom analizom je pokazano da je šansa da dođe do TPE i LPE veća ukoliko se radi o GA umesto GG genotipu. Istom analizom je utvrđeno da je šansa da dođe do TPE dva puta manja ukoliko se radi o AA umesto GG, a za 38% da dođe do LPE veća ukoliko se radi o AA umesto GG. Ipak, nijedna od navedenih šansi nije statistički značajna.

Ispitivane su učestalosti IL10 genotipova (GG, GA, AA) prema podgrupama pacijentkinja sa AGA i SGA u poređenju sa kontrolnom grupom i rezultati su prikazani u Tabeli 48.

Tabela 48. Distribucija pacijentkinja po IL-10 genotipovima u podgrupama pacijentkinja sa AGA i SGA

IL-10	KG	AGA	SGA	Ukupno
GG	25 (52,1%)	6 (12,5%)	17 (35,4%)	48
GA	19 (46,3%)	5 (12,2%)	17 (41,5%)	41
AA	3 (60,0%)	1 (20,0%)	1 (20,0%)	5
Ukupno	47 (50%)	12 (12,8%)	35 (37,2%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Na osnovu distribucije pacijentkinja utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između grupa po učestalostima KG, AGA i SGA ($X^2=1,108$; $p=0,906$). Iz tabele se vidi da se radi o sličnim distribucijama sa manjim varijacijama u određenim grupama. Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodomima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA u odnosu na GG grupu (Tabela 49).

Tabela 49. Logistički regresioni model sa IL-10 genotipovima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

IL-10	AGA	p vrednost	SGA	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
GG	1		1	
GA	1,096 (0,290-4,139)	0,892	1,316 (0,536-3,232)	0,550
AA	1,389 (0,122-15,812)	0,791	0,490 (0,047-5,117)	0,551

AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast
OR – Odds ratio (količnik šansi) IP-interval poverenja

Iz tabele 49. se vidi da je šansa da dođe do AGA i SGA nešto veća ukoliko se radi o GA umesto GG. Nasuprot, šansa da dođe do SGA je dva puta manja ukoliko se radi o AA umesto GG genotipu, a za 38% veća da dođe do AGA ukoliko se radi o istom genotipu. Nijedna od navedenih šansi nije statistički značajna.

Alelski model

Ispitivan je alelski model za IL-10 gen u grupi pacijentkinja sa PE i kontrolnoj grupi i distribucija i količnik šansi su prikazani u Tabeli 50.

Tabela 50. Distribucija IL10 alela u grupi pacijentkinja sa PE i kontrolnoj grupi i logistički model

IL-10	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
G	69 (50,4%)	68 (49,6%)	1	
A	25 (49,0%)	26 (51,0%)	1,055 (0,555-2,008)	0,870
Ukupno	94 (50,0%)	94 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Chi-kvadrat testom je utvrđeno da između alela nema statistički značajne razlike ($X^2=0,027$; $p=0,870$), a količnik šansi pokazuje da ukoliko se radi o A alelu, šansa da dođe do PE je vrlo malo veća (za 5%) u odnosu na G alel. Ova šansa nije statistički značajna.

Ispitivana je distribucija alela IL-10 gena u prema podgrupama PE (lakši i teži oblik), rezultati su prikazani u Tabeli 51.

Tabela 51. Distribucija IL-10 alela prema podrupama PE

IL-10	KG	TPE	LPE	Ukupno
G	69 (50,4%)	49 (35,8%)	19 (13,6%)	137
A	25 (49,0%)	17 (33,3%)	9 (17,6%)	51
Ukupno	94 (50,0%)	66 (35,1%)	28 (14,9%)	188

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Iz Tabele 51. se vidi da je distribucija KG, TPE i LPE vrlo slična u ispitivanim grupama, a statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike između ispitivanih grupa ($X^2=0,432$; $p=0,806$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE ukoliko je prisutan A alel, u odnosu na G alel (Tabela 52).

Tabela 52. Logistički regresioni model sa IL10 alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

IL-10	TPE	p vrednost	LPE	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
G	1		1	
A	0,958 (0,468-1,961)	0,906	1,307 (0,523-3,266)	0,566

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije IP- interval poverenja

Logističkom regresijom je pokazano da prisustvo A alela ne utiče na pojavu TPE, dok ima veću šansu da dođe do LPE ali obe šanse nisu statistički značajne.

Distribucija alela IL-10 gena prema podgrupama PE (AGA i SGA) je prikazana u Tabeli 53.

Tabela 53. Distribucija IL-10 alela prema podgrupama PE (AGA i SGA)

IL-10	KG	AGA	SGA	Ukupno
G	69 (50,4%)	17 (12,4%)	51 (37,2%)	137
A	25 (49,0%)	7 (13,7%)	19 (37,3%)	51
Ukupno	94 (50,0%)	24 (12,8%)	70 (37,2%)	188

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Evidentno je da ne postoje razlike u distribuciji alela po AGA i SGA, odnosno KG, a statističkom analizom potvrđeno je da ne postoji značajna razlika po učestalostima ($X^2=0,064$; $p=0,969$).

Zatim je urađena logistička regresiona analiza za svaki ishod posebno (Tabela 54).

Tabela 54. Logistička regresiona analiza sa AGA i SGA kao zavisnim i IL10 alelima kao nezavisnim

IL-1A	AGA	p vrednost	SGA	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
G	1		1	
A	1,136 (0,421-3,065)	0,800	1,028 (0,512-2,066)	0,938

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Kao i u prethodnom slučaju, šansa da dođe do AGA ili SGA je malo veća (gotovo beznačajno) ukoliko se radi o A alelu u odnosu na G alel. Regresionim modelom je utvrđeno da nijedna šansa nije statistički značajna.

Autozomno dominantni model

Distribucija pacijentkinja u odnosu na varijante IL-10 alela (GG vs. GA i AA), prema autozomno dominantnom modelu (AD model) prikazana je u Tabeli 55.

Tabela 55. Distribucija pacijentkinja prema varijantama IL10 alela (AD model)

IL-10	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
GG	25 (52,1%)	23 (47,9%)	1	
GA i AA	22 (47,8%)	24 (52,2%)	1,186 (0,528-2,664)	0,680
Ukupno	47 (50,0%)	47 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Kao što se vidi iz tabele 55., distribucija pacijentkinja sa PE je vrlo slična u obe grupe, a statističkom analizom je utvrđeno da nema statistički značajne razlike po učestalosti PE ($X^2=0,170$; $p=0,680$). Logističkom regresionom analizom je potvrđen mali uticaj GA i AA za PE u odnosu na GG grupu.

U sledećoj analizi je ispitivana distribucija alela IL-10 prema podgrupama PE (lakši i teži oblik) prema AD tipu nasleđivanja (Tabela 56).

Tabela 56. Distribucija IL-10 alela (AD) prema podrupama PE

IL-10	KG	TPE	LPE	Ukupno
GG	25 (52,1%)	17 (35,4%)	6 (12,5%)	48
GA i AA	22 (47,8%)	16 (34,8%)	8 (17,4%)	46
Ukupno	47 (50,0%)	33 (35,1%)	14 (14,9%)	94

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Distribucija u grupama ukazuje da su grupe vrlo slične po TPE i LPE, a statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike između grupa ($X^2=0,465$; $p=0,792$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE u ukoliko se radi o GA i AA alelu u odnosu na GG alel (Tabela 57).

Tabela 57. Logistički regresioni model sa IL-10 alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

IL-10	TPE		LPE	
	OR (95% IP)	p vrednost	OR (95% IP)	p vrednost
GG	1		1	
GA i AA	1,070 (0,439-2,608)	0,883	1,505 (0,455-5,049)	0,499

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Šansa da dođe do TPE je beznačajno veća ukoliko se radi o GA i AA u odnosu na GG, dok je za gotovo 50% veća da dođe do LPE ukoliko se radi o GA i AA umesto GG, ali nijedna od navedenih šansi nije statistički značajna.

Ispitivana je distribucija alela IL10 prema podgrupama PE (AGA i SGA) prema AD tipu nasleđivanja i rezultati su prikazani u Tabeli 58.

Tabela 58. Distribucija IL-10 alela (AD) prema podrupama PE (AGA, SGA)

IL-10	KG	AGA	SGA	Ukupno
GG	25 (52,1%)	6 (12,5%)	17 (35,4%)	48
GA i AA	22 (47,8%)	6 (13,0%)	18 (39,1%)	46
Ukupno	47 (50,0%)	12 (12,8%)	35 (37,2%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Kao i u prethodnim analizama evidentno je da se radi o veoma sličnim distribucijama a statističkoma analizom je utvrđeno da razlika nije značajna ($X^2=0,178$; $p=0,915$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA ukoliko se radi o GA i AA u odnosu na GG alel (Tabela 59).

Tabela 59. Logistički regresioni model sa IL-10 alelima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

IL-10	AGA		SGA	
	OR (95% IP)	p vrednost	OR (95% IP)	p vrednost
GG	1		1	
GA i AA	1,136 (0,320-4,040)	0,843	1,203 (0,501-2,890)	0,679

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Kao i u prethodnoj analizi i ovde nema statističke značajnosti ali je evidentno da prisustvo GT i TT u blagom stepenu favorizuje AGA i SGA.

Autozomno recesivni model

Distribucija pacijentkinja u odnosu na varijante IL-10 alela (GG i GA vs. AA), prema autozomno recesivnom modelu prikazana je u Tabeli 60.

Tabela 60. Distribucija pacijentkinja prema varijantama IL-10 alela (AR model)

IL-10	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
GG i GA	44 (49,4%)	45 (50,6%)	1	
AA	3 (60,0%)	2 (40,0%)	0,652 (0,104-4,091)	0,648
Ukupno	47 (50,0%)	47 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Kao što se vidi iz Tabele 60., distribucija pacijentkinja je vrlo slična, a statističkom analizom je utvrđeno da ne postoji statistički značajna razlika između ispitivanih grupa ($X^2=0.211$; $p=1.000$).

U sledećoj analizi je ispitivana distribucija alela IL10 prema podgrupama PE (lakši i teži oblik) prema AR tipu nasleđivanja (Tabela 61).

Tabela 61. Distribucija IL-10 alela (AR) prema podgrupama PE

IL-10	KG	TPE	LPE	Ukupno
GG i GA	40 (50,6%)	32 (30,5%)	13 (12,4%)	105
AA	7 (46,7%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)	9
Ukupno	47 (50,0%)	33 (28,9%)	14 (12,3%)	114

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Distribucija u grupama je vrlo slična sa nešto većim procentom TPE u GG i GA grupi, a LPE je gotovo identičan u obe grupe. Statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike između ispitivanih grupa ($X^2=0.541$; $p=0,854$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE ukoliko se radi o AA umesto GG i GA alelu (Tabela 62).

Tabela 62. Logistički regresioni model sa IL-10 alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

IL-10	TPE	p vrednost	LPE	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
GG i GA	1		1	
AA	0,458 (0,046-4,611)	0,508	1,128 (0,108-11,785)	0,920

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Šansa da dođe do TPE je dva puta manja ukoliko se radi o AA umesto GG i AA, dok je šansa da dođe do LPE neznatno veća ukoliko se radi o istoj grupi. Nijedna od navedenih šansi nije statistički značajna.

Ispitivana je distribucija alela IL-10 gena prema podgrupama PE (AGA i SGA) prema AR tipu nasleđivanja i rezultati su prikazani u Tabeli 63.

Tabela 63. Distribucija IL-10 alela (AR) prema podrupama PE (AGA, SGA)

IL-10	KG	AGA	SGA	Ukupno
GG i GA	44 (49,4%)	11 (12,4%)	34 (38,2%)	89
AA	3 (60,0%)	1 (20,0%)	1 (20,0%)	5
Ukupno	47 (50,0%)	12 (12,8%)	35 (37,2%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Iz tabele se vidi da obe grupe imaju veoma slučne procenete (ali radi se o malom uzorku u AA grupi), a statističkom analizom je utvrđeno da nema statistički značajne razlike između ispitivanih grupa po AGA/SGA ($X^2=0,743$; $p=0,859$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA ukoliko se radi o AA alelu umesto GG i GA alelu (Tabela 64).

Tabela 64. Logistički regresioni model sa IL-10 alelima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

IL10	AGA	p vrednost	SGA	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
GG i GA	1		1	
AA	1,333 (0,126-14,088)	0,811	0,431 (0,043-4,333)	0,475

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Kao i u svim prethodnim analizama, nema značajnih šansi ali je evidentno da je veća šansa da bude AGA, odnosno manja da bude SGA ukoliko se radi o AA alelu umesto GG i GA.

TNF polimorfizam kod pacijentkinja sa preeklampsijom i podrupama PE u poređenju sa kontrolnom grupom

Ispitivane su učestalosti TNF prema opštem, alelskom, autozomno dominantnom i autozomno recesivnom tipu nasleđivanja.

Opšti model

Distribucija pacijentkinja po TNF- α genotipovima (GG, GA i AA) prema opštem modelu je prikazana u Tabeli 65.

Tabela 65. Distribucija ispitanica po TNF- α genotipovima u PE i kontrolnoj grupi

TNF- α	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
CC	28 (53,8%)	24 (46,2%)	1	
CT	17 (44,7%)	21 (55,3%)	1,441 (0,622-3,339)	0,394
TT	2 (50,0%)	2 (50,0%)	1,167 (0,153-8,922)	0,882

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Na osnovu chi-kvadrat testa utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između ove tri grupe po ishodu ($X^2=0.729$; $p=0,817$). Iz rezultata se vidi da je učestalost PE vrlo slična u sve tri ispitivane grupe sa malim varijacijama.

Dalja analiza obuhvatila je ispitivanje učestalosti TNF- α genotipova (CC, CT, TT) prema podgrupama pacijentkinja sa lakšim i teškim oblikom u poređenju sa kontrolnom grupom i rezultati su prikazani u Tabeli 66.

Tabela 66. Distribucija pacijentkinja po TNF- α genotipovima u podgrupama pacijentkinja sa lakšim i teškim oblikom PE

TNF- α	KG	TPE	LPE	Ukupno
CC	28 (53,8%)	16 (30,8%)	8 (15,4%)	52
CT	17 (44,7%)	15 (39,5%)	6 (15,8%)	38
TT	2 (50,0%)	2 (50,0%)	0	4
Ukupno	47 (50,0%)	33 (35,1%)	14 (14,9%)	94

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Iz tabele se vidi da je distribucija pacijentkinja sa TPE veća nego LPE, a distribucija grupa po ishodu je vrlo slična. Testirajući ove distribucije hi-kvadrat testom utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između ispitivanih grupa ($X^2=1.727$; $p=0,797$).

Logistički regresioni model sa TPE i LPE kao zavisnim i genotipom TNF- α kao nezavisnom je prikazan u Tabeli 67.

Tabela 67. Logistički model sa TNF- α genotipovima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

TNF- α	TPE OR (95% IP)	p vrednost	LPE* OR (95% IP)	p vrednost
CC	1		1	
CT	1,544 (0,611-3,902)	0,358	1,231 (0,297-4,885)	0,969
TT	1,750 (0,224-13,648)	0,593	1,537 (0-20,699)	1,000

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije OR – Odds ratio (količnik šansi) IP-interval poverenja *Egzaktna logistička regresija

Logističkom regresionom analizom je pokazano da je šansa da dođe do TPE i LPE veća ukoliko se radi o CT umesto CC genotipu. Istom analizom je utvrđeno da je šansa da dođe do TPE za 75% veća ukoliko se radi o TT umesto CC genotipu (75% veća).

Ispitivane su učestalosti TNF- α genotipova (CC, CT, TT) prema podgrupama pacijentkinja sa AGA i SGA u poređenju sa kontrolnom grupom i rezultati su prikazani u Tabeli 68.

Tabela 68. Distribucija pacijentkinja po TNF- α genotipovima u podgrupama pacijentkinja sa AGA i SGA

TNF- α	KG	AGA	SGA	Ukupno
CC	28 (53,8%)	7 (13,5%)	17 (32,7%)	52
CT	17 (44,7%)	5 (13,2%)	16 (42,1%)	38
TT	2 (50,0%)	0	2 (50,0%)	4
Ukupno	47 (50%)	12 (12,8%)	35 (37,2%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Na osnovu distribucije pacijentkinja utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između grupa po učestalostima KG, AGA i SGA ($X^2=1.605$; $p=0,816$). Iz tabele se vidi da se radi o sličnim distribucijama sa manjim varijacijama u određenim grupama.

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA u odnosu na GG grupu (Tabela 69).

Tabela 69. Logistički regresioni model sa TNF- α genotipovima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

TNF- α	AGA	p vrednost	SGA	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
CC	1		1	
CT	1,173 (0,251-5,116)	1,000	1,550 (0,624-3,854)	0,345
TT	1,761 (0-23,859)	1,000	1,647 (0,212-12,801)	0,633

AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast
OR – Odds ratio (količnik šansi) IP-interval poverenja

Iz Tabele 69. se vidi da je šansa da dođe do AGA i SGA nešto veća ukoliko se radi o CT umesto GG. Isti rezultati dobijaju se i kada je u pitanju TT vezano za SGA. Ipak, nijedna od šansi nije statistički značajna.

Alelski model

Ispitivan je alelski model za TNF- α gen u grupi pacijentkinja sa PE i kontrolnoj grupi i distribucija i količnik šansi su prikazani u Tabeli 70.

Tabela 70. Distribucija TNF- α alela u grupi pacijentkinja sa PE i kontrolnoj grupi i logistički model

TNF- α	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
C	73 (51,4%)	69 (48,6%)	1	
T	21 (45,7%)	25 (54,3%)	1,259 (0,646-2,454)	0,498
Ukupno	94 (50,0%)	94 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Hi-kvadrat testom je utvrđeno da između alela nema statistički značajne razlike ($X^2=0,461$; $p=0,497$), a količnik šansi pokazuje da ukoliko se radi o T alelu, šansa da dođe do PE je veća (za 25%) u odnosu na C alel. Ova šansa nije statistički značajna.

Ispitivana je distribucija alela TNF- α gena u prema podgrupama PE (lakši i teži oblik), rezultati su prikazani u Tabeli 71.

Tabela 71. Distribucija TNF- α alela prema podgrupama PE

TNF- α	KG	TPE	LPE	Ukupno
C	73 (51,4%)	47 (33,1%)	22 (15,5%)	142
T	21 (45,7%)	19 (41,3%)	6 (13,0%)	46
Ukupno	94 (50,0%)	66 (35,1%)	28 (14,9%)	188

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Iz tabele se vidi da je distribucija KG, TPE i LPE vrlo slična u ispitivanim grupama, a statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike između ispitivanih grupa ($X^2=1.037$; $p=0,596$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE ukoliko je prisutan T alel, u odnosu na GC alel (Tabela 72).

Tabela 72. Logistički regresioni model sa TNF- α alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

TNF- α	TPE		LPE	
	OR (95% IP)	p vrednost	OR (95% IP)	p vrednost
C	1		1	
T	1,405 (0,684-2,889)	0,355	0,948 (0,340-2,642)	0,919

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije IP- interval poverenja

Logističkom regresijom je pokazano da prisustvo T alela ima za 40% veću šansu za pojavom TPE, dok na LPE ne utiče, odnosno utiče zanemraljivo malo, ali obe šanse nisu statistički značajne.

Distribucija alela TNF- α gena prema podgrupama PE (AGA i SGA) je prikazana u Tabeli 73.

Tabela 73. Distribucija TNF- α alela prema podrupama PE (AGA i SGA)

TNF- α	KG	AGA	SGA	Ukupno
C	73 (51,4%)	19 (13,4%)	50 (35,2%)	142
T	21 (45,7%)	5 (10,9%)	20 (43,5%)	46
Ukupno	94 (50,0%)	24 (12,8%)	70 (37,2%)	188

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Evidentno je da ne postoje razlike u distribuciji alela po AGA i SGA, odnosno KG, a statističkom analizom potvrđeno je da ne postoji značajna razlika po učestalostima ($X^2=1.040$; $p=0,595$).

Zatim je urađena logistička regresiona analiza za svaki ishod posebno (Tabela 74).

Tabela 74. Logistička regresiona analiza sa AGA i SGA kao zavisnim i TNF- α alelima kao nezavisnim

TNF- α	AGA	p vrednost	SGA	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
C	1		1	
T	0,915 (0,305-2,743)	0,874	1,390 (0,683-2,829)	0,363

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Kao i u prethodnom slučaju, šansa da dođe do AGA je manja dok je šansa da dođe do SGA veća ukoliko se radi o T alelu u odnosu na C alel. Regresionim modelom je utvrđeno da nijedna šansa nije statistički značajna.

Autozomno dominantni model

Distribucija pacijentkinja u odnosu na varijante TNF- α alela (CC vs. CT i TT), prema autozomno dominantnom modelu (AD model) prikazana je u Tabeli 75.

Tabela 75. Distribucija pacijentkinja prema varijantama TNF- α alela (AD model)

TNF- α	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
CC	28 (53,8%)	24 (46,2%)	1	
CT i TT	19 (45,2%)	23 (54,8%)	1,412 (0,624-3,195)	0,407
Ukupno	47 (50,0%)	47 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Kao što se vidi iz tabele, distribucija pacijentkinja sa PE je vrlo slična u obe grupe, a statističkom analizom je utvrđeno da nema statistički značajne razlike po učestalosti PE ($X^2=0,689$; $p=0,407$). Logističkom regresionom analizom je potvrđen mali uticaj CT i TT za PE u odnosu na CC grupu.

U sledećoj analizi je ispitivana distribucija alela TNF- α prema podgrupama PE (lakši i teži oblik) prema AD tipu nasleđivanja (Tabela 76).

Tabela 76. Distribucija TNF- α alela (AD) prema podrupama PE

TNF- α	KG	TPE	LPE	Ukupno
CC	28 (53,8%)	16 (30,8%)	8 (15,4%)	52
CT i TT	19 (45,2%)	17 (40,5%)	6 (14,3%)	42
Ukupno	47 (50,0%)	33 (35,1%)	14 (14,9%)	94

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Distribucija u grupama ukazuje da su grupe vrlo slične po TPE i LPE, a statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike između grupa ($X^2=0,987$; $p=0,611$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE u ukoliko se radi o CT i TT alelu u odnosu na CC alel (Tabela 77).

Tabela 77. Logistički regresioni model sa TNF- α alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

TNF- α	TPE		LPE	
	OR (95% IP)	p vrednost	OR (95% IP)	p vrednost
CC	1		1	
CT i TT	1,566 (0,638-3,841)	0,327	1,105 (0,330-3,700)	0,871

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Šansa da dođe do TPE je za 56% veća ukoliko se radi o CT i TT umesto CC, dok je za 10% veća da dođe do LPE ukoliko se radi o CT i TT umesto CC, ali nijedna od navedenih šansi nije statistički značajna.

Ispitivana je distribucija alela TNF- α prema podgrupama PE (AGA i SGA) prema AD tipu nasleđivanja i rezultati su prikazani u Tabeli 78.

Tabela 78. Distribucija TNF- α alela (AD) prema podrupama PE (AGA, SGA)

TNF- α	KG	AGA	SGA	Ukupno
CC	28 (53,8%)	7 (13,5%)	17 (32,7%)	52
CT i TT	19 (45,2%)	5 (11,9%)	18 (42,9%)	42
Ukupno	47 (50,0%)	12 (12,8%)	35 (37,2%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Kao i u prethodnim analizama evidentno je da se radi o veoma sličnim distribucijama a statističkoma analizom je utvrđeno da razlika nije značajna ($X^2=1.033$; $p=0,597$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA ukoliko se radi o CT i TT u odnosu na CC alel (Tabela 79).

Tabela 79. Logistički regresioni model sa TNF- α alelima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

TNF- α	AGA	p vrednost	SGA	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
CC	1		1	
CT i TT	1,053 (0,291-3,813)	0,938	1,560 (0,646-3,771)	0,323

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja

Kao i u prethodnoj analizi i ovde nema statističke značajnosti ali je evidentno da prisustvo CT i TT u blagom stepenu, gotovo zanemarljivom, favorizuje AGA i u većem stepenu favorizuje SGA.

Autozomno recesivni model

Distribucija pacijentkinja u odnosu na varijante TNF- α alela (CC i CT vs. TT), prema autozomno recesivnom modelu prikazana je u Tabeli 80.

Tabela 80. Distribucija pacijentkinja prema varijantama TNF- α alela (AR model)

TNF- α	KG	PE	OR (95% IP)	p vrednost
CC i CT	45 (50,0%)	45 (50,0%)	1	
TT	2 (50,0%)	2 (50,0%)	1 (0,135-7,412)	1,000
Ukupno	47 (50,0%)	47 (50,0%)		

KG - Kontrolna grupa, PE – preeklampsija OR – Odds ratio (količnik šansi) IP – interval poverenja

Kao što se vidi iz tabele, distribucija pacijentkinja je identična, pa nema potrebe da se radi statistička analiza.

U sledećoj analizi je ispitivana distribucija alela TNF- α prema podgrupama PE (lakši i teži oblik) prema AR tipu nasleđivanja (Tabela 81).

Tabela 81. Distribucija TNF- α alela (AR) prema podgrupama PE

TNF- α	KG	TPE	LPE	Ukupno
CC i CT	45 (50,0%)	31 (34,4%)	14 (15,6%)	90
TT	2 (50,0%)	2 (50,0%)	0	4
Ukupno	47 (50,0%)	33 (28,9%)	14 (12,3%)	94

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije

Distribucija u grupama je vrlo slična a ograničavajući faktor analize su male učestalosti u TT grupi. Statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike između ispitivanih grupa ($X^2=0,886$; $p=0,836$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa TPE i LPE kao ishodima, odnosno šansa da dođe do TPE ili LPE ukoliko se radi o CC umesto CC i CT alelu (Tabela 82).

Tabela 82. Logistički regresioni model sa TNF- α alelima kao nezavisnom i TPE i LPE kao zavisnim

TNF- α	TPE	p vrednost	LPE*	p vrednost
	OR (95% IP)		OR (95% IP)	
CC i CT	1		1	
TT	1,452 (0,194-10,863)	0,717	1,379 (0-18,210)	1,000

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja *Egzaktna logistička regresija

Šansa da dođe do TPE je za 45% veća ukoliko se radi o TT umesto CC i CT. Ova šansa nije statistički značajna.

Ispitivana je distribucija alela TNF- α gena prema podgrupama PE (AGA i SGA) prema AR tipu nasleđivanja i rezultati su prikazani u Tabeli 83.

Tabela 83. Distribucija TNF- α alela (AR) prema podrupama PE (AGA, SGA)

TNF- α	KG	AGA	SGA	Ukupno
CC i CT	45 (50,0%)	12 (13,3%)	33 (36,7%)	90
TT	2 (50,0%)	0	2 (50,0%)	4
Ukupno	47 (50,0%)	12 (12,8%)	35 (37,2%)	94

KG - Kontrolna grupa, AGA – novorođančad proporcionalana za gestacijski uzrast SGA- novorođančad manje mase za gestacijski uzrast

Iz tabele se vidi da obe grupe imaju slične procenete (ali radi se o malom uzorku u TT grupi), a statističkom analizom je utvrđeno da nema statistički značajne razlike između ispitivanih grupa po AGA/SGA ($X^2=0.716$; $p=0,851$).

Dalja analiza predstavlja logistički regresioni model sa AGA i SGA kao ishodima, odnosno šansa da dođe do AGA ili SGA ukoliko se radi o AA alelu umesto GG i GA alelu (Tabela 84).

Tabela 84. Logistički regresioni model sa IL-1 α alelima kao nezavisnom i AGA i SGA kao zavisnim

TNF- α	AGA*	p	SGA	p
	OR (95% IP)	vrednost	OR (95% IP)	vrednost
CC i CT	1		1	
TT	1,612 (0-21,359)	1,000	1,364 (0,183-10,185)	0,762

KG - Kontrolna grupa, PE - preeklampsija, TPE - Teži oblik rane preeklampsije, LPE - Lakši oblik rane preeklampsije, IP- interval poverenja *Ekzaktne logističke regresije

Kao i u svim prethodnim analizama, nema značajnih šansi ali je evidentno da je veća šansa da bude SGA, odnosno manja da bude AGA ukoliko se radi o TT alelu umesto CC i CT.

Multivarijantni modeli sa PE kao ishodom, kada se koriguje za ITM i starost

U Tabeli 85. prikazan je multivarijantni binarni logistički model sa PE kao ishodom, kada se analiza koriguje za indeks telesne mase i starost pacijentkinje.

Tabela 85. Prediktori PE

Varijabla/polimorfizam	OR (95% IP)	p vrednost
Starost (godine)	1,122 (1,015-1,253)	0,030
ITM (kg/m ²)	1,134 (1,133-1,568)	<0,001
COMT (AR model)	0,308 (0,091-0,960)	0,047
IL-1 α (AD model)	0,167 (0,048-0,508)	0,003

Iz tabele se vidi da su svi prediktori statistički značajni za nastanak PE. Pri tom, veća starost i veći indeks telesne mase favorizuju nastanak PE. I naravno, polimorfizmi su statistički značajni, čak i kada se koriguju za starost i ITM. Drugim rečima, prisustvo COMT-Met alela u homozigotnom stanju smanjuje 3.2 puta šansu za razvoj PE, dakle on deluje protektivno, kao i IL-1 α "T" alel, koji smanjuje šansu za razvoj PE skoro šest puta (u odnosu na homozigote za "wild type"). To je efekat koji postoji čak i kada se isključi uticaj ITM i starosti, koji nesumljivo igra ulogu u razvoju PE.

Nakon ovoga ispitujemo interakciju između navedenih polimorfizama radi kreiranja potencijalnog modela za procenu genetskog rizika za razvoj PE.

Ako su ova dva lokusa nezavisni, tada osoba koja nosi oba alela ima $OR_1 * OR_2$ puta veću šansu da oboli po čisto aditivnom modelu.

Ako pak, postoji neki oblik interakcije između ta dva lokusa, u smislu da uticaj jednog na uticaj drugog utiče na pojavu PE, tada će observirani OR (OR računat direktno iz podataka) biti znatno različit u odnosu na prost umnožak OR_1 i OR_2 . Tada će, takođe interakcija za neku od kombinacija genotipa/lokusa biti značajna ($p < 0.05$) u logističkim regresionim modelima.

U Tabeli 86. prikazani su modeli korigovani za ITM i starost i bez korekcije za navedene varijable.

Tabela 86. Logistički modeli sa PE kao zavisnom

Alel	OR bez korekcije (95% IP)	OR korigovana za ITM i starost (95% IP)
COMT (Met)	0,591* (0,312-1,086)	0,517 (0,255-1,131)
IL-1 α (T)	0,325** (0,143-0,665)	0,252* (0,093-0,580)
IL10 (A)	1,029 (0,474-2,190)	0,669 (0,258-1,666)
TNF- α (T)	1,180 (0,545-2,571)	1,168 (0,478-2,928)

*p=0.09594 **p=0.004 ***p=0.003

Iz tabele se vidi da su i COMT i IL-1 α značajni prediktori, ali u modelima bez korekcije za ITM i starost. Kada se koriguje za ITM i starost, samo IL-1 α ostaje značajan prediktor.

U Tabeli 87. prikazane su kombinacije alela sa i bez korekcije za starost i ITM.

Tabela 87. Interakcije alela sa i bez korekcije za starost i ITM

	OR nekorigovano	p vrednost	OR korigovano za starost i ITM	p vrednost	OR kombinovano, korigovano za starost i ITM
COMT (Met): IL-1 α (T)	0,618	NS	0,509	NS	0,190
COMT (Met):IL10 (A)	0,369	0,0647	0,357	0,0827	0,937
COMT(Met):TNF- α (T)	2,765	0,0491	1,703	NS	0,490
IL-1 α (T): IL10(A)	0,799	NS	1,046	NS	0,159
IL-1 α (T): TNF- α (T)	1,948	NS	2,486	NS	0,371
IL10(A): TNF- α (T)	1,724	NS	1,470	NS	1,239

*kombinacije koje fale nisu mogle da se sračunaju zbog problema sa TINFR1 lokusom

U tabeli je predstavljen prvo nekorigovani količnik šansi za nastanak PE, zatim je predstavljem OR korigovan za starost i ITM, a na kraju je prikazan OR za kombinaciju koji odgovara da osoba sa kombinacijom dobije PE.

Kao što se vidi, postoji značajna interakcija između COMT (Met) i TNF- α (T) alela, tj. da ako su oba alela prisutna, to povećava šansu za PE još 2.765 puta u odnosu na prosti

umnožak OR za svaki lokus posebno. Problem nastaje kada se koriguje za starost i ITM, jer se značajnost gubi.

Sa druge strane, interakcija između COMT(Met) i IL10(A) je na granici konvencionalnog nivoa značajnosti od 0,05 i kada je nekorigovana i kada je korigovana za starost i ITM. Količnik šansi za kombinaciju se u ovom slučaju znatno razlikuje od umnoška OR-ova za svaki alel posebno, tj. skoro tri puta je veći, što govori o tome da istovremeno prisustvo IL10 A alela smanjuje protektivni efekat COMT Met alela na razvoj PE 2.71 puta.

Ograničenje ovih rezultata su mali uzorak i neadekvatan HWE.

5. DISKUSIJA

Preeklampsija (PE) pripada grupi hipertenzivnih poremećaja u trudnoći sa prosečnom globalnom incidencijom od 2,16%. Smatra se da je PE jedna od glavnih uzroka maternalnog i neonatalnog morbiditeta i mortaliteta širom sveta(11,117). PE nema uticaj samo na zdravlje majke, već i na rast i razvoj fetusa, a dosta kasnije može imati uticaj i na zdravlje i majke i deteta (118). Posebna pažnja se posvećuje ranoj PE i PE sa karakteristikama teške PE. Razlog tome je korelacija sa visokim morbiditetom, odnosno pojavom težih komplikacija (17,119). Prepoznavanje visokorizičnih pacijenata za razvoj PE može doprineti boljoj pripremi istih. Prema dosadašnjim saznanjima, žene u visokom riziku su one koje imaju hipertenziju koja postoji i pre trudnoće, hronična bubrežna oboljenja, dijabetes i žene koje su u prethodnoj trudnoći imale PE (120). Primena adekvatnih medikamentata smanjuje rizik za nastanak PE za 15% (94). Posebno se obraća pažnja na ranu PE, pošto je rizik od neželjenih događaja po majku i plod rast značajno kada se preeklampsija razvije u ranom periodu (121,122).

Patofiziološki mehanizam razvoja PE je još uvek nejasan. Animalni modeli imaju značajnu, ali ipak ograničenu mogućnost da u potpunosti rasvetle patofiziološki mehanizam razvoja PE. Razlog je prvenstveno placentalni razvoj između ljudi i drugih sisara (123).

Kod čoveka su identifikovana dva ključna međusobno povezana procesa u patofiziologiji PE, autofagija i apoptoza. Ova dva su ključna međusobno povezana procesa na koje deluje oksidativni stress (OS). Autofagija je protektivan, a apoptoza destruktivan proces na nivou posteljice. Autofagija je poslednjih godina jedan od najinteresantnijih i najproučavanijih procesa(124). Smatra se da je autofagija samoregulišući katabolički proces koji ima za cilj da se odstrane nepoželjni proteini, oštećene organele i njihovi štetni produkti. Autofagija predstavlja prema najnovijim shvatanjima najznačajniju zaštitu trofoblastnih ćelija u uslovima OS. Suprotno u uslovima OS na kompleksan način se aktivira apoptoza koja će imati u krajnjoj instanci za posledicu programiranu ćelijsku smrt trofoblastnih ćelija, a time i neadekvatnu trofoblastnu invaziju u zid spiralnih arterija. U poslednje vreme se ističe

značaj stresa endoplazmatičkog retikuluma (ER) koji nastaje kao rezultat ishemije interviloznih prostora, a zbog neadekvatnog remodeliranja spiralnih arterija. ER stress imaće za posledicu neadekvatnu posttranslacionu modifikaciju proteina i insuficijentno njihovo “pakovanje”. Pojaviće se problem tzv. neupakovanih proteina (unfolded protein response, ili UPR). UPR dalje dovodi do zaustavljanja proliferacije ćelija trofoblasta i ukoliko je UPR izražen dovodi do apoptoze. Trofoblastna apoptoza će imati za posledicu oslobađanje mikro i nanopartikula u maternalnu cirkulaciju, koje takođe poseduju sposobnost stimulacije proinflamatorne reakcije. Ova dva procesa su međusobno povezana na kompleksan način i njihova međusobna uravnoteženost ima značajnu ulogu u posteljini homeostazi(125). U poslednje vreme se ističe značaj stresa na nivou endoplazmatičkog retikuluma (ER) koji nastaje kao rezultat ishemije interviloznih prostora, a zbog neadekvatnog remodeliranja spiralnih arterija(124). ER stress imaće za posledicu neadekvatnu posttranslacionu modifikaciju proteina i njihovo “pakovanje”. Oksidativni stres pokreće i druge različite humoralne procese, proinflamatorni odgovor i oslobađanje citokina, tumor nekrotičnog faktora (TNF)-alfa, interleukina (IL-6, IL-2)(126,127),dovodi do aktivacije komplementa(128), stimuliše sintezu antiangiogenih faktora (solubilne fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) i solubilnog endoglina (sEng), a smanjuje produkciju placentalnog faktora rasta (PLGF)(129–131). Obzirom da se intravaskularna inflamacija pored PE sreće i kod drugih obstetričkih sindroma kao što su pretermijski porodjaj, PPRM, IUGR i pyelonephritis, a bez hipertenzije i proteinurije, nameće se zaključak da sama inflamacija kod preeklampsije postoji, ali da nije dovoljna da izazove simptome bolesti. Danas važeće mišljenje je da hipoksija posteljice dovodi do oslobađanja antiangiogenih faktora sFlt-1 i sEng koji zajedno sa proinflamatornim citokinima dovode do endotelne aktivacije i vazospazma, zapravo endotelne disfunkcije(132). U skorije vreme je pokazano da kod PE povećani maternalni sistemski proinflamatorni odgovor ne korelira sa nivoom antiangiogenog sFlt-1 i sEng.(57)(133). Ne zna se kako međusobno deluju inflamatorni i angiogeni sistem, ali se ne isključuje mogućnost da inflamatorni stimuliše anigiogeni sistem i vice versa.Prema istraživanju Rama i saradnika, kombinovani inflamatorni odgovor i angiogenetski disbalans su potencijalni uzročnici endotelne disfunkcije(57). Dvofazni model predložen od strane Robertsa i Hubela za razvoj PE ukazuje da je u prvoj fazi smanjena placentalna perfuzija koja se nastavlja na abnormalnu implantaciju i razvoj placentalne vakularne mreže, dok je druga faza odgovor majke na ovo stanje, koje se karakteriše inflamacijom i endotelnom disfunkcijom (134).

Na osnovu analize epidemioloških podataka, naglašava se da su genetski faktori među ključnim faktorima rizika za razvoj PE i mnogobrojne studije iz ove oblasti su urađene(135). U današnje vreme prihvaćeno je mišljenje da je PE veoma kompleksno genetsko oboljenje koje se javlja kao rezultat varijacija na različitim lokusa i koji pojedinačno imaju mali uticaj ali zato njihov zajednički uticaj je evidentan u razvoju bolesti (136). Preko 70 gena je identifikovano kao kandidati za moguću osnovu razvoja patoloških promena koje vode do razvoja PE. Veliki broj gena je do sada analiziran (115,116,137). Ovi geni podeljeni su u grupe na osnovu njihovih patofizioloških mehanizama, pa se dele na vazoaktivne proteine, trombofiliju i hipofibrinolizu, oksidativni stres i lipidni metabolizam, endotelno oštećenje i imunogenetiku (138). Ipak, na osnovu različitih rezultata pojedinih studija, nijedan gen nije prihvaćen kao definitivni uzročnik PE iz više razloga koji se odnose na ograničenja ovih studija (136). Prema epidemiološkoj studiji Salonen i saradnika PE ima veoma uticajnu genetsku komponentu u svojoj etiologiji, a posebno postoji i uticaj geografskih, socioekonomskih i rasnih faktora rizika što dodatno komplikuje razjašnjenje mehanizma nastanka PE(139).

Klasifikacija HBT ima veliki značaj za proučavanje svih aspekata hipertenzivne bolesti u trudnoći. U literaturi postoji mnogo različitih klasifikacija HBT, kako od strane nacionalnih tako i različitih internacionalnih uruženja(140–145). Ova konfuzija značajno usporava bazična istraživanja etiologije i patofiziologije PE, ali utiče i na preporuke i protokole prevencije i lečenja hipertenzivne bolesti u trudnoći. Od 2013. godine posle objavljivanja vodiča od strane radne grupe Američkog koledža obstetričara i ginekologa (ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists)) postoji tendencija šire implementacije novih dijagnostičkih kriterijuma u nacionalne vodiče i drugih zemalja i udruženja(95). Ova klasifikacija se u svojoj osnovi oslanja pre svega na nova shvatanja patofiziologije PE, ali i na obimne epidemiološke studije.

Cilj ove studije je da utvrdi potencijalni doprinos genetike, odnosno četiri gena u razvoju PE. Studija je koncipirana kao studija slučaj-kontrola i poredi kontrolnu grupu trudnica koje nisu razvile PE tokom trudnoće i eksperimentalnu grupu trudnica koje su tokom trudnoće razvile PE. Uzorak je izbalansiran (jednak broj pacijentkinja u obe grupe). Prosečna starost trudnica u grupi sa PE je za 3 godinevisa u poređenju sa kontrolnom grupom. Nasuprot starosti, gestacijska starost u danima je značajno manja u proseku, kod pacijentkinja sa PE u odnosu na pacijentkinje kontrolne grupe. Značajna

razlika je i kada je u pitanju prosečan indeks telesne mase, koji je značajno veći u grupi pacijentkinja sa PE (Tabela 1-3). Prethodne studije ukazuju da je starost trudnice bitan faktor rizika za nastanak PE. Naime, poznato je da žene koje imaju preko 40 godina imaju rizik 1,96 puta veći rizik za nastanak PE u odnosu na žene koje su mlađe od navedenog uzrasta (58). U našoj studiji prosek godina je daleko manji od 40 godina, pa razlika od tri godine u korist pacijentkinja sa PE ne može biti klinički faktor rizika koji u velikoj meri utiče na razvoj PE. Gojaznost pre trudnoće je takođe jedan od faktora rizika za nastanak PE. Studije su pokazale da je rizik za razvoj PE više od dva puta veći kod pacijentkinja koje su pre trudnoće bile gojazne, u odnosu na pacijentkinje koje su pre trudnoće bile normalno uhranjene (58). U našoj studiji pacijentkinje sa PE imaju značajno veći ITM, ali prosek tih pacijentkinja je više u grupi predgojaznih žena. Naime, po definiciji gojaznost se karakteriše indeksom telesne mase većim od 30 kg/m². Razlika između ispitivanih grupa postoji ali ona, slično starosti, nije toliko velika da bi mogli da ovaj faktor rizika smatramo ključnim za razvoj PE u našem uzorku. I drugi istraživači takođe imaju uzorke žena sa sličnim ili nešto većom prosečnom starošću i ITM pacijentkinja sa PE u odnosu na pacijentkinje kontrolne grupe (115,146–148). I u njihovim studijama, iako postoji značajna razlika u starosti i ITM, obzirom da su slične kao i u našem istraživanju, nisu navedene kao značajan prediktor PE. Jedino što je bitno je prilagođavanje za pomenute parametre u multivarijantnom logističkom modelu, što je u našoj studiji i urađeno. Kada je u pitanju gradiranje PE na oblik bez teških karakteristika i teški oblik, iz naših rezultata je evidentno da su pacijentkinje sa oblikom PE bez teških karakteristika bile neznatno mlađe od pacijentkinja sateškim oblikom PE, ali bez statističke značajnosti, dok su se obe grupe značajno razlikovale od kontrolne grupe. Ista razlika po grupama je i kada je u pitanju ITM (Tabela 2). Analizirajući rezultate telesne težine dece na rođenju u našoj studiji, evidentno je da su faktori po kojima se ispitivane grupe (kontrolna, AGA, SGA) razlikuju: starost, indeks telesne mase i gestacijski uzrast (Tabela 3). Za gestacijski uzrast je očekivano da utiče na telesnoj masi jer razvoj ploda u velikoj meri zavisi od nedelje gestacije u kojoj se trudnica porodi. U našem slučaju gestacijski uzrast kod žena sa SGA je daleko manji od kontrolne grupe i AGA. S druge strane, AGA grupa ima značajno manji prosečan gestacijski uzrast u odnosu na kontrolnu grupu. Težina PE igra značajnu ulogu što je potvrđeno rezultatima naše studije. Naime, prosečna telesna težina deteta na rođenju je više od dva puta manja kod pacijentkinja sa teškim oblikom PE u odnosu na kontrolnu grupu a oko 1,5 puta manja u odnosu na pacijentkinje sa oblikom PE bez teških

karakteristika. Ali zajednički medijator i/ili moderator ovog odnosa je gestacijska starost koja je najmanja u teškom obliku PE. Intrauterini zastoje u rastu se koristi kao jedan od dijagnostičkih kriterijuma za težak oblik PE. Međutim, pokazano je da su patofiziološki mehanizmi razvoja zastoja u rastu i same PE različiti. Kod žena sa hroničnom hipertenzijom nije uočena povišena prevalenca intrauterinog zastoja u rastu. PE je nezavisno povezana sa razvojem zastoja u rastu (17). Postavljanje dijagnoze PE se često zasniva na utvrđivanju prisustva zastoja u rastu. Zanimljivo je da je razvoj zastoja u rastu kod žena sa PE sa i bez hronične hipertenzije različit. Trenutno uključivanje zastoja u rastu kao dijagnostičkog kriterijuma utiče na kliničko upravljanje pacijentima jer se neki slučajevi zastoja u rastu dijagnostikuju kao teški oblici koji bi inače predstavljali oblik PE bez teških karakteristika (17). Smatra se vreme da se reevaluiraju strategije upravljanja pacijentima po pitanju korišćenja intrauterinog zastoja u rastu kao kriterijuma za tešku PE.

Statističkim genetskim analizama je testirana distribucija genotipova u odnosu na Hardy-Weinberg ravnotežu (Tabela 4). Međutim, navedeni model ima nekoliko pretpostavki od kojih je i ta da populacija treba da bude velika(149). Naš uzorak se sastoji od 47 pacijentkinja kontrolne grupe što predstavlja mali uzorak, kada su u pitanju epigenetske analize. Ipak, na osnovu dobijenih rezultata jasno je da u slučaju COMT i IL1a1 možemo reći da se nalaze u ravnoteži po HWE, dok su IL10 i TNF alpha diskutabilni. Naime, iako signifikantnost ne ukazuje na značajno odstupanje od HWE, D vrednost je dovoljno velika da ukaže na moguću devijaciju. To je jedan od razloga za moguću distorziju rezultata prilikom ispitivanja ova dva gena u etiologiji PE u našoj studiji.

Jedan od gena koji se u poslednjoj dekadi pojavio kao potencijalni kandidat za razvoj PE i može se povezati sa angiogenetskim disbalansom je COMT gen(150). Kanasaki i saradnici su pioniri ispitivanja uticaja genetske osnove COMT-a na razvoj PE (150). Oni su na animalnom “nok-aut” mišjem modelu pokazali značaj smanjene ekspresije COMT gena u razvoju PE. Ali, iako je ova studija bila revolucionarna na polju PE kada je u pitanju genetska osnova, najveća limitacija iste je bila odsustvo diferencijacije majčine i fetalne aktivnosti COMT-a. Naime, studije novijeg datuma pokazale su da postoji različit uticaj COMT aktivnosti majke i placente (148). U studiji Hill i saradnici pokazano je da je snižena aktivnost COMT-a protektivan faktor u razvoju PE zato što isti stimuliše placentu da produkuje 2-ME (148). Nasuprot

majčinom COMT aktivnosti, placentalna niska aktivnost COMT gena je ključni faktor u razvoju PE. Sada je jasno da postoje dijametralno suprotni efekti COMT-a zavisno da li se radi o majčinom ili placentalnom.

Pokazano je da je COMT među ključnim enzimima koji su zaduženi za inaktivaciju katehol-estrogena (151). Katehol-estrogeni igraju važnu ulogu u toku trudnoće i razvoju fetusa(151). Naime, značajno povećanje u produkciji katehol-estrogena u trudnoći je verovatno zbog povećane aktivnosti placente. Placenta ima visoku aktivnost estrogen 2-hidroksilaze koja produkuje 2-hidroksiestradiol i 4-hidroksiestradiol i COMT enzim koji konvertuje ova dva u 2-metoksiestradiol. U prisustvu COMT-a, 2-metoksiestradiol suprimira hipoksija-inducibilni faktor 1α (HIF- 1α) nakupljanje i produkciju solubilne tirozin kinaze 1 (sFLT-1) (123,152). Utvrđeno je da kod PE, COMT ima smanjenu aktivnost koja dovodi do smanjene produkcije 2-metoksiestradiola, akumuliranja HIF- 1α i povećane produkcije sFlt-1 (153). Animalni model je pokazao da kod COMT $-/-$ miševa, povećana koncentracija HIF- 1α uzrokuje povećanu produkciju sFlt-1 a time uzrokuje i inflamatornu reakciju i endotelnu disfunkciju (150).

U studiji Lim i saradnika je pokazano da postoji povezanost između Val158Met COMT polimorfizma i povećanog rizika za nastanak PE u različitim grupama pacijentkinja(154). Studija koja se nastavlja na navedenu ukazuje da fetalni Val158Met COMT polimorfizam korelira sa povećanim rizikom za PE, a majčin Val158Met COMT polimorfizam ima protektivnu ulogu, kada je u pitanju nastanak PE(148).Studija Roten i saradnika pokazala je da postoji korelacija između Val158Met genotipa i rekurentne PE, ali nije pronađena veza između Val158Met genotipa i ne-rekurentne PE (155).

Rezultati naše studije ukazuju da su pacijentkinje sa COMT heterozigotom u nešto većem riziku za nastanak preeklampsije (ali bez statističke značajnosti), dok pacijentkinje sa homozigotom imaju tri puta manju šansu za razvoj PE i ova šansa je statistički značajna (Tabela 5). I kada se analize urade posebno za teški oblik PE i oblik PE bez teških karakteristika u odnosu na kontrolnu grupu dobijaju se isti zaključci (Tabela 6). Homozigot u ovim analizama takođe ima tri puta manju šansu za razvoj PE u odnosu na WT. I analiza sa AGA i SGA u odnosu na kontrolnu grupu pokazuje gotovo identične rezultate kao i kada je u pitanju težina PE, odnosno homozigot ima tri puta manju šansu za razvoj PE sa SGA, dok heterozigot nema statističku

značajnost (Tabela 9). U prethodnim analizama smo pokazali da težina PE korelira sa telesnom masom na rođenju, pa je evidentno da ukoliko je homozigot, logično je da je manja šansa da dođe do PE, a takođe i manja šansa da dođe do teškog, odnosno oblika PE bez teških karakteristika. Može se zaključiti da smanjena aktivnost COMT gena ima protektivan efekat na nastanak PE, kao i na smanjenu telesnu masu na rođenju za uzrast kod pacijentkinja sa PE u odnosu na kontrolnu grupu.

Alelski model je pokazao da prisustvo Met alela umanjuje šansu da dođe do PE gotovo dva puta u odnosu na Val alel (Tabela 10). Isti zaključak se dobija i kada je u pitanju težina PE i AGA i SGA u odnosu na kontrolnu grupu (Tabele 12 i 14). Autozomno dominantni model ukazuje da je šansa da dođe do PE manja ukoliko se radi o Met-Met/Met-Val u odnosu na Val-Val (Tabela 15). Isto se može zaključiti i kada je u pitanju težina, odnosno oblik PE bez teških karakteristika u odnosu na kontrolnu grupu, kao i AGA i SGA u odnosu na kontrolnu grupu (Tabele 17 i 19). Ipak, u autozomno dominantnom modelu nismo dobili statističku značajnost ni u jednoj analizi. Nasuprot autozomno dominantnom modelu, u recesivnom modelu postoji značajan uticaj Met-Met u odnosu na Val-Val/Met-Val. Naime, šansa da dođe do PE je gotovo četiri puta manja u koliko se radi o Met-Met (Tabela 20). Isti zaključak se dobija i kada je u pitanju težina PE i težina deteta na rođenju. Met-Met u odnosu na Val-Val/Met-Val ima četiri puta manju šansu za nastanak teškog oblika PE (Tabela 22) i četiri puta manju šansu za razvoj PE sa SGA (Tabela 24).

Analogno zaključku Hill i saradnika, da je smanjena maternalna COMT aktivnost protektivan faktor tako što stimuliše placentu da produkuje 2-ME, u našoj studiji COMT Met-Met genotip u recesivnom modelu pokazuje protektivnu ulogu tako što smanjuje šansu za ranu PE (148).

Potencijal Val158Met genotipa u stratifikaciji rizika za nastanak PE, kao i težinu PE, je nesumnjiv, ali postoji relativno mali broj studija koji se bave ovom problematikom. U našoj studiji je utvrđeno da je Met-Met genotip protektivni faktor za razvoj PE. Nasuprot rezultatima naše studije, Lim i saradnici su pokazali da je Met-Met genotip povezan sa povećanim rizikom za razvojem teže forme PE (154). Za razliku od njega, Liang i saradnici nisu našli razliku između distribucije pacijentkinja sa različitim genotipovima, odnosno alelima i nastanka PE (147).

Povezanost COMT genotipa i telesne težine na rođenju u PE ili same SGA je dokazana. Sve veći broj studija ukazuje da maternalni i fetalni genetski faktori igraju važnu ulogu u razvoju SGA. Geni citohrom P450 1A1, glutation S-transferaza T1 i insulinu slični faktor rasta su neki od potencijalnih faktora čiji polimorfizmi su nađeni i dovedeni u vezu sa SGA (156,157). U našoj studiji pokazano je da pacijentkinje sa PE imaju značajno drugačiju distribuciju COMT alela u odnosu na kontrolnu grupu. Ali nasuprot našoj studiji, Sata i saradnici su pokazali da pacijenti sa homozigotnim COMT alelima imaju gotovo tri puta veći rizik za nisku telesnu masu novorođenčeta (158). Zaključeno je da niska COMT aktivnost može da uzrokuje akumulaciju katehol-estrogena zbog nemogućnosti da ih inaktivira i posledično tome izazove oksidativno oštećenje DNK (159–161). Oksidativno DNK oštećenje na kraju trudnoće može biti povezano sa smanjenom telesnom masom na rođenju (162).

Pored COMP gena, po teoriji povećanog inflamatornog odgovora, nekoliko polimorfizama inflamatornih citokina je pokazalo povezanost sa PE(146,163,164). Navedeni inflamatorni citokini koji su ispitivani u našoj studiji su Interleukin 1a (IL-1 α), Interleukin 10 i Tumor nekrotizirajući faktor alfa (TNF alpha).

Interleukin-1 α je važan medijator inflamacije i imunog odgovora, a poznato je i da uzrokuje nakupljanje leukocita u tkivu, kao i produkciju drugih citokina (165). Studije na trudnicama su pokazale da su žene koje imaju PE u većem procentu bile nosioci 4845GT genotipa, kada se uporede sa normotenzivnim trudnicama (146). Nekoliko studija je ispitivalo vezu između IL-1 i PE, ali problem malih uzoraka doveo je do toga da nema statističke značajnosti. Jedino je studija Haggerty i saradnika studija koja je obuhvatila dovoljno veliki uzorak da vi zaključci bili validni (146).

U našoj studiji utvrđeno je da je šansa da dođe do PE četiri do osam puta manja ukoliko se radi o GT ili TT genotipu u odnosu na GG genotip (Tabela 25). Uzorak u našoj studiji dovoljno je veliki da se dobije statistička značajnost u ovoj analizi. Kada se ispituje težina PE, takođe se dobija da je GT, odnosno TT genotip protektivan u smislu manje šanse za nastanak teške, odnosno PE bez teških karakteristika u poređenju sa kontrolnom grupom. Isti zaključak dobija se i kada se analizira telesna težina novorođenčeta (Tabela 27). Analogno težini PE manja je šansa da novorođenče ima smanjenu težinu za gestacioni uzrast ukoliko se radi o GT i TT genotipu. Sve ovo samo potvrđuje protektivnu ulogu GT i TT genotipova (Tabela 29).

U alelskom modelu je jasno uočljivo da je, zapravo, T alel taj koji ima protektivnu ulogu (Tabela 30). Naime, u statističkim analizama je utvrđeno da prisustvo T alela četiri puta smanjuje šansu da dođe do PE. Isti zaključak u alelskom modelu dobija se i kada se analizira težina PE, kao i SGA (Tabele 32 i 34).

Kada je u pitanju autozomno dominantni model, utvrđeno je da je šansa da dođe do PE gotovo pet puta manja ukoliko se radi o GT i TT u odnosu na GG genotip (Tabela 35). Slični rezultati dobijaju se i kada se analiza uradi za težinu PE, odnosno SGA i AGA (Tabele 37 i 39). Naime, šansa da dođe do teške PE je četiri puta manja ukoliko se radi o GT i TT alelima, dok je šansa da dođe do oblika PE bez teških karakteristika gotovo deset puta manja. Šansa da dođe do SGA je četiri puta manja u odnosu na kontrolnu grupu, a za AGA čak dvanaest puta.

U autozomno recesivnom modelu rezultat koji se odnosi na model sa GG i GT u odnosu na TT je paradoksalan i pokazuje da TT nema protektivan već efekat koji vodi ka PE (Tabela 40). Ipak, objašnjenje ovakvog rezultata je da se rad o malom uzorku pacijenata koji imaju TT, njih petnaest i da količnik šansi je blizu jedan i naravno, nije statistički značajan. Ako analiziramo interval poverenja količnika šansi, jasno se vidi da je on veoma širok i da ide od tri puta manje šanse za nastanak PE do tri puta veće šanse za nastanak PE, pa je samim tim i ovaj rezultat diskutabilan za tumačenje i uzimanje u dalje razmatranje. Ipak, u daljim modelima sa težinom PE i težine novorođenčeta, dobijaju se rezultati koji su logični i govore u prilog protektivnog dejstva TT alela, ali takođe bez statističke značajnosti (Tabele 42 i 44). Razlog je već pomenuti uzorak koji je nedovoljan da bi mogao da otkrije značajnost za ovakav model.

Naši rezultati su u saglasnosti sa rezultatima studije Haggerty i saradnika (146). Analizirajući uticaj IL-1 α utvrđeno je da je šansa da dođe do PE 2 puta veća ukoliko se radi o GG genotipu u odnosu na TT. Oni su, takođe, pokazali da nema razlike između TT i TG genotipova u riziku za nastanak PE. Sve ovo samo potvrđuje hipotezu o protektivnom efektu T alela u patogenezi PE.

Mnoge studije ispitivale su efekte TNF α i pokazano je da je ekscesivno oslobađanje TNF α povezano sa endotelnom aktivacijom a potvrđena je i veza između TNF α i PE, jer je isti značajno veći kod trudnica sa PE (166). Animalni modeli na pacovima pokazali su da je povišena vrednost TNF α , kao i tretiranje pacova istim indukuje hipertenziju (167). Studije su pokazale da TNF α igra važnu ulogu u razvoju

PE, ateroskleroze, dijabetesa, Kronove bolesti i reumatoidnog artritisa (168–171). Povećana produkcija TNF α , takođe doprinosi povećanju metabolizma glukoze i insulinske rezistencije povezane sa gojaznošću, a smatra se da igra i jednu od važnijih uloga u razvoju metaboličkog sindroma. Studija Freeman i saradnika je pokazala da su nivoi IL-10 i TNF α povišeni u periodu između prvog i trećeg trimestra u zdravih kontrola isto kao i kod trudnica sa PE (172). Zbog kontradiktornih rezultata studija, dovodi se u pitanje uloga inflamatornih citokina u procesu inflamacije kao glavnog uzroka PE. Naime, mnoge studije nisu uspele da nađu jaku i konzistentnu povezanost između inflamatornog statusa i kliničkih znakova PE (57,173,174). Ipak, velika studija Haggerty i saradnika potvrđuje značajnu vezu između TNF α i PE (146). Na osnovu rezultata ove studije utvrđeno je da je šansa da dođe do PE dva puta veća ukoliko se radi o GG genotipu u odnosu na TT, dok TG i TT ne pokazuju značajnu razliku.

U našoj studiji prisustvo CT ili TT genotipa u malom stepenu doprinosi nastanku PE (Tabela 65). Ipak, analize sa ovim genotipovima nisu statistički značajne, bilo da se radi o malom efektu (CT), bilo da se radi o malom uzorku (TT). Naime, TT grupa ima samo četiri pacijentkinje, od kojih su dve sa PE, pa je gotovo nemoguće dobiti statističku značajnost, kao i validan zaključak. Isti zaključak dobijen je kada se analizira težina PE i težina novorođenčeta (Tabele 67 i 69). Naime, u oba slučaja postoji efekat CT i TT genotipova na nastanak teške PE, odnosno PE bez teških karakteristika u odnosu na kontrolnu grupu, ali bez statističke značajnosti.

Alelski model ukazuje da prisustvo T alela promoviše nastanak PE, ali i u našem ispitivanju bez značajnosti, jer iako se radi o adekvatnom uzorku, takođe se radi o maloj razlici (Tabela 70). Isti rezultati dobijaju se i kada se analizira težina PE i težina novorođenčeta i u svakom modelu nema statističke značajnosti (Tabela 72 i 74). Sve ovo govori u prilog da TNF α možda ima uticaj na PE, ali je on zanemarljiv i verovatno deluje sinergički sa ostalim faktorima jer u univarijantnim analizama ne dobijamo značajnost, niti kvantitativno veliki uticaj.

Autozomno dominantni model pokazuje da CT i TT imaju značajno veću šansu za nastanak PE, tešku PE i SGA, ali i ovde izostaje statistička značajnost (Tabele 75, 77 i 79). U autozomno recesivnom modelu postoji problem malog uzorka jer je TT alel prisutan samo kod četiri pacijentkinje, od kojih dve imaju PE, pa je modelovanje gotovo

nemoguće i svaka analiza daje rezultate koji su pod velikom sumnjom (Tabele 80, 82 i 84).

Moguće da bi značajnost postojala kada bi uzorak bio veći jer je evidentno da postoji pozitivan uticaj $TNF\alpha$ na nastanak PE, ali je efekat mali da bi mogli da dobijemo značajnost. Zato se i genetske studije rade na velikim uzorcima, gde postoji mogućnost da se univarijantno dobije značajnost povezanosti gena sa ishodom, a dodatno se može raditi i modelovanje sa prilagođavanjem. U našem slučaju to neće dati pozitivan rezultat jer je uzorak nedovoljan za takve analize. Druga bitna stvar je da smo analizirajući distribuciju genotipova u kontrolnoj grupi utvrdili da ona odudara od HWE pa je i to jedan od mogućih razloga zašto ne dobijamo značajnost razlike ili bar ograničavajući faktor u ovim analizama.

Interleukin 10 predstavlja multifunkcionalni citokin koji ima antiinflamatorna svojstva i koji smanjuje antigenu prezentaciju i aktivaciju makrofaga (175). U trudnoći ima važnu ulogu u balansiranju između proinflamatornog i antiinflamatornog odgovora. Naime, interleukin 10 smanjuje inflamacijom uzrokovanu vaskularnu disfunkciju, a igra i važnu ulogu u regulaciji trofoblasta (176). Poznato je da je produkcija IL-10 smanjena u placentalnom tkivu kod pacijentkinja sa PE (177). Na osnovu svega navedenog dovodi se u pitanje koliki je uticaj interleukina 10 u patogenezi PE.

U našoj studiji je pokazano da ne postoji značajna povezanost između IL-10 i PE. Naime, šansa da dođe do PE je malo veća ukoliko se radi o GA genotipu u odnosu na GG, ali je manja ukoliko se radi o AA genotipu (Tabela 45). Međutim, bitno je napomenuti da je ograničenje naše studije u tome što ima mali broj pacijentkinja sa AA genotipom, samo pet, od kojih su dve sa PE. Kada analiziramo uticaj genotipa na nastanak teške PE i PE bez teških karakteristika, takođe dobijamo kontradiktorne rezultate, što sve može biti posledica već pomenutog malog uzorka, ali i odsustva povezanosti IL-10 sa PE (Tabela 47 i 49).

Alelski model ne pokazuje nikakvu povezanost IL-10 sa PE, bilo da se radi o autozomno dominantnom, bilo da se radi o autozomno recesivnom modelu.

Nekoliko studija se bavilo povezanošću interleukina 10 i PE, ali dobijeni rezultati su dosta kontradiktorni (Tabela 50). Haggerty i saradnici nisu našli značajnu povezanost IL-10 i rizika od nastanka PE (146). Velika meta-analiza Lee i saradnika

ustanovila je na uzorku od 3500 pacijentkinja da ne postoji povezanost između IL-10 i PE (164). Ista studija je ustanovila jedino povezanost u stratumu žena iz Irana, ali ne i u Evropskoj populaciji. U istoj meta-analizi ponovljena je analiza samo sa studijama u kojima je kontrolna grupa imala distribuciju genotipova u HWE, ali ni to nije dalo pozitivan rezultat kada je u pitanju povezanost IL-10 i PE.

Kao siže svih rezultata, kreirani su multivarijantni regresioni modeli sa PE kao ishodnom varijablom i značajnim prediktorima u univarijantnim analizama kao nezavisnim varijablama (Tabele 85-87). Rezultati multivarijantnih analiza ukazuju da je COMT i IL-1 α značajni prediktori nastanka PE, kada se izvrši prilagođavanje za starost i ITM. Modelovanjem je, takođe pokazano da IL-10 i TNF α nemaju značajnu povezanost sa PE, bilo da se radi o univarijantnim modelima, bilo da se radi o modelima korigovanim za starost i ITM.

Na osnovu svih dobijenih rezultata, evidentno je da su COMT i IL-1 α povezani sa PE, dok je veza IL-10 i TNF α diskutablina, kako u našoj, tako i u drugim studijama.

6. ZAKLJUČAK

Preeklampsija predstavlja kompleksno multifaktorsko oboljenje gde pojedinačni faktori nemaju tako veliki uticaj kao što imaju zajedno, odnosno njihov sinergički efekat dovodi do pojave ovog oboljenja. Mehanizam razvoja bolesti nije u potpunosti poznat, a s tim u vezi ova studija ima za cilj da ispita genetsku osnovu ove bolesti.

Na osnovu rezultata naše studije zaključili smo sledeće:

U genotipskom modelu kao ključni polimorfizmi gena koji se mogu dovesti u asocijaciju sa ranom PE su COMT 472 G>A i IL-1 α 4845 G>T. Homozigot za COMT gen povezan je sa smanjenim rizikom razvoja PE, dok su i homozigot i heterozigot za IL-1 α pokazali značajnu vezu sa razvojem rane PE u smislu manjeg rizika. Heterozigot za IL-1 α jedini je polimorfizam od ispitivanih gena koji pokazuje povezanost sa teškim oblikom PE i sa PE sa manjom telesnom masom za gestacijski uzrast.

Povezanost IL-10 i TNF α i nastanka rane PE i njenih komplikacija nije dokazana ovom studijom.

U alelskom modelu povezanost sa rizikom razvoja rane PE pokazuju aleli COMT 472 G>A i IL-1 α 4845 G>T gena. Kod COMT gena, prisutvo Met alela je povezanost sa smanjenim rizikom razvoja rane PE i rane PE sa manjom telesnom masom za gestacijski uzrast. U alelskom dominantnom modelu nije pokazana značajna povezanost COMT gena sa ranom PE i njenim komplikacijama, dok je u alelskom recesivnom modelu Met-Met genotip je povezan sa smanjenim rizikom razvoja rane PE, teškog oblika rane PE i rane PE sa manjom telesnom masom za gestacijski uzrast. Kod IL-1 α gena, prisustvo T alela je povezano sa smanjenim rizikom razvoja rane PE, teškog oblika rane PE i rane PE sa manjom telesnom masom za gestacijski uzrast. Oba alelska modela, dominantni i recesivni, su pokazali povezanost sa rizikom razvoja rane PE, teškog oblika rane PE i rane PE sa manjom telesnom masom za gestacijski uzrast.

Tačkaste genetičke varijante koje su pokazale statistički značajnu asocijaciju sa rizikom razvoja PE i njenih komplikacija su COMT 472 G>A i IL-1 α 4845 G>T geni.

Nije uočena interakcija između polimorfizama ova dva gena, odnosno njihov sinergistički ili antagonistički efekat na rizik razvoja rane PE i njenih komplikacija. Međutim, uočena je interakcija između polimorfizama COMT 472 G>A i IL-10 -1082 A>G gena, kao i COMT 472 G>A i TNF- α -857 T>T.

7. L I T E R A T U R A

1. Steegers EAP, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet* (London, England). 2010;376(9741):631–44.
2. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2013 ;122(5):1122–31.
3. Thangaratinam S, Coomarasamy A, O'Mahony F, Sharp S, Zamora J, Khan KS, et al. Estimation of proteinuria as a predictor of complications of pre-eclampsia: a systematic review. *BMC Med.* 2009;7:10.
4. von Dadelszen P, Payne B, Li J, Ansermino JM, Broughton Pipkin F, Cote A-M, et al. Prediction of adverse maternal outcomes in pre-eclampsia: development and validation of the fullPIERS model. *Lancet.* 2011;377(9761):219–27.
5. Keiser SD, Boyd KW, Rehberg JF, Elkins S, Owens MY, Sunesara I, et al. A high LDH to AST ratio helps to differentiate pregnancy-associated thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) from HELLP syndrome. *J Matern {&} neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2012;25(7):1059–63.
6. Altman D, Carroli G, Duley L, Farrell B, Moodley J, Neilson J, et al. Do women with pre-eclampsia, and their babies, benefit from magnesium sulphate? The Magpie Trial: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* (London, England). England; 2002;359(9321):1877–90.
7. Fisher KA, Luger A, Spargo BH, Lindheimer MD. Hypertension in pregnancy: clinical-pathological correlations and remote prognosis. *Medicine* (Baltimore). 1981;60(4):267–76.
8. Buchbinder A, Sibai BM, Caritis S, Macpherson C, Hauth J, Lindheimer MD, et al. Adverse perinatal outcomes are significantly higher in severe gestational hypertension than in mild preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;186(1):66–71.

9. Williams D. Long-term complications of preeclampsia. *Semin Nephrol.* 2011;31(1):111–22.
10. Lisonkova S, Joseph KS. Incidence of preeclampsia: risk factors and outcomes associated with early- versus late-onset disease. *Am J Obstet Gynecol.* United States; 2013;209(6):544.e1–544.e12.
11. Abalos E, Cuesta C, Carroli G, Qureshi Z, Widmer M, Vogel JP, et al. Preeclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG.* 2014;121 Suppl :14–24.
12. Vrijkotte TGM, Krukziener N, Hutten BA, Vollebregt KC, van Eijsden M, Twickler MB. Maternal lipid profile during early pregnancy and pregnancy complications and outcomes: the ABCD study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(11):3917–25.
13. Schneider S, Freerksen N, Rohrig S, Hoefl B, Maul H. Gestational diabetes and preeclampsia--similar risk factor profiles? *Early Hum Dev.* 2012;88(3):179–84.
14. Breathett K, Muhlestein D, Foraker R, Gulati M. Differences in preeclampsia rates between African American and Caucasian women: trends from the National Hospital Discharge Survey. *J Womens Health (Larchmt).* United States; 2014;23(11):886–93.
15. Tuffnell, DJ, Jankowicz, D, Lindow, SW, Lyons, G, Mason GC, Russell IF, Walker JJ. Outcomes of severe pre-eclampsia/eclampsia in Yorkshire 1999/2003. *BJOG* 2005; 112:875-80.
16. Cousens S, Blencowe H, Stanton C, Chou D, Ahmed S, Steinhardt L, et al. National, regional, and worldwide estimates of stillbirth rates in 2009 with trends since 1995: a systematic analysis. *Lancet (London, England).* 2011;377(9774):1319–30.
17. Srinivas SK, Edlow AG, Neff PM, Sammel MD, Andrela CM, Elovitz MA. Rethinking IUGR in preeclampsia: dependent or independent of maternal hypertension? *J Perinatol.* 2009;29(10):680–4.
18. Broekhuijsen K, van Baaren G-J, van Pampus MG, Ganzevoort W, Sikkema JM,

- Woiski MD, et al. Immediate delivery versus expectant monitoring for hypertensive disorders of pregnancy between 34 and 37 weeks of gestation (HYPITAT-II): an open-label, randomised controlled trial. *Lancet* (London, England). 2015;385(9986):2492–501.
19. Vogel JP, Souza JP, Mori R, Morisaki N, Lumbiganon P, Laopaiboon M, et al. Maternal complications and perinatal mortality: findings of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG*. 2014;121 Suppl :76–88.
 20. van der Tuuk K, Koopmans CM, Groen H, Mol BW, van Pampus MG. Impact of the HYPITAT trial on doctors' behaviour and prevalence of eclampsia in the Netherlands. *BJOG*. 2011;118(13):1658–60.
 21. Lam C, Lim K-H, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension*. 2005;46(5):1077–85.
 22. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;179(5):1359–75.
 23. Endresen MJ, Tosti E, Heimli H, Lorentzen B, Henriksen T. Effects of free fatty acids found increased in women who develop pre-eclampsia on the ability of endothelial cells to produce prostacyclin, cGMP and inhibit platelet aggregation. *Scand J Clin Lab Invest*. 1994;54(7):549–57.
 24. Shorter SC, Starkey PM, Ferry BL, Clover LM, Sargent IL, Redman CW. Antigenic heterogeneity of human cytotrophoblast and evidence for the transient expression of MHC class I antigens distinct from HLA-G. *Placenta*. 1993;14(5):571–82.
 25. van der Ven K, Ober C. HLA-G polymorphisms in African Americans. *J Immunol*. 1994;153(12):5628–33.
 26. Jurisicova A, Casper RF, MacLusky NJ, Mills GB, Librach CL. HLA-G expression during preimplantation human embryo development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(1):161–5.
 27. Sargent IL. Maternal and fetal immune responses during pregnancy. *Exp Clin*

- Immunogenet. 1993;10(2):85–102.
28. Wegmann TG. Maternal T cells promote placental growth and prevent spontaneous abortion. *Immunol Lett.* 1988;17(4):297–302.
 29. Clark DA. Cytokines, decidua, and early pregnancy. *Oxf Rev Reprod Biol.* 1993;15:83–111.
 30. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev.* 1995;16(1):3–34.
 31. de Groot CJ, O'Brien TJ, Taylor RN. Biochemical evidence of impaired trophoblastic invasion of decidual stroma in women destined to have preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175(1):24–9.
 32. Robillard PY, Hulsey TC, Alexander GR, Keenan A, de Caunes F, Papiernik E. Paternity patterns and risk of preeclampsia in the last pregnancy in multiparae. *J Reprod Immunol.* 1993;24(1):1–12.
 33. Bardeguet AD, McNerney R, Frieri M, Verma UL, Tejani N. Cellular immunity in preeclampsia: alterations in T-lymphocyte subpopulations during early pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1991;77(6):859–62.
 34. Rappaport VJ, Hirata G, Yap HK, Jordan SC. Anti-vascular endothelial cell antibodies in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;162(1):138–46.
 35. Labarrere CA. Acute atherosclerosis. A histopathological hallmark of immune aggression? *Placenta.* 1988;9(1):95–108.
 36. Hubel CA, Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rogers GM, McLaughlin MK. Lipid peroxidation in pregnancy: new perspectives on preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161(4):1025–34.
 37. Mohanty S, Sahu PK, Mandal MK, Mohapatra PC, Panda A. Evaluation of oxidative stress in pregnancy induced hypertension. *Indian J Clin Biochem* [Internet]. New Delhi: Springer India; 2006;21(1):101–5.
 38. Wang YP, Walsh SW, Guo JD, Zhang JY. Maternal levels of prostacyclin, thromboxane, vitamin E, and lipid peroxides throughout normal pregnancy. *Am J*

- Obstet Gynecol. 1991;165(6 Pt 1):1690–4.
39. Zeeman GG, Dekker GA, van Geijn HP, Kraayenbrink AA. Endothelial function in normal and pre-eclamptic pregnancy: a hypothesis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1992;43(2):113–22.
 40. Conrad KP, Benyo DF. Placental cytokines and the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 1997;37(3):240–9.
 41. Ahmed A. New insights into the etiology of preeclampsia: identification of key elusive factors for the vascular complications. *Thromb Res.* 2011;127 Suppl :S72–5.
 42. Burton GJ, Woods AW, Jauniaux E, Kingdom JCP. Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta.* 2009;30(6):473–82.
 43. Ayuk PT-Y, Matijevic R. Placental ischaemia is a consequence rather than a cause of pre-eclampsia. *Med Hypotheses.* 2006;67(4):792–5.
 44. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180(2 Pt 1):499–506.
 45. Greer IA, Dawes J, Johnston TA, Calder AA. Neutrophil activation is confined to the maternal circulation in pregnancy-induced hypertension. *Obstet Gynecol.* 1991;78(1):28–32.
 46. Lynch AM, Murphy JR, Gibbs RS, Levine RJ, Giclas PC, Salmon JE, et al. The interrelationship of complement-activation fragments and angiogenesis-related factors in early pregnancy and their association with pre-eclampsia. *BJOG.* 2010;117(4):456–62.
 47. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today.* 1993;14(7):353–6.
 48. Saito S, Sakai M, Sasaki Y, Tanebe K, Tsuda H, Michimata T. Quantitative

- analysis of peripheral blood Th0, Th1, Th2 and the Th1:Th2 cell ratio during normal human pregnancy and preeclampsia. *Clin Exp Immunol*. 1999;117(3):550–5.
49. Orange S, Horvath J, Hennessy A. Preeclampsia is associated with a reduced interleukin-10 production from peripheral blood mononuclear cells. *Hypertens pregnancy*. 2003;22(1):1–8.
 50. Holthe MR, Staff AC, Berge LN, Lyberg T. Leukocyte adhesion molecules and reactive oxygen species in preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2004;103(5 Pt 1):913–22.
 51. Szarka A, Rigo JJ, Lazar L, Beko G, Molvarec A. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC Immunol*. 2010;11:59.
 52. Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med*. 1965;58:295–300.
 53. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med*. 2006;355(10):992–1005.
 54. Romero R, Nien JK, Espinoza J, Todem D, Fu W, Chung H, et al. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for. *J Matern {&} neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2008;21(1):9–23.
 55. Leanos-Miranda A, Campos-Galicia I, Ramirez-Valenzuela KL, Chinolla-Arellano ZL, Isordia-Salas I. Circulating angiogenic factors and urinary prolactin as predictors of adverse outcomes in women with preeclampsia. *Hypertension*. 2013;61(5):1118–25.
 56. Thadhani R, Kisner T, Hagmann H, Bossung V, Noack S, Schaarschmidt W, et al. Pilot study of extracorporeal removal of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia. *Circulation*. 2011;124(8):940–50.

57. Ramma W, Ahmed A. Is inflammation the cause of pre-eclampsia? *Biochem Soc Trans.* 2011;39(6):1619–27.
58. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ.* 2005;330(7491):565.
59. Sepulveda W, Shennan AH, Bower S, Nicolaidis P, Fisk NM. True knot of the umbilical cord: a difficult prenatal ultrasonographic diagnosis. *Ultrasound Obstet & Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995;5(2):106–8.
60. Gembruch U, Baschat AA. True knot of the umbilical cord: transient constrictive effect to umbilical venous blood flow demonstrated by Doppler sonography. *Ultrasound Obstet & Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 1996;8(1):53–6.
61. Tennstedt C, Chaoui R, Bollmann R, Dietel M. Angiomyxoma of the umbilical cord in one twin with cystic degeneration of Wharton’s jelly. A case report. *Pathol Res Pract.* 1998;194(1):55–8.
62. Sepulveda W, Flack NJ, Bower S, Fisk NM. The value of color Doppler ultrasound in the prenatal diagnosis of hypoplastic umbilical artery. *Ultrasound Obstet & Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 1994;4(2):143–6.
63. Persutte WH, Hobbins J. Single umbilical artery: a clinical enigma in modern prenatal diagnosis. *Ultrasound Obstet & Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995;6(3):216–29.
64. Heling KS, Chaoui R, Bollmann R. Prenatal diagnosis of an aneurysm of the vein of Galen with three-dimensional color power angiography. *Ultrasound Obstet & Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000;15(4):333–6.
65. Campbell S, Diaz-Recasens J, Griffin DR, Cohen-Overbeek TE, Pearce JM, Willson K, et al. New doppler technique for assessing uteroplacental blood flow. *Lancet (London, England).* 1983;1(8326 Pt 1):675–7.
66. Papageorgiou AT, Yu CKH, Nicolaidis KH. The role of uterine artery Doppler in predicting adverse pregnancy outcome. *Best Pract & Res Clin Obstet & Gynaecol.* 2004;18(3):383–96.

67. Papageorgiou AT, Yu CK, Bindra R, Pandis G, Nicolaides KH. Multicenter screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by transvaginal uterine artery Doppler at 23 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* England; 2001;18(5):441–9.
68. Yu CKH, Smith GCS, Papageorgiou AT, Cacho AM, Nicolaides KH. An integrated model for the prediction of pre-eclampsia using maternal factors and uterine artery Doppler velocimetry in unselected low-risk women. *American journal of obstetrics and gynecology.* 2006. p. 330.
69. Khong SL, Kane SC, Brennecke SP, da Silva Costa F. First-trimester uterine artery Doppler analysis in the prediction of later pregnancy complications. *Dis Markers.* 2015;2015:679730.
70. Kane SC, Costa F da S, Brennecke S. First trimester biomarkers in the prediction of later pregnancy complications. *Biomed Res Int.* 2014;2014:807196.
71. Damsky CH, Fisher SJ. Trophoblast pseudo-vasculogenesis: faking it with endothelial adhesion receptors. *Curr Opin Cell Biol.* 1998;10(5):660–6.
72. Hunkapiller NM, Gasperowicz M, Kapidzic M, Plaks V, Maltepe E, Kitajewski J, et al. A role for Notch signaling in trophoblast endovascular invasion and in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Development.* 2011;138(14):2987–98.
73. Colucci F, Boulenouar S, Kieckbusch J, Moffett A. How does variability of immune system genes affect placentation? *Placenta.* 2011;32(8):539–45.
74. Gilbert JS, Ryan MJ, LaMarca BB, Sedeek M, Murphy SR, Granger JP. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;294(2):H541–50.
75. Wang A, Rana S, Karumanchi SA. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology (Bethesda).* 2009;24:147–58.
76. Mutter WP, Karumanchi SA. Molecular mechanisms of preeclampsia. *Microvasc Res.* 2008;75(1):1–8.
77. Zhang J, Klebanoff MA, Roberts JM. Prediction of adverse outcomes by

- common definitions of hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2001;97(2):261–7.
78. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H, et al. The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206(1):58.e1–8.
79. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, et al. An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(2):161.e1–161.e11.
80. Chappell LC, Duckworth S, Seed PT, Griffin M, Myers J, Mackillop L, et al. Diagnostic accuracy of placental growth factor in women with suspected preeclampsia: a prospective multicenter study. *Circulation.* 2013;128(19):2121–31.
81. Askie LM, Duley L, Henderson-Smart DJ, Stewart LA. Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet (London, England).* 2007;369(9575):1791–8.
82. Hofmeyr GJ, Duley L, Atallah A. Dietary calcium supplementation for prevention of pre-eclampsia and related problems: a systematic review and commentary. *BJOG.* 2007;114(8):933–43.
83. Burger O, Pick E, Zwickel J, Klayman M, Meiri H, Slotky R, et al. Placental protein 13 (PP-13): effects on cultured trophoblasts, and its detection in human body fluids in normal and pathological pregnancies. *Placenta.* 2004;25(7):608–22.
84. Than NG, Pick E, Bellyei S, Szigeti A, Burger O, Berente Z, et al. Functional analyses of placental protein 13/galectin-13. *Eur J Biochem.* 2004;271(6):1065–78.
85. Nicolaides KH, Bindra R, Turan OM, Chefetz I, Sammar M, Meiri H, et al. A novel approach to first-trimester screening for early pre-eclampsia combining serum PP-13 and Doppler ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006;27(1):13–7.

86. Spencer K, Cowans NJ, Chefetz I, Tal J, Meiri H. First-trimester maternal serum PP-13, PAPP-A and second-trimester uterine artery Doppler pulsatility index as markers of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29(2):128–34.
87. Wortelboer EJ, Koster MPH, Cuckle HS, Stoutenbeek PH, Schielen PCJI, Visser GHA. First-trimester placental protein 13 and placental growth factor: markers for identification of women destined to develop early-onset pre-eclampsia. *BJOG.* 2010;117(11):1384–9.
88. Meher S, Duley L. Rest during pregnancy for preventing pre-eclampsia and its complications in women with normal blood pressure. *Cochrane database Syst Rev.* 2006;(2):CD005939.
89. Meher S, Abalos E, Carroli G. Bed rest with or without hospitalisation for hypertension during pregnancy. *Cochrane database Syst Rev.* 2005;(4):CD003514.
90. Duley L, Henderson-Smart D, Meher S. Altered dietary salt for preventing pre-eclampsia, and its complications. *Cochrane database Syst Rev.* 2005;(4):CD005548.
91. Hofmeyr GJ, Lawrie TA, Atallah AN, Duley L, Torloni MR. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. *Cochrane database Syst Rev.* 2014;6:CD001059.
92. De-Regil LM, Palacios C, Lombardo LK, Pena-Rosas JP. Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane database Syst Rev.* 2016;1:CD008873.
93. Rumbold A, Duley L, Crowther CA, Haslam RR. Antioxidants for preventing pre-eclampsia. *Cochrane database Syst Rev.* 2008;(1):CD004227.
94. Duley L, Henderson-Smart DJ, Meher S, King JF. Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane database Syst Rev.* 2007;(2):CD004659.
95. Sibai BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2003;102(1):181–92.

96. Barton JR, O'Brien JM, Bergauer NK, Jacques DL, Sibai BM. Mild gestational hypertension remote from term: progression and outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;184(5):979–83.
97. Magee LA, Duley L. Oral beta-blockers for mild to moderate hypertension during pregnancy. *Cochrane database Syst Rev.* 2003;(3):CD002863.
98. Dowse R, Ehlers MS. The evaluation of pharmaceutical pictograms in a low-literate South African population. *Patient Educ Couns.* 2001;45(2):87–99.
99. Pijnenborg R, Vercruyssen L, Hanssens M. Fetal-maternal conflict, trophoblast invasion, preeclampsia, and the red queen. *Hypertens pregnancy.* 2008;27(2):183–96.
100. George EM, Granger JP. Endothelin: key mediator of hypertension in preeclampsia. *Am J Hypertens.* 2011;24(9):964–9.
101. Bainbridge SA, Smith GN. HO in pregnancy. *Free Radic Biol {&} Med.* 2005;38(8):979–88.
102. Wikstrom A-K, Stephansson O, Cnattingius S. Tobacco use during pregnancy and preeclampsia risk: effects of cigarette smoking and snuff. *Hypertension.* 2010;55(5):1254–9.
103. Hung T-H, Burton GJ. Hypoxia and reoxygenation: a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia. *Taiwan J Obstet {&} Gynecol.* 2006;45(3):189–200.
104. Thaete LG, Khan S, Synowiec S, Dayton BD, Bauch J, Neerhof MG. Endothelin receptor antagonist has limited access to the fetal compartment during chronic maternal administration late in pregnancy. *Life Sci.* 2012;91(13-14):583–6.
105. Duley L, Gulmezoglu AM, Henderson-Smart DJ, Chou D. Magnesium sulphate and other anticonvulsants for women with pre-eclampsia. *Cochrane database Syst Rev.* 2010;(11):CD000025.
106. Poon LCY, Kametas NA, Maiz N, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. *Hypertension.* 2009;53(5):812–8.

107. Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2004;104(6):1367–91.
108. Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999;222(3):222–35.
109. Regan CL, Levine RJ, Baird DD, Ewell MG, Martz KL, Sibai BM, et al. No evidence for lipid peroxidation in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185(3):572–8.
110. Chappell LC, Seed PT, Briley AL, Kelly FJ, Lee R, Hunt BJ, et al. Effect of antioxidants on the occurrence of pre-eclampsia in women at increased risk: a randomised trial. *Lancet (London, England).* 1999;354(9181):810–6.
111. Caritis S, Sibai B, Hauth J, Lindheimer MD, Klebanoff M, Thom E, et al. Low-dose aspirin to prevent preeclampsia in women at high risk. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *N Engl J Med.* 1998;338(11):701–5.
112. Sibai BM, Caritis SN, Thom E, Klebanoff M, McNellis D, Rocco L, et al. Prevention of preeclampsia with low-dose aspirin in healthy, nulliparous pregnant women. The National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *N Engl J Med.* 1993;329(17):1213–8.
113. Graves JA. Genomic imprinting, development and disease--is pre-eclampsia caused by a maternally imprinted gene? *Reprod Fertil Dev.* 1998;10(1):23–9.
114. Dekker G, Robillard PY, Roberts C. The etiology of preeclampsia: the role of the father. *J Reprod Immunol.* 2011;89(2):126–32.
115. Goddard KAB, Tromp G, Romero R, Olson JM, Lu Q, Xu Z, et al. Candidate-gene association study of mothers with pre-eclampsia, and their infants, analyzing 775 SNPs in 190 genes. *Hum Hered.* 2007;63(1):1–16.
116. Trogstad L, Skrondal A, Stoltenberg C, Magnus P, Nesheim B-I, Eskild A. Recurrence risk of preeclampsia in twin and singleton pregnancies. *Am J Med*

- Genet A. 2004;126A(1):41–5.
117. Alkema L, New JR, Pedersen J, You D, Bastian P, Wu J, et al. Child mortality estimation 2013: An overview of updates in estimation methods by the United Nations Inter-Agency Group for Child Mortality Estimation. PLoS ONE. 2014.
 118. Kajantie E, Eriksson JG, Osmond C, Thornburg K, Barker DJP. Pre-eclampsia is associated with increased risk of stroke in the adult offspring: the Helsinki birth cohort study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2009. p. 1176–80.
 119. Abalos E, Cuesta C, Carroli G, Qureshi Z, Widmer M, Vogel JP, et al. Pre-eclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG*. 2014;121 Suppl :14–24.
 120. National Collaborating Centre for W, Children’s H. National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance. Hypertension in Pregnancy: The Management of Hypertensive Disorders During Pregnancy. 2010. p. 1194.
 121. Raymond D, Peterson E. A Critical Review of Early-Onset and Late-Onset Preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv*. 2011;66(8):497–506.
 122. Ødegård RA, Vatten LJ, Nilsen ST, Salvesen KÅ, Austgulen R. Preeclampsia and fetal growth. *Obstet Gynecol*. 2000;96(6):950–5.
 123. Berg D, Sonsalla R, Kuss E. Concentrations of 2-methoxyoestrogens in human serum measured by a heterologous immunoassay with an 125I-labelled ligand. *Eur J Endocrinol*. 1983;103(2):282–8.
 124. Lee J, Giordano S, Zhang J. Autophagy, mitochondria and oxidative stress: cross-talk and redox signalling. *Biochem J*. 2012;441(2):523–40.
 125. Wu F, Tian FJ, Lin Y. Oxidative stress in placenta: Health and diseases. *Biomed Res Int*. 2015;2015.
 126. Vince GS, Starkey PM, Austgulen R, Kwiatkowski D, Redman CW. Interleukin-6, tumour necrosis factor and soluble tumour necrosis factor receptors in women with pre-eclampsia. *Br J Obs Gynaecol*. 1995;102(1):20–5.

127. Cackovic M, Buhimschi CS, Zhao G, Funai EF, Norwitz ER, Kuczynski E, et al. Fractional excretion of tumor necrosis factor-alpha in women with severe preeclampsia. *Obs Gynecol.* 2008;112(1):93–100.
128. Wang W, Irani RA, Zhang Y, Ramin SM, Blackwell SC, Tao L, et al. Autoantibody-mediated complement c3a receptor activation contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Hypertension.* 2012;60(3):712–21.
129. Ahmad S, Ahmed A. Elevated placental soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 inhibits angiogenesis in preeclampsia. *Circ Res.* 2004;95(9):884–91.
130. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med.* 2004;350(7):672–83.
131. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med.* 2006;12(6):642–9.
132. Borzychowski AM, Sargent IL RC. Inflammation and pre-eclampsia. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2006;11:309–16.
133. Ramma W, Buhimschi IA, Zhao G, Dulay AT, Nayeri UA, Buhimschi CS AA. The elevation in circulating anti-angiogenic factors is independent of markers of neutrophil activation in preeclampsia. *Angiogenesis.* 2012;15:333–4.
134. Roberts JM, Hubel CA. The Two Stage Model of Preeclampsia: Variations on the Theme. *Placenta.* 2009;30(SUPPL.):32–7.
135. Valenzuela FJ, Pérez-Sepúlveda A, Torres MJ, Correa P, Repetto GM, Illanes SE. Pathogenesis of preeclampsia: The genetic component. *Journal of Pregnancy.* 2012.
136. Williams PJ, Morgan L. The role of genetics in pre-eclampsia and potential pharmacogenomic interventions. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine.* 2012. p. 37–51.
137. Carreiras M, Montagnani S, Layrisse Z. Preeclampsia: a multifactorial disease

- resulting from the interaction of the fetomaternal HLA genotype and HCMV infection. *Am J Reprod Immunol*. 2002;48(3):176–83.
138. Mütze S, Rudnik-Schöneborn S, Zerres K, Rath W. Genes and the preeclampsia syndrome. *Journal of Perinatal Medicine*. 2008. p. 38–58.
 139. Salonen Ros H, Lichtenstein P, Lipworth L CS. Genetic effects on the liability of developing pre-eclampsia and gestational hypertension. *Am J Med Genet*. 2000;91:256–60.
 140. Haram K, Mortensen JH, Nagy B. Genetic aspects of preeclampsia and the hellp syndrome. *Journal of Pregnancy*. 2014.
 141. Pawelec M, Karmowski A, Karmowski M, Krzemieniewska J, Kulczycka A, Gabryś MS, et al. Inability to have children caused by recurrent HELLP syndrome in early pregnancies - Implications for a review of literature. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2013. p. 753–8.
 142. Miha D, Costin N, Miha CM, Seicean A, Ciortea R. HELLP syndrome - A multisystemic disorder. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*. 2007. p. 419–24.
 143. Sibai BM, Ramadan MK. Acute renal failure in pregnancies complicated by hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets. *Am J Obstet Gynecol*. 1993;168(6 PART 1):1682–90.
 144. Audibert F, Friedman S a, Frangieh a Y, Sibai BM. Clinical utility of strict diagnostic criteria for the HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;175:460–4.
 145. Martin J.N. J, Rinehart BK, May WL, Magann EF, Terrone DA, Blake PG, et al. The spectrum of severe preeclampsia: Comparative analysis by HELLP (hemolysis, elevated liver enzyme levels, and low platelet count) syndrome classification. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1999. p. 1373–84.
 146. Haggerty CL, Ferrell RE, Hubel CA, Markovic N, Harger G, Ness RB. Association between allelic variants in cytokine genes and preeclampsia. *Am J*

- Obstet Gynecol. 2005;193(1):209–15.
147. Liang S, Liu X, Fan P, Liu R, Zhang J, He G, et al. Association Between Val158Met Functional Polymorphism in the COMT Gene and Risk of Preeclampsia in a Chinese Population. *Arch Med Res*. 2012;43(2):154–8.
 148. Hill LD, York TP, Kusanovic JP, Gomez R, Eaves LJ, Romero R, et al. Epistasis between COMT and MTHFR in maternal-fetal dyads increases risk for preeclampsia. *PLoS One*. 2011;6(1).
 149. Hartl DL. *A Primer of Population Genetics*. Sunderland, Massachusetts USA Sinauer Assoc Inc. 2000;26–31.
 150. Kanasaki K, Palmsten K, Sugimoto H, Ahmad S, Hamano Y, Xie L, et al. Deficiency in catechol-O-methyltransferase and 2-methoxyoestradiol is associated with pre-eclampsia. *Nature*. 2008;453(7198):1117–21.
 151. Zhu BT, Wu KY, Wang P, Cai MX, Conney AH. O-methylation of catechol estrogens by human placental catechol-o-methyltransferase: interindividual differences in sensitivity to heat inactivation and to inhibition by dietary polyphenols. *Drug Metab Dispos*. 2010;38(10):1892–9.
 152. Zhu BT. Catechol-O-Methyltransferase (COMT)-mediated methylation metabolism of endogenous bioactive catechols and modulation by endobiotics and xenobiotics: importance in pathophysiology and pathogenesis. *Curr Drug Metab*. 2002;3(3):321–49.
 153. Barnea ER, MacLusky NJ, DeCherney AH, Naftolin F. Catechol-o-methyl transferase activity in the human term placenta. *Am J Perinatol*. 1988;5(2):121–7.
 154. Lim JH, Kim SY, Kim do J, Park SY, Han HW, Han JY, et al. Genetic polymorphism of catechol-O-methyltransferase and cytochrome P450c17alpha in preeclampsia. *Pharmacogenet Genomics*. 2010;20(10):605–10.
 155. Roten LT, Fenstad MH, Forsmo S, Johnson MP, Moses EK, Austgulen R, et al. A low COMT activity haplotype is associated with recurrent preeclampsia in a Norwegian population cohort (HUNT2). *Mol Hum Reprod*. 2011;17(7):439–46.
 156. Wang X, Zuckerman B, Pearson C, Kaufman G, Chen C, Wang G, et al.

- Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight. *JAMA*. 2002;287(2):195–202.
157. Vaessen N, Janssen JA, Heutink P, Hofman A, Lamberts SWJ, Oostra BA, et al. Association between genetic variation in the gene for insulin-like growth factor-I and low birthweight. *Lancet*. 2002;359(9311):1036–7.
 158. Sata F, Yamada H, Suzuki K, Saijo Y, Yamada T, Minakami H, et al. Functional maternal catechol-O-methyltransferase polymorphism and fetal growth restriction. *Pharmacogenet Genomics*. 2006;16(11):775–81.
 159. Yager JD, Liehr JG. Molecular mechanisms of estrogen carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1996;36:203–32.
 160. Malins DC, Holmes EH, Polissar NL, Gunselman SJ. The etiology of breast cancer. Characteristic alteration in hydroxyl radical-induced DNA base lesions during oncogenesis with potential for evaluating incidence risk. *Cancer*. 1993;71:3036–43.
 161. Malins DC, Polissar NL, Gunselman SJ. Progression of human breast cancers to the metastatic state is linked to hydroxyl radical-induced DNA damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(6):2557–63.
 162. Scholl TO, Stein TP. Oxidant damage to DNA and pregnancy outcome. *J Matern Fetal Med*. 2001;10(3):182–5.
 163. Laroche M, Girouard J, Forest JC, Rousseau F GY. A polygenic model of susceptibility to preeclampsia: dose-effect of genes involved in the inflammatory process. *Universite Laval*; 2012.
 164. Lee YH, Kim JH, Song GG. Meta-analysis of associations between interleukin-10 polymorphisms and susceptibility to pre-eclampsia. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*. 2014. p. 202–7.
 165. Stylianou E, Saklatvala J. Interleukin-1. *Int J Biochem Cell Biol*. 1998;30(10):1075–9.
 166. Sharma A, Satyam A, Sharma JB. Leptin, IL-10 and inflammatory markers (TNF-alpha, IL-6 and IL-8) in pre-eclamptic, normotensive pregnant and healthy

- non-pregnant women. *Am J Reprod Immunol.* 2007;58(1):21–30.
167. Alexander BT, Cockrell KL, Massey MB, Bennett WA, Granger JP. Tumor necrosis factor-alpha-induced hypertension in pregnant rats results in decreased renal neuronal nitric oxide synthase expression. *Am J Hypertens.* 2002;15(2 Pt 1):170–5.
 168. Heiskanen J, Romppanen E-L, Hiltunen M, Iivonen S, Mannermaa A, Punnonen K, et al. Polymorphism in the tumor necrosis factor-alpha gene in women with preeclampsia. *J Assist Reprod Genet.* 2002;19(5):220–3.
 169. Yamashina M, Kaneko Y, Maesawa C, Kajiwara T, Ishii M, Fujiwara F, et al. Association of TNF-alpha gene promoter C-857T polymorphism with higher serum LDL cholesterol levels and carotid plaque formation in Japanese patients with type 2 diabetes. *Tohoku J Exp Med.* 2007;211(3):251–8.
 170. Kubaszek A, Pihlajamäki J, Komarovski V, Lindi V, Lindström J, Eriksson J, et al. Promoter polymorphisms of the TNF- α (G-308A) and IL-6 (C-174G) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: The Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes.* 2003;52(7):1872–6.
 171. Negoro K, Kinouchi Y, Hiwatashi N, Takahashi S, Takagi S, Satoh J, et al. Crohn's disease is associated with novel polymorphisms in the 5'-flanking region of the tumor necrosis factor gene. *Gastroenterology.* 1999;117(5):1062–8.
 172. Freeman DJ, McManus F, Brown EA, Cherry L, Norrie J, Ramsay JE, Clark P, Walker ID, Sattar N, Greer IA. Short- and long-term changes in plasma inflammatory markers associated with preeclampsia. *Hypertension.* 2004;44(5):708–14.
 173. Daher S, Sass N, Oliveira LG, Mattar R. Cytokine genotyping in preeclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 2006;55(2):130–5.
 174. Stonek F, Hafner E, Metzenbauer M, Katharina S, Stimpflen I, Schneeberger C, et al. Absence of an association of tumor necrosis factor (TNF)-alpha G308A, interleukin-6 (IL-6) G174C and interleukin-10 (IL-10) G1082A polymorphism in women with preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2008;77(1):85–90.

175. Moore KW, Malefyt RDW, Robert L, Garra AO. Interleukin 10 and the Interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol.* 2001;19:683–765.
176. Didion SP, Kinzenbaw DA, Schrader LI, Chu Y, Faraci FM. Endogenous interleukin-10 inhibits angiotensin II-induced vascular dysfunction. *Hypertension.* 2009;54(3):619–24.
177. Wilczyński JR, Tchórzewski H, Głowacka E, Banasik M, Lewkowicz P, Szpakowski M, et al. Cytokine secretion by decidual lymphocytes in transient hypertension of pregnancy and pre-eclampsia. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2002;11(2):105–11.

Biografija autora

Tijana Krnjeta je rođena u Beogradu, 06.06.1981. godine. Osnovnu školu je završila 1996. godine u Beogradu kao nosilac diplome "Vuk Karadžić", a 2000. godine je maturirala u IX beogradskoj gimnaziji (prirodno-matematički smer). Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2000/01. godine, diplomirala 2006. godine sa prosečnom ocenom 9,44 i proglašena za studenta generacije smera diplomirani farmaceut-medicinski biohemičar. Pripravnički staž završila je u okviru Centra za medicinsku biohemiju Kliničkog centra Srbije. Od juna 2007. godine do marta 2009. godine bila je zaposlena u firmi Makler d.o.o., kao stručni saradnik za oblast biohemije i imunohemije. Od marta 2009. godine do januara 2014. godine je bila zaposlena u kompaniji Adoc Diagnostika (Roche Diagnostics PO Serbia), kao koordinator Sektora za aplikacije. Od januara 2014.godine do februara 2016. godine bila je zaposlena u kompaniji Roche d.o.o. Beograd, poslovna jedinica Dijagnostika, kao Menadžer za medicinski marketing i podršku proizvodima. Od februara 2016. godine zaposlena je u centrali kompanije Roche Diagnostics International L.t.d. Switzerland, u odeljku Medical and Scientific Affairs kao internacionalni medicinski menadžer, gde je zadužena za kreiranje i vođenje globalne strategije kompanije u oblasti srčanih markera i markera sepse, koja obuhvata planiranje i vođenje studija, komunikaciju sa globalnim stručnjacima i planiranje globalne edukativne strategije za date oblasti. Na doktorske akademske studije – izborni modul medicinska biohemija na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, upisala se školske 2009/2010. godine. Član je Društva medicinskih biohemičara Srbije (DMBS).

Autor je dva rada u međunarodnim i nacionalnim časopisima, koji su objavljeni iz doktorske disertacije, i 12 saopštenja na međunarodnim i skupovima od nacionalnog značaja.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а ТИЈАНА КРЊЕТА

број индекса 19/09

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

"УТВРЂИВАЊЕ ПОВЕЗАНОСТИ ГЕНСКОГ ПОЛИМОРФИЗМА СОМТ,
TNF- α , TNFR1, IL-1 β И IL-10 СА РИЗИКОМ ПОЈАВЕ РАНЕ РЕРЕКАЛМИЦИЈЕ
И ЊЕНИХ КОМПЛИКАЦИЈА"

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

Потпис докторанда

У Београду, 31.05.2016.

Тјана Крјета

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора ТИЈАНА КРИЂЕТА
Број индекса 19/09
Студијски програм ДОКТОРСКЕ СТУДИЈЕ ИЗ МЕДИЦИНСКЕ БИОХЕМИЈЕ
Наслов рада „УТВРЂИВАЊЕ ДОВЕЗАНСТИ ГЕНСКОГ ПОЛИМОРФИЗМА СОП1, TNF- α , TNFR1, IL-1 β и IL-10 СА РИЗИКОМ ПОЈАВЕ РАКЕ ПРЕЕКЛАМПОМЕ У БЕЛНИХ КОПИЛКАЦИЈА
Ментор Проф. др СВЕТАНА ИЛИЋ-ТОШИЋ
Проф. др ЉИЉАНА МИРКОВИЋ
Потписани/а ТИЈАНА КРИЂЕТА

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

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

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

Потпис докторанда

У Београду, 31.05.2016.

Тјана Криђета

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

„УТВРЂИВАЊЕ ПОВЕЗАНОСТИ ГЕНСКОГ ПОЛИМОРФИЗМА $COMT$, $TNF-\alpha$, $TNFR1$, $IL-6$, $IL-10$ СА РИЗИКОМ ПОЈАВЕ РАДЕ ПРЕЕКЛОМПСИJE У ЊЕНИХ КОМПЛИКАЦИЈАМА

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

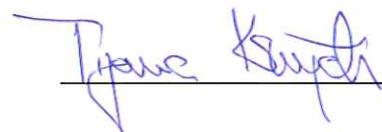
5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

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

Потпис докторанда

У Београду, 31.05.2016.



1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.