



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



Dr Ana G. Mrkaić

**ODNOS HEAT SHOCK PROTEINA I
MARKERA INFLAMACIJE MIOKARDA KOD
NEONATUSA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2017.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



Ana G. Mrkaic, MD

**THE CORRELATION BETWEEN HEAT
SHOCK PROTEINS
AND MARKERS OF MYOCARDIAL
INFLAMMATION IN NEONATES**

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2017.

**Подаци о докторској дисертацији**

Ментор:	Prof. dr Ivana Stojanović, Univerzitet u Nišu, Medicinski Fakultet
Наслов:	Odnos Heat Shock proteina i markera inflamacije miokarda kod neonatusa
Резиме:	<p>Srce neonatusa se remodeluje tokom prolaska neonatusa kroz porođajni kanal. Sa pretpostavkom da se srce neonatusa ne remodeluje na isti način u zdravim trudnoćama i onim koje su komplikovane preeklampsijom i gestacijskim dijabetesom, u umbilikalnoj krvi ELISA testovima su merene koncentracije troponina T i I, glikogen fosforilaze BB, Hsp 27 i Hsp 70, kao potencijalnih markera oštećenja miokarda. Dobijene koncentracije korelisane sa karakteristikama fetusa, neonatusa, trudnoće i porođaja. Hsp 70 je najsenzitivniji marker stresa fetusa u trudnoćama komplikovanim gestacijskim dijabetesom, a cTnI i GP-BB kod preeklampsijskih trudnoća. Sa povećanjem frekvence srca fetusa pred porođaj i stresa miokarda neonatusa usled kontrakcija, povećava se koncentracija Hsp 70 i GP- BB. Kod metaboličkih sindroma majke, stres fetusa se može registrovati višim koncentracijama cTnI, dok onaj koji potiče od visokih krvnih pritisaka majke, visokim GP-BB i cTnI. Novorođena deca koja su na rođenju imala veće koncentracije cTnI su duže ostajala u bolnici nakon rođenja, dok deca koja su na rođenju imala više koncentracije Hsp 27, imala su tendenciju da budu hospitalizovana u intenzivnoj nezi. Hsp 27, Hsp 70, GP-BB, TnT, TnI su senzitivni faktori stradanja tkiva fetusa u trudnoćama i porođajima komplikovanim gestacijskim dijabetesom i preeklampsijom.</p>
Научна област:	Pedijatrija
Научна дисциплина:	Neonatologija
Кључне речи:	Neonatus, Troponini, Glikogen fosforilaza, Hsp 27, Hsp 70, Miokard, Preeklampsija, Gestacijski Dijabetes
УДК:	577.1:616.12-053.13
CERIF класификација:	B660 Pedijatrija
Тип лиценце Креативне заједнице:	Одабрани тип лиценце. Нпр: CC BY-NC-ND



Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor:	Prof. Dr Ivana Stojanović, University of Nis, Medical Faculty
Title:	The correlation between heat shock proteins and markers of myocardial inflammation in neonates
Abstract:	<p>Neonatal heart remodeling occurs during delivery. With the hypothesis that this process does not occur in the same way in healthy pregnancies and those complicated with preeclampsia and gestational diabetes, in umbilical cord blood, using ELISA tests, troponin T and I, Glycogen Phosphorylase-BB, Hsp 27 and Hsp 70 concentrations were measured. The obtained concentrations were correlated with fetal and neonatal characteristics and pregnancy, labor and delivery characteristics. Hsp 70 is the most sensitive marker of fetal stress in pregnancies complicated with gestational diabetes, and cTnI and GP-BB in preeclamptic pregnancies. Hsp 70 and GP-BB concentrations increase with increased fetal heart rate during uterus contractions in labor. Fetal stress can be registered by high cTnI concentrations in maternal metabolic syndroms. Fetal stress as a consequence of maternal high blood pressure can be measured through high GP-BB and cTnI concentrations. Higher cTnI concentrations were found in neonates who had prolonged hospitalizations, while higher Hsp 27 concentrations were found in neonates who were hospitalized in neonatal intensive care unit. Hsp 27, Hsp 70, GP-BB, cTnT, cTnI are sensitive markers of the stress of fetal myocardium in pregnancies complicated by gestational diabetes and preeclampsia.</p>
Scientific Field:	Pediatrics
Scientific Discipline:	Neonatology
Key Words:	Neonate, Troponins, Glycogen Phosphorylase, Hsp 27, Hsp 70, Myocardium, Preeclampsia, Gestational Diabetes
UDC:	577.1:616.12-053.13
CERIF Classification:	B660 Pediatrics
Creative Commons License Type:	Selected License Type. For example: CC BY-NC-ND



Najveće bogatstvo ovog dela je što su mu na putu stajali dobri ljudi.

Beskrajnu zahvalnost dugujem

Svom mentoru Prof. Dr. Ivani Stojanović što je imala hrabrosti i snage da se izbori i podrži ovo delo u prelomnim trenucima. Moj dubok naklon njenoj požrtvovanosti, dobroti i jednom uzvišenom primeru prijateljstva. Mnogo hvala što se sa mnom nadala dobrom, i radovala uspesima i pokorenim poteškoćama. Mnogo hvala na svim savetima, smernicama, i znanjima koje je utkala u ovo delo tokom njegovog stvaranja.

Dr Baraku Rozenu, Direktor Maternal Fetal Medicine, Mount Sinai West Hospital, New York na tome što je udahnuo život u ovo istraživanje, dok je ono još bilo samo ideja, na tome što je dozvolio da se odigra na odeljenju Labor and Delivery, Mount Sinai west Hospital, New York i što ga je iskreno podržao u prelomnom trenucima. Moje beskrajno hvala na njegovoj podršci i na svim savetima kojima je pomogao ovo delo.

Članovima komisije Prof. Dr Ljiljana Pejčić, Prof. Dr Jasmini Popović, Prof. Dr Draganu Radovanoviću i Doc. Dr. Milošu Kostiću na iskrenoj i prijateljskoj podršci, i na toplim savetima kojim su oblikovali finalnu formu teze. Prof. Dr. Mirjani Radenković na celoživotnoj podršci i savetima prilikom izrade teze.

Osoblju bolnice Mount Sinai West Hospital, New York na ljubaznosti, na razumevanju i vremenu koje smo zajedno proveli tokom ovog istraživanja.

Beskrajno hvala mom prijatelju Dr Nenadu Milosaviću, Dr Samiru Tivariju i Dr Milanu Stojanoviću na svesrdnoj podršci i pomoći.

Prof. Dr. Borislavu Kamenovu što mi je otvorio vrata imunologije i saznanja o stvaranju i opstajanju tkiva, što je uneo u moje znanje medicine poseban nivo razumevanja pozadine procesa i otvorio sasvim novu dimenziju rezonovanja o bolestima.

Maji i Jovani Injac na sestrinskoj pomoći.

Svom ocu, Dr Gojku Mrkaiću, mojoj večitoj inspiraciji, što je postojao i prerastao u legendu o iskonskoj dobroti koja mi je davala snagu u teškim trenucima.

Svojoj majci, Dr Ljubinki Mrkaić, mom iskrenom saborcu.



Sadržaj

UVOD.....	13
PREGLED LITERATURE	14
1.1. Hipoksija	15
1.1.1. Pritisak kiseonika u fetusu	18
1.1.2. Kardiovaskularni sistem u hipoksiji.....	21
1.1.3. Hemoreceptori i baroreceptori	23
1.1.4. Hemoreceptori u toku rođenja	28
1.1.5. Neonatus u hipoksiji	29
1.1.6. Faktori koji dovode do hipoksemije fetusa	29
1.2. Preeklampsija	30
1.2.1. Patofiziologija preeklampsije.....	31
1.2.2. Faze preeklampsije.....	32
1.2.3. Dijabetes i preeklampsija.....	33
1.3. Gestacijski dijabetes melitus	34
1.3.1. Hipertenzija i GDM	36
1.3.2. Aerobni metabolizam.....	36
1.3.3. Anaerobni metabolizam	38
1.3.4. Anaerobna glikoliza	38
1.3.5. Glikogen kod fetusa i neonatusa	39
1.3.6. Glikogen fosforilaza BB	41
1.4. Fiziologija srca fetusa i neonatusa.....	42
1.4.1. Fiziologija srca fetusa	42



1.4. 2. Fiziologija srca neonatusa.....	43
1.5. Heat shock proteini (Hsp).....	46
1.5.1. Heat shock protein 27 (Hsp 27)	48
1.5.2. Mali Hsp i mišićno tkivo	49
1.5.3. Heat shock protien 70 (Hsp 70)	51
1.5.4. Heat shock protein 70 tokom intrauterinog razvoja.....	53
1.6. Troponini	55
1.6.1. Histološka građa srca	55
1.6.2. Funkcija i značaj troponina	55
2. RADNE HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	58
2.1. Radne hipoteze	59
2.2 Ciljevi istraživanja.....	60
3. ISPITANICI I METODE	61
3.1. Ispitanici	62
3.2. Metode.....	63
4. REZULTATI.....	66
4.1. Karakteristike trudnica iz kontrolnih i studijskih grupa.....	67
4.2. Parametri vitalnih znakova i krvna slika trudnica pre porođaja	70
4.3. Vitalni znaci trudnica poslednja tri sata pred porođaj	72
4.4. Karakteristike fetusa.....	73
4.5. Karakteristike porođaja	76
4.6. Gasovi arterijske i venske umbilikalne krvi novoronđenčadi	78
4.7. Karakteristike neonatusa	80
4.8. Koncentracije određivanih proteina	82
4.9. Korelacije koncentracija proteina sa karakteristikama trudnica.....	83



4.10. Korelacije koncentracija proteina sa vitalnim znacima trudnica na prijemu u bolnicu	84
4.11. Korelacije koncentracija proteina krvnom slikom	85
4.12. Korelacije koncentracija proteina sa vitalnim znacima trudnica u poslednja tri sata pred porođaj.....	85
4.13. Korelacija koncentracija proteina sa vrednostima glukoze u krvi u GDM eksperimentalnoj grupi	86
4.14. Korelacije koncentracija proteina sa srčanom akcijom fetusa na prijemu trudnice u bolnicu, i pred porođajem.....	87
4.15. Korelacije koncentracija određivanih proteina sa karakteristikama porođaja.....	88
4.16. Korelacije koncentracija proteina sa gasovima arterijske i venske umbilikalne krvi ..	91
4.17. Upoređivanje grupa ispitanica i neonatusa koji su imali koncentracije Hsp 27 i GP-BB veće od maksimalnih označenih u ELISA testovima	97
5. DISKUSIJA.....	104
5.1. Etnička pripadnost.....	105
5.2. Godine starosti.....	107
5.3. Paritet.....	108
5.4. Gojaznost i trudnoća.....	109
5.5. Metabolizam glukoze kod neonatusa	111
5.5.1. Glikogen fosforilaza BB - GP-BB	112
5.6. Značaj promena heat shock proteina (Hsp).....	120
5.6.1. Hsp 27	120
5.6.2. Vrednosti Hsp 27 kod trudnica obolelih od gestacijskog dijabetesa	121
5.6.3. Hsp 70	128
5.7. Troponini	131
5.8. Međusobni odnosi određivanih proteina i enzima u serumu umbilikalne krvi neonatusa	140
5.9. Karakteristike dece rođenih is komplikovanih i zdravih trudnoća tokom istraživanja	143



6. ZAKLJUČCI.....	145
7. LITERATURA.....	149
8. BIOGRAFIJA AUTORA.....	178
9. IZJAVE AUTORA.....	180
9.1. Izjava o autorstvu	181
9.2. Izjava o istovetnosti štampanog i elektronskog oblika disertacije	182
9.3. Izjava o korišćenju u biblioteci	183



LISTA KORIŠĆENIH SKRAĆENICA I SIMBOLA

ACTH - adrenokortikotropni hormon

ADP - adenzin-difosfat

AMP - adenzin-monofosfat

ANP - atrijalni natriuretski peptid

ATP - adenzin-trifosfat

BMI - body mass index (indeks telesne mase)

CK-MB - kreatin kinazu-MB

cryAB - alfa B kristalin

CS - porođaj carskim rezom

cTnI - cardiac troponin I (srčani triponin I)

cTnT - cardiac troponin T (srčani triponin T)

DKP - dijastolni krvni pritisak

DNK -dezoksiribonukleinska kiselina

ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay

FSF - fetalna srčana frekvenca

GBS infekcija - Group B Streptococcus infekcija

GCT - glucose challenge test

GDM - gestacijski dijabetes melitus

G6PD - glukozo-6-fosfat- dehidrogenaza

GP-BB - glikogen fosforilaza BB

H₂O₂ - vodonik peroksid

HAPO - Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome

HbA - adultni hemoglobin



HCO₃ - bikarbonati

HIF - hipoksijom indukovani faktor

HSF1 - Hsp transkripcionog faktora 1

Hsp - heat shock protein

IADPSG - International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups

IL - interleukin

iRNK - informacion ribonukleinska kiselina

KTG - kardiogram

NICU - Neonatal Intensive Care Unit

NO - azot monoksid

NFκB - nuklearni faktor - kappa B

OGTT - oralni glukozo tolerans test

pCO₂ - parcijalni pritisak ugljen dioksida

PDA - perzistentni duktus arteriozus

PECAM-1 - trombocitni endotelni ćelijski molekul - 1

PIH - preeklampsija i trudnoćom indukovana hipertenzivna stanja

PIGF - placentni faktor rasta

pO₂ - parcijalni pritisak kiseonika

RVK - reaktivne vrste kiseonika

SAN - srčana akcija neonatusa

SF - srčana frekvenca

sFlt-1 - fms-slična tirozin kinaza-1

SKP - sistolni krvni pritisak

TM - telesna masa

Tn - troponin



TNF - faktor nekroze tumora

TLR-2 - Toll like receptor

VAG - vaginalni porođaj

VCAM-1 - vaskularni ćelijski adhezioni molekul - 1

VEGF - faktor rasta vaskularnog endotela

VO₂ - zapremina kiseonika

WHO - World Health Organisation



UVOD

Od 130 miliona porođaja godišnje u svetu, čak kod 5 do 7 miliona novorođenčadi potrebno je izvesti neku vrstu intervencije na rođenju, dok su intenzivnije mere oživljavanja na rođenju neophodne za čak 1,3 miliona porođaja (WHO 1998; Milner i sar. 2005; Bloom i sar. 2006). Više od polovine oživljavane novorođenčadi (50 - 70%) potiče iz visokorizičnih trudnoća (Gupta i sar. 1967). Stoga je bilo neminovno zaključiti da sredina u kojoj se tkiva formiraju direktno diriguje ishod trudnoće, kao i dugoročnu prognozu zdravlja deteta.

Prva istraživanja u ovoj oblasti su vršena na životinjama, i to na jagnjadima. Ovi eksperimentalni modeli su još uvek najveći izvor podataka o fetalnom periodu, ali i o perinatalnom periodu. Smatra se da se finalna morfološka oblikovanja organa dešavaju upravo kada beba prolazi kroz porođajni kanal. Ima podataka da se tada aktivira programirana ćelijska smrt i da po završetku ovog procesa treba da ostane tačno određeni broj ćelija u sistemima organa. Zbog toga je jako važno da li je nastao zastoj u porođaju, ali i svi ostali perinatalni događaji koji mogu imati značajan uticaj, budući da utiču na ona fina morfološka baždarenja tkiva u toku krajnjeg nastanka funkcionalnih i zdravih organa i sistema organa.

Teorija da kvalitet tkiva fetusa predstavlja osnovu za razvoj bolesti u kasnijem odrasлом organizmu, su našle utemeljenje u mnogim dokazanim hipotezama kod životinja. Vremenom su sve ove teorije razvile jedno sasvim novo polje koje se zove fetalno programiranje.

Kada se govori o fetalnom programiranju, govori se zapravo o jednom fenomenu, u kome delovanje specifičnih faktora u nekom kritičnom periodu razvoja fetusa, daje dugotrajne efekte u smislu drugačijeg funkcionisanja organa ili sistema organa, što često može biti u spektru toliko drugačijeg funkcionisanja da to nazivamo bolešću (Lucas i sar. 1994).

U ovoj studiji mi smo se koncentrisali na formiranje srca i na sve one procese tokom trudnoće i tokom porođaja koje mogu da utiču na njegov krajnji oblik i funkcionalnost. Smatra se da tokom porođaja i prolaska bebe kroz porođajni kanal, mogu da nastanu fine lezije na srcu, koje se ne mogu videti dijagnostičkim tehnikama, ali koje stvaraju tlo na kome se mogu tokom života stvarati ozbiljne lezije kakvi su infarkti ili druga strukturna oštećenja.

***PREGLED
LITERATURE***



Različita patološka klinička stanja majke, mogu direktno da izazovu metaboličke promene u samom fetusu. Primeri za to su fetalna hipoksemija izazvana krvarenjem majke ili hipoksemijom majke, fetalna hiperglikemija kao posledica majčinog dijabetesa, fetalna hipoglikemija nastala usled majčine pothranjenosti ili terapije inzulinom. Najveći broj podataka koji ukazuju da su metabolički poremećaji fetusa uslovljeni patološkim procesima kod majke dobijeni su uglavnom u eksperimentima na životinjama. Prvi eksperimenti o peripartalnoj asfiksiji rađeni su šezdesetih godina na rezus majmunima (Dawes i sar. 1964). Međutim, podaci dobijeni na osnovu kliničkog iskustva, daju detaljniju sliku o tome kako se fetus prilagođava intrauterinim uslovima koji su potencijalno opasni po njega (Philipps, 2011).

1.1. Hipoksija

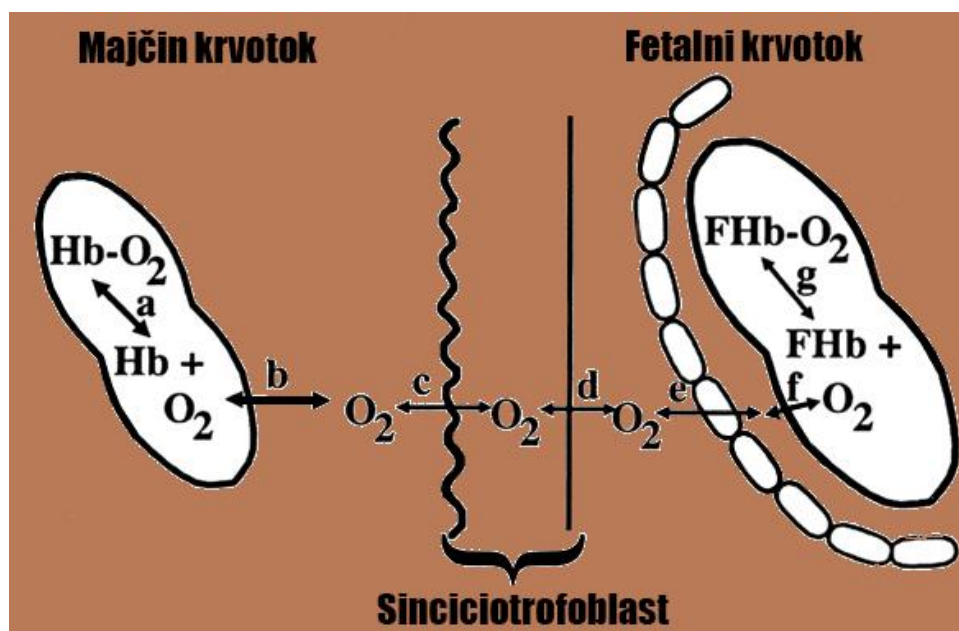
Uticaj hipoksije na razvoj fetusa uglavnom je ispitivan na eksperimentalnim životinjama. Najčešće su korišćena jagnjad i ovce. Tokom proučavanja hipoksije, istraživanja su vršena na životinjama koje su odrasle na visokim nadmorskim visinama, i pravljena je razlika u odnosu na one životinje koje su kao odrasle odnešene na visoku nadmorsku visinu (Moraga i sar. 1996; Ebenspenger i sar. 2005; Llanos i sar. 2007; Pena i sar. 2007).

Još od 1930. godine je poznato da fetalni hemoglobin ima veći afinitet prema kiseoniku od adultnog hemoglobina (Anselmino i sar. 1930). Ispitivanja na različitim vrstama sisara su potvrdila da je sposobnost fetalnog hemoglobina da veže kiseonik u placenti i dopremi ga tkivima, mnogo bolja nego što je to kod odraslog organizma (Zhang i sar. 2006).

Najveći procenat kiseonika se doprema plodu preko umbilikalne krvi iz placentе. Samo vrlo malo, ili čak ni malo, kiseonika prenosi se preko fetalnih membrana. Zbog toga je jako važno u kakvom su stanju tkiva placentе i umbilikalna krv (Philipps, 2011). Transport kiseonika različitim tkivima fetusa se razlikuje od organa do organa. Na transport kiseonika utiču raznovrsni faktori od kojih su najvažniji: količina kiseonika u krvi, minutni volumen srca, hematokrit, afinitet hemoglobina prema kiseoniku, koliko je ravnomerno raspodeljena krv između placentе i fetusa (Rothstein i sar. 1998), ali i od regulacije protoka krvi kroz uterus i umbilikalne krvne sudove (Ehrenkranz i sar. 1976).

Ukupna potrošnja kiseonika kod fetusa (VO_2) izražava se u ml ili mmol O_2 po kilogramu ili g za minut. Ona normalno iznosi 6 - 6,8 ml/kg/min kod novorođenčeta u terminu, a 5,4 ml/kg/min kod prematurusa (Philipps, 2011).

Pretpostavlja se da pri malim promenama krvnog protoka, tkiva dobijaju dovoljno kiseonika, pa se to ne odražava na brzinu metabolizma nekog organa ili tkiva. Međutim, ako se protok krvi kroz tkivo ozbiljno smanji, to onda menja i metabolizam tog tkiva. Smatra se da svaki organ ima svoje unutrašnje mehanizme kojima kontroliše količinu ukupno dostupnog kiseonika, a ti mehanizmi uključuju i genetski determinisane enzime, specifične za to tkivo (Slika 1) (Philipps, 2011).



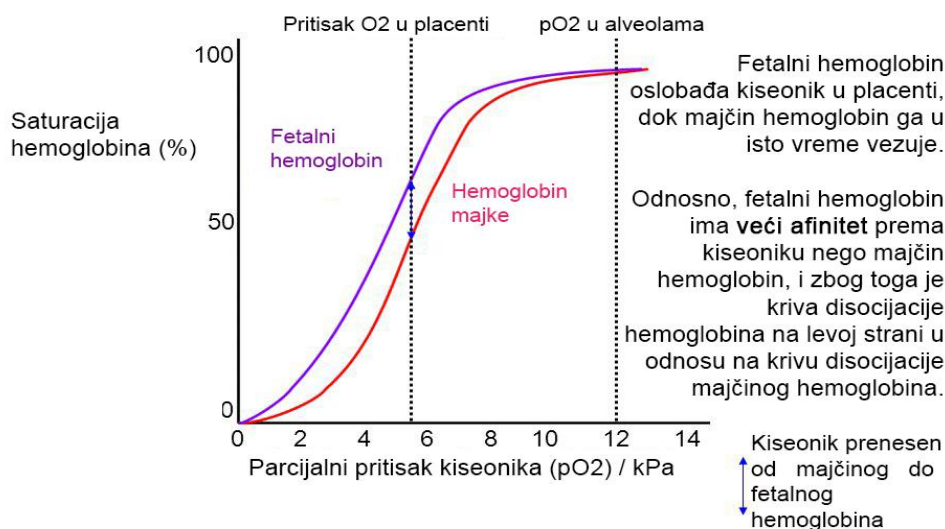
Slika 1. Prenos kiseonika između majčinog i fetalnog krvotoka

Preuzeto sa: <http://www.namrata.co/cause-of-higher-affinity-of-fetal-haemoglobin-for-oxygen/>

S obzirom da se sredina u kojoj se fetus razvija karakteriše niskim pritiskom kiseonika, najvažnija osobina krvi u fetusu je dopremanje kiseonika u slabo saturisana tkiva. Jedan od mehanizama, zahvaljujući kojima fetus preživljava akutna stanja bez kiseonika ili sa nedovoljno

kiseonika, je taj što fetalni hemoglobin oslobađa kiseonik u tkivima i pri najmanjem smanjenju pritiska kiseonika. Kriva disocijacije hemoglobina je veoma strma u fetalnim tkivima, tako da i najmanje smanjenje pritiska kiseonika *in utero* izaziva veliko smanjenje afiniteta oksihemoglobina za kiseonik i posledično oslobađanje kiseonika tkivima (Slika 2) (Beer i sar. 1955, Beer i sar. 1958). Za vreme hronične hipoksemije smanjena je ekstrakcija kiseonika, i fetus tada manje koristi kiseonik, dok je koncentracija fetalnog hemoglobina visoka (Ramaekers i sar. 1992; Stein i sar. 1993; Richardson, Bocking i sar. 1998).

Kriva disocijacije hemoglobina: fetalni hemoglobin



Slika 2. Kriva disocijacije fetalnog hemoglobina

Preuzeto sa: <http://oregonstate.edu/instruct/bb450/450material/lecture/hemoglobinoutline.html>

Potvrđeno je da se pri fiziološkim uslovima u umbilikalnoj veni stalno održava adekvatna količina kiseonika za potrebe metabolizma fetusa. To znači da u stabilnim uslovima fetus ne oskudeva u kiseoniku (Philipps, 2011).

Pošto je fetus ovako dobro zaštićen, hipoksija se registruje tek kada se dramatično smanji protok krvi, ili se nivo kiseonika u krvi fetusa smanji do ispod kritičnih vrednosti u određenim
dr Ana Mrkaić



njegovim organima u kojima se vrše merenja (a to može biti i srce), ili u celom fetusu (Holyman i sar. 1979, Adolph i sar. 1983, Marconi i sar. 2006).

1.1.1. Pritisak kiseonika u fetusu

Fetus je svakako izložen manjem oksidativnom stresu od novorođenčeta. Pritisak kiseonika i pH krvi se smanjuju tokom trudnoće, dok se pritisak CO₂ povećava. Smanjenje pH i porast pritiska CO₂ utiču na krivu disocijacije oksihemoglobina, što rezultuje smanjenjem saturacije kiseonikom, i padom parcijalnog pritiska kiseonika (pO₂). Međutim, pošto se istovremeno povećava kapacitet hemoglobina da prenese kiseonik, ukupna količina kiseonika u fetalnoj krvi se ne menja i stabilna je tokom cele trudnoće (Richardson i sar. 1998).

Saturacija hemoglobina kiseonikom u fetalnoj umbilikalnoj arteriji iznosi 50% u normalnim uslovima, a u umbilikalnoj veni 75% (Rothstein i sar. 1998). Ljudski fetusi žive u hipoksičnoj sredini, pošto je parcijalni pritisak kiseonika u umbilikalnoj veni niži od onog u krvi odraslih osoba.

Fetus relativno dobro podnosi smanjenje protoka krvi kroz uterus. Kod ovaca, smanjenje protoka krvi kroz uterus i do 50% ne utiče na promene gasnih parametara (Ehrenkranz i sar. 1976). Ako se, na primer, usled dejstva noradrenalina ili tireoidnih hormona poveća potrošnja kiseonika do 28% od bazalnih vrednosti, i dalje se ne menjaju gasni parametri arterijske i venske krvi. Naime, ovo je jedan fluktuantan proces, gde se fetus jako dobro prilagođava bilo kakvim nastalim promenama, i ne remeti tako lako svoj oksidativni metabolizam (Lorijn i sar. 1980).

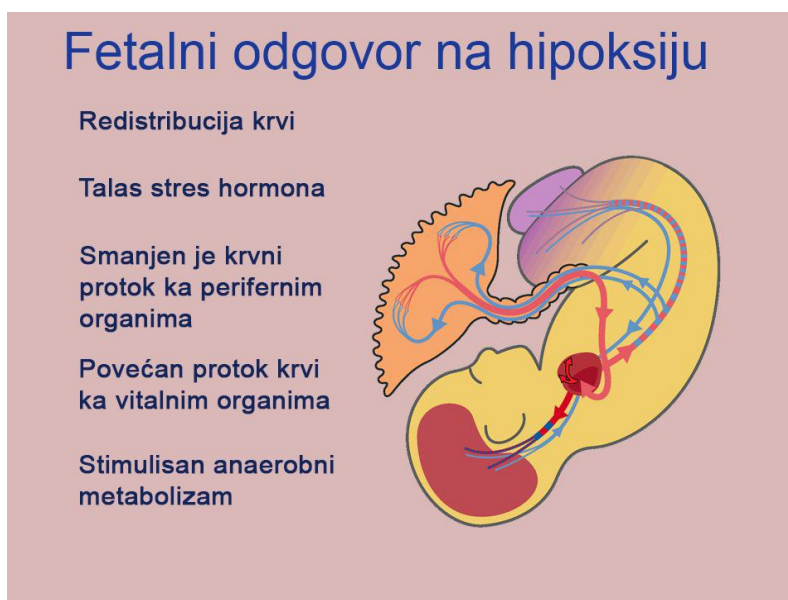
Kada je fetalna hipoksemija izazvana blagom hipoksemijom majke, a saturacija kiseonikom se održava na oko 40%, ne menja se acido-bazni status fetusa, čak i ako hipoksemija traje i do 24 sata. Ukoliko saturacija kiseonikom padne ispod 30%, razvija se metabolička acidoza i fetalna hipoksemija (Nijland i sar. 1995). Ova istraživanja na životinjama, takođe su potvrđena i na ljudima i smatra se da je saturacija kiseonikom ispod 30% okidač za razvoj metaboličke acidoze (Dildy i sar. 1996; Kuhnert i sar. 1998). Izgleda da sklonost ka acidozi zavisi od stupnja razvoja fetusa, jer su prematurusi otporniji na majčinu hipoksemiju, u poređenju sa terminskom decom. Na primer, eksperimenti na fetusima ovaca su pokazali da



majčina hipoksemija smanjuje saturaciju kiseonika fetusa ispod 30% mnogo sporije kod prematurusa, nego kod terminskih fetusa (Mastuda i sar. 1992).

Kada se iz bilo kog razloga izmeni dopremanje kiseonika dolazi do promene otpuštanja kiseonika u fetalnim tkivima, da bi se na adekvatan način odgovorilo na metaboličke potrebe fetusa (Hooper i sar. 1995). U akutno nastaloj hipoksemiji, kakva se javlja kod okluzije umbilikalnih krvnih sudova, nema dovoljno vremena da se razviju kompenzatorni mehanizmi placente i hipoksemija se razvija jako brzo. Tada je vrednost saturacije kiseonikom, koja predstavlja okidač za razvoj fetalne hipoksemije mnogo manja, u intervalu od oko 15% do 20% ispod normalnih vrednosti (Paulick i sar. 1987). To upravo govori o tome da su kompenzatorni placentalni mehanizmi efikasni i kada je u pitanju smanjen dotok krvi u uterus, koji se odlikuje brzom akumulacijom laktata i brzim padom pH vrednosti. Ipak, treba naglasiti da su ovi podaci dobijeni u eksperimentima izvedenim na životinjama, i još uvek nisu potvrđeni na ljudima (Paulick i sar. 1987).

Nedelju dana staro jagnje u toku hipoksije, koristi istu količinu (zapreminu) kiseonika (VO_2), kao i u stanju bez hipoksije i ne razvija acidozu. Međutim, u težim oblicima hipoksemije dolazi do smanjenja VO_2 , mada ono još uvek nije praćeno težim oblikom acidoze. Mnogo faktora određuje da li će se ispoljiti posledice hipoksemije, a to su: hematokrit, zasićenje hemoglobina kiseonikom, temperatura sredine, sistemski protok krvi (Q_s), ukupna potrošnja kiseonika (VO_2), kao i to da li organizam sponatno diše (Moss i sar. 1987).



Slika 3. Fetalni odgovor na hipoksiju

Preuzeto sa: <http://slideplayer.com/slide/9481669/>

Istovremeno sa razvojem hipoksemije, javlja se i nekoliko faktora koji bi trebalo da umanje njene efekte na fetalne metaboličke procese. Kada se eksperimentalno izazove hipoksija fetusa ovce (smanjenjem uterusnog protoka krvi ili izazivanjem blage hipoksemije gravidne ovce), javlja se redistribucija krvi u fetusu, ali i vrlo mala promena u ukupnoj količini kiseonika u fetalnoj krvi. Naime, fetus smanjuje potrošnju kiseonika za 25% do 40% tako što usporava metabolizam u gastrointestinalnom traktu, jetri, bubrezima, i smanjuje aktivnost skeletnih mišića i srca (bradikardija) (Slika 3) (Edelstone i sar.1984; Bocking i sar.1992; Gardner i sar.2001; Longo i sar, 2005).

Za razliku od dugotrajne hipoksemije u eksperimentima, u humanim trudnoćama ona se verovatno javlja u vidu učestalih napada usled čestih epizoda smanjenog protoka krvi kroz fetus, uterus i placentu. U uslovima ponovljenih napada, fetus aktivira drugačije mehanizme u odnosu na one kojima bi se branio u toku jedne kontinuirane akutne ili hronične hipoksemije (Reuss i sar.1980; Itskovitz i sar.1987; Jensen i sar. 1991).



Ukoliko je već postojala hipoksemija fetusa, ona je hemoreceptore srca i krvnih sudova pre svega učinila još osjetljivijim, a njihove odgovore na različita stanja i reakcije još izraženijim. Oni se ispoljavaju u obliku jače femoralne vazokonstrukcije i značajnog povećanja noradrenalina i vazopresina pri ponovljenoj akutnoj hipoksemiji (Gardner i sar. 2002).

Potencijalna uloga genetike u razmeni gasova ispitivana je kod odojčadi sa Tibeta. Utvrđeno je da odojčad koja su potomci višegeneracijskih stanovnika Tibeta imaju veću saturaciju kiseonikom od onih koji su se neposredno pre toga doselili na Tibet, što ukazuje da i genetika može doprineti hipoksiji. Pored mnogih faktora koji istovremeno doprinose održavanju saturacije kiseonika, još uvek se ne mogu odrediti oni koji su najvažniji za njeno održavanje (Neirmeyer i sar. 1995).

1.1.2. Kardiovaskularni sistem u hipoksiji

Mera brzine metabolizma se oslikava fetalnom i neonatalnom frekvencijom srca (a time i minutnim volumenom) (Chessex i sar. 1981). Meier i saradnici (1983) su pokazali da se srčana frekvencija slabo menja kod fetusa (i malo razlikuje od vrste do vrste), za razliku od odraslih ljudi, gde srčana frekvencija zavisi od telesne mase. Nije poznato zbog čega bazalni metabolizam fetusa kod različitih vrsta ima konstantne vrednosti. Razlike koje se kasnije javljaju mogu biti zbog naglog rasta u kasnom perinatalnom životu i promenama u sastavu membranskih lipida (Hulbert i sar. 2007)

Akutna hipoksemija je fiziološki stresor koji budi kardiovaskularne, metaboličke i endokrine mehanizme (Blanco i sar. 1984; Giussani i sar. 1993). Ovi adaptibilni mehanizmi omogućavaju fetusu da preživi stres, a ispoljavaju se smanjenjem fetalnih pokreta, odnosno usporavanjem aktivnosti skeletnih mišića, zatim povećanim preuzimanjem kiseonika iz umbilikalnih krvnih sudova i usporavanjem disanja fetusa (Harris i sar. 2001). Neki od ovih procesa su posredovani azot monoksidom (NO) i mogu da se zapaze kod relativno nedozrelih fetusa (Kiserud i sar. 2001).

Akutna hipoksemija utiče na kardiovaskularni sistem fetusa ovaca tako što izaziva prolaznu (refleksnu) bradikardiju, povećanje perifernog vaskularnog otpora i arterijskog krvnog



pritiska (hipertenziju), kao i smanjenje minutnog volumena srca za 15 % do 20 % (Harris i sar 2001). Smanjenje minutnog volumena srca je posledica povišenog krvnog pritiska, bradikardije, vagusne stimulacije i smanjenja snage srčanih kontrakcija (Cohn i sar. 1974). Bradikardiju izaziva parasimpatikus, dok je početna vazokonstrikcija izazvana simpatikusom (Giussani i sar. 1993; Iwamota i sar. 1983.). Međutim, ozbiljno usporavanje srčanog rada dešava se samo pri jakoj ili prolongiranoj hipoksiji ili ukoliko je ona udružena sa metaboličkom acidozom (Cohn i sar.1974). Mozak, srce i nadbubrežne žlezde fetusa su relativno zaštićeni od generalizovane akutne hipoksemije, zbog toga što se tokom nje povećava protok krvi kroz ove organe, a smanjuje se protok kroz gastrointestinalni trakt, kožu i mišiće (Harris i sar. 2001). Na ovaj način, smanjuje se dotok krvi do tkiva koja i inače koriste manje kiseonika (kao što su creva i bubreg), da bi se povećalo dopremanje kiseonika mozgu i srcu. Sva tkiva sa povećanim potrebama za kiseonikom stvaraju rezerve kiseonika koje se troše tokom nestašice kiseonika (Guyton i sar.1971). Svi ovi procesi su verovatno izazvani sekrecijom kateholamina, kao što je već istaknuto ranije (Stein i sar. 1993; Richardson et al, 1998). Ovakvi mehanizmi imaju za cilj održavanje koncentracije kiseonika na nivou koji su ti organi imali pre nego što je hipoksemija nastala (Sidi i sar.1983; Moss i sar.1987).

Minutni volumen srca se smanjuje progresivno do 38% od svojih normalnih vrednosti tokom neprekidne, kontinuirane hipoksemije u fetusu ovce. U ovim uslovima, prvo se otežava istiskivanje krvi iz desne komore, a zatim i iz leve (Kamitomo i sar.1994). Kada su hipoksemije dugotrajne onda se aktiviraju drugačiji mehanizmi poput povećanja fetalne eritropoeze (Phillipps i sar. 2011).

Smatra se da su neke ćelije, koje pripadaju centralnom nervnom sistemu, odgovorne za reakcije srca na promene količine kiseonika (Zhou i Haddadi, 2011). Naime, poznato je da su sve promene kardiovaskularnog sistema regulisane i putem perifernih hemoreceptora, u aortnom luku i karotidnim telašcima, kao i da su oni razvojno regulisani za sve vreme fetalnog života. Eksperimenti na životinjama, ovcama, su pokazali da što je fetus bliži terminu, on izraženije reaguje bradikardijom i povećanjem perifernog vaskularnog otpora. Naravno da humoralni faktori kakvi su vazopresin, neuropeptid Y i kateholamini utiču na pomenute reakcije. Pored toga, ovi mehanizmi su u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom kortizola u krvi, što možda

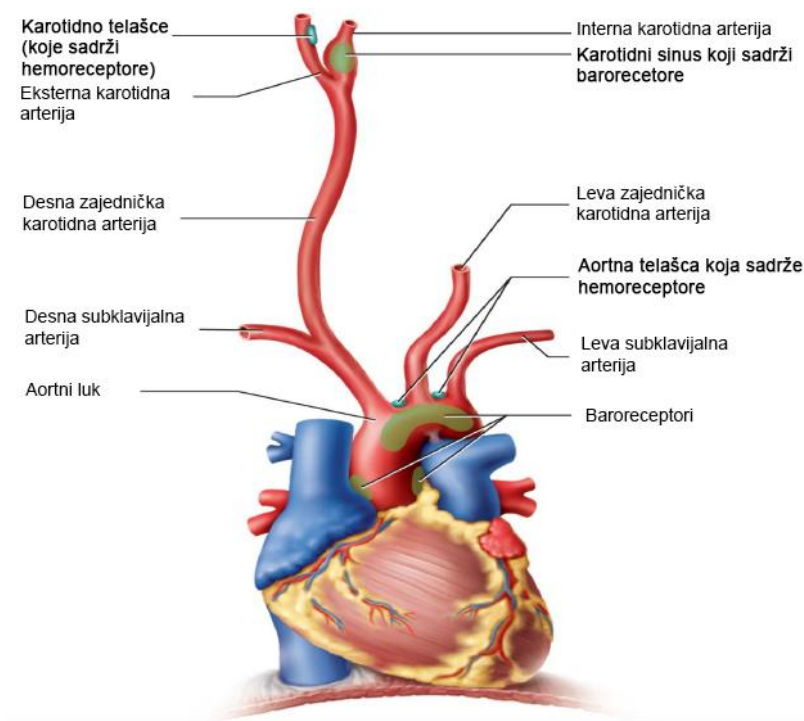


govori o tome da kortizol, čije koncentracije rastu tokom porođaja, ima svrhu da održi neuralni i endokrini odgovor na hipoksemiju fetusa (Vapaavouri i sar.1973; Minoura i sar.1986).

1.1.3. Hemoreceptori i baroreceptori

Pritisak kiseonika u materici se dosta menja tokom fetalnog razvoja. Opseg vrednosti pritiska se kreće od veoma niskih, tokom prvih 10-11 nedelja trudnoće, preko malo viših, tokom drugog i trećeg trimestra, pa do krajnjeg skoka na samom rođenju (Dunwoodie i sar. 2009). Za sve to vreme i sam fetus se prilagođava ovim različitim vrednostima pritiska kiseonika. Naime, dok je nizak pritisak kiseonika (23-25 mm Hg) i senzitivnost fetusnih hemoreceptora je niska. Odmah nakon rođenja, hemoreceptori se adaptiraju na drugačiju atmosferu i pritisak kiseonika koji tada iznosi od 80 do 100 mm Hg (Carrol i sar. 2013). Može se reći da, sposobnost fetusa da preživi, da raste i da uspešno pređe iz forme fetusa u neonatus zavisi od regulacije fetalnog krvnog pritiska i od volumena krvi u kardiovaskularnom sistemu, kao i od dinamike kretanja telesnih tečnosti (Wood i sar. 1999).

Kardiovaskularni sistem fetusa i placenta sadrže glavne mehanizme za održavanje, najpre oksigenacije tkiva i acido-bazne ravnoteže u fetusu, a time i sve ostale fiziološke procese koji su u vezi sa njima (Darnall i sar. 2010). Karotidni hemoreceptori predstavljaju prvu liniju odbrane od promena u pritisku kiseonika (Pawar i sar. 2008). Centralni respiracioni hemoreceptori nastaju već u ranom embrionalnom razvoju (Darnall i sar. 2010), dok atrijski i ventrikularni receptori nisu aktuelni u fetusu. Prvi, jer sazrevaju tek nakon rođenja, a ove druge fetus jednostavno ne koristi (Slika 4) (Wood i sar. 1999).



Slika 4. Hemoreceptori i baroreceptori

Preuzeto sa : <https://www.studyblue.com/notes/note/n/ch-20/deck/3006036>

Činjenica je da su skoro sve informacije o razvoju hemoreceptora i njihovim reakcijama tokom fetalnog života dobijene proučavanjem fetusa ovaca. Međutim, treba naglasiti da se na njih ipak možemo osloniti, zato što je parcijalni pritisak kiseonika u fetusu ovce i u humanom fetusu isti, i iznosi 25 mm Hg (Darnall i sar. 2013).

Periferni hemoreceptori su senzorni receptori koji informacije o promenama arterijskog pritiska kisonika (pO_2), ugljen dioksida (pCO_2) i pH krvi šalju do moždanog stabla (Stein i sar. 1999). Arterijski hemoreceptori (receptori visokog pritiska) se nalaze u karotidnim telima, koja su smeštena obostrano kod bifurkacija karotida (Iturriaga i sar. 2009; Nanduri i sar, 2010; Sinski i sar. 2012; Stéphan-Blanchard i sar. 2013) i u aortnom luku (Blanco i sar. 1988). Registrovani pritisak kiseonika u arterijskoj krvi oni prevode u akcioni potencijal nervnih završetaka karotidnog sinusa (Iturriaga i sar. 2009; Nanduri i sar, 2010; Sinski i sar. 2012), koji prenose



dalje nervne impulse do nukleus traktusa solitariusa i drugih jedara moždanog stabla (Stéphan-Blanchard i sar. 2013).

Hemoreceptori aktiviraju reflekse kojima regulišu nivo kiseonika modifikujući disanje. U toku hipoksije ubrzavaju disanje (Gauda i sar. 2004), menjaju aktivnost mišića gornjih disajnih puteva, krvni pritisak i tonus simpatikusa (Sinski i sar. 2012)

Prve reakcije fetusa na hipoksiju u vidu bradikardije, povećanja femoralnog vaskularnog otpora, periferne vazokonstrikcije i redistribucije krvi, nastaju zahvaljujući perifernim hemoreceptorima (Giussani i sar. 1993; Darnall i sar. 2010). Sve ove reakcije izostaju u slučajevima denervacije sino-aortnih hemoreceptora i vagotomije (Jansen i sar. 1989; Itskovity i sar. 1991; Stein i sar. 1999). Fetalni hemoreceptori reaguju tek kada pritisak kiseonika padne ispod 15 mmHg (Darnall i sar. 2013). Izgleda da ovi mehanizmi nisu krucijalni za preživljavanje fetusa neposredno nakon napada hipoksije (Itskovity i sar. 1991).

Hemoreceptori takođe regulišu i vazoaktivne hormone koji utiču na stanje cirkulacije i kardiovaskularnog sistema (Wood i sar. 1989; Chen i sar. 1992). Postoji uzajamna veza između hemoreceptora i hormona, jer se hemorefleksna i barorefleksna aktivnost menja endogenom produkcijom prostanoida, ali i promenama koncentracija estrogena u fetusu pre porođaja (Wood i sar. 1999).

Posledica hipoksemije je nizak pH krvi koji dalje povećava osetljivost karotidnih hemoreceptora, favorizujući već postojeću bradikardiju i femoralnu vazokonstrikciju. Nizak pH smanjuje provodljivost kroz spojnice karotidnih telašaca, odnosno proteinske kanale glomus ćelija, i time oslobađa transmitere na senzornim završecima karotidnog sinusa (Thakor i sar. 2009).

Da nije hemoreceptora, dostava kiseonika i gasova fetalnim tkivima, zavisila bi samo od placente. Ovako, oni predstavljaju izvesnu evolutivnu prednost koja im omogućava da oni sami mogu da menjaju brzinu gasova, menjajući fetalni arterijski krvni pritisak i koncentraciju hormona odgovornih za vazokonstrikciju (Wood i sar. 1989; Chen i sar. 1992).

Učestale oscilacije saturacije kiseonikom predstavljaju intermitentne hipoksije. Kod neonatusa je intermitentna hipoksija mnogo češća od kontinuirane (Prabhakar, Peng i sar. 2007).



Hronična intermitentna hipoksija može da utiče na stvaranje reaktivnih vrsti kiseonika (RVK) za vreme reoksigenacije, slično kao i u procesima ishemije-reperfuzije (Guzy i sar. 2006). Neki autori su nakon eksperimenata na različitim životinjskim modelima, ukazali da hronična intermitentna hipoksija i blaga hronična hipoksija izoštravaju i povećavaju reakcije hemoreceptora na hipoksiju i čine ih senzitivnijim (Bennet i sar. 2005; Prabhakar i sar. 2007; MacFarlane i sar. 2012).

Dakle, iako su mnoge studije pre ove pokazale da hronična hipoksija ili napadi učestale hipoksije smanjuju odgovor hemoreceptora na promene pritiska kiseonika (Gunn i sar. 2000; Green i sar. 2001), Benetova studija je pokazala upravo suprotno, da su sve reakcije nakon akutne hipoksije upravo izraženije, odnosno, veći je pad srčane frekvencije fetusa sledećih 30 min nakon nastanka akutne hipoksije. Taj pad srčane frekvencije fetusa je u korelaciji sa hipotenzijom koja nastaje u toku napada hipoksije (Bennet i sar. 2005). Srednja vrednost krvnog pritiska fetusa je 40 mm Hg, neonatusa 60 mm Hg, a odraslog čoveka 95 mm Hg, dok je srčana frekvencija fetusa 180, neonatusa 100, a odraslih oko 75 otkucaja/ min (Wood i sar. 1999)

Jedan od uzroka niskog pritiska fetusa, pored ostalog, su i šantovi koji postoje u fetalnoj cirkulaciji. Zato je krvni pritisak fetusa čak i do 50-60% niži od onog u odraslih ljudi. Prema tome, kako fetus već bivstvuje u uslovima niskog pritiska, svaka i tranzitorna hipotenzija predstavlja rizik po njegove vitalne organe. Strukture, kakve su amnionska tečnost i cirkulacija fetalnih membrana, predstavljaju izvesne depoe krvi i tečnosti, kojima se fetus u trenucima hipotenzije ili fetalne hemoragije služi (Wood i sar. 1999; Brace i sar. 1990). Fetus se upravo zbog svega ovoga mnogo više oslanja na hemoreceptore nego odrasla osoba, odnosno nervna kontrola fetalnog kardiovaskularnog sistema mnogo više zavisi od hemoreceptorske kontrole nego kod odraslih osoba. Što je fetus stariji, bliži terminu on mnogo brže reaguje na hipotenziju (Wood, 1995; Wood i Tong, 1999). Izgleda da se kod neonatusa koji imaju zaravnjen odgovor na hipoksiju razvijaju malformacije (Gauda i sar. 2004).

Arterijski baroreceptori u fetusu su aktivni u trudnoći blizu termina. Oni adekvatnije i brže reaguju na povećanje pritisaka nego na smanjenje (Itskowitz i sar. 1983; Wood i Tong, 1999). Za vreme perinatalnog perioda jako je važna regulacija arterijskog kiseonika, za šta su i dalje zaslužni hemoreceptori (Stéphan-Blanchard i sar. 2013). Karotidni hemoreceptori su



najmanje osetljivi odmah nakon rođenja i postaju aktivni u danima koji slede. Pomeranje krive disocijacije kiseonika udesno nakon rođenja, aktivirano promenom pritiska kiseonika sredine, uslovljava ponovno podešavanje arterijskih hemoreceptora na nove pritiske (Stéphan-Blanchard i sar. 2013). Prag osetljivosti karotidnih hemoreceptora u fetusu, podešen je da odgovara niskom fetalnom pritisku kiseonika i on posle rođenja mora da se resetuje i adaptira na, otprilike, oko 4 puta veće vrednosti PaO₂ (Stéphan-Blanchard i sar. 2013).

Neki autori smatraju da hemoreceptori sazrevaju tek nakon rođenja (Darnall i sar. 2013), da nisu funkcionalno zreli na samom rođenju i da im treba vremena da se prilagode na pritiske kiseonika koji se nalazi u odraslom organizmu (Gauda i sar. 2009). Oni zapravo rađanjem postaju još senzitivniji, nezavisno od gestacijske starosti fetusa. Smatra se da ovi receptori optimalno sazru do 10 nedelje života (Darnall i sar. 2013).

Od pritiska kiseonika u njihovom okruženju zavisi da li će oni postići osetljivost koja je potrebna organizmu. Ako je posle rođenja PaO₂ povećan, onda je adaptacija receptora ubrzana, a ukoliko je nizak - usporena (Carrol i sar. 2013). Ako se nakon rođenja mladunci pacova izlože hipoksiji, to usporava sazrevanje karotidnih telašaca, a ako se izlože hiperoksiji, ne samo da se usporava sazrevanje karotidnih telašaca, već karotidna telašca ovih životinja, kao odraslih pacova, ne reaguju dobro na hipoksiju. Znači konstantno izlaganje velikim i malim količinama kiseonika nakon rođenja, značajno oštećuje sazrevanje i nepovoljno utiče na reagovanje karotidnih telašaca na promene kiseonika u kasnijem životu (Prabhakar i sar. 2007).

Hemorefleksnoj aktivnosti prethodi izrazita promena koncentracije kateholamina u karotidnim telašcima, posebno dopamina. Kada započne udisanje vazduha, porast arterijskog PaO₂ praktično ukida aferentne hemoreceptorske impulse kroz nerv karotidnog sinusa. Kao što je već rečeno, promene dopaminergičkih mehanizama izazivaju postnatalno resetovanje senzitivnosti karotidnih telašaca. I zaista je pokazano da su količina i obrt dopamina u karotidnim telašcima visoki odmah nakon rođenja i da se smanjuju u prvim danima života. Ovo može biti izazvano smanjenim oslobađanjem dopamina i povećanom sintezom dopamina unutar glomus ćelija. Smanjeno izlučivanje dopamina može biti povezano sa malom funkcionalnom ekspresijom presinaptičkih D2 autoreceptora koji su uključeni u negativnu povratnu spregu kontrole sinteze i otpuštanja dopamina (Stéphan-Blanchard i sar. 2013).



Pedeset procenata prematurusa doživljava hipoksiju zbog učestalih napada apneje. Kod neonatusa, hronična intermitentna hipoksija kao i hronična kontinuirana hipoksija indukuju povećanu osetljivost karotidnih telašaca, ali ne izazivaju i njihovu dugotrajnu potentnost, a to je upravo karakteristika plastičnosti karotidnih telašaca - da dugoročno budu osetljivi na hipoksiju. Veliki potencijal u regulaciji homeostaze kiseonika u vreme hipoksije ima transkripcioni aktivator faktora koji indukuje hipoksiju-1 (HIF-1) (Prabhakar i sar. 2007).

Možda ove promene i razvoj platičnosti hemoreceptora tokom fetalnog života imaju osnova u fetalnom programiranju, jer se pouzdano zna da je hronična intermitentna hipoksija kod odraslih osoba udružena sa nastajanjem infarkta i moždanog inzulta. Naime, na modelima hronične hipoksije je pokazano da miševi vremenom razvijaju hipertenziju i povećanu aktivnost simpatičkog nervnog sistema (Prabhakar i sar. 2007).

Ukoliko hemoreceptori zaista imaju centralnu ulogu u homeostazi kiseonika kod fetusa, onda izostanak njihove reakcije kompromituje adaptaciju tokom samog porođaja (Green i sar. 2001). Ili ukoliko ovo nije istina, onda možda postoje neki drugi mehanizmi prilagođavanja koji postaju važni i preuzimaju primat.

1.1.4. Hemoreceptori u toku rođenja

Aktivnost i senzitivnost hemoreceptora opadaju tokom rođenja i ostaju na niskom nivou nekoliko dana, sve dok se ne "izbaždare" na nove, više vrednosti pritiska kiseonika u krvi, sada već nastalog neonatusa (Hertzberg i sar. 1987). Neki autori su pokazali da je za postnatalnu adaptaciju arterijskih hemoreceptora bitan obrt dopamina u karotidnom telu. Drugi pak smatraju da razlike u mobilizaciji intracelularnog kalcijuma za vreme hipoksije mogu biti važne za hemoreceptorsko sazrevanje (Sterni i sar. 1995). Ova karotidna telašca su regulisana ne samo pritiskom kiseonika, već i hiperkapnijom, hiperkalemijom, hipoperfuzijom, hormonima. Nakon rođenja raste i osetljivost baroreceptora (Kumar i sar. 2007). Baroreceptori pacova starih od 1 do 3 dana su manje osetljivi u poređenju sa onim baroreceptorima kod pacova starih od 11 do 14 dana (Wasicko i sar. 2006).



1.1.5. Neonatus u hipoksiji

Neonatus, u odnosu na odrasli organizam, bolje toleriše i izuzetno niske pritiske kiseonika u krvi, tako da izolovana hipoksemija čak ne ostavlja nikakve posledice (Rudolph i sar. 1996). Može se reći da se kod novorođenog deteta ne zapaža izražena reakcija na hipoksiju, ili da ona vrlo često u potpunosti i izostaje. Ako je prisutna dugotrajna hipoksija u prvim danima života, ona najpre utiče na strukturu organa, dok akutni kratkotrajni napadi hipoksije nisu značajni za neonatus (Zhou i Haddad, 2011; Vicencio i sar. 2002).

Ono što novorođeno dete čini osetljivim na hipoksemiju je upravo nizak pritisak kiseonika u krvi neonatusa u odnosu na odrasle osobe (Nelson i sar. 1963; Oliver i sar. 1961), a te rezerve su još manje u trenucima apneje. Vrednost rezidualnog funkcionalnog kapaciteta pluća neonatusa je jako blizu onim vrednostima zapremine pluća kada nastaju atelektaze. Metaboličke potrebe za kiseonikom su veće kod novorođenčadi (u odnosu na kilogram telesne mase) nego kod odraslih osoba. Novorođenče mnogo brže istroši svoje rezerve kiseonika u krvi, rezidualni vazduh i gasove u alveolama, a sve u pokušaju da održi aerobni metabolizam. Ovo je posebno naglašeno kod prematurusa, koji su preosetljivi na apneju zbog nedozrelosti centra za disanje, pa segment pluća kolabira na kraju izdaha zbog preterane popustljivosti grudnog koša (Nelson i sar. 1963; Oliver i sar. 1961).

1.1.6. Faktori koji dovode do hipoksemije fetusa

Već je rečeno da prenos kiseonika do fetusa zavisi od protoka krvi kroz matericu i pupčanu vrpцу, od razlike u pritiscima kiseonika između fetalne i majčine krvi, kao i od koncentracije hemoglobina u fetalnoj krvi. Promene u količini kiseonika u umbilikalnoj veni mogu nastati iz mnogo razloga. Abnormalni protok krvi kroz uterus i pupčanu vrpću se javlja pri hipertenzivnim stanjima u trudnoći, kod odlublivanja normalno usađene placente, srčane okluzije, ili posle konzumiranja kokaina i nikotina, zatim pri hipoksemiji majke usled bolesti srca ili pluća, tonično kloničnim napadima usled eklampsije, ili kod trudnica koje žive na velikim visinama. Razlozi za poremećen transfer kiseonika mogu biti i fetalni poremećaji kao što su sepsa, krvarenje, anemija, srčani blok i neke druge tahii ili bradikardije (Philipps i sar, 2011).



Zbog toga su u žiži interesovanja ovog istraživanja trudnice čije je stanje komplikovano preeklampsijom i one čije je stanje komplikovano dijabetesom.

1.2. Preeklampsija

Preeklampsija (*Preeclampsia and pregnancy induced hypertensive disorders* - preeklampsija i trudnoćom indukovana hipertenzivna stanja - PIH) je stanje karakteristično za ljudsku vrstu, i obuhvata 2.6% do 7.3% trudnoća. To je jedna od najčešćih komplikacija u trudnoći, i vodeći uzrok perinatalnog mortaliteta i morbiditeta širom sveta. Zajedno sa eklampsijom izaziva preko 50 000 smrti trudnica samo u jednoj godini širom sveta.

Rizik za razvoj PIH su prva trudnoća, prethodna preeklampsija, već postojeća hipertenzija, bolesti bubrega, gestacijski i dijabetes melitus, porodična anamneza za PIH, starost majke preko 35 godina (Pare i sar. 2014 u svojoj studiji nisu imali dokaza da starost majke ima uticaja), tehnike asistiranog oplodjenja, blizanačka trudnoća, gojaznost i velika vremenska pauza između trudnoća (Al-Jameil i sar. 2014). Žena koja je imala PIH u prvoj trudnoći ima 7 puta više šansi da dobije PIH i u narednim trudnoćama (Makkonen i sar. 2000). Preeklampsija može da progredira u eklampsiju, koja se karakteriše konvulzijama opasnim po život, i uglavnom se javlja u srednjem tromesečju trudnoće i oko rođenja (Urquia i sar. 2014).

Preeklampsija je multisistemski poremećaj sa različitim kliničkim manifestacijama koje uključuju hipertenziju i proteinuriju, razvoj kardiovaskularnih bolesti majke, čak i smrt majke. U vezi je sa prevremenim porođajem, usporenim rastom fetusa, perinatalnom smrću, ali i sa bolestima dece rođene iz takvih trudnoća. Definiše se kao razvoj hipertenzije i proteinurije, kod prethodno normotenzivnih trudnica, posle 20. gestacijske nedelje: sistolni pritisak veći od 140 mm Hg, a dijastolni od 90 mm Hg ili porast sistolnog za više od 30 mm Hg i dijastolnog za više od 20 mm Hg, a proteinurija sa više od 300 mg/L u srednjem uzorku ili 300 mg za 24 sata. Često su prisutne oligurija i visoke vrednosti kreatinina (Purde i sar. 2015).

Kliničku sliku trudnice sa PIH karakterišu glavobolja, zamagljen vid, bol u epigastrijumu ili ispod desnog rebarnog luka, plućni edem (Aydin i sar. 2009) i hipertenzija (Troisi i sar. 2008).



Po ozbiljnosti PIH se deli na blagu i ozbiljnu, a po trenutku nastanka na ranu i kasnu (Purde i sar. 2015). Rano nastala PIH se definiše kao razvojna, ili ona koja vodi ka porođaju, i nastaje pre 34 nedelje gestacije, dok kasno nastala PIH se javlja nakon 34 nedelje. Ona koja nastaje rano ima gori tok i po majku i po dete. Nekada se pravi razlika između terminske i pretermenske PIH, sa tim što se terminska PIH javlja nakon 37 nedelje trudnoće (Madazli i sar. 2014).

1.2.1. Patofiziologija preeklampsije

Oksidativni stres smanjuje perfuziju placente, koja dovodi do njenog abnormalnog ranog razvoja (Sulistyowati i sar. 2014). Bazični patofiziološki procesi u PIH su ishemija i hipoksija u tkivima majke i fetusa. Oni predstavljaju inicijalnu kapislu stvaranja onih molekula koji utiču dalje na fiziološke i morfološke promene vaskularnog endotela (Gilbert i sar. 2008; Lee i sar. 2012), a čiji nastanak počinje aktiviranjem hipoksijom indukovanih faktora (*hypoxia inducible factors - HIF*), zatim jedarnog faktora kappa B, ali i ostalih transkripcionih faktora (Redman i Sargent, 2009). Citokini, kao što je factor tumorske nekroze alfa (TNF alfa), čine molekulsku mrežu koja utiče na disfunkciju vaskularnog endotela, koja je značajan činilac u daljem razvoju kliničke slike PIH (Gilbert i sar. 2008).

Međutim, ovde se ne radi o izolovanoj bolesti endotela, već o stanju sistemske inflamacije (Redman i sar. 2009) objedinjenih kliničkim i laboratorijskim znacima u PIH (Aydin i sar. 2009).

Biološki procesi na nivou placente koji mogu uzrokovati PIH (placentna PIH) mogu se podeliti u dve faze. Prva predstavlja neadekvatan razvoj placente zajedno sa njenim neadekvatnim usađivanjem u matericu. Druga faza podrazumeva uticaj inflamatornih molekula koji se iz placente oslobodaju u cirkulaciju, kada se već razvijaju klinički znaci bolesti (maternalna PIH). Pre svega su to molekuli fms-slična tirozin kinaza-1 (sFlt-1) i solubilni endoglin (sEng) (Lee i sar. 2012). Oslobađanje sFlt-1, proteina koji se vezuje za angiotenzin II receptor (Gilbert i sar. 2008) u prvom stadijumu neadekvatnog urastanja placente, i drugih



bioloških faktora ne odigrava se samo u toku hipoksiji, već i pri nekim drugim inflamatornim procesima (Redman i Sargent, 2009).

Solubilna fms-slična tirozin kinaza-1 (sFlt-1 ili sVEGFR-1) je protein tirozin kinaze koji onemogućava funkciju upravo onih proteina koji su neophodni za rast krvnih sudova. Radi se o izoformi VEGF receptora 1 (Flt-1) (Khalil i sar. 2008; Redman i sar. 2009). Naime, sFlt-1 receptor se vezuje za slobodne proangiogene faktore: faktor rasta vaskularnog endotela (VEGF) i placentni faktor rasta (PIGF, *placental growth factor*) i tako umanjuje povoljan efekat koji ovi proangiogeni faktori imaju na endotel majke, kakav je na prvom mestu neophodno širenje vaskularne mreže, a što ima za posledicu hipertenziju i proteinuriju koje su glavne karakteristike PIH. Serumske koncentracije PIGF i sFlt-1 se razlikuju kod žena sa PIH u odnosu na zdrave trudnice, čak i pre kliničke prezentacije PIH, a njihove koncentracije su u korelaciji sa ozbiljnošću kliničkih znakova PIH, ali i trenutkom početka bolesti, i kasnije njenim tokom (Troisi i sar. 2008; Redman i sar. 2009).

Jedan od važnih bazičnih procesa PIH je i smanjena produkcija vazodilatatora, kao što su azot monoksid (NO) i prostaciklin. Direktna posledica svih ovih biohemijskih promena u tkivima je hipertenzija, koja dalje provocira oštećenja renalne natriureze i povećanje vaskularnog otpora (Gilbert i sar. 2008).

Metabolizam NO, prostaciklina, tromboksana, endotelina, angiotenzina i drugih vazoaktivnih supstanci je izmenjen u organizmu majke sa PIH (Hubel i sar. 1999). Lipidni hidroperoksidi i drugi reaktivni kiseonični radikali su povećani, dok su antioksidantni sistemi smanjeni (Granger i sar. 2001; Wolf i sar. 2002).

1.2.2. Faze preeklampsije

Mnogo godina se PIH smatrala dvofaznom bolešću. Prva faza predstavlja abnormalnu placentaciju, dok je druga faza klinička ekspresija bolesti. Prva faza se javlja između 8. i 18. nedelje gestacije i nije simptomatska. Nastaje tako što relativna ili apsolutna ishemija placente inicira majčin inflamatorni odgovor i disfunkciju endotela, odnosno hipertenziju i proteinuriju, i različite znake oštećenja perifernih tkiva. U pozadini ovih promena je oksidativni stres,



aktivacija citokina, disbalans prostanglandina, VEGF antagonizam, i endokrini poremećaji leptina i inzulina (Roberts i sar.1995; Ness i sar.1996; Sacks i sar.1998).

Prva faza nastaje remodeliranjem spiralnih arterija uterusa. Posledica toga je disfunkcionalna perfuzija intervilusnih prostora placente sa oksidativnim i hemodinamskim stresom. Oštećena placenta oslobađa višak usled neadekvatne tolerancije imunog sistema majke na spermatozoid oca deteta. Usled nedostatka ove tolerancija raste rizik za neadekvatan rani razvoj placente, a time i za razvoj PIH (stadijum 1). Jedan od činioca koji doprinosi netoleranciji prema plodu jeste i kratak vremenski interval između prvog koitusa i koncepcije. Pretpostavlja se da ovo utiče na zdravlje i rast embriona odmah nakon implantacije (stadijum 2). Rani razvoj placente počinje nakon 8 nedelje, kada uteroplacentna cirkulacija, koja je prvo bila zatvorena trofoblastnim čepovima u spiralnim arterijama, počinje da se otvara. Nepravilan razvoj u ovom periodu može biti posledica njihovog preranog otvaranja i perfuzije intervilusnih prostora oksigenisanom arterijskom krvlju pre nego se placenta opremi sredstvima da se nosi sa stresom. Rani razvoj placente (placentacija) traje više od 10 nedelja, i kada je nepotpuna, nastaje treći stadijum PIH. Stadijumi od 4-6 se dešavaju u drugoj polovini PIH. Stadijum 4 je u vezi sa povećanim ili deficitarnim faktorima placente u krvi majke, kao posledica oštećenja placente. Kada se pojavljuje klinička slika PIH, to je već početak petog stadijuma. Stadijum 6 se javlja kod manje od polovine žena sa PIH. Njena važnost je u tome da smanjuju perfuziju uteroplacentne cirkulacije i predisponiraju spiralne arterije da razviju trombozu, koja je pak baza nastajanja placentnih infarkata (Redman i sar. 2014).

1.2.3. Dijabetes i preeklampsija

Nije sasvim jasno kako se disfunkcija placente pretvara u opštu, sistemsku endotelnu disfunkciju celog organizma. U nastajanju PIH se citokinskom orkestru pridružuju disbalans prostangladina i endokrini poremećaji leptina i inzulina (Conrad i sar.1997; Knight i sar.1998; Liu i sar 1998; Hubel i sar. 1999; Granger i sar.2001; Poston i sar, 2002; Maynard i sar, 2003). Hiperlipidemija i inzulinska rezistencija predstavljaju važan preduslov u nastajanju PIH.



Trudnice imaju u krvnoj slici povećane trigliceride, slobodne masne kiseline i LDL kao deo PIH sindroma (Gruppuso i sar.1981; Kaaja i sar. 1995).

Trudnoća je dijabetogeno stanje kojim dominira inzulinska rezistencija i kompenzatorna hiperinzulinemija (Ryan i sar. 1985). Zaista, ona jeste tranzitorni metabolički sindrom, odnosno, čitav spektar metaboličkih abnormalnosti kao što su hiperglikemija, hiperlipidemija i poremećaj koagulacije. Trudnoća može da demaskira čak i minimalne inzulinske rezistencije i da rezultira pojavom gestacijskog dijabetes melitusa (GDM) (Sattar i sar. 2002).

Svi literaturni podaci ukazuju na istovetne puteve nastanka hipertenzije i metaboličkog sindroma (Rodolfo i sar. 2006; Kourtis i sar. 2012). Možda u svemu ovome treba tražiti zajedničke patofiziološke korenove nastajanja PIH i GDM.

1.3. Gestacijski dijabetes melitus

Gestacijski dijabetes melitus (GDM) je jedan od najzastupljenijih poremećaja u trudnoći (Moradi i sar. 2015) i javlja se u 3-8 % trudnoća (Lee i sar. 2007), a u Americi u 4-7 % trudnoća (Hedderson i sar. 2010). Prvi put se posumnjalo u postojanje gestacijskog dijabetesa još 1961. godine, kada je primećeno da žene koje imaju hiperglikemiju u trudnoći, često imaju i neželjene ishode tokom trudnoće, ali i da razvijaju dijabetes u kasnijem toku života (O'Sullivan i sar. 1961; Lee i sar. 2007; Buchanan i sar. 2007).

Gestacijski dijabetes se definiše kao “različit stepen intolerancije na ugljene hidrate, koji se prvi put javlja u trudnoći” (Padayachee i sar. 2015), odnosno hiperglikemija koja se prvo ispoljila u trudnoći (Moradi i sar. 2015). Druge definicije se odnose na prvo otkrivanje hiperglikemije u periodu od 24 do 28 gestacijske nedelje (Coustan i sar. 1989) ili u drugom ili trećem trimestru (Hedderson i sar. 2010), i njeno spontano nestajanje nakon porođaja (O'Sullivan i sar. 1961).

Gestacijski dijabetes povećava rizik za razvoj perinatalnih komplikacija, a dugoročno postoji rizik da žene sa GDM i njihovo potomstvo obole od DM tip 2 (Hedderson i sar. 2010). Internacionalno udruženje studijskih grupa za proučavanje dijabetesa i trudnoće (*the*



International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) je 2010. godine predložilo nove kriterijume koji su se bazirali na HAPO studiji (*the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) study*). Naime, HAPO studija je postavila čvrste dokaze o tome da hiperglikemija majke, iako ne ispunjava kriterijume za postavljanje dijagnoze gestacijskog dijabetesa, može da uzrokuje komplikacije fetusa i majke tokom i nakon trudnoće. (Moradi i sar. 2015). Prevalenca ove bolesti se razlikuje od zemlje do zemlje i očekuje se njen porast u narednim godinama (American Diabetes Association 2003; Ferrera i sar. 2007; O'Sullivan i sar. 2015), što može imati i uticaj na prevalencu neželjenih efekata trudnoće (Moradi i sar. 2015).

Faktori rizika za nastajanje GDM su starost trudnica (preko 35 godina), gojaznost, istorija bolesti o mrtvorodenim neonatusima, završetak prethodnih trudnoća carskim rezovima. Dok majke sa GDM češće oboljevaju od preeklampsije, imaju prevremeni porođaj i carski rez, bebe rođene u toku GDM trudnoće su krupne ili sa rizikom za makrozomiju (McMahon i sar. 1998).

Razvoj fetalne hiperglikemije kao rezultat povećanog prenosa glukoze iz majčine u fetalnu cirkulaciju je glavni, mada ne jedini faktor koji učestvuje u razvoju makrozomije, hiperinzulinemije i postnatalne hipoglikemije (Hay i sar. 2006; Philipps i sar. 1984). Humani fetusi i odojčad majki sa dijabetesom pokazuju znake intrauterine hipoksije, kao što su povećana hematopoeza, posledična policitemija i neonatalna hiperbilirubinemija (Philipson i sar. 1987).

Eksperimentalno je pokazano (na ovcama i majmunima) da fetalna hiperglikemija i hiperinzulinemija može da ubrza fetalni metabolizam. Promene koncentracije glukoze i inzulina, nezavisno jedan od drugog, utiču na fetalnu potrošnju kiseonika i oksidaciju glukoze. U kratkoročnim studijama, glukoza koja se direktno davala infuzijama tokom 3-4 dana, izazivala je povećanje koncentracije inzulina i glukoze u fetusu, apsorpciju laktata i produkcije laktata u placenti, kao i fetalnu potrošnju kiseonika za 20% - 30% (Philipps i sar. 1984).

Kada je hiperglikemija još viša, ona indukuje još izraženije promene fetalnog metabolizma, dovodeći do fetalne acidoze i na kraju do smrti. Ukoliko se glukoza ubacuje u majčinu cirkulaciju duže, tokom 2-5 nedelja, fetalna glikemija ima slične vrednosti kao i kod akutnih studija. Međutim, ovde su koncentracije inzulina u fetalnoj krvi niže i nema značajne



promene u fetalnoj VO_2 , uprkos velikoj apsorpciji glukoze, niti u uteroplacentnoj produkciji laktata (Hay i sar. 1989; Hay i sar. 2006).

1.3.1. Hipertenzija i GDM

Jedan od nemodifikovanih faktora rizika za nastajanje GDM je i hipertenzija izazvana trudnoćom (Xiong i sar, 2001). Trudnice koje imaju hipertenziju imaju dva puta veći rizik za nastajanje gestacijskog dijabetesa (GDM) (McMahon i sar, 1998).

1.3.2. Aerobni metabolizam

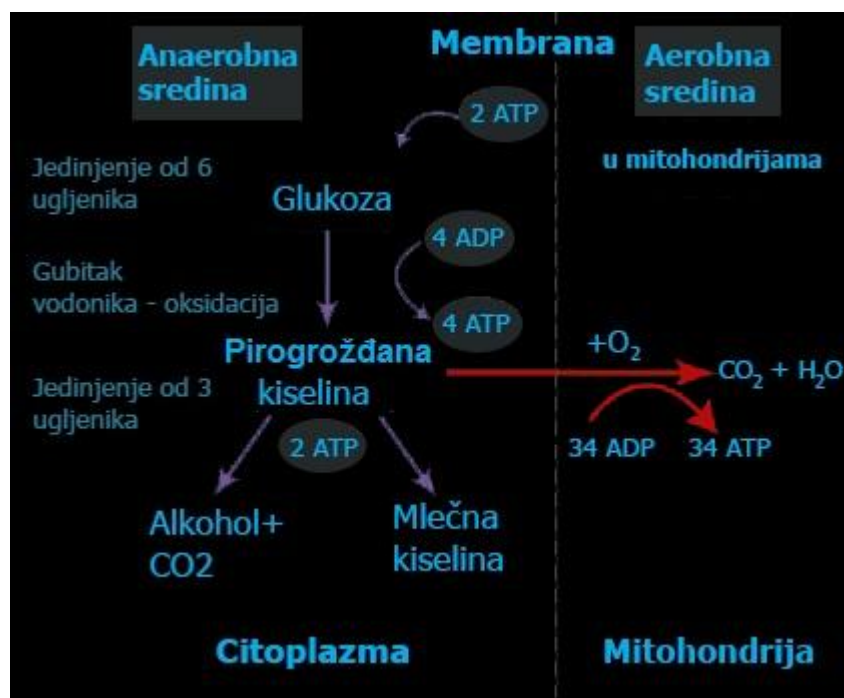
Oksigenacija u fetusu varira zajedno sa transportom kiseonika kroz placenta, I zavisi od placentarne perfuzije i PVO_2 u uterinoj. Da bi oksigenacija tokom samog procesa rođenja bila odgovarajuća, potrebno je da fetalni kardiovaskularni sistem uspešno pređe u kardiovaskularni sistem novorođenog deteta i da se uspostavi adekvatna alveolarna respiracija (Delivoria-Papadopoulos i McGowan, 2011).

Količina kiseonika koje srce troši je velika. Koronarni protok je mera metaboličke aktivnosti srčanog mišića. Sa menjanjem metabolizma srca, menjaju se i lokalni regulatorni mehanizmi zajedno sa protokom arterijske krvi i vraćanjem venske krvi (Guyton i sar. 1968; Delivoria-Papadopoulos i sar. 2011).

Koncentraciju hemoglobina regulišu senzorni mehanizmi bubrega, koji prave ravnotežu između količine kiseonika koji se može dovesti do tkiva, i količine kiseonika koja je zapravo potrebna tkivima. Hipoksija izaziva povećanu ekspresiju faktora indukovano hipoksijom (eng. *hypoxia induced factor* - HIF) koji dovode do sekrecije eritropoetina (Delivoria-Papadopoulos i sar. 2011). Visoke koncentracije hemoglobina, povećavaju viskoznost krvi, time smanjuju protok i dopremanje kiseonika (Schrufer i sar.1962; Thorling i sar.1968; Jelkmann i sar.2001).

Za aerobni metabolizam neophodno je konstantno dopremanje kiseonika. Iako su molekuli kiseonika uključeni u mnoge reakcije aerobnog metabolizma, ipak je njihova primarna uloga da služe kao akceptor elektrona u respiratornom lancu mitohondrija, u procesu ćelijskog

disanja, pri kome se energija nastala glikolizom i ciklusom limunske kiseline deponuje u fosfatnim vezama bogatim energijom u ATP-u. Adenozintrifosfat se stvara i pri anaerobnoj glikolizi, ali se tada iz energetskih supstrata dobija mnogo manja količina energije. Poslednji korak u transportu kiseonika je difuzija od sredine kapilara do ćelija koja zavisi od gradijenta pritiska kiseonika između ćelije i kapilara, razdaljine između najbližeg kapilara i ćelije i difuzionog koeficijenta. Snabdevanje mitohondrija kiseonikom zavisi od gradijenta pritiska kiseonika između ćelije i mitohondrija. Čak i ako se ona smanji količina kiseonika, afinitet kiseonika za hemoglobin to kompenzuje (Slika 5) (Chance i sar. 1965).



Slika 5. Aerobni i anaerobni metabolizam

Preuzeto sa: <http://www.sparknotes.com/biology/cellrespiration/glycolysis/section3.rhtml>



1.3.3. Anaerobni metabolizam

Pri anaerobnom metabolizmu neadekvatna je produkcija ATP-a, i dolazi do nagomilavanja hipoksantina i ksantina. Pod normalnim fiziološkim uslovima, hipoksantin se oksidiše ksantin dehidrogenazom i ksantin oksidazom do urata, sa posledičnim stvaranjem kiseoničnih radikala (O_2) i H_2O_2 (vodonik peroksida) kao nusproizvoda. Za vreme ishemije - reperfuzije, ćelijske promene favorizuju oksidaciju hipoksantina ksantin oksidazom, pri čemu se stvara mnogo veća količina kiseoničnih radikala nego obično. Reaktivne vrste kiseonika utiču na različite ćelijske strukture čime oštećuju ćelije. Oni izazivaju depolimerizaciju polisaharida, lipidnu peroksidaciju, promene primarne strukture aminokiselina, i oksidaciju nukleinskih kiselina. Ovi efekti oštećuju ćelijsku adheziju, normalno funkcionisanje receptora, prekidaju integritet ćelijske membrane, remete funkcionisanje mnogih ćelijskih enzima i oštećuju DNK. Fetus i neonatus su podložni nastajanju ćelijskih oštećenja za vreme ishemije - reperfuzije, zato što imaju nezreo sistem antioksidativne zaštite (Davies i sar. 1987; Spragg i sar 1991; Winterbourn i sar. 1992; Simonson i sar. 1994).

1.3.4. Anaerobna glikoliza

U toku hipoksije stimuliše se anaerobna glikoliza. Srce fetusa ima mnogo veći anaerobni kapacitet nego kod odraslih (Lueder i sar. 1995). Povećane količine adenzin-monofosfata (AMP), prekursora adenzina, su važan regulator protoka krvi kroz srce i mozak. Povećane koncentracije AMP i ADP dovode do lokalnog stvaranja veće količine adenzina, snažnog vazodilatatora. Srce fetusa više zavisi od energije dobijene glikolizom nego srce odraslih (Fisher i sar. 1984; Jones i sar. 1985), pa inhibitori glikolize mnogo više menjaju funkciju srca fetusa nego odraslih.

Akutna fetalna hipoksemija menja metaboličke procese. Kada je manji dotok kiseonika tkivima, povećava se odnos ADP/ATP, što stimuliše glikolizu (Pasterov efekat) i dovodi do povećanja anaerobne produkcije ATP (Harris i sar. 2006). Očekivalo bi se da akutna hipoksija izaziva veću apsorpciju glikoze i produkciju laktata u većini fetalnih tkiva, ali ako je ona teška,



onda nastaju hipoglikemija i metabolička acidoza sa posledičnom nekrozom tkiva (Phillipps i sar. 2011).

1.3.5. Glikogen kod fetusa i neonatusa

Glukoza je vitalni supstrat za fetus koji se razvija i raste (Simmons. 2011). Glavno skladište glukoze je glikogen, glukozni polimer koji se skladišti intracelularno kao precipitat molekulske težine 500 000 daltona ili više. Glikogen se povećano akumulira u jetri i skeletnim mišićima tokom fetalnog života, gde mu količina dostiže maksimum u vreme termina, mada ga ima i u srčanom mišiću, bubrezima, crevima, plućima, mozgu i placenti. Maksimum glikogena se beleži u trenutku kada je trudnoća već prešla 50% do 70% od svog početka, posle čega se nivo glikogena smanjuje do vrednosti koje se i inače sreću kod odraslih osoba kako se trudnoća bliži terminu (Shelley i sar. 1961)

Glikogenoliza je izdvajanje molekula glukoze iz glikogena. Kada je glikogenoliza stimulisana, na primer glukagonom ili kateholaminima, onda je sinteza glikogena inhibisana. U jetri i bubregu fetusa, cepanje glikogena se stimuliše kateholaminima i glukagonom, tokom stresa kakav je hipoksija (Phillips i sar. 1983; Philipps, 2011.) Nastala glukoza se oslobađa u cirkulaciju i u koristi u tkivima. Za razliku od ostalih tkiva, placenta, pluća i srce, koriste glukozu iz sopstvenog glikogena (Phillips i sar. 1983; Philipps. 2011). Ovo predstavlja protektivan mehanizam za srce i placentu, jer ih štiti od iznenadne hipoglikemije.

Još uvek nije dokazano da fetus ima veliki potencijal da reaguje glukoneogenezom. Da bi se glukoza sintetisala iz glutamata ili laktata, ključni enzimi moraju biti prisutni u jetri ili bubregu (Kalhan i sar. 2000). Iako je u nekim studijama pokazano da glukagon stimuliše glukoneogenezu fetusa ovaca blizu porođaja, nisus vi eksperimenti to potvrdili. Istraživanja su pokazala da je glukoneogeneza smanjena, sve do nekoliko poslednjih dana trudnoće kada počinje da raste nivo korišćenja glukoze i za 50%. Ovo se odvija paralelno sa porastom nivoa kortizola i kateholamina u krvi. U studijama gde su gravidne ženke bile podvrgnute gladovanju, stvaranje endogene glukoze je započelo tek nakon druge polovine trudnoće, ali ipak 5 do 6 dana ranije nego što se javlja kod životinja koje nisu gladovale (Rozance i sar. 2008).



Tiroidni hormoni, kortizol i kateholamini utiču na gensku regulaciju i stimulaciju sinteze onih enzima koji učestvuju u glukoneogenezi u jetri. Pošto su to hormoni stresa, ovo može da objasni tu vezu između sinteze enzima glukoneogeneze i hipoksije (hipoksični stres) (Rozance i sar. 2008).

Naime, kako se trudnoća bliži terminu, glukoza je dostupnija, što omogućava izvesnu zaštitu fetusu od hipoksije. Hipoksija i sledstvena sekrecija kateholamina i kortizola, su glavni stimulus glukoneogeneze kod odraslih, a verovatno predstavljaju podsticaj i za vreme fetalnog života (Towell i sar. 1987).

Dokaz da postoji veza između hipoksije i glikogenolize (sudeći po fetusima ovaca i majmuna), je pad količine glikogena i rast koncentracije glukoze u krvi u toku hipoksije i to neposredno nakon njenog početka, u sledećih 30 minuta. Na aktivnu glikogenolizu takođe ukazuje to što se ista količina glukoze oslobađa iz jetre i apsorbuje iz umbilikalne krvi. Međutim, kada je hipoksija prolongirana i ozbiljna, depoi glikogena se ne obnavljaju. Na primer, kod fetusa pacova tokom hipoksiju majke, sinteza glikogena pada na otprilike 60% (Parimi i sar. 2003).

Povećana anaerobna glikoliza može da se dokaže i kroz povećanje produkcije fosfata, kao što je ATP (Lueder i sar. 1995).

Poremećaj prenosa kiseonika kroz placentu kod fetusa dovodi do istovremenog povećanja protoka kroz mozak, omogućavajući prenos kiseonika i hranljivih materija vitalnim tkivima, pre svega mozgu i srcu (Phillips i sar. 2011). Pretpostavlja se da u toku hipoksije fetus stvara značajne količine endogene glukoze, međutim to do danas nije pouzdano poznato (Marconi i sar. 2006)

Homeostaza glukoze se održava njenom akumulacijom u jetri u vidu glikogena za vreme neonatalnog perioda. Glikogen je i glavni izvor energije za mišićne kontrakcije u postnatalnom životu. Promene u apsorpciji glukoze ili njenom metabolizmu, mogu da menjaju funkcionisanje ćelije, pa čak mogu voditi do bolesti i smrti upravo zbog toga što je glikoza glavni metabolit ćelije (Simmons i sar. 2011).



1.3.6. Glikogen fosforilaza BB

U poslednjih dvadeset godina se pokušavalo pronaći senzitivniji biohemijski marker za rano otkrivanje stradanja miokarda. Tako se došlo do glikogen fosforilaze BB (GP-BB) koji je danas senzitivan biomarker srca za rano miokardijalno nekrotično i ishemijsko oštećenje. Izoforme glikogen fosforilaze su prisutne u mozgu, mišićima i jetri. Izoforme jetre i mišića su veoma slične (80%), dok je izoforma koja se nalazi u mozgu suštinski drugačija i može da se razlikuje odgovarajućim senzitivnim imunoesejima (Čubranić i sar. 2012).

Aktivacija i oslobađanje GP-BB u miokardijalnoj ishemiji se dešava kao posledica povećanja degradacije glikogena, kada se GP-BB. Njegov glavni klinički značaj je u razlikovanju ishemije i nekroze (Čubranić i sar. 2012).

Glikogen fosforilaza BB je ključni enzim glikogenolize. Stepennjegove povezanosti sa glikogenoliznim kompleksom sarkoplazmatskog retikuluma zavisi suštinski od metaboličkog stanja miokarda. Kada započne hipoksija i kada se razgradi glikogen, GP-BB iz vezanog prelazi u slobodan oblik. Samo u srcu čoveka i u mozgu može se naći određena količina GP-BB. U prvim kliničkim studijama GP-BB je bio najsenzitivniji marker akutnog infarkta miokarda unutar 4 sata od početka bola u grudima. GP-BB takođe beleži rani porast kod bolesnika sa nestabilnom anginom i reverzibilnim povećanjem ST-T promena na EKG-u u mirovanju (Mair i sar. 1998; Rabitszch i sar. 1995), dok drugi autori tvrde da od on može biti marker samo kod ishemije u odsustvu nekroze. On je u svakom slučaju specifičniji od kreatin kinaze-MB (CK-MB) (Čubranić i sar. 2012).

GP-BB ima nisku vrednost na prijemu pacijenta (otprilike 40%), slično kao i za vreme prvih sati nakon prijema. Postepeno raste i dostiže pik nakon 3 sata, da bi se posle toga postepeno smanjivao za 20-40% do 24 sata. S' obzirom da njegova koncentracija prvo postepeno raste, dostiže relativno rani pik nakon 3 sata, zatim se smanjuje, govori o njegovoj visokoj senzitivnosti i o tome da bi trebalo ozbiljnije protumačiti sve ove oscilacije u prva 24 sata akutnog infarkta (Čubranić i sar. 2012).

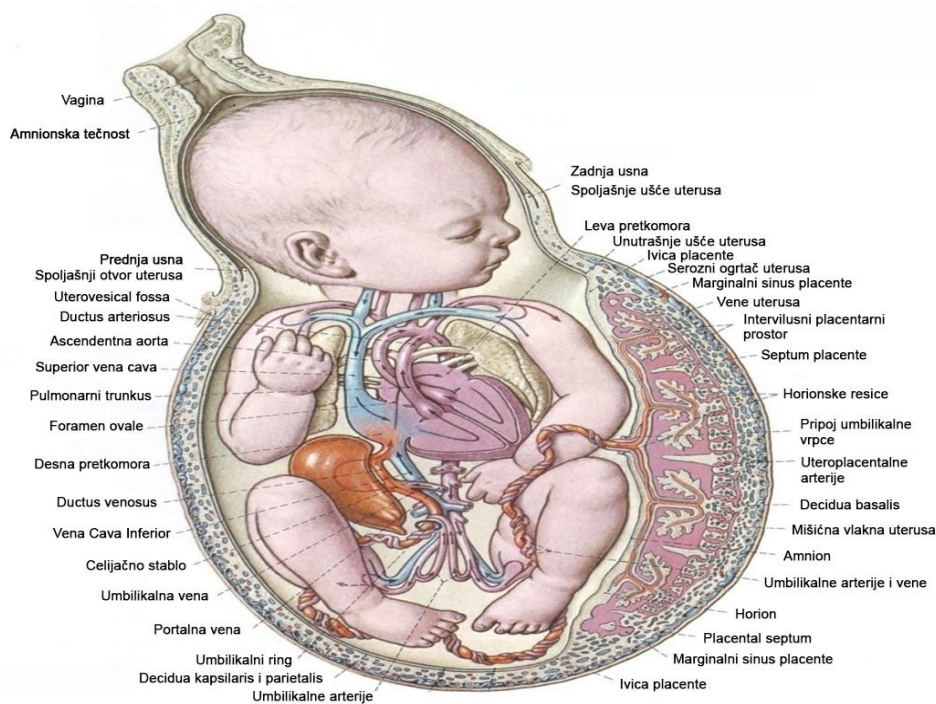
Glikogen fosforilaza BB je senzitivan marker detekcije perioperativnog ishemijskog miokardijalnog oštećenja u perioperativnom period, ali i infarkata kod pacijenata

koji imaju koronarni arterijski bajpas i posledično ishemijsko oštećenje miokarda (Mair i sar. 1998).

1.4. Fiziologija srca fetusa i neonatusa

1.4.1. Fiziologija srca fetusa

U fetusu i leva i desna komora srca rade paralelno, tako da krv koja se istisne iz levog srca i krv koja se istisne iz desnog srca, čini ukupni minutni volumen srca. U humanom fetusu, desna komora znatno više doprinosi ukupnom minutnom volumenu srca od leve komore. Podaci dobijeni ehokardiografijom, ukazuju da desna komora istiskuje oko 60 % ukupnog minutnog volumena srca (Slika 6) (Rasanen i sar.1996; Mielke i sar. 2001).



Slika 6. Kardiovaskularni sistem fetusa

Preuzeto sa: <http://geoffrey-reedlife.blogspot.com/2012/04/fetal-physiology.html>



Nekoliko decenija je bilo potrebno da se razumeju i objasne mehanizmi koji kontrolišu funkcionisanje fetalnog kardiovaskularnog sistema za vreme hipoksije. Ovi mehanizmi obuhvataju karotidne hemorefleksne mehanizme, hormonalne faktore (kateholamine, arginin vazopresin, adrenokortikotropne hormone, kortizol, angiotenzin, i IGF sistem), kao i lokalne odgovore tipa NO i endotelin -1 (Green i sar.2001).

Kardiovaskularni sistem fetusa je u stanju da odgovori na promene vezane za hranljive materije, čak i kada to nije kiseonik (Edwards i sar. 1999; Green i sar. 2001; Edwards, Mcmillen i sar. 2002; Braddick i sar. 2005). Ovo je regulisano karotidnim hemoreceptorima, koji brzo prilagođavaju fetalni kardiovaskularni sistem na promene nastale u hipoksiji, i u koncentracijama glikoze (Green i sar. 2001).

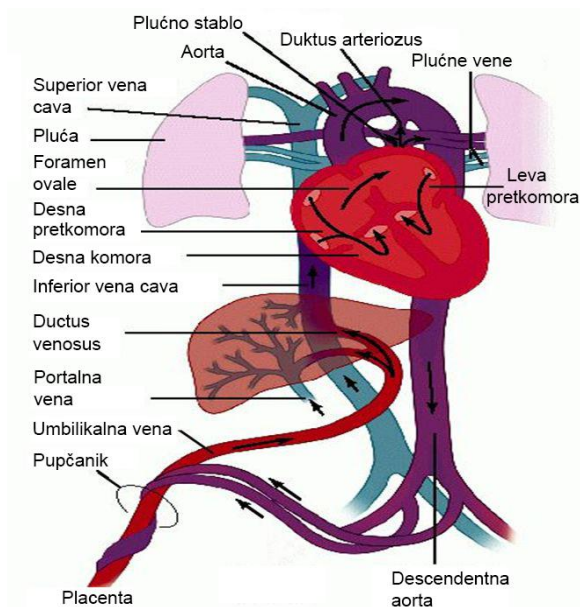
Fetalni EKG pokazuje da nedozreli fetusi imaju veću snagu ukupne energije u poređenju sa zrelijim fetusima, što je konzistentno sa evolucijom i sazrevanjem autonomnog nervnog sistema (Karin i sar. 1993).

1.4. 2. Fiziologija srca neonatusa

Perfuzija tkiva se održava kontinuiranim proticanjem krvi kroz mikrocirkulaciju. Da bi mikrocirkulacija bila funkcionalna, mora da postoji pravilan odnos i interakcija između minutnog volumena srca, *preload* i *afterload*. Minutni volumen je proizvod udarnog volumena i srčane frekvencije, i određen je količinom krvi koja se vraća u srce (*preload*), snagom srčane kontrakcije i otporom, uprkos kome, srce mora da pumpa krv (*afterload*). Kada je srčana akcija normalna minutni volumen zavisi samo od venskog priliva (Starlingov zakon). Normalne vrednosti minutnog volumena desnog i levog srca su kod prematurusa i terminskog neonatusa između 150 i 300 ml/kg/minut (Walther i sar. 1985; Evans i sar. 1996).

Zbog šantova koji postoje u fetalnoj cirkulaciji, krv koja se izpumpa iz srca u trenutku rađanja ne oslikava uvek sistemsku cirkulaciju. Količina krvi u sistemske cirkulaciji određuje se preko gornje vene kave (Kluckow i sar. 2000; Evans i sar. 1996). Normalne vrednosti su između 40 i 120 ml/kg/min, i najčešće rastu od 70 ml/kg/min u 5. satu života do 90 ml/kg/min u 48. satu života (Slika 7) (Kluckow i sar. 2000; Evans i sar. 2000).

Fetalna cirkulacija



Slika 7. Fetalna cirkulacija

Preuzeto sa: <https://www.studyblue.com/notes/note/n/ch-20/deck/3006036>

Snaga srčane kontrakcije zavisi od volumena krvi, pritiska, kao i od integriteta i zrelosti srca. Promene u preladu, kao što su hipovolemija, aritmija srca, zatim prevremeno rođenje ali i napadi hipoksije ili infekcije smanjuju kontraktilnost srca i vode smanjenju minutnog volumena srca (Osborn i sar. 2002).

Novorođeno dete ima karakteristično veliki sistemski otpor usled velike koncentracije katecholamina u krvi, koja se sekretuju odmah nakon rođenja, kao deo procesa adaptacije na postnatalni život. Fiziološki mehanizmi koji se aktiviraju na rođenju su isti kao i oni koje se aktiviraju u toku hipovolemije ili hipotermije ili usled velike doze vazopresina (Kluckow i sar. 2000).

Smanjenje udarnog volumena jedne od komora, svakako utiče na funkciju druge komore (Kluckow i sar 2000). Jako visok sistemski otpor može da kompromituje sposobnost miokarda da ispumpa krv uprkos velikom otporu i da se tom prilikom smanji minutni volumen srca.



Odmah nakon rođenja, otvoren duktus arteriozus ili foramen ovale mogu da poremete cirkulaciju. U situaciji kada je beba izuzetno male telesne težine za gestacijski uzrast, i kada se duktus arteriozus nije zatvorio, usled visokog pritiska sa desne strane, brzo se razvija edem pluća koji dalje kompromituje hemodinamski status ovakvog novorođenčeta u kritičnom stanju (Kluckow i sar. 2000).

Miokard neonatusa se razlikuje od miokarda dece i odraslih. Prva razlika je u tome što srce neonatusa dosta zavisi od koncentracije ekstracelularnog kalcijuma i vrlo je osetljivo na *afterload*. Veliki *afterload* će izazvati disfunkciju miokarda neonatusa mnogo pre, nego kod deteta ili odrasle osobe pod istim okolnostima (Gill i sar. 1993; Anderson i sar. 1996; Noori i sar. 2005).

Nažalost, stanja koja povećavaju otpor u cirkulaciji nisu tako retka. Kada prestane da postoji mali otpor placentarne cirkulacije nakon rođenja, momentalno raste otpor u sistemske cirkulaciji. Ovakvo povećanje sistemskog vaskularnog otpora povećava *afterload* leve komore, sa posledičnim smanjenjem minutnog volumena i razvojem šoka. Ovo se prevashodno dešava kod prematurusa izuzetno male gestacijske starosti, u onom tranzitornom periodu neposredno nakon rođenja kada od fetusa postaje neonatus (Gill i sar. 1993). Srce prevremeno rođene dece sa malim protokom kroz *venu kavu superior*, koji inače reflektuje protok kroz gornji deo tela, osetljivije na *afterload* od prematurusa sa normalnim protokom kroz istu (Osborn i sar. 2007). Iz ovoga se može zaključiti da nedozrela miokardna funkcija može biti odgovorna za smanjenu perfuziju perifernih organa. Miokardu su potrebni meseci da sazri. Prevremeno rođenje je važan uzrok disfunkcije srca samo u periodu odmah nakon rađanja i u toku procesa adaptacije na postnatalni život (Noori i sar. 2011).



Slika 8. Kardiovaskularni sistem fetusa u toku hipoksije

Preuzeto sa: <https://www.slideshare.net/NarendraMalhotra/color-doppler-in-fetal-hypoxia>

1.5. Heat shock proteini (Hsp)

Ponašanje jednog organizma tokom stresa je proizvod sinergističkog delovanja svih njegovih ćelija, kao i prethodnih subćelijskih reakcija. Stres predstavlja: toplota, smanjenje nutrijenata, delovanje reaktivnih vrsti kiseonika ili teških metala, metabolički poremećaji, virusne infekcije i drugo (Singh i sar. 2007). U ćeliji se pokreće mašinerija sinteze različitih molekula, koji pomaže organizmu da prevaziđe opasnost i zaštiti svoje vitalne funkcije. Povećava se ekspresija gena stresa, koji kodiraju sintezu široke klase proteina nazvanih *Heat shock* proteini (Hsp) (Singh i sar. 2007; Vittorini i sar. 2007; Gupta i sar. 2010).

Heat shock proteini se smatraju visoko konzerviranim proteinima ćelijskog stresa, i u smislu njihove funkcije i u smislu njihove strukture, održavajući kroz evoluciju svoju važnu ulogu u ćelijskom preživljavanju (Singh i sar. 2007). Prisutni su u skoro svim subćelijskim strukturama (jedro, mitohondrije, endoplazmatski retikulum, citozol) svih ćelija od prokariota do eukariota i osnovna uloga im je da štite ćeliju (Chaiworapongsa i sar. 2008, Ekambaram i sar,



2011, Liu i sar. 2013). Većina Hsp su inducibilni i eksprimiraju se u odgovoru na bilo koju vrstu stresa. Postoje i konstitutivni Hsp koji se eksprimiraju u fiziološkim uslovima, mada je i njihova sinteza povećana nakon toplotnog stresa (Singh i sar. 2007).

Heat shock proteini se oslobađaju iz ćelije pasivnim ili aktivnim mehanizmima. Pasivno se oslobađaju iz nekrotičnih, a aktivno iz živih ćelija. Mogu se oslobađati slobodni Hsp ili u vidu egzozoma. Oslobodeni, Hsp molekuli se vezuju za specifične receptore na površini specijalizovanih ćelija kakve su monociti, makrofagi, B-ćelije, dendritične ćelije, NK (*natural killer*) ćelije (Chaiworapongsa i sar. 2008). Većina Hsp, nakon sekrecije, interaguje sa drugim proteinima u ćeliji i menja njihovu funkciju (Kiang i sar, 1998).

Heat shock proteini su prvo smatrani za isključivo intracelularne proteine. Njihovo prisustvo u ekstracelularnim prostorima ukazuje na oštećenje tkiva i „signal za opasnost“ (Chaiworapongsa i sar. 2008). Zbog toga oni predstavljaju idealne rane indikatore ćelijskog poremećaja (Gupta i sar. 2010).

Njihova čaperonska uloga je u tome što čuvaju konformaciju proteina, pomažu ispravno sklapanje nascentnih i ispravljaju kvaternu strukturu akumuliranih proteina, tako što sprečavaju njihovu agregaciju (Singh i sar. 2007; Vittorini i sar. 2007; Gupta i sar. 2010). Oni, takođe, regulišu intracelularne procese za vreme ćelijske proliferacije i diferencijacije da bi održavali homeostazu (Chaiworapongsa i sar. 2008). Učestvuju u translokaciji oštećenih proteina (Vittorini i sar. 2007) pri čemu se ponašaju kao indirektna proteaze olakšavajući transport abnormalnih proteina do proteozoma (kako bi se tamo razgradili) ili iz ćelija (Singh i sar. 2007).

Pored ostalog, Hsp predstavljaju antioksidante koji smanjuju količinu reaktivnih vrsti kiseonika i povećavaju nivo glutationa u ćeliji. Heat shock proteini modulišu mnoge događaje tokom pokretanja programirane ćelijske smrti - apoptoze (Ekambaram i sar. 2011). Učestvuju u urođenom i stečenom imunitetu. Naime, u antigen prezentujućim ćelijama, Hsp su uključeni u procese obrade antigena u sklopu MHC molekula, što je neophodno za adekvatno prepoznavanje antigenskih peptida od strane T ćelija i pokretanje celularnog imunskog odgovora. Oni koji se sekretuju iz nekrotičnih ćelija aktiviraju produkciju proinflamatornih citokina preko različitih



ćelijskih površinskih receptora, takođe evolutivno neizmenjenih (CD14, TLR- *Toll like receptor* 1, CD 40 itd) (Chaiworapongsa i sar. 2008).

Hsp se dele po molekularnoj težini, vrsti amino-kiselinskog nastavka i funkcijama. Postoje oni velike molekulske težine - Hsp 100, Hsp 90, Hsp 70, Hsp 60, kao i mali Hsp proteini (Singh i sar. 2007; Chaiworapongsa i sar. 2008; Liu i sar. 2013). Neki Hsp, Hsp 90 i Hsp 110 se mogu naći i u jedru (Singh i sar. 2007). Na primer, Hsp 90 je esencijalan za pluripotentnost mišje stem ćelije (Liu i sar. 2013). Zatim, serumske koncentracije Hsp 60 rastu u ranoj aterosklerozi, a Hsp 70 u perifernoj/ bubrežnoj vaskularnoj bolesti, kao i kod trudnica sa preeklampsijom (Chaiworapongsa i sar. 2008; Singh i sar. 2007). Hsp 70 i drugi su takođe važni i za termotoleranciju (Radford i sar. 1996).

1.5.1. Heat shock protein 27 (Hsp 27)

Heat shock protein 27 je jedan od molekula familije visoko konzerviranih proteina male molekulske mase (Park i sar. 2013). Kao i svi ostali mali Hsp molekuli, i Hsp 27 se može naći u sočivu oka, u srcu, bubrezima, bešici, želucu, skeletnim mišićima i koži (Dubínska-Magiera i sar. 2014). Imaju uloge u bazičnim fiziološkim procesima, kakvi su rast ćelije i njena diferencijacija, ali i u apoptozi, tumorogenezi, ćelijskoj transdukciji i modulaciji citoskeletnih proteina (Wettstein i sar. 2012). Funkcije Hsp 27 su usko povezane sa fosforilacijom njegovih serinskih rezidua, gde je on aktivan kada je u fosforilisanom stanju (Ekambaram i sar. 2011).

Kod ljudi je identifikovano 11 Hsp koji su u vezi sa kristalinom, i po novoj nomenklaturi označeni su kao HSPB1 – HSPB11. Hsp 27 je HSPB1 (Kampinga i sar. 2009).

Tokom aktivnosti malih Hsp molekula ne troši se energija (Dubínska-Magiera i sar. 2014). Mali Hsp deluju kao čaperoni u ćeliji i prvi ispravljaju pogrešno sklopljene polipeptide tokom sinteze proteina. Ukoliko se ovo u startu ne popravi, ovakvi proteini pokazuju tendenciju da dalje precipitiraju, što dalje remeti kvaternu strukturu i funkciju proteina i rezultuje nastajanjem bolesti, kao što su skeletne i srčane miopatije, ali i neurološki poremećaji, pa ih mali Hsp održavaju u solubilnom obliku (Federico i sar. 2005; Wettstein i sar. 2012; Park i sar. 2013, Dubínska-Magiera i sar. 2014).



Među ulogama koje ima u ćeliji, važna je i ona gde Hsp 27 kontroliše dinamiku citoskeleta. Od citoskeleta zavisi oblik ćelije, ali i njena deoba i međusobna interakcija u tkivima (Ekambaram i sar. 2011; Wettstein i sar. 2012).

Aktin i tubulin su glavni globularni proteini koji formiraju mikrofilamente i mikrotubule, ali u isto vreme i sami predstavljaju visoko konzervirane proteine i najvažnije mesto delovanja Hsp 27 u citosketu (Wettstein i sar. 2012). Ispostavilo se da je fosforilacija i translokacija Hsp 27 od citozola do miofibrila ili nukleusa, jako važan korak za očuvanje fragmentacije aktina i degradacije mikrotubula (Chen i sar, 2005). Fosforilisani oblik Hsp 27 ima ulogu da stabilizuje F- aktinska vlakna u kardiomiocitima u stresu (Venkatakrisnan i sar. 2006), čijom bi se inhibicijom dovelo do dezorganizacije aktinskih filamenata (Wettstein i sar. 2012).

1.5.2. Mali Hsp i mišićno tkivo

Stres dovodi do povećane sinteze Hsp 27, koji zauzvrat povećavaju toleranciju srca na ishemiju (Chen i sar. 2005; Scheler i sar, 1997), održavajući integritet citoskeleta (mikrotubula i aktina) (Chen i sar. 2005).

Hsp 27 gen je target gen za transkripciju MEF2 faktora koji regulišu napredne faze miogeneze, odnosno razvoja mišića (Dubiška-Magiera i sar. 2014). Rana ekspresija HSPB1 (Hsp 27), HSBP8, HSBP5, ali i HSBP6 i HSBP2 postoji tokom razvoja srca čije prisustvo omogućava odgovarajući razvoj srca, a njegovo smanjenje razvoj malformacija (Brown i sar. 2007).

HSBP1 nije obavezan za morfogenezu, ali je važan za održavanje mišićnog integriteta u normalnim uslovima i u odgovoru na stres (Dubiška-Magiera i sar. 2014). Na subcelularnom nivou, Hsp 27 je važan za ćelijski motilitet i adheziju ćelija (Brown i sar, 2007).

Ograničeni stres, takođe, indukuje ekspresiju Hsp 27 selektivno u vaskularnom tkivu, kao i fiziološku ekspresiju Hsp u vaskularnom tkivu opterećenom hipertenzijom (Brophy i sar. 1998). Ekspresija Hsp 27 je velika u umbilikalnoj vrpici, a manja u placenti (Li i sar. 1996).



Uloga malih Hsp molekula je i kontrola redoks statusa (Federico i sar, 2005; Wettstein i sar, 2012). Veliki broj mitohondrija u kardiomiocitima doprinosi stvaranju značajne količine slobodnih kiseoničnih radikala, što ukazuje na neophodnost održavanja redoks balansa u kardiomiocitima. U tom procesu imaju ulogu mali Hsp (Christians i sar, 2012), a među njima i konstitutivno prisutan Hsp 27 (Schimke i sar. 2000; Seemampillai i sar. 2014). Njegova uloga kao antioksidanta je posebno važna u zaštiti aktinskih vlakana srca od oksidativnog stresa (Shama i sar. 1999; Dubińska-Magiera i sar. 2014).

U srčanom mišiću se nalaze slični protektivni mehanizmi Hsp 27 kao u skeletnoj muskulaturi. Hsp 27 u skeletnim mišićnim ćelijama povećava nivo glutaciona i čini time ćeliju otpornom na slobodne kiseonične radikale (Dubińska-Magiera i sar 2014). Takođe, intenzivira aktivnost glukozo-6-fosfat-dehidrogenaze (G6PD), koja je odgovorna za održavanje GSH nivoa, a za koji se zna da štiti od oštećenja nastalih ishemijom i reperfuzijom (Preville i sar. 1999). Ovo se slaže sa nalazima da smanjivanje Hsp transkripcionog faktora 1 (HSF1) u kardiomiocitima, dovodi do smanjivanja količine Hsp 27 (HSBP1) i posledičnog smanjivanja G6PD aktivnosti. Povećani Hsp 27 smanjuje time šansu za razvoj hipertrofije srca i nastanak kardiomiopatije (Dubińska-Magiera i sar. 2014).

Hsp 27 koncentracija je povećana u srčanoj insuficijenciji (Dohke i sar. 2006). Akutna ishemija dovodi do ushodne regulacije Hsp 27 (White i sar. 2006), jer fosforilisani Hsp 27 štite i endotel od ishemije (Chen i sar. 2005), pa tako srca miševa sa velikom ekspresijom Hsp 27 imaju manje oštećenja tokom ishemijskih i reperfuzionih procesa. Hsp 27 su i protektivni faktor od ateroskleroze krvnih sudova (Seemampillai i sar. 2014).

Antiapoptotička i antioksidativna aktivnost Hsp 27 su skoro u potpunosti proučavane na ćelijskim kulturama. Ove aktivnosti u organizmu su kompleksnije, jer obuhvataju interakciju između različitih organa (Seemampillai i sar. 2014). Apoptozu izazivaju dva glavna puta, unutrašnji i spoljašni, koji dovode do aktivacije kaspaza. Hsp 27 smanjuje aktivnost kaspaze 3 i reguliše ekspresiju kaspaze 1, i tako ostvaruje svoje antiapoptotične i antiinflamatorne efekte (Seemampillai i sar. 2014). Kako što je poznato, apoptoza je osnovni proces remodelovanja srca tokom porođaja. Time je očigledna uloga Hsp 27 u procesu nastajanja funkcionalnog srca neonatusa (Patterson i sar. 2010).



Eksperimenti sprovedeni na transgenim miševima sa pojačanom ekspresijom Hsp 27 su pokazali da je prisutvo ovog proteina u srcu ograničeno isključivo na kardiomiocite, dok izostaje u endotelnim i intersticijskim ćelijama srca. Druge studije su sugerisale da i makrofagi takođe sadrže i sekretuju Hsp 27. Pojačana ekspresija Hsp 27 u monocitima ili dendritičnim ćelijama govori da oni moduliraju antigensku prezentaciju, što može biti potencijalni mehanizam odlaganja akutne reakcije odbacivanja srčanog alokalema, zabeleženog u ovom eksperimentu. (Seemampillai i sar. 2014).

Alfa B kristalin se vezuje za fosforilisani Hsp 27, umanjujući mu potentnost, i omogućavajući remodelovanje citoskeleta miometrijuma za vreme porođaja. Za vreme porođaja dolazi do povećanja fosforilacije Hsp 27-Ser15 i smanjenja Hsp 27- ser 82 fosforilacije. Pokazalo se da fosforilacija na ser15 u stvari dozvoljava vezivanje i stabilizaciju aktinskih filamenata (Wettstein i sar, 2012). Na primer, kod dece sa kongenitalnim vaskularnim šantom, mehaničke sile indukuju menjanje različitih vazoaktivnih faktora rasta, dovodeći do remodelovanja pulmonarnih arterija. Proliferacijom endotelnih i vaskularnih glatkomišićnih ćelija, povećava se vaskularna muskulatura i sužava lumen krvnih sudova. Hsp 27 je uključen u morfološke promene vaskularnog endotela. Ekspresija Hsp 27 koreliše sa pritiskom u pulmonarnim arterijama i povećanim plućnim vaskularnim protokom (Geiger i sar. 2009).

1.5.3. Heat shock protien 70 (Hsp 70)

Hsp 70 je najviše proučavan Hsp (Chaiworapongsa i sar. 2008; Liu i sar. 2013). Visoko je inducibilan i najaktivnije sintetisan Hsp u ćeliji. Vrsta Hsp 70 proteina ima visoko konzervisanu sekvencu, koja je ista u organizmima od E. Koli do čoveka (Singh i sar. 2007). Uglavnom je prisutan u citoplazmi ćelije (Liu i sar. 2013). Kod sisara postoji najmanje 17 Hsp 70 gena koji su locirani na različitim hromozomima. Tri Hsp 70 gena su mapirana unutar glavnog histokompatibilnog kompleksa u III regionu na kratkom kraku šestog hromozoma (6p21.3) (Singh i sar. 2007). To su geni bez introna: Hsp 70-1 (HSPA1A), Hsp 70-2 (HSPA1B) I Hsp 70-Hom (HSPA1L). Ovakav koncept kontinuiranog genskog zapisa, bez introna, je karakterističan i važan za one gene koji se brzo aktiviraju na transkripcijskom nivou. Suprotno ovome, gen za



Hsp 70 koji je konstitutivno eksprimiran, dakle u ćeliji u mirovanju, ima 8 introna (Singh i sar. 2007).

Hsp 70 je važan za održavanje ćelijske homeostaze za vreme normalnog rasta ćelije. U normalnim uslovima, postoji mala količina Hsp 70 u citoplazmi, dok njegova sinteza naglo raste tokom stresa, kada njihova količina može činiti 15% ukupnih proteina u ćelijama (Liu i sar. 2013). Hsp 73 je prisutan konstitutivno, dok je Hsp 72 visoko inducibilan i pod kontrolom transkripcionog faktora "heat shock factor" (Chaiworapongsa i sar. 2008).

Hsp 70 redukuje stepen disfunkcije organa (posebno pluća) i mortalitet u životinjsim eksperimentima, kao posledicu sepse, smanjuje apoptozu hepatocita indukovanu TNF- α (tumor necrosis factor alpha), umanjuje neurološka oštećenja u degenerativnim bolestima, toliko da se familija Hsp 70 gena smatra odgovornim za ljudsku dugovečnost (Chaiworapongsa i sar. 2008).

Odbrambeni mehanizmi u borbi protiv mnogih infektivnih bolesti, posebno protiv intracelularnih patogena (*Chlamydia trachomatis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Plasmodium falciparum*) podrazumevaju Hsp 70 kao imunodominantni antigen. Imunizacija Hsp 70 pročišćenim iz patogena štiti od tuberkuloze, peptičnih ulkusa izazvanih helikobakterom, i infekcija jersinijom enterokolitikom i stvara efektivan specifičan antitumorski imunitet (Chaiworapongsa i sar. 2008).

Hsp 70 je takođe uključen u mehanizme nastanka nekoliko autoimunih bolesti: sistemski lupus eritematozus, reumatoidni artritis, Gravesova bolest i Hašimoto tiroiditis (Singh i sar. 2007), usled mimikrije sopstvenih i patogenih Hsp. Kada su T ćelije imunog sistema iz sinovijalne tečnosti pacijenata sa reumatoidnim artritisom bile stimulisane Hsp molekulima iz seruma pacijenta, one su produkovale Th2 tip citokina (Interleukin 4 i 10), koji su protektivniji od Th1 proinflamatornog odgovora (interferon gamma) koji se oslobađa iz T ćelija kada su one stimulisane bakterijskim Hsp molekulima (van Roon i sar. 1995).

Hsp 70 koristi TLR-2 (Toll like receptore 2 - receptor za Gram+ bakterije) i TLR-4 (receptor za Gram- bakterije) da indukuje nuklearni faktor - kappa B (NF κ B), i izazove proinflamatorni odgovor u CD14 zavisnom maniru. Ovaj protein učestvuje u MHC molekulima, u prezentovanju procesuiranih antigena antigen-prezentujućim ćelijama, što rezultuje



indukovanjem T- ćelijskog odgovora u adaptivnom imunitetu. Solubilnan, ali i vezan za ćelijske membrane, Hsp 70 može direktno da aktivira citolitičke i migratorne osobine NK ćelija (Chaiworapongsa i sar. 2008).

Mitohondrijalni Hsp 70 (mtHsp 70) je važan za prenos proteina kroz mitohondrijalnu membranu u matriks. On raste pri oksidativnom i nitrogenom stresu, zajedno sa acidifikacijom u preeklampsi. Mitohondrijalni Hsp 70 može da suprimira mitohondrijalnu produkciju slobodnih kiseoničnih radikala, preko stabilizacije citohroma c i drugih važnih komponenti elektronskog transportnog lanca, a sve u svrhu povećanja antioksidantnih mehanizama mitohondrija (Ekambaram i sar. 2011).

Antiapoptotičnu ulogu Hsp 70 može da ostvaruje sam, ili uz pomoć svojih molekula - košaperona koji mu dosta olakšavaju i pojačavaju efekte. Povećana ekspresija Hsp 70 može i da uspori rast i potencira ćelijsku smrt, što rezultuje komplikacijama kod majke i fetusa (Ekambaram i sar. 2011).

1.5.4. Heat shock protein 70 tokom intrauterinog razvoja

Neki autori tvrde da koncentracije Hsp 70 rastu sa gestacijskom starošću, dok se drugi sa tim ne slažu. U svakom slučaju srednja vrednost njihovih koncentracija je mnogo niža u serumu žena koje nisu trudne (Chaiworapongsa i sar, 2008).

Porodaj, i prvi sati nakon porođaja, su jaki stresori po majku i fetus (Li i sar. 1996, David i sar. 2000), kada dolazi do aktivacije simpatiko-adrenalnog sistema i povećane sekrecije adrenokortikotropnih hormona (ACTH). Pokazano je da indukcija porođaja povećava deset puta senzibilnost fetalne adrenalne žlezde na ACTH, što dovodi do skoka kortizola, koji je zapravo stvarni fetalni signalni okidač za pravi početak porođaja. To što adrenalni Hsp, takođe pokazuje povećanu ekspresiju u odgovoru na ACTH, podržava činjenicu da je Hsp možda i odgovoran za regulaciju početka porođaja (Li i sar. 1996). Da bi se odredila potencijalna uloga stres proteina, važno je odrediti njihov nivo ekspresije (David i sar, 2000). U serumu majke i serumu umbilikalne krvi tokom porođaja, velika je koncentracija Hsp 70 molekula, pogotovu kod prevremenih porođaja (Chang i sar. 2013). Kompleks Hsp i njegovog specifičnog antitela je



detektovan u placenti nekih porodilja koje su se prevremeno porodile (Chaiworapongsa i sar. 2008).

Tokom porođaja se intracelularni Hsp 70 vezuje za progesteronske receptore funkcionišući kao korepresor ovih receptora i smanjujući vezivanje progesterona u jedru (*nuklearni response element*). Nije razjašnjen mehanizam koji dovodi do povećane amnijske koncentracije Hsp 70 kod terminskog spontanog porođaja. Moguće je da oslobađanje Hsp 70 iz intracelularnih prostora može biti u vezi sa inflamatornim odgovorom i remodelovanjem tkiva u terminu. Ekstracelularni Hsp 70 bi direktno mogao da stimuliše produkciju prostanglandina koji dovodi do porođaja, budući da indukuje ekspresiju ciklooksigenaze a i produkciju prostaglandina (PGE2) u humanim umbilikalnim venskim endotelnim ćelijama (Chaiworapongsa i sar. 2008).

Kod porođaja komplikovanih intraamnijskim infekcijama, koncentracija Hsp 70 je bila još viša i to nezavisno od intaktnosti fetalnih membrana (Chaiworapongsa i sar. 2008; Chang i sar. 2013). Endotoksin izaziva povećanu ekspresiju iRNK za Hsp 70 u kulturama humanog ljudskog amniona (Menon i sar.2001). Neki autori su pokazali da je u stvari amnion glavni izvor Hsp 70 u amnijskoj tečnosti, a ne placenta, posebno kod trudnoća sa infekcijama. Na primer, mikoplazma hominis povećava stvaranje intraamnijskih Hsp 70. Bakterijski endotoksini i Hsp 70 mogu da stimulišu TLR-2 i TLR-4 i da aktiviraju NFkB, i tako indukuju mononuklearne ćelije i makrofage da produkuju pro-inflamatorne citokine, uključujući i IL1, IL6 i TNF-alfa, što dalje vodi do sinteze prostaglandina i prevremenog porođaja (Chaiworapongsa i sar. 2008). Placenta nakon izlaganja ultrazvuku ima veći stepen apoptoze i povećanu ekspresiju Hsp 70, što se može tumačiti njegovom protektivnom ulogom (Liu i sar. 2013).

Koncentracija Hsp 70 najniža je kod zdravih, viša kod hipertenzivnih i najviša kod trudnica koje boluju od preeklampsije (Zhu i sar. 2014). Eksperimentalno je pokazan značaj uloge Hsp 70 u zaštiti normalnog razvoja embriona. Važna je uloga Hsp u bubregu, a posebno srcu koje je veoma osetljivo na ishemiju i oksidativni stres (Chaiworapongsa i sar. 2008).

Povećane vrednosti Hsp 70 u cirkulaciji su prisutne kod kardiovaskularnih (Singh i sar. 2007), renovaskularnih bolesti, ateroskleroze i hipertenzije. Imaju važnu ulogu u održavanju arterijske ćelijske homeostaze za vreme vaskularnog remodelinga (Geiger i sar. 2009).



1.6. Troponini

1.6.1. Histološka građa srca

Sarkomera kardiomiocita je sagrađena od kontraktilnih proteina (aktina, miozina, tropomiozina) i troponinskog kompleksa. Troponinski kompleks reguliše interakciju između tankih (aktinskih i tropomiozinskih) i debelih (miozinskih) vlakana u porečno-prugastoj muskulaturi u zavisnosti od koncentracije intracelularnog kalcijuma (Sasse i sar. 1993; Bader i sar. 2006). Troponinski kompleks (Tn) je inhibitorni proteinski kompleks, koji je deo kontraktilnog aparata svih poprečno-prugastih mišića, uključujući i srce (Clark i sar. 2004).

1.6.2. Funkcija i značaj troponina

Troponinski kompleks se nalazi u tankim filamentima poprečno prugastih mišića kontraktilnog aparata i sastoji se od tri proteina (Sasse i sar. 1993, Maynard i sar. 2000; Bader i sar. 2006). To su u srcu troponin T (cTnT), težine 39kD, troponin I (cTnI), težine 26kD i troponin C (cTnC), težine 18kD, od kojih je svaki izomer kodiran posebnim genom (Maynard i sar. 2000). Ove specifične forme sve tri subjedinice postoje u različitim tipovima mišića (Clark i sar. 2004). Troponin C srca je identičan skeletno-mišićnim, dok se cTnI i cTnT razlikuju od onih iz skeletnih mišića (Bader i sar. 2006).

Svaka od ovih subjedinica postoji u vidu različitih izoformi koje su povezane sa različitim mišićnim tipovima, a to su brzi i spori skeletni i srčani mišići (Sasse i sar. 1993). Na primer, identifikovane su tri izoforme TnI proteina, koje su sve produkti 3 posebna gena. U odraslom mišiću, ove izoforme su podeljene na one u brzim skeletnim vlaknima (fTnI), zatim sporim skeletnim mišićnim vlaknima (sTnI) i na one u srčanom mišiću (cTnI) (Sasse i sar. 1993).

Važna karakteristika izoforme iz srca je da imaju N- terminalnu sekvencu sa serinskim ostacima, koji se fosforilišu u odgovoru na adrenergičku stimulaciju srca. Ovu sekvencu ne poseduju brza i spora skeletno-mišićna vlakna. Fosforilacijom cTnI menja se afinitet troponinskog kompleksa za Ca^{+} , a samim tim menjaju se kontraktilne karakteristike srca (Sasse i



sar. 1993). Srčani TnI se oslobađa u cirkulaciju tokom oštećenja srčanog mišića i predstavlja senzitivni i specifični marker oštećenja miokarda i u ishemijskim i u neishemijskim uslovima (Fleming i sar. 2000).

Troponin I inhibira Mg-ATP-aznu pumpu i stvaranje proteinskih mostova, koji spajaju aktinska i miozinska vlakna. Troponin C se aktivira vezivanjem za kalcijumove molekule, privlači cTnI i aktivira Mg-ATP-aznu pumpu, dok cTnT vezuje troponinski kompleks za tanke filamente preko tropomiozina otkrivajući vezujuća mesta na aktinu (Bader i sar. 2006; Nomura i sar. 2009; Kocylowski i sar. 2009).

Srčani troponini, cTnT i cTnI, su najsenzitivniji biohemijski markeri nekroze miokarda, čije koncentracije rastu 2 sata od početka razvoja infarkta miokarda, i mogu da ostanu povišene čak i do 2 nedelje (Almeida i sar. 2011). Njihove koncentracije se mogu registrovati i nakon minimalnih oštećenja miokarda (Clark i sar. 2004). Tačan mehanizam kojim se cTnT oslobađa, kao i način kako nestaje iz seruma nisu potpuno jasni (Maynard i sar. 2000), ali je činjenica da on predstavlja i marker subkliničkog oštećenja kardiomiocita (Nomura i sar. 2009).

Zbog svoje veličine, troponini ne prolaze placentnu barijeru (Clark i sar. 2004). Postoje 2 izoforme TnI proteina humanog fetalnog srca, to su srčani cTnI i spori skeletni sTnI. Obe ove forme imaju različite strukturne i fiziološke uticaje na kontraktilne sposobnosti miokarda (Sasse i sar. 1993).

Promene koncentracija srčanih i skeletnih izoformi troponina su bile pokazane tokom razvoja srca na animalnim modelima. Bazični molekulski mehanizam neonatalne fiziologije srca zasniva se na modelu menjanja preraspodele troponina. U fetalnom srcu je predominantna skeleton-mišićna izoforma sTnI. Posle rođenja, ova spora skeletna sTnI izoforma se gubi, i u devetom mesecu postnatalnog razvoja srčani cTnI postaje jedina izoforma koja se može detektovati u srcu. Proteinske izoforme i njihove iRNK prate isti obrazac akumulacije u ćeliji, što govori o tome da se cela troponinska ekspresija nalazi pod genskom regulacijom. Ta razvojna promena cTnI izoforme ima uticaj na kontraktilnost fetalnog i (postnatalnog), kasnije neonatalnog srca (Sasse i sar. 1993). Literaturni podaci ukazuju da je uzrok relativne



neosetljivosti neonatalnog miokarda na nizak pH i acidozu upravo prisustvo skeletnih formi sTnI u troponinskom kompleksu (Sasse i sar. 1993).

2. RADNE HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA



2.1. Radne hipoteze

Fetalno programiranje je disciplina koja poslednjih godina postaje sve značajnija. Rezultati mnogobrojnih istraživanja na životinjama su postepeno upotpunjavali sliku o značaju razvoja tkiva i kvaliteta tkiva za odrasli organizam. Shvatilo se da kada su ispunjeni određeni preduslovi tokom trudnoće, kao što su zastoj u razvoju ploda ili prevremeni porođaj, da kasnije u životu dolazi do razvoja određenih bolesti. Ta prva zapažanja su vodila detaljnijim istraživanjima, koja su obelodanjivala nova zapažanja i pravilnosti u ponašanju ćelija.

Ova studija bi trebalo da upotpuni već postojeća znanja o adaptaciji srca na stres u toku trudnoće i procesa rađanja, u smislu da postavi moguće temelje o tome gde bi trebalo terapijski da se deluje na metaboličke promene u srcu neonatusa, pre nego da nastanu morfološke lezije ili da da odgovor kako se dijagnostički može registrovati rizik, pre nego što promene postanu vidljive ultrazvukom.

Na osnovu saznanja iz literature i na osnovu zapažanja iz kliničke prakse, postavljene su sledeće radne hipoteze:

1. miokard neonatusa poseduje evolutivno konzervisane molekule - heat shock proteine,
2. stres utiče na akutnu sintezu heat shock proteina u neonatalnom miokardu,
3. količina heat shock proteina stvorenih u tkivu miokarda fetusa se razlikuje u zavisnosti od stanja trudnoća u kojima su se fetusi razvijali,
4. karakteristike samog porođaja utiču na remodeliranje tkiva miokarda fetusa, koje se odigrava u završnim trenucima porođaja i
5. heat shock proteini, troponini i glikogen fosforilaza mogu da se koriste u dijagnostikovanju mikrolezija srca na rođenju.



Predmet istraživanja

Predmet istraživanja je zasnovan na činjenicama da su glikogen fosforilaza BB, troponin i heat shock proteini senzitivni markeri miokardijalnog stresa, i predstavlja utvrđivanje njihovog značaja kao pokazatelja stanja kvaliteta tkiva miokarda novorođenčeta.

2.2 Ciljevi istraživanja

Da bi se proverile navedene hipoteze, postavljeni su sledeći ciljevi:

1. pokazati da se koncentracije troponina i GP-BB u umbilikalnoj krvi neonatusa rođenih iz fizioloških trudnoća razlikuju u odnosu na trudnoće komplikovane dijabetesom ili preeklampsijom,
2. pokazati da se koncentracije Hsp 70 i Hsp 27 serumu umbilikalne krvi neonatusa rođenih iz fizioloških trudnoća i trudnoća komplikovanih dijabetesom ili preeklampsijom razlikuju,
3. pokazati uticaje različitih karakteristika trudnoća i porođaja na koncentracije glikogen fosforilaze, troponina i heat shock proteina,
4. ispitati međusobnu povezanost koncentracija troponina, Hsp 70 i Hsp 27 i glikogen fosforilaze proteina srca,
5. utvrditi postojanje povezanosti koncentracija troponina, Hsp 70 i Hsp 27 i glikogen fosforilaze u umbilikalnoj krvi sa karakteristikama trudnoće i porođaja.

3. ISPITANICI I METODE



Istraživanje predstavlja prospektivnu studiju koja obuhvata trudnice koje su došle zbog porođaja na Labor and Delivery Floor, MS Roosevelt Hospital (sada Mount Sinai West Hospital), New York, NY. Istraživanje je odobrio Institutional Review Board of St. Luke's-Roosevelt Hospital Center, u skladu sa Federal Wide Assurance (FWA#00003834) to the Department of Health and Human (IRB (HS#) #: 14-0171). Svim pacijentkinjama je detaljno opisana studija, objašnjena je njena svrha, kao i procedure koje studija podrazumeva, čime im je data i mogućnost da odluče da li će učestvovati u istraživanju. One pacijentkinje koje su pristale, potpisale su dokument o pristanku - „*informed consent*”.

3.1. Ispitanici

U istraživanju je učestvovalo 120 trudnica, podeljenih u četiri grupe: dve kontrolne i dve eksperimentalne. Svaka grupa je imala 30 ispitanica. Prvu kontrolnu grupu su činile trudnice bez zdravstvenih problema izazvanih trudnoćom, koje su se porodile vaginalnim porođajem (VAG), dok su drugu kontrolnu grupu činile trudnice koje su se porodile carskim rezom (CS). Dve eksperimentalne grupe su činile trudnice sa gestacijskim dijabetesom (GDM) i trudnice sa kliničkim ili laboratorijskim znacima preeklampsije (PIH).

U GDM grupu su uključene trudnice kod kojih je dijagnostikovao gestacijski dijabetes u periodu od 24 do 28 nedelja gestacijske starosti, koje su imale na GCT (glucose challenge test), sat vremena nakon ispijanja 50 g glukoze, vrednost glukoze krvi $\geq 130-140$ mg/dL, i koje su nakon toga na dijagnostičkom testu, 3 sata nakon ispijanja 100 g glukoze (OGTT) ili 2 sata nakon ispijanja 75 g glukoze i dalje imale visok nivo glukoze u krvi, što je procenjivano u skladu sa podacima iz literature (Metzger i sar, 2007). Sa tim dodatkom da su neke trudnice razvile GDM i tokom trudnoće, nakon 24 nedelje. Grupu PIH su činile sve trudnice sa ili laboratorijskim ili kliničkim znacima preeklampsije.



3.2. Metode

Materijal za istraživanje je uzet iz bolničkih izveštaja o stanju trudnica, fetusa i neonatusa. Radi se o podacima koji se tiču kliničkog stanja trudnice, nalaza sa ultrazvuka, kardiokograma (KTG) i monitoringa srčanog rada fetusa (fetalna srčana frekvenca- FSF), rutinskih laboratorijskih i kliničkih procedura (krvna slika, gasne analize u krvi). U istraživanju su uzete u obzir sve informacije iz istorija bolesti koji se tiču prenatalnih, postnatalnih i perinatalnih događaja, a u vezi su sa trudnicom, fetusom i kasnije neonatusom, kao i podaci o koncentracijama ispitivanih molekula u venskoj umbilikalnoj krvi neposredno nakon porođaja.

Kategorija I FSF predstavlja normalni srčani rad fetusa koji nije u uslovima asfiksije. Radi se o frekvenci srca između 110 i 160 otkucaja, umerene varijabilnosti koja se definiše kao “fluktucije monitoringa srca fetusa, odnosno iregularne promene u amplitudi i promene frekvencije od 6-25 otkucaja”, ali bez kasnih ili varijabilnih deceleracija. Kategorija II monitoringa FSF obuhvata sledeći dijapazon: bradikardiju sa varijabilnošću, tahikardiju, minimalnu varijabilnost ili pak izraženu varijabilnost, monitoring bez varijabilnosti, ali i bez povratnih deceleracija, odsustvo indukovanih akceleracija čak i nakon fetalne stimulacije, povratne varijabilne deceleracije sa minimalom ili umerenom bazalnom varijabilnošću, prolongirane deceleracije koje traju više od dva minuta, ali manje od 10 minuta, povratne deceleracije sa umerenom varijabilnošću, ili varijabilne deceleracije sa otežanim vraćanjem u bazično funkcionisanje srca. Smatra se da je smanjena varijabilnost FSF najpouzdaniji pokazatelj patnje fetusa. Kategorija III je abnormalna i ukazuje na hipoksiju i moguću acidemiju (ACOG, 2010).

Indeks telesne mase (body mass index - BMI) računat je kao telesna masa u kilogramima podeljena kvadratom visine u cm (ACOG, 2013). Svetska zdravstvena organizacija (WHO, 1997) i National Institute of Health (NIH, 1998) su definisali BMI ispod 18,5 kao pothranjenost, 18,5- 24,9 kao normalnu težinu, 25–29,9 prekomernu težinu, a iznad 30 BMI kao gojaznost. Dalje se gojaznost klasifikuje kao klasa I (30 –34,9), klasa II (35–39,9) i klasa III (više od 40).



Tabela1. Preporučene vrednosti telesne težine tokom trudnoće (ACOG 2013).

Kategorija telesne mase	BMI (kg/m ²)	Preporučeni opseg ukupno dodate telesne težine u toku trudnoće (kg)	Preporučeno dodavanje telesne težine u 2. i 3. tromesečju (kg/gestacijskoj nedelji)
Pothranjenost	< 18,5	12,7- 18,14	0,45 (0,45- 0,59)
Normalna težina	18,5- 24,9	11,34- 15,87	0,45 (0,36-0,45)
Višak telesne mase	25 - 29,9	6,80- 11,34	0,27 (0,23- 0,32)
Gojaznost (sve klase)	≥ 30	4,99- 9,72	0,23 (0,18- 0,27)

Nakon klemovanja umbilikalne vrpce neposredno nakon porođaja, uzorkovano je 8 ml venske umbilikalne krvi. Krv je sakupljana u epruvete za izdvajanje seruma i centrifugirana 10 minuta na 3000 obrtaja u minuti, nakon čega je izdvojen serum i zamrzavan na -80°C. Sve epruvete sa uzorcima umbilikalne krvi su bile propisno obeležene. U ovim uzorcima su određivane koncentracije Hsp 27, Hsp 70, cTnI, cTnT i GP-BB primenom komercijalnih ELISA testova.

Korišćeni su sledeći komercijalni testovi: ELISA kit za Hsp 27 (GenWay Biotech, Inc, San Diego, California, USA), ELISA kit za Hsp 70 (Enzo Life Sciences Inc, Farmingdale, NY, USA), ELISA kit za cTnI (Enzo Life Sciences Inc, Farmingdale, NY, USA), ELISA kit za TnT (Cloud-Clone Corp- USCN Life Science Inc, Houston, Texas, USA), ELISA kit za GP-BB (Novatein Biosciences, Woburn, MA, USA).

Rezultati svih navedenih laboratorijskih analiza, kao i standardnih laboratorijskih analiza kompletne krvne slike, acido-baznog statusa, zajedno sa ostalim podacima o pacijetkinjama i neonatusima iz istorija bolesti uvršćeni su u bazu podataka ovog istraživanja i kasnije statistički obrađeni. Informacije o porodiljama i neonatusima su kodirane, adekvatno obeležene i zaštićene.

Za statističku obradu podataka je korišćen SAS (Statistical Analysis System). Korišćeni su Studentov t test, Mann Whitney test i Spearman-ov test korelacija za analizu dobijenih



podataka. Statistički značajnim su smatrane one vrednosti gde je $p < 0,05$, odnosno $p < 0,001$. Svi podaci su prikazani tabelarno ili grafički.

4. REZULTATI



4.1. Karakteristike trudnica iz kontrolnih i studijskih grupa

Ispitivane trudnice iz eksperimentalnih i kontrolnih grupa se nisu značajno razlikovale po godinama. Najmlađe su bile zdrave trudnice koje su se porađale normalnim vaginalnim putem, dok su najstarije bile trudnice iz eksperimentalne grupe gestacijskog dijabetesa (Tabela 1).

Tabela 1. Starost i rasna pripadnost trudnica

Karakteristike	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM ^a N=30	PIH ^b N=30	VAG ^c N=30	CS ^d N=30	
Starost (X±SD)	35,2 ±4,74	33,9 ±6,21	31,9 ±5,14	32,93 ±5,18	p>0,05
Etnička pripadnost					
Azijatkinje (Orijent)	4 (13%)	3 (10%)	3 (10%)	5 (17%)	p>0,05
Afro-amerikanke	6 (20%)	4 (13%)	2 (7%)	3 (10%)	
Latino-amerikanke	5 (17%)	3 (10%)	7 (23%)	4 (13%)	
Indijke	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	
Evropeidne rase	15 (50%)	20 (67%)	18 (60%)	17 (57%)	

Nije bilo značajnih razlika u rasnoj pripadnosti trudnica u eksperimentalnim i kontrolnim grupama. Najzastupljenije su bile trudnice evropeidne rase u svim studijskim grupama, dok su najmanje zastupljene trudnice indijskog porekla, svega 1 (3%) u grupi CS i afroamerikanke u ostalim grupama (Tabela 1).

Trudnice sa najvećim brojem trudnoća bile su u grupi gestacijskog dijabetesa $2,63 \pm 1,85$, dok su trudnice sa najmanjim brojem trudnoća u anamnezi bile u grupi vaginalnih porođaja $2,1 \pm 1,12$. Međutim, primenom χ^2 testa nisu utvrđene značajne statističke razlike između grupa ($p>0,05$).

U ovom istraživanju od ukupnog broja trudnica, najmanje prvorođanke je bilo u grupi vaginalnog porođaja. Procenat prvorođanke u ostalim studijskim grupama bio je duplo veći, i nije bilo statistički značajnih razlika između grupa. Takođe nije bilo značajnih razlika u broju spontanijih i namernih pobačaja, niti u broju dece rođenih pre termina i u terminu (Tabela 2).



Tabela 2. Ginekološka anamneza trudnica

Karakteristike	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM ^a N=30	PIH ^b N=30	VAG ^c N=30	CS ^d N=30	
Broj trudnoća	2,63 ± 1,85	2,4 ± 1,61	2,1 ± 1,12	2,33 ± 1,35	p>0,05
Prva trudnoća	0,7 ± 0,92	0,6 ± 0,81	0,33 ± 0,71	0,67 ± 0,88	p>0,05
Spontani pobačaji	0,37 ± 0,67	0,33 ± 0,66	0,4 ± 0,81	0,23 ± 0,57	p>0,05
Kiretaže	0,3 ± 0,97	0,37 ± 0,61	0,37 ± 0,67	0,43 ± 0,77	p>0,05
Broj dece	0,7 ± 0,92	0,5 ± 0,63	0,3 ± 0,67	0,67 ± 0,88	p>0,05
Deca u terminu	0,57 ± 0,86	0,47 ± 0,63	0,27 ± 0,64	0,63 ± 0,81	p>0,05
Prematurusi	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,51	0,03 ± 0,18	0,03 ± 0,18	p>0,05

Primenom t-testa utvrđeno je da se dužina trajanja trudnoća statistički nije značajno razlikovala među grupama ($p < 0,05$). Najduže su trajale trudnoće iz kontrolne grupe zdravih vaginalnih porođaja ($39,34 \pm 5,14$ gestacijskih nedelja), a najkraće one sa kliničkim ili laboratorijskim znacima preeklampsije ($37,71 \pm 2,47$) (Tabela 3).

Indeks telesne mase je bio značajno različit među grupama pre trudnoće i tokom trudnoće, kao i telesna masa trudnica pre i tokom trudnoće. Pre trudnoće, BMI je bio najniži kod trudnica iz kontrolne grupe vaginalnih porođaja ($21,69 \pm 2,3 \text{ kg/m}^2$), dok je najveći bio u grupama preeklampsije ($26,73 \pm 6,02$) i carskog reza ($27,13 \pm 6,67$) (Tabela 3).

Na prijemu u bolnicu, BMI je bio najveći kod trudnica sa carskim rezom ($33,02 \pm 7,17$) i preeklampsijom ($32,93 \pm 6,97$), kao i telesna masa, dok su se najniže vrednosti BMI i telesne mase nalazile kod trudnica iz grupe sa normalnim vaginalnim porođajem ($27,29 \pm 3,26$ i $74,39 \pm 8,67$). Broj dodatih kilograma u samoj trudnoći se nije statistički razlikovao od grupe do grupe. Vrednosti su iznosile od $14,73 \pm 4,5 \text{ kg}$ u grupi trudnica porođenih vaginalnim porođajem do $15,98 \pm 6,23$ kod onih koje su porođene carskim rezom (Tabela 3).



Tabela 3. Gestacijska starost trudnoća, indeks telesne mase i telesna masa trudnica

Karakteristike	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM ^a N=30	PIH ^b N=30	VAG ^c N=30	CS ^d N=30	
Gestacijska starost (nedelja)	37,79 ± 2,42	37,71 ± 2,47	39,34 ± 5,14	38,64 ± 2,74	p<0,05 b vs c
Pregestac. BMI (kg/m ²)	24,6 ± 4,78	26,73 ± 6,02	21,69 ± 2,3	27,13 ± 6,67	p<0,001 b vs c d vs c
Pregestac. TM (kg)	62,86 ± 11,37	71,88 ± 16,02	59,49 ± 7,62	73,49 ± 19 ^{d/c}	p<0,01 b vs c d vs c
BMI porodaj (kg/m ²)	30,6 ± 5,01	32,93 ± 6,97	27,29 ± 3,26	33,02 ± 7,17	p<0,01 b vs c d vs c
TM porodaj (kg)	78,15 ± 13,32	88,48 ± 18,28	74,39 ± 8,67	89,54 ± 20,19	p<0,01 b vs c d vs c
Dodata težina (kg)	14,59 ± 7,51	15,8 ± 7,77	14,73 ± 4,5	15,98 ± 6,23	p>0,05

U sklopu prenatalnih laboratorijskih i mikrobioloških pregleda rutinski se rade testovi provere grupe streptokoka B, hlamidije i gonokoka. S' obzirom da nije bilo dovoljno pacijentkinja sa pomenutim infekcijama tokom trudnoće, infekcija se ne može smatrati faktorom koji utiče na koncentracije proteina praćenih u istraživanju (Tabela 4).

Tabela 4. Prenatalne infekcije trudnica

	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe	
	GDM N=30	PIH N=30	VAG N=30	CS N=30
Hlamidija	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)
Gonokok	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Streptokok B	4 (15%)	2 (7%)	6 (21%)	5 (19%)



4.2. Parametri vitalnih znakova i krvna slika trudnica pre porođaja

Trudnicama su mereni krvni pritisak i srčana frekvencija pri svakom kontrolnom pregledu. Vitalni znaci koji su praćeni tokom našeg istraživanja su vrednosti krvnog pritiska, srčana frekvencija i temperatura na prijemu u bolnicu.

Na prijemu, trudnice iz grupe sa preeklampsijom su imale najveći krvni pritisak: sistolni krvni pritisak 143,50 mm Hg (128-190) i dijastolni krvni pritisak 90 mm Hg (60-103). Vrednosti su se značajno razlikovale od vrednosti krvnog pritiska u drugim grupama trudnica ($p < 0,0001$) (t-test). Frekvencija srca nije pokazivala razlike.

Povećanje krvnog pritiska (KP) je jedan od simptoma preeklampsije. Tako da su sistolni krvni pritisak (SKP) i dijastolni krvni pritisak (DKP) bili najviši u PIH grupi, dok su u ostalim studijskim grupama bili u granicama normalnih vrednosti. Razlike KP između PIH i ostalih grupa su statistički signifikantne na prijemu u bolnicu, $p < 0,001$. Srčana frekvencija (SF) i temperatura trudnica se nisu značajno razlikovale između grupa na prijemu u bolnicu ($p > 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Vitalni znaci trudnica na prijemu u bolnicu

	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM N=30	PIH N=30	VAG N=30	GDM N=30	
SKP (mmHg)	123 ±11,68	147,80±14,89	119,23± 8,65	120,72 ± 9,23	p<0,0001 b vs c d vs c
DKP (mmHg)	74,2±6,58	88,73± 9,35	74,47±8,33	72,38 ± 7,50	p<0,0001 a,b,c vs d
SF (min)	86,3±11,05	86,10±16,10	86,70±22,64	88,48 ±12,25	p>0,5
Temperatura (°C)	36,8±0,33	36,70±0,38	36,84±0,37	36,66 ±0,44	p>0,05

SKP - sistolni krvni pritisak, DKP - dijastolni krvni pritisak, SF - srčana frekvencija, T –temperatura



Krvna slika je svakako jedan od važnih indikatora stanja trudnice. U porodilištu MS Roosevelt bolnice se radi kompletna krvna slika pred porođaj trudnice. Broj eritrocita je bio skoro isti kod trudnica u svim grupama. Isto tako nije postojala statistički značajna razlika u količini hemoglobina, kao ni u vrednosti hematokrita. Broj leukocita bio je povišen kod svih trudnica i kretao se od $9,1 \times 10^9/L$ u grupi GDM do 12,87 u grupi VAG ($p < 0,01$; t-test). Između različitih grupa postojala je statistički značajna razlika u broju leukocita. Ta razlika je verovatno nastala zbog povećanja ukupnog broja neutrofila, kojih takođe ima najmanje u grupi GDM, a najviše u VAG grupi ($p < 0,01$). Na isti način je povećan i procenat neutrofila u relativnoj leukocitnoj formuli, oko 74% u GDM grupi do oko 79% u VAG grupi.

Tabela 6. Krvna slika trudnica pred porođaj (srednja vrednost \pm standardna devijacija)

Laboratorija na prijemu	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM ^a	PIH ^b	VAG ^c	CS ^d	
WBC ($\times 10^9/L$)	9,91 \pm 2,44	12,01 \pm 4,17	12,87 \pm 3,68	10,26 \pm 2,52	p<0,005 c vs d
RBC ($\times 10^{12}/L$)	4,18 \pm 0,41	4,18 \pm 0,45	4,15 \pm 0,59	4,00 \pm 0,53	p>0,05
HGB (g/dl)	13,26 \pm 5,11	12,11 \pm 1,14	12,21 \pm 1,63	11,77 \pm 1,28	p>0,05
HCT (%)	36,66 \pm 3,34	36,4 \pm 3,21	36,53 \pm 4,72	35,37 \pm 4,08	p>0,05
Plt ($\times 10^9/L$)	207,93 \pm 49,8	219,00 \pm 61,4	203,51 \pm 61,84	203,59 \pm 54,63	p>0,05
Neutro (%)	74,02 \pm 5,79	78,66 \pm 6,77	79,15 \pm 7,86	74,72 \pm 5,45	p<0,05 b vs d
Lymph (%)	18,02 \pm 5,74	16,28 \pm 5,58	14,46 \pm 6,95	19,2 \pm 4,64	p<0,05 b vs d
Mono (%)	5,50 \pm 1,73	4,74 \pm 1,71	4,43 \pm 1,85	4,87 \pm 0,9	p>0,05
Neutro ($\times 10^9/L$)	7,43 \pm 2,32	9,66 \pm 4,17	10,35 \pm 3,83	7,79 \pm 2,3	p<0,01 c vs d
Lymf ($\times 10^9/L$)	2,4 \pm 2,94	1,78 \pm 0,64	1,83 \pm 0,75	1,92 \pm 0,47	p>0,05
Mono ($\times 10^9/L$)	0,74 \pm 0,98	0,59 \pm 0,34	0,67 \pm 0,46	0,51 \pm 0,14	p>0,05

WBC-leukociti, RBC- eritrociti, HGB - hemoglobin, HCT- hematokrit, Plt- trombociti, Neutro-neutrofil, Limf- limfociti, Mono- Monociti



4.3. Vitalni znaci trudnica poslednja tri sata pred porođaj

Svim trudnicama su kontinuirano praćeni vitalni znaci. Za ovo istraživanje uzete su srednje vrednosti SKP i DKP u trećem, drugom i satu neposredno pred porođaj. Takođe su praćene i vrednosti srčane frekvence i temperature neposredno pre porođaja.

U grupi sa preeklampsijom u sva tri sata pre porođaja vrednosti SKP i DKP trudnica su bile statistički značajno više u odnosu na ostale grupe ($p < 0,0001$). Vrednosti SKP i DKP između ostale tri grupe nisu značajno različite (t-test) (Tabela 7).

Tabela 7. Vrednosti krvnog pritiska trudnica tokom trećeg, drugog i poslednjeg sata pred porođaj

	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		P
	GDM ^a N=30	PIH ^b N=30	VAG ^c N=30	CS ^d N=30	
1. sat (poslednji pred porođaj)					
SKP (mmHg)	120,36 ± 16,51	142,70 ± 11,93	120,99 ± 11,63	115,31 ± 10,10	p<0,0001 b vs c
DKP (mmHg)	69,54 ± 9,74	79,30 ± 9,53	68,41 ± 9,24	67,40 ± 10,38	p<0,0001 b vs c
SF (/min)	86,72 ± 14,61	90,27 ± 12,58	95,54 ± 17,94	88,15 ± 13,36	p>0,05
2. sat					
SKP (mmHg)	121,30 ± 20,11	137,71 ± 16,81	115,68 ± 9,51	119,39 ± 10,22	p<0,0001 b vs c
DKP (mmHg)	70,24 ± 11,36	76,24 ± 11,85	66,68 ± 9,53	66,77 ± 8,74	p<0,0001 b vs c
SF (/min)	86,46 ± 14,46	87,96 ± 12,69	87,11 ± 13,85	85,47 ± 18,46	p>0,05
3. sat					
SKP (mmHg)	123,85 ± 19,63	143,47 ± 12,59	112,86 ± 10,17	120,99 ± 10,34	p<0,0001 b vs c
DKP (mmHg)	70,62 ± 10,76	82,02 ± 11,48	67,60 ± 10,48	64,38 ± 3,88	p<0,0001 b vs c
SF (/min)	81,85 ± 12,33	85,77 ± 11,91	85,76 ± 13,63	87,51 ± 18,79	p>0,05
T(°C)	36,90 ± 0,42	37 ± 0,44	37,2 ± 0,55	36,71 ± 0,45	p>0,05



Srčana frekvencija je umereno rasla kako se približavao porođaj. Najviši porast zabeležen je u grupi vaginanih porođaja, zatim u grupama GDM i PIH, a najmanji u grupi porođaja dovršenih carskim rezom (Tabela 7).

Telesna temperatura trudnica izmerena tri sata pre porođaja bila je u fiziološkim granicama i nije se značajno razlikovala između grupa.

Kod pacijentkinja sa dijabetes melitusom praćene su vrednosti glikemije od trenutka prijema u bolnicu na svaka četiri sata. Uzete su vrednosti glikemije vremenski najbliže porođaju.

Tabela 8. Vrednosti glikemije trudnica obolelih od dijabetesa.

Glikemija pre porođaja	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe	
	GDM	PIH	VAG	CS
Glukoza (mg/dl)	82,40 ±12,46	NV	NV	NV

NV –nema vrednosti

4.4. Karakteristike fetusa

Praćenje srčanog rada fetusa je od suštinske važnosti tokom porođaja. Prate se frekvencija srčanog rada fetusa i njena varijabilnost. Takođe je važna pozicija fetusa u uterusu.

U ovom istraživanju srčana akcija fetusa se nije razlikovala među kontrolnim i eksperimentalnim grupama. Takođe, prezentacija fetusa se nije razlikovala s obzirom da je u svakoj grupi bilo najviše fetusa sa prednjačecom glavicom. Bila su ukupno dva fetusa sa prednjačecim sitnim delovima i to u grupama sa gestacijskim dijabetesom i carskim rezom. U grupi trudnica sa dijabetesom jedan fetus je prednjačio licem.



Tabela 9. Monitoring fetalne srčane frekvence (FSF), pol i položaj fetusa u trenutku prijema u bolnicu

Karakteristike	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM	PIH	VAG	CS	
FSF	137,87±6,38	135,37±7,56	136,11± 10,76	135,33 ± 9,00	
FSF Varijabilnost Umerena	30 (100%)	30 (100%)	30 (100%)	28 (100%)	p>0,05
Prezentacija fetusa					p>0,05
Karlična	2 (7%)	3 (10%)	0 (0%)	5 (17%)	
Potpuna karlična	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	
Glavicom	26 (87%)	27 (90%)	30 (100%)	23 (77%)	
Licem	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
Malim delovima	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	
Ženski pol	14 (47%)	17 (57%)	14 (47%)	15 (50%)	p>0,05

Srčana akcija fetusa se prati od prijema u bolnicu. Promene u srčanom radu i stanje fetusa *in utero* su indikacije za carski rez. Zato su se ovi parametri praćeni tokom poslednjih sati trudnoće.

Srčana frekvencija fetusa na prijemu u bolnicu bila je najviša u grupi GDM, dok je u ostalim studijskim grupama bila skoro ista. Frekvencija u GDM grupi je malo varirala u satima pre porođaja. Frekvencija srca fetusa iz PIH grupe je tokom tri sata pre porođaja bila niža za desetak otkucaja od one na prijemu, zatim se postepeno povećavala i u satu pre porođaja vratila na onu vrednost koja je bila na prijemu. Kod fetusa koji su se rodili vaginalnim putem, srčana frekvencija nakon prijema u bolnicu raste za nekoliko otkucaja naredna dva sata, da bi se u satu pre porođaja vratila početnim vrednostima. Srčana frekvencija fetusa rođenih carskim rezom se najmanje menjala u periodu u kome je praćena.



Tabela 10. Monitoring fetalne srčane frekvence u trećem, drugom, i satu neposredno pred porođaj

Karakteristike	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM ^a N=30	PIH ^b N=30	VAG ^c N=30	CS ^d N=30	
FSF 1.sat					
Kategorija 1	24 (80%)	18 (62%)	20 (67%)	21 (75%)	p>0,05
Kategorija 2	6 (20%)	11 (38%)	10 (33%)	7 (25%)	
FSF 2.sat					
Kategorija 1	17 (74%)	17 (61%)	17 (61%)	6 (55%)	p>0,05
Kategorija 2	6 (26%)	11 (39%)	11 (39%)	5 (45%)	
FSF 3. sat					
Kategorija 1	17 (81%)	24 (86%)	17 (63%)	4 (40%)	p<0,05 b vs c
Kategorija 2	4 (19%)	4 (14%)	10 (37%)	6 (60%)	
FSF 1. sat (/min)	138 (120-161,66)	135 (115-154,66)	136.13 (123-171,60)	135 (115-160)	p>0,05
FSF 2.sat (/min)	137.15 (120-175)	132,08 (14-160)	140 (122,5-163,3)	135 (125-142,50)	p>0,05
FSF 3. Sat (/min)	136,13 (120-170)	130,63 (10-150)	140 (120-160)	135 (125-150)	p>0,05
FSF Varijabilnost 1.sat					
Minimalna	1 (3%)	4 (14%)	1 (3%)	1 (4%)	p>0,05
Umerena	29 (97%)	25 (86%)	29 (97%)	27 (96%)	
FSF Varijabilnost 1.sat Minimalna Umerena					
Minimalna	1 (4%)	4 (14%)	1 (4%)	0 (0%)	p>0,05
Umerena	23 (96%)	24 (86%)	27 (96%)	11 (100%)	
FSF Varijabilnost 1.sat Minimalna Umerena					
Minimalna	0 (0%)	2 (7%)	1 (4%)	0 (0%)	p>0,05
Umerena	22 (100%)	26 (93%)	26 (96%)	10 (100%)	

FSF- Fetalna srčana frekvencija

U satu neposredno pred porođaj nije bilo statističke razlike (χ^2 test) među frekvencama i varijabilnosti u različitim grupama (p>0,05).



4.5. Karakteristike porođaja

Spontano prsnuće plodovih ovojnica kod trudnica dešavalo se u eksperimentalnim grupama - 33% u GDM i 30% u PIH, dok je u kontrolnim grupama to bilo 50% kod VAG, i 23% kod CS. Srednja vrednost vremena koje je proteklo od prsnuća ovojnica do same ekspanzije neonatusa bila je statistički značajno različita između grupa. Kod gestacijskog dijabetesa iznosila je 81 (0-2385) minut, kod preeklampsije 295 (0-2508) minuta, kod vaginalnih porođaja 365 (4-1845) minuta i kod carskog reza 1,5 (0-1880) minut.

Boja plodove vode je bila u najvećem broju slučajeva bistra. Mekonijalna plodova voda je bila prisutna kod 13% trudnica sa gestacijskim dijabetesom, kod 27% sa preeklampijom, kod 20% iz grupe vaginalnih porođaja i 10% iz grupe carskih rezova.

Tabela 11. Karakteristike porođaja - način i stadijumi porođaja kod različitih grupa trudnica medijana (Min-Max) je prikazana u tabeli

Karakteristike	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM N=30	PIH N=30	VAG N=30	CS N=30	
Način porođaja					
CS	18 (60%)	13 (43%)	0 (0%)	30 (100%)	p>0,05
VAG	12 (40%)	17 (57%)	30 (100%)	0 (0%)	
Prsnuće ovojnica					
Jatrogeno	20 (67%)	21 (70%)	15 (50%)	23 (77%)	p>0,05
Spontano	10 (33%)	9 (30%)	15 (50%)	7 (23%)	
Proteklo vreme od prsnuća ovojnica do porođaja (minut)	81 (0-2385)	295 (0-2508)	365 (4-1845)	1,5 (0-1880)	p>0,05
Amnionska tečnost					
Bistra	26 (87%)	22 (73%)	27 (80%)	24 (90%)	p>0,05
Mekonijalna	4 (13%)	8 (27%)	3 (20%)	6 (10%)	
Indikacije za carski rez					
Zastoj u porođaju	7 (39%)	3 (25%)		6 (20%)	p>0,05
Pali srčani tonovi fetusa	3 (17%)	2 (17%)		2 (7%)	
Zakazani carski rez	8 (44%)	7 (58%)		22 (73%)	
Ukupno vreme trajanja porođaja (minut)	612,5 (45-1995)	576 (255-2135)	582 (60-7385)	NA	p>0,05



Iz eksperimentalne grupe gestacijskog dijabetesa, 60% porođaja je završeno carskim rezom, dok je taj procenat iznosio svega 13% u eksperimentalnoj grupi preeklampsije. Zastoj u dilataciji, kao razlog carskog reza, je bio zastupljen sa 20% u kontrolnoj grupi ispitanica. U GDM grupi ovaj procenat je iznosio 39%, a u grupi preeklampsije 25%. Pali tonovi fetusa su bili razlog u 17% trudnoća iz grupe gestacijskog dijabetesa, u 17% iz grupe preeklampsije i 7% kontrolnog carskog reza. Bilo je 44% zakazanog carskog reza kod GDM, 58% kod PIH grupe i 73% kod CS grupe. Ukupno trajanje porođaja od početka kontrakcija je bilo kod GDM 612,5 (45-1995) minuta, kod PIH 576 (255-2135) minuta i VAG grupi 582 (60-7385) minuta (Tabela 11).

Na osnovu podataka dobijenih od pacijentkinja, a mereno od početka prvih kontrakcija, prvi stadijum porođaja je trajao 519 (0-1681) minuta u GDM grupi, 705 (171-1787) minuta u PIH grupi i 490,5 (17-2295) minuta u VAG grupi. Drugi stadijum porođaja, koga karakterišu intenzivne kontrakcije je trajao 65,5 (13-314) minuta u GDM grupi, 85 (6-259) minuta u PIH grupi i 86 (1-199) minuta u VAG grupi (Tabela 12).

Tabela 12. Vreme trajanja porođaja ukupno i po stadijumima u eksperimentalnim i kontrolnim grupama (medijana (Min-Max) prikazana u tabeli)

Trajanje stadijuma (min)	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM	PIH	VAG	CS	
Prvi stadijum (minut)	519 (0-1681)	705 (171-1787)	490,5 (17-2295)	NA	p>0,05
Drugi stadijum (minut)	65,5 (13-314)	85 (6-259)	86 (1-199)	NA	p>0,05
Ukupno vreme trajanja porođaja (minut)	612,5 (45-1995)	576 (255-2135)	582 (60-7385)	NA	p>0,05

Bilo je značajne razlike među Apgar vrednostima u prvom ($p<0,001$) i petom minutu među grupama ($p<0,01$) (Mann Whitney test). Takođe su se razlikovale telesne mase novorodjenčadi različitih grupa. Najmanju vrednost telesne mase imala su novorođenčad iz



grupe PIH. Nešto veću telesnu masu imala su novorođenčad iz grupe GDM, iako je u ovoj grupi individualno bilo najkrupnije novorođenčadi. Najveću težinu imala su novorođenčad iz grupe carskog reza, i ona koja su porođena vaginalnim putem (nešto manju nego kod carskog reza) (Tabela 13).

Tabela 13. Apgar skor, težina na rođenju i broj dece oživljavane na rođenju u različitim grupama, medijana (Min-Max)

	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM ^a N=30	PIH ^b N=30	VAG ^c N=30	CS ^d N=30	
Apgar 1 min	9 (4-9)	8 (2-9)	9 (8-9)	9 (4-9)	p<0,001 a,b vs c
Apgar 5 min	9 (5-9)	9 (4-9)	9 (8-9)	9 (6-9)	p<0,01 a,b vs c
Telesna Masa (g)	3120 (1255-4740)	2780 (1390-4230)	3375 (1925-4500)	3425 (1130-4110)	p<0,01 a,b vs d
Oživljavanje					
Ne	29 (97%)	22 (73%)	30 (100%)	26 (87%)	p<0,01 b vs c
Da	1 (3%)	8 (27%)	0 (0%)	4 (13%)	

4.6. Gasovi arterijske i venske umbilikalne krvi novorodenčadi

Gasovi iz umbilikalne krvi izmereni na samom porođaju su se značajno razlikovali među grupama. Najmanji pCO₂ je bio kod VAG grupe 40,70 mmHg, dok je najveći bio kod CS grupe 46,10 (38,20-66,20) mmHg, p<0,01. Parcijalni pritisci kiseonika su se takođe značajno razlikovali među grupama, p<0,05. Najmanji PO₂ je bio u GDM eksperimentalnoj grupi 22,20 (14,90-45,60) mmHg. Koncentracije bikarbonata bile su više u grupama GDM i CS, a nešto niže u grupama PIH i VAG. Između ovih grupa je postojala statistička značajna razlika, p<0,05. Bazni višak je bio najviši u PIH grupi, manji u GDM i VAG grupama i najmanji u CS grupi, p<0,01. Saturacija kiseonika je bila statistički značajno različita između grupa. Najviša je bila u grupi vaginalnih porođaja, niža u grupama GDM i PIH, a najniža u grupi carski rez,(p<0,05; Mann Whitney test) (Tabela 14).



Tabela 14. Prikaz gasova u umbilikalnoj veni novorođančadi kontrolnih i studijskih grupa (medijana (Min-Max))

Venska umbilikalna krv	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p- vrednost
	GDM ^a	PIH ^b	VAG ^c	CS ^d	
pH	7,29 (7,01-7,38)	7,30 (7,01-7,36)	7,31 (7,20-7,37)	7,31 (7,11-7,41)	p>0,05 a,b vs c
PCO₂ (mmHg)	45,80 (38,1-85,2)	43,10 (32,60-71,60)	40,70 (21,70-44,60)	46,10 (38,20-66,20)	p<0,01 a,d vs c
PO₂ (mmHg)	22,20 (14,90-45,60)	23,70 (10,70-68,10)	32,00 (21,20-78,10)	22,60 (11,40-35,30)	p<0,05 a,b vs c
HCO₃ (mEq/L)	23,20 (16,80-85,20)	20,90 (9,70-25,60)	20,70 (15,90-27,90)	23,00 (19,50-25,80)	p>0,05
BSE	5,00 (0,60-12,20)	6,40 (2,20-20,30)	5,10 (1,40-11,70)	3,50 (0,40-10,60)	p<0,01 a,b vs d
O₂ sat (%)	55,50 (22,70-83,60)	54,25 (4,50-77,90)	68,90 (48,60-82,90)	46,50 (15,90-78,20)	p<0,05 a,b,c vs d

Tabela 15. Gasovi umbilikalne arterijske krvi u novorođančadi

Arterijska umbilikalna krv	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p- vrednost
	GDM	PIH	VAG	CS	
pH	7,21 (7,01-7,29)	7,20 (7-7,27)	7,20 (7,12-7,33)	7,23 (7,01-7,34)	p>0,05
PCO₂ (mmHg)	57,35 (44-85,20)	57,40 (33,1-77,80)	53,50 (37,80-65,80)	54,10 (39,60-72,00)	p>0,05
PO₂ (mmHg)	18,30 (12,10-38,70)	18,65 (12-29,80)	18,60 (14,50-27,00)	14,40 (10,90-35,80)	p>0,05
HCO₃ (mEq/L)	22,30 (16,90-26,60)	20,5 (10,8-27,5)	20,90 (14,30-25,90)	20,80 (13,20-25,70)	p>0,05
BSE	6,30 (1,20-12,30)	7,60 (2,4-18,2)	7,70 (2,60-12,80)	6,60 (1,40-14,90)	p>0,05
O₂ sat (%)	36,60 (16-76,80)	31,20 (16,10-69,20)	43,40 (23,50-80,40)	27,45 (17,10-76,00)	p>0,05



U arterijskoj krvi nije bilo statistički značajne razlike među parcijalnim pritiscima kiseonika i ugljen dioksida, kao ni u koncentracijama bikarbonata (Tabela 15).

4.7. Karakteristike neonatusa

Srčana frekvencija novorođenčadi se nije statistički razlikovala neposredno nakon porođaja. Tokom narednih sati javile su se neznatne razlike u srčanoj frekvenciji beba (Tabela 16).

Neonatusi su različito ostajali u bolnici: četiri dana (minimum 4 dana – maksimum 37 dana) kada su bile u pitanju zdrave trudnoće završene carskim rezom, i tri dana (3-6) kada su bile u pitanju trudnoće završene normalnim vaginalnim porođajem. U GDM grupi su bebe napuštale bolnicu nakon 4 (2-32) dana, a kod PIH nakon 3,5 (3-31). Primenom t-testa ove razlike su pokazale statističku značajnost ($p < 0,001$).

Tabela 16. Srednje vrednosti srčane akcije neonatusa u porođajnoj sali - neposredno nakon rođenja, prvom, drugom i trećem satu života.

Srčana akcija neonatusa (SAN)	Eksperimenatne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM ^a N=30	PIH ^b N=30	VAG ^c N=30	CS ^d N=30	
SAN neposredno nakon porođaja (/minut)	133,50 ^{a/d} (80-175)	135 (120-160)	135 (120-152)	136 (103-160)	p<0,05
SAN u 1.satu (/minut)	143,75 ^{a/d} (124-162,66)	143 (130-164)	146,5 (135-168)	150 (140-164)	p<0,05
SAN u 2. Satu (/minut)	140,50 ^{a/d} (124,50-153,50)	140 (120-160)	141 (120-160)	147 (125-160)	p<0,05
SAN u 3.satu (/minut)	140 (125-154) ^{a/d}	140 (126-160) ^{b/d}	140 (120-162) ^{c/d}	146 (40-162)	p<0,05



Različiti broj beba iz različitih grupa je lečen u intenzivnoj nezi. Iz GDM i PIH grupe 20% je boravilo u intenzivnoj nezi, dok je samo 7% beba iz CS grupe bila potrebna takva pomoć.

Tabela 17. Bolnički tok neonatusa u eksperimentalnim i kontrolnim grupama

Ishod porođaja	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		p-vrednost
	GDM ^a N=30	PIH ^b N=30	VAG ^c N=30	CS ^d N=30	
GA<37 nedelja	4 (13%)	7 (23%)	2 (7%)	4 (13%)	p>0,05
GA<34 nedelja	3 (10%)	3 (10%)	1 (3%)	2 (7%)	p>0,05
Oživljavanje na rođenju	1 (3%)	8 (27%) ^{b/d}	0 (0%)	4 (13%)	p<0,05
Respiratorni Distres	1 (3%)	1 (3%)	0 (0%)	2 (7%)	p>0,05
Sepsa	0	0	0	0	NE
NICU (neonatalna intenzivna nega)	6 (20%)	6 (20%) ^{b/d}	0 (0%)	2 (7%)	p<0,05
Broj dana u bolnici	4 (2-32)	3,5 (3-31) ^{b/d}	3 (3-6)	4 (4-37)	p<0,0001
Visoka T ili GBS infekcija	3 (10%)	0 (0%)	1 (3%)	2 (7%)	p>0,05
Pračene /Lečene bebe zbog visoke T majke nakon porođaja	1 (3%)	0 (0%)	2 (7%)	0 (0%)	p>0,05
Žutica	7 (23%)	6 (20%)	1 (3%)	3 (10%)	p>0,05
Fototerapija	5 (17%) ^{a/d}	6 (20%) ^{b/d}	0 (0%)	1 (3%)	p<0,05
Nekrotizujuć kolitis	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	p>0,05
Anemija	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	p>0,05
Apnea	2 (7%)	2 (7%)	0 (0%)	1 (3%)	p>0,05
KVS bolest neonatusa	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	p>0,05
Bradikardija	3 (10%)	3 (10%)	0 (0%)	1 (3%)	p>0,05
Šum na srcu	0 (0%)	3 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	p>0,05
Transfuzija usled policitemije	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	p>0,05

GA – gestacijska starost



Gestacijska starost novorođenčadi je bila različita. Bilo je i prematurusa među novorođenom decom iz ispitivanih trudnoća, ali između grupa nije bilo statističkih razlika u prevremenom rađanju. Naime 13% iz GDM grupe, 23% iz PIH, 7% iz VAG i 13% iz CS beba je rođeno pre 37 nedelje gestacijske starosti, dok je 10% iz GDM i PIH, a 3% iz VAG i 7% iz CS rođeno pre čak 34 nedelje gestacije.

Broj beba koji je bio oživljavan na rođenju se značajno razlikuje među grupama ($p < 0,001$). U pitanju su 3% iz GDM grupe i PIH grupe, i 13% iz CS grupe. Nijedan od sledećih parametara koji je praćen tokom hospitalizacije neonatusa nije pokazivao statističku različitost među grupama, a to su visoka T kod bebe, deca tretirana zbog majčine visoke temperature, deca sa žuticom, deca koja su primila fototerapiju, nekrotizujući enterokolitis, anemija, apnea, kardiovaskularna bolest bebe (radilo se o anomaliji PDA- perzistentni duktus arteriozus), deca sa bradikardijom, deca sa šumom na srcu i transfuzija usled policitemije.

4.8. Koncentracije određivanih proteina

Tabela 18. Koncentracije Hsp 27, Hsp 70, GP-BB, cTnI, cTnT u venskoj umbilikalnoj krvi novorođenčadi

Koncentracije	Eksperimentalne grupe		Kontrolne grupe		Kruskal-Wallis p- vrednost
	GDM ^a N=30	PIH ^b N=30	VAG ^c N=30	CS ^d N=30	
Hsp 27 (ng/ml)	0,84 (0,34-1,43)	0,86 (0,58-3,29)	0,88 (0,52-1,57)	0,71 (0,37-1,25)	$p > 0,05$
Hsp 70 (ng/ml)	0,07 (0,03-0,20)	0,04 (0,02-0,08)	0,02 (0,00-0,07)	0,02 (0,01-0,04)	$p < 0,05$ a,b vs c,d
GP-BB (ng/ml)	7,41 (4,77-15,03)	12,45 (3,57-20,54)	2,88 (1,29-11,03)	4,93 (1,48-10,44)	$p < 0,05$ b vs c
cTnI (ng/ml)	2,70 (1,51-5,84)	9,11 ^{b,a} (4,97-13,60)	0,00 (0,00-1,35)	7,20 (4,05-9,85)	$p < 0,0001$ a,b,d vs c b vs a
cTnT (ng/ml)	0,01 (0,00-0,02)	0,00 (0,00-0,02)	0,01 (0,00-0,02)	0,00 (0,00-0,02)	$p > 0,05$

*Medijana (Q1-Q3)



Koncentracije Hsp 70 u venskoj umbilikalnoj krvi su se statistički značajno razlikovale između grupa ($p < 0,001$; χ^2 test). Najveće razlike bile su između novorođenčadi čije su majke imale preeklampsiju i onih iz normalnih trudnoća i porođaja.

Koncentracije GP-BB su se značajno razlikovale među grupama, $p < 0,05$. Najveća razlika je zabeležena između eksperimentalne grupe preeklampsije i kontrolne grupe normalnih porođaja.

Koncentracije cTnI su pokazale najznačajniju razliku među grupama, $p < 0,0001$, posebno kada su se upoređivale vrednosti po parovima. Uviđa se da su cTnI koncentracije veće u PIH grupi nego u GDM i VAG grupi, zatim, CS je pokazao veće vrednosti od VAG grupe, kao i GDM.

4.9. Korelacije koncentracija proteina sa karakteristikama trudnica

Postoji negativna korelacija između dužine trajanja trudnoće (GA) i vrednosti cTnI. To ukazuje da ukoliko je trudnoća duža, na porođaju se može očekivati niža koncentracija cTnI ($\rho = -0,22149$, $p < 0,05$).

Tabela 19. Spearmanova korelacijske analize odnosa kliničkih karakteristika majki i vrednosti ispitivanih proteina u serumu umbilikalne krvi

Koncentracije	Starost trudnice (godine)	Starost trudnoće (nedelje)	BMI pre trudnoće (m ² /kg)	Telesna masa pre trudnoće (kg)	BMI na porođaju (m ² /kg)	Telesna masa na porođaju (kg)	Dodati kilogrami u trudnoći (kg)
Hsp 27 (ng/ml)	-0,07637 p=0,4071	-0,17475 p=0,0563	0,07064 p=0,4471	0,1125 p=0,2251	-0,03489 p=0,7113	-0,00812 p=0,9314	-0,29204 p=0,0015
Hsp 70 (ng/ml)	0,13275 p=0,1483	-0,10654 p=0,2468	0,11809 p=0,2028	0,08967 p=0,3342	0,05185 p=0,5821	0,02352 p=0,803	-0,12667 p=0,1774
GP-BB (ng/ml)	-0,07837 p=0,3949	0,12119 p=0,1873	0,02717 p=0,7702	-0,02685 p=0,7728	0,05843 p=0,5351	-0,02608 p=0,7821	-0,02638 p=0,7796
cTnI (ng/ml)	-0,03498 p=0,7045	-0,22149 p=0,0151	0,31838 p=0,0004	0,2674 p=0,0034	0,25747 p=0,0055	0,22101 p=0,0176	-0,00745 p=0,937
cTnT (ng/ml)	0,07997 p=0,3852	0,02893 p=0,7538	-0,09754 p=0,2934	-0,09405 p=0,3111	-0,08254 p=0,3805	-0,06717 p=0,4757	0,16427 p=0,0794



U izradi korelacijskih analiza uzete su u obzir sve ispitanice, nevezano za pripadnost kontrolnim ili eksperimentalnim grupama.

S druge strane, cTnI je u pozitivnoj korelaciji sa BMI pre trudnoće ($\rho = 0,31838$, $p < 0,001$) i BMI na samom porođaju ($\rho = 0,25747$, $p < 0,01$), ali i sa telesnom masom pre porođaja ($r = 0,2674$, $p < 0,01$) i na samom porođaju ($\rho = 0,22101$, $p < 0,05$).

Od ispitivanih Hsp, samo Hsp 27 je u negativnoj korelaciji sa dodatom telesnom masom u toku trudnoće ($\rho = -0,29204$, $p < 0,01$) (Tabela 19).

4.10. Korelacije koncentracija proteina sa vitalnim znacima trudnica na prijemu u bolnicu

Korelacija je postojala između GP-BB i vrednosti sistolnog krvnog pritiska ($\rho = 0,20187$, $p < 0,05$), ali i između cTnI koncentracija i SKP ($\rho = 0,24544$, $p < 0,05$). Dijastolni pritisak je u pozitivnoj korelaciji sa Hsp 27 ($\rho = 0,19153$, $p < 0,05$).

Telesne temperature trudnica merene na prijemu u bolnicu su bile u pozitivnoj korelaciji sa Hsp 27 ($\rho = 0,23646$, $p < 0,05$), dok je sa cTnI bio u negativnoj korelaciji ($\rho = -0,23372$, $p < 0,05$) (Tabela 20).

Tabela 20. Korelacijske analize odnosa vitalnih znakova trudnica određenih pri hospitalizaciji i vrednosti ispitivanih proteina u serumu umbilikalne krvi.

Koncentracije	SKP (mmHg)	DKP (mmHg)	SF (/min)	Temperatura (°C)
Hsp 27 (ng/ml)	0,17438 $p = 0,0579$	0,19153 $p = 0,0369$	0,03697 $p = 0,6898$	0,23646 $p = 0,0096$
Hsp 70 (ng/ml)	0,04955 $p = 0,5925$	0,04513 $p = 0,6260$	0,00686 $p = 0,9410$	0,09718 $p = 0,2931$
GP-BB (ng/ml)	0,20187 $p = 0,0277$	0,11078 $p = 0,2304$	0,08822 $p = 0,3401$	0,01868 $p = 0,8402$
cTnI (ng/ml)	0,24544 $p = 0,0071$	0,15958 $p = 0,083$	0,0424 $p = 0,6471$	-0,23372 $p = 0,0105$
cTnT(ng/ml)	-0,16043 $p = 0,0813$	-0,05157 $p = 0,5775$	-0,03392 $p = 0,7142$	0,11298 $p = 0,2212$

SKP - sistolni krvni pritisak, DKP - dijastolni krvni pritisak, SF- srčana frekvencija



4.11. Korelacije koncentracija proteina krvnom slikom

Tabela 21. Korelacija između koncentracije heat shock proteina u umbilikalnoj krvi i krvne slike majke

Konc (ng/ml)	WBC (x10 ⁹ /L)	RBC (x10 ¹² /L)	Hgb (g/dl)	HCT (%)	Plt (x10 ⁹ /L)	Neutro (%)	Limfociti (%)	Mono (%)	Neutro (x10 ⁹ /L)	Lymph (x10 ⁹ /L)	Mono (x10 ⁹ /L)
Hsp 27 (ng/ml)	0,09843 p=0,3086	-0,00635 p=0,948	0,00028 p=0,9977	0,01827 p=0,8505	0,10963 p=0,2565	-0,10534 p=0,6585	-0,13705 p=0,1653	0,34806 p=0,1326	0,1104 p=0,2646	-0,06738 p=0,4968	0,05394 p=0,5866
Hsp 70 (ng/ml)	-0,04815 p=0,6191	-0,07081 p=0,4665	-0,00477 p=0,9608	-0,0648 p=0,5032	0,05535 p=0,5676	0,05944 p=0,8034	0,0508 p=0,6086	0,14345 p=0,5463	-0,07164 p=0,4699	-0,00543 p=0,9564	0,18555 p=0,0593
GP-BB (ng/ml)	0,03295 p=0,7338	0,13682 p=0,158	0,11947 p=0,2159	0,11958 p=0,2155	-0,00104 p=0,9915	0,31377 p=0,1779	-0,15407 p=0,1184	-0,2416 p=0,3048	0,05023 p=0,6126	-0,21915 p=0,0254	0,01393 p=0,8884
cTnI (ng/ml)	-0,01427 p=0,8829	-0,09298 p=0,3385	-0,18477 p=0,0544	-0,17847 p=0,0633	0,02681 p=0,782	0,07264 p=0,7609	0,17994 p=0,0676	0,45091 p=0,046	-0,03559 p=0,7198	0,14858 p=0,1323	0,00031 p=0,9975
cTnT (ng/ml)	-0,12387 p=0,1994	-0,06179 p=0,5252	0,01405 p=0,8847	-0,02098 p=0,8285	-0,08213 p=0,3958	0,0061 p=0,9796	0,24533 p=0,0121	-0,24408 p=0,2997	-0,18191 p=0,0646	0,08487 p=0,3917	-0,07431 p=0,4534

WBC - leukociti, RBC – eritrociti, HGB – hemoglobin, HCT – hematocrit, Plt – trombociti, Neutro – neutrofili, Lymph – limfociti, Mono – monociti,

Neki proteini stresa iz umbilikalne krvi su bili u korelaciji sa nespecifičnim znacima zapaljenja iz laboratorijske slike. Naime, cTnT je pokazao pozitivnu korelaciju sa procentom limfocita (%) u krvi majke ($p < 0,05$), dok je koncentracija cTnI u pozitivnoj korelaciji sa procentom monocita. Koncentracija GP-BB umbilikalne krvi je u pozitivnoj korelaciji sa apsolutnim brojem limfocita u krvi majke ($x10^9/L$) (Tabela 21).

4.12. Korelacije koncentracija proteina sa vitalnim znacima trudnica u poslednja tri sata pred porođaj

U odnosima vitalnih znakova sa ispitanim koncentracijama, postoji jedino korelacija između koncentracija cTnI sa SKP u trećem satu pred porođajem ($\rho = 0,42608$, $p < 0,0001$) (Tabela 22).



Tabela 22. Spearmanove korelacijske analize odnosa vitalnih znakova majki sa koncentracijama ispitivanih proteina u serumu umbilikalne krvi neonatusa.

	SKP (mmHg)	DKP (mmHg)	SF (/min)	Temperatura (°C)
U trećem satu				
Hsp 27 (ng/ml)	0,08705 p=0,4282	-0,09066 p=0,4093	0,0725 p=0,5096	0,1069 p=0,2472
Hsp 70 (ng/ml)	-0,00921 p=0,9333	-0,03334 p=0,762	-0,14389 p=0,1889	0,10595 p=0,2514
GP-BB (ng/ml)	0,10164 p=0,3547	0,01365 p=0,9013	-0,0219 p=0,8423	0,15466 p=0,0931
cTnI (ng/ml)	0,42608 p<0,0001	0,162 p=0,1385	-0,02577 p=0,8149	-0,14489 p=0,1159
cTnT(ng/ml)	-0,19718 p=0,0705	-0,00068 p=0,9951	-0,1699 p=0,1201	0,0069 p=0,9406

U izradi korelacijskih analiza uzete su u obzir sve ispitanice, nevezano za pripadnost kontrolnim ili eksperimentalnim grupama.

4.13. Korelacija koncentracija proteina sa vrednostima glukoze u krvi u GDM eksperimentalnoj grupi

Tabela 23. Spearmanove korelacijske analize odnosa glikemije trudnica i ispitivanih proteina u serumu umbilikalne krvi u grupi ispitanica obolelih od GDM .

Koncentracija	Glukoza (mg/dl)
Hsp 27 (ng/ml)	0,1178 p=0,5749
Hsp 70 (ng/ml)	0,4122 p=0,0406
GP-BB (ng/ml)	0,3846 p=0,0577
cTnI (ng/ml)	0,4671 p=0,0186
cTnT (ng/ml)	-0,1066 p=0,6119



Nivo glukoze u krvi je praćen samo kod trudnica obolelih od dijabetesa. Koncentracije su praćene na svakih četiri sata. Nivo glukoze u krvi trudnica neposredno pred porođajem pokazuje pozitivnu korelaciju sa koncentracijama Hsp 70 ($\rho = 0,4122$, $P=0,0406$) i cTnI ($\rho = 0,4671$, $p=0,0186$) (Tabela 23).

4.14. Korelacije koncentracija proteina sa srčanom akcijom fetusa na prijemu trudnice u bolnicu, i pred porođajem

Pozitivna korelacija postoji između koncentracije Hsp 70 i FSF u satu neposredno pred rađanje neonatusa ($\rho = 0,2148$, $p < 0,05$) (Tabela 24).

Tabela 24. Spearmanove korelacijske analize odnosa srčane frekvence fetusa i ispitivanih proteina u serumu umbilikalne krvi.

Koncentracije	FSF u 1. satu (/min)	FSF u 2. Satu (/min)	FSF u 3. Satu (/min)
Hsp 27 (ng/ml)	-0,0470 p=0,6148	-0,0786 p=0,4587	-0,1785 p=0,0981
Hsp 70 (ng/ml)	0,2148 p=0,0201	0,1209 p=0,2538	0,0645 p=0,5527
GP-BB (ng/ml)	0,0443 p=0,6350	-0,0229 p=0,8298	-0,0631 p=0,5613
cTnI (ng/ml)	0,0581 p=0,5337	-0,0344 p=0,7459	-0,1059 p=0,3288
cTnT(ng/ml)	-0,0201 p=0,8294	0,0088 p=0,9340	0,0330 p=0,7617

FSF frekvenca srca fetusa



4.15. Korelacije koncentracija određenih proteina sa karakteristikama porođaja

Tabela 25. Spearmanove korelacijske analize odnosa vremena trajanja ukupnog i stadijuma porođaja i ispitivanih proteina u serumu umbilikalne krvi.

Koncentracije	Vreme od prsnuća ovojnica do porođaja (min)	Ukupno vreme trajanja porođaja (min)
Hsp 27 (ng/ml)	0,1059 p=0,2623	-0,0438 p=0,7624
Hsp 70 (ng/ml)	0,2102 p=0,0248	0,1996 p=0,1646
GP-BB (ng/ml)	0,3510 p=0,0001	0,0064 p=0,9649
cTnI (ng/ml)	-0,0178 p=0,8513	0,2564 p=0,0723
cTnT (ng/ml)	-0,0963 p=0,3084	-0,1937 p=0,1778

Prilikom određivanja odnosa koncentracija i vremena koje je proteklo od prsnuća plodovih ovojnica do porođaja, jedino je nađena pozitivna korelacija sa koncentracijama Hsp 70 ($\rho = 0,2102$, $p < 0,05$) i GP- BB ($\rho = 0,3510$, $p = 0,0001$). Vreme trajanje porođaja treba uzeti sa rezervom, jer sam početak nije kontrolisan, te su podaci dobijani od trudnica. Takođe, vreme drugog stadijuma porođaja se beleži onda kada je ekspulzija započela (Tabela 25).

U našem istraživanju su se koncentracije cTnI značajno razlikovale u trudnoćama koje su završene carskim rezom od onih koje su završene vaginalnim putem ($p = 0,001$). Zatim, koncentracija GP-BB je bila značajno viša u umbilikalnoj krvi trudnica, koje su imale mekonijalnu plodovu vodu ($p < 0,001$), ali koncentracija se razlikovala i u zavisnosti od indikacija za carski rez ($p < 0,0001$). Najviše su bile u trudnoćama koje su prekidane zbog palih tonova fetusa (Tabela 26).



Tabela 26. Razlike u vrednostima ispitivanih proteina umbilikalne krvi u zavisnosti od karakteristika porođaja.

	Hsp 27 (ng/ml)	Hsp 70 (ng/ml)	GP-BB (ng/ml)	cTnI (ng/ml)	cTnT (ng/ml)
Metod porođaja					
CS	0,70 (0,06-7,75)	0,04 (0-1,39)	5,51 (0-27,11)	5,91 (0-26,73)	0 (0-0,09)
Vag	0,93 (0,20-7,22)	0,03 (0-1,59)	8,05 (0-25,70)	1,82 (0-19,27)	0,01 (0-0,07)
P	0,0515	0,5240	0,7907	0,0010	0,9077
PPO					
jatrogeni	0,80 (0,06-6,61)	0,03 (0-1,39)	5,47 (0-27,11)	5,28 (0-26,73)	0,01 (0-0,09)
spontani	0,85 (0,18-7,75)	0,04 (0-1,59)	9,84 (0,23-24,59)	2,32 (0-23,16)	0 (0-0,05)
P	0,5857	0,4676	0,0761	0,0506	0,6580
Boja amnijske tečnosti					
Bistra	0,85 (0,06-7,75)	0,03 (0-1,59)	5,57 (0-25,70)	3,30 (0-26,73)	0,01 (0-0,09)
Mekonijalna	0,74 (0,31-6,15)	0,05 (0,01-0,54)	16,29 (1,77-27,11)	6,04 (0-23,16)	0 (0-0,08)
P	0,8386	0,1828	0,0007	0,1704	0,4317
Indikacije za CS					
Zastoj dilatacije	0,55 (0,13-6,61)	0,04 (0-1,39)	12,74 (0,93-27,11)	5,99 (0-13,60)	0,01 (0-0,08)
Pali tonovi fetusa	1,21 (0,23-7,75)	0,08 (0-0,42)	17,28 (6,43-23,24)	6,06 (1,71-12,42)	0 (0-0,08)
Zakazani CS	0,80 (0,06-5,74)	0,03 (0-0,94)	3,80 (0-17,80)	5,77 (0-26,73)	0 (0-0,09)
p	0,2430	0,1280	<0,0001	0,9890	0,4779

PPO prsnuće plodovih ovojnica



Tabela 27. Spearmanova korelacijska analiza ispitivanih koncentracija proteina seruma umbilikalne krvi sa Apgar skorovima neonatusa u prvom i petom minutu i telesnom masom neonatusa na rođenju

Koncentracije	Apgar 1	Apgar 5	Telesna masa bebe (g)
Hsp 27 (ng/ml)	-0,0815 p=0,3765	-0,2739 p=0.0025	-0,1831 p=0,0454
Hsp 70 (ng/ml)	-0,0936 p=0,3093	-0,0826 p=0,3697	-0,0580 p=0,5289
GP-BB (ng/ml)	-0,0357 p=0,6986	-0,0482 p=0,6009	-0,0376 p=0,6839
cTnI (ng/ml)	-0,2833 p=0,0017	-0,2166 p=0,0175	-0,3004 p=0,0009
cTnT (ng/ml)	0,0732 p=0,4267	0,1616 p=0,0779	0,1444 p=0,1157

Postoji negativna korelacija između koncentracija Hsp 27 i telesne mase novorođenčadi ($\rho = -0,1831$, $p < 0,05$), kao i sa Apgar skorom u petom minutu ($\rho = -0,2739$, $p < 0,05$). Koncentracije cTnI su u negativnoj korelaciji sa Apgar skorom u prvom minutu ($r = -0,2833$, $p < 0,05$), sa Apgar skorom u petom minutu ($\rho = -0,2166$, $p < 0,05$), i sa porođajnom masom novorođančeta ($\rho = -0,3004$, $p < 0,0001$) (Tabela 27).



4.16. Korelacije koncentracija proteina sa gasovima arterijske i venske umbilikalne krvi

Tabela 28. Spearmanova korelacijska analiza odnosa gasova venske umbilikalne krvi sa ispitivanim koncentracijama proteina seruma umbilikalne krvi

Koncentracije (ng/ml)	pH	PCO ₂ (mmHg)	PO ₂ (mmHg)	HCO ₃ (mEq/l)	BSE	O ₂ sat (%)
Hsp 27 (ng/ml)	-0,1335 p=0,2469	-0,0531 p=0,6467	0,0471 p=0,6842	0,2124 p=0,0637	-0,1872 p=0,1030	0,0085 p=0,9426
Hsp 70 (ng/ml)	-0,0653 p=0,5727	-0,0623 p=0,5905	0,0807 p=0,4856	0,0987 p=0,3933	-0,0308 p=0,7901	-0,0087 p=0,9407
GP-BB (ng/ml)	-0,0586 p=0,6127	0,0750 p=0,5167	-0,1360 p=0,2381	0,0149 p=0,8974	0,0187 p=0,8716	-0,1203 p=0,3038
cTnI (ng/ml)	0,0228 p=0,8441	0,0418 p=0,7181	-0,0362 p=0,7546	-0,0357 p=0,7579	-0,0535 p=0,6443	-0,1533 p=0,1891
cTnT (ng/ml)	0,0180 p=0,8767	-0,1327 p=0,2501	0,1817 p=0,1138	0,0255 p=0,8256	-0,0955 p=0,4086	0,1388 p=0,2349

Koncentracije proteina i enzima GP-BB nisu pokazale korelacije sa gasovima u venksoj krvi, dok je u arterijskoj umbilikalnoj krvi Hsp 27 bio u negativnoj korelaciji sa pH krvi ($\rho = -0,2382$, $p < 0,05$), i u pozitivnoj sa HCO₃ ($\rho = 0,2716$, $p < 0,05$). Koncentracije cTnI su pokazale negativnu korelaciju sa baznim viškom ($\rho = -0,2471$, $p < 0,05$) (Tabele 28 i 29).

Koncentracije ispitivanih molekula nisu bile u korelacijama sa vrednostima srčane akcije neonatusa u satima neposredno nakon porođaja (Tabela 30).



Tabela 29. Spearmanova korelacijska analiza gasova arterijske umbilikalne krvi i koncentracijama proteina seruma umbilikalne krvi.

Koncentracije (ng/ml)	pH	PCO ₂ (mmHg)	PO ₂ (mmHg)	HCO ₃ (mEq/l)	BSE	O ₂ sat (%)
Hsp 27 (ng/ml)	-0,2382 p=0,0471	0,0650 p=0,5930	0,0504 p=0,6951	0,2716 p=0,0230	-0,2176 p=0,0703	0,1343 p=0,2900
Hsp 70 (ng/ml)	0,0641 p=0,5978	0,0571 p=0,6388	-0,0881 p=0,4922	-0,0698 p=0,5657	0,1711 p=0,1566	-0,0923 p=0,4685
GP-BB (ng/ml)	-0,1410 p=0,2444	-0,0159 p=0,8961	-0,0117 p=0,9278	0,1776 p=0,1414	-0,1166 p=0,3364	-0,1107 p=0,3838
cTnI (ng/ml)	0,0125 p=0,9180	-0,2074 p=0,0850	-0,1068 p=0,4046	0,1605 p=0,1844	-0,2471 p=0,0392	-0,0356 p=0,7803
cTnT (ng/ml)	0,0597 p=0,6235	-0,0154 p=0,8990	0,1634 p=0,2007	-0,1038 p=0,3924	0,0850 p=0,4840	0,0930 p=0,4649

Tabela 30. Spearmanova korelacijska analiza koncentracija proteina seruma umbilikalne krvi sa srčanom akcijom neonatusa u satima neposredno nakon porođaja.

Koncentracije	SAN neposredno nakon porođaja	SAN u 1. satu (/min)	SAN u 2. satu (/min)	SAN u 3. satu (/min)
Hsp 27 (ng/ml)	-0,0313 p=0,8105	-0,1244 p=0,1834	-0,0906 p=0,3335	-0,0253 p=0,7879
Hsp 70 (ng/ml)	-0,0146 p=0,9114	-0,0340 p=0,7168	-0,0486 p=0,6048	-0,1029 p=0,2719
GP-BB (ng/ml)	0,0486 p=0,7098	-0,0367 p=0,6957	-0,0843 p=0,3683	-0,1124 p=0,2295
cTnI (ng/ml)	0,0881 p=0,4995	0,0515 p=0,5829	0,0984 p=0,2931	0,1355 p=0,1469
cTnT (ng/ml)	-0,1180 p=0,3649	0,1406 p=0,1322	0,1173 p=0,2097	0,0235 p=0,8025

SAN srčana akcija neonatusa



Tabela 31. Spearmanova korelacijska analiza koncentracija proteina seruma umbilikalne krvi sa dužinom ostanka u bolnici neonatusa.

Koncentracije (ng/ml)	Dužina hospitalizacije neonatusa (dani)
Hsp 27 (ng/ml)	-0,0829 p=0,3683
Hsp 70 (ng/ml)	0,0889 p=0,3345
GP-BB (ng/ml)	-0,0303 p=0,7423
cTnI (ng/ml)	0,2230 p=0,0144
cTnT (ng/ml)	0,0530 p=0,5657

Tabela 32. Spearmanova korelacijska analiza koncentracija proteina seruma umbilikalne krvi sa nekim od karakteristika postporođajnog toka neonatusa - GA, oživljavanje, NICU

	Hsp 27 (ng/ml)	Hsp 70 (ng/ml)	GP-BB (ng/ml)	cTnI (ng/ml)	cTnT (ng/ml)
GA<37 nedelja					
Ne	0,74 (0,06-7,75)	0,03 (0-1,59)	7,02 (0-27,141)	3,40 (0-23,16)	0 (0-0,09)
Da	1,25 (0,37-5,30)	0,05 (0-0,96)	2,92 (0-22,11)	8,87 (0-26,73)	0,01 (0-0,08)
p	0,0102	0,6187	0,1392	0,1023	0,6910
GA<34 nedelja					
Ne	0,76 (0,06-7,75)	0,04 (0-1,59)	6,63 (0-27,11)	3,82 (0-26,73)	0,01 (0-0,09)
Da	1,25 (0,65-5,30)	0,02 (0-0,28)	2,54 (0-17,80)	2,26 (0-11,57)	0 (0-0,03)
p	0,0157	0,6569	0,1261	0,6998	0,8782
Oživljavanje					
Ne	0,78 (0,06-7,22)	0,03 (0-1,59)	6,13 (0-27,11)	3,30 (0-27,11)	0,01 (0-0,09)
Da	1,25 (0-1,59)	0,04 (0-0,26)	11,96 (0-24,16)	10,12 (0-12,44)	0 (0-0,02)
p	0,0090	0,6447	0,3089	0,0112	0,0483
NICU					
Ne	0,75 (0,06-7,22)	0,03 (0-1,59)	6,82 (0-27,11)	3,49 (0-23,16)	0,01 (0-0,09)
Da	1,19 (0,37-7,75)	0,07 (0-0,96)	2,41 (0-23,24)	6,73 (0-26,73)	0 (0-0,07)
p	0,0221	0,3078	0,1748	0,1327	0,7564

GA gestacijska starost

NICU boravak u neonatalnoj intenzivnoj nezi (Neonatal Intensive Care Unit)



Koncentracije cTnI su pokazale pozitivnu korelaciju sa dužinom hospitalizacije neonatusa ($r=0,2230$, $p<0,05$) (Tabela 31).

Koncentracije Hsp 27 su se razlikovale u zavisnosti od različite starosti neonatusa na rođenju. Naime, više su bile kod trudnoća kraćih od 37 gestacijskih nedelja ($p<0,05$), ali i kod onih kod kojih su decarodena pre 34 gestacijske nedelje ($p<0,05$) u odnosu na decu koja su rođena u terminu. Njihove koncentracije su značajno bile veće u umbilikalne krvi dece koja su oživljavana na rođenju ($p<0,01$), kao i kod dece koja su lečena u intenzivnoj nezi ($p<0,01$). Među ostalim koncentracijama je jedino cTnI pokazivao razlike u grupi dece koja su oživljavana, sa tom razlikom što je koncentracija bila značajno niža kod dece koja su imala neku vrstu asistirane kardiopulmonalne reanimacije na rođenju ($p<0,05$) (Tabela 32).

Tabela 33. Spearmanova korelacijska analiza međusobnog odnosa koncentracija ispitivanih proteina u serumu umbilikalne krvi

Koncentracije	Hsp 27 Spearmanova ρ p-vrednost	Hsp 70 Spearmanova ρ p-vrednost	GP-BB Spearmanova ρ p-vrednost	cTnI Spearmanova ρ p-vrednost	cTnT Spearmanova ρ p-vrednost
Hsp 27 (ng/ml)		0,1722 $p=0,0600$	0,1353 $p=0,1408$	0,0870 $p=0,3450$	-0,2912 $p=0,0013$
Hsp 70 (ng/ml)	0,1722 $p=0,0600$		0,2411 $p=0,0080$	0,1615 $p=0,0780$	0,0183 $p=0,8427$
GP-BB (ng/ml)	0,1353 $p=0,1408$	0,2411 $p=0,0080$		0,1658 $p=0,0704$	-0,1839 $p=0,0444$
cTnI (ng/ml)	0,0870 $p=0,3450$	0,1615 $p=0,0780$	0,1658 $p=0,0704$		-0,1803 $p=0,0487$
cTnT (ng/ml)	-0,2912 $p=0,0013$	0,0183 $p=0,8427$	-0,1839 $p=0,0444$	-0,1803 $p=0,0487$	

U izradi korelacijskih analiza uzete su u obzir sve ispitanice, nevezano za pripadnost kontrolnim ili eksperimentalnim grupama'.

Koncentracije GP-BB su pokazale pozitivnu korelaciju sa koncentracijom Hsp 70 ($\rho=0,2411$, $p<0,05$). Dok su koncentracije cTnT bile u negativnoj korelaciji sa Hsp 27 koncentracijama ($\rho=-0,2912$, $p<0,05$), GP-BB koncentracijama ($\rho=-0,1839$, $p<0,05$) i cTnI ($\rho=-0,1803$, $p<0,05$) (Tabela 33).



Tabela 34. Spearmanova korelacijska analiza međusobnog odnosa koncentracija ispitivanih proteina u serumu umbilikalne krvi u grupi ispitanica obolelih od GDM

Koncentracije	Hsp 27 Spearmanova ρ p-vrednost	Hsp 70 Spearmanova ρ p-vrednost	GP-BB Spearmanova ρ p-vrednost	cTnI Spearmanova ρ p-vrednost	cTnT Spearmanova ρ p-vrednost
Hsp 27 (ng/ml)		0,5353 p=0,0023	0,3045 p=0,1018	0,2728 p=0,1447	-0,4685 p=0,0090
Hsp 70 (ng/ml)	0,5353 p=0,0023		0,1685 p=0,3735	0,1874 p=0,3213	-0,3220 p=0,0827
GP-BB (ng/ml)	0,3046 p=0,1018	0,1685 p=0,3735		0,0866 p=0,6492	-0,2050 p=0,2771
cTnI (ng/ml)	0,2728 p=0,1447	0,1874 p=0,3213	0,0866 p=0,6492		-0,0339 p=0,8588
cTnT (ng/ml)	-0,4685 p=0,0090	-0,3220 p=0,0827	-0,2050 p=0,2771	-0,0339 p=0,8588	

U eksperimentalnoj grupi gestacijskog dijabetesa koncentracije Hsp 27 su bile u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijama Hsp 70 ($\rho=0,5353$, $p<0,05$) i u negativnoj korelaciji sa koncentracijama cTnT ($\rho=-0,4685$, $p<0,05$) (Tabela 34), dok u eksperimentalnoj grupi preeklampsije nije bilo značajnih korelacija među merenim koncentracijama (Tabela 35).

Tabela 35. Spearmanova korelacijska analiza međusobnog odnosa koncentracija ispitivanih proteina u serumu umbilikalne krvi u grupi ispitanica obolelih od PIH.

Koncentracije	Hsp 27 Spearmanova ρ p-vrednost	Hsp 70 Spearmanova ρ p-vrednost	GP-BB Spearmanova ρ p-vrednost	cTnI Spearmanova ρ p-vrednost	cTnT Spearmanova ρ p-vrednost
Hsp 27 (ng/ml)		0,0543 p=0,7757	0,1342 p=0,4797	0,1969 p=0,2969	-0,3123 p=0,0929
Hsp 70 (ng/ml)	0,0543 p=0,7757		0,0779 p=0,6825	0,1306 p=0,4914	0,1995 p=0,2906
GP-BB (ng/ml)	0,1352 p=0,4797	0,0779 p=0,6825		-0,1805 p=0,3399	-0,1363 p=0,4725
cTnI (ng/ml)	0,1969 p=0,2969	0,1306 p=0,4914	-0,1805 p=0,3399		0,0478 p=0,8021
cTnT (ng/ml)	-0,3123 p=0,0929	0,1995 p=0,2906	-0,1363 p=0,4725	0,0478 p=0,8021	



Tabela 36. Spearmanova korelacijska analiza međusobnog odnosa koncentracija ispitivanih proteina u serumu umbilikalne krvi u kontrolnoj CS grupi ispitanica.

Koncentracije	Hsp 27 Spearmanova ρ p-vrednost	Hsp 70 Spearmanova ρ p-vrednost	GP-BB Spearmanova ρ p-vrednost	cTnI Spearmanova ρ p-vrednost	cTnT Spearmanova ρ p-vrednost
Hsp 27 (ng/ml)		-0,0769 p=0,6862	-0,2100 p=0,2653	-0,1564 p=0,4093	0,0568 p=0,7657
Hsp 70 (ng/ml)	-0,0769 p=0,6862		0,4382 p=0,0154	0,3569 p=0,0528	0,0931 p=0,6245
GP-BB (ng/ml)	-0,2100 p=0,2653	0,4382 p=0,0154		0,1031 p=0,5876	-0,0799 p=0,6747
cTnI (ng/ml)	-0,1564 p=0,4093	0,3569 p=0,0528	0,1031 p=0,5876		-0,3267 p=0,0781
cTnT (ng/ml)	0,0568 p=0,7657	0,0931 p=0,6245	-0,0799 p=0,6747	-0,3267 p=0,0781	

U kontrolnoj grupi CS koncentracije Hsp 70 su bile u pozitivnoj korelaciji sa GP-BB ($\rho=0,4382$, $p<0,05$) (Tabela 36). U kontrolnoj grupi vaginalnih porođaja su koncentracije cTnT bile u negativnoj korelaciji sa koncentracijama Hsp 27 ($\rho=-0,5255$, $p<0,05$) i sa koncentracijama GP-BB ($\rho=-0,4480$, $p<0,05$) (Tabela 37).

Tabela 37. Spearmanova korelacijska analiza međusobnog odnosa koncentracija ispitivanih proteina u serumu umbilikalne krvi u kontrolnoj VAG grupi ispitanica.

Koncentracije	Hsp 27 Spearmanova ρ p-vrednost	Hsp 70 Spearmanova ρ p-vrednost	GP-BB Spearmanova ρ p-vrednost	cTnI Spearmanova ρ p-vrednost	cTnT Spearmanova ρ p-vrednost
Hsp 27 (ng/ml)		0,2138 p=0,2567	0,3221 p=0,0826	0,2300 p=0,2215	-0,5255 p=0,0029
Hsp 70 (ng/ml)	0,2138 p=0,2567		0,1116 p=0,5571	-0,0446 p=0,8149	0,1048 p=0,5816
GP-BB (ng/ml)	0,3221 p=0,0826	0,1116 p=0,5571		-0,0059 p=0,9752	-0,4480 p=0,0130
cTnI (ng/ml)	0,2300 p=0,2215	-0,0446 p=0,8149	-0,0059 p=0,9752		-0,0816 p=0,6681
cTnT (ng/ml)	-0,5255 p=0,0029	0,1048 p=0,5816	-0,4480 p=0,0130	-0,0816 p=0,6681	



4.17. Upoređivanje grupa ispitanica i neonatusa koji su imali koncentracije Hsp 27 i GP-BB veće od maksimalnih označenih u ELISA testovima

Kako su Hsp i GP BB reaktanti koji deluju u akutnim fazama hipoksije, izdvojili smo one ispitanice koje su imale izuzetno visoke koncentracije GP-BB i Hsp 27, više od maksimalnih koncentracija označenih u korišćenim ELISA testovima (GP-BB > 16 ng/mL; Hsp 27 > 4 ng/mL). Ispitanice u čijim su uzorcima krvi utvrđene visoke koncentracije GP-BB i Hsp 27 se nisu razlikovale po svojim karakteristikama od onih sa nižim koncentracijama (Tabela 38).

Tabela 38. Karakteristike trudnica sa koncentracijama Hsp 27 i GP-BB u serumu umbilikalne krvi iznad maksimalnih koncentracija datih u testu u odnosu na one sa nižim koncentracijama

	Hsp 27		p-vrednost	GP-BB		p-vrednost
	Vrednosti koncentracija <4 ng/ mL N=106	Vrednosti koncentracija >4ng/ml N=14		Vrednosti koncentracija <16 ng/mL N=94	Vrednosti koncentracija >16 ng/mL N=26	
Starost (godine)	33,48 ± 5,57	33,50 ± 4,20	p>0,05	33,66 ± 5,28	32,85 ± 5,94	p>0,05
Gestacijska starost (nedelje)	38,46 ± 2,38	37,69 ± 2,49	p>0,05	38,26 ± 2,47	38,77 ± 2,10	p>0,05
Pregestacijska BMI (kg/m²)	23,85 [20,80-27,35]	25,30 [20,80-34,20]	p>0,05	23,45 [20,55-27,45]	24,50 [21,80-28,30]	p>0,05
Pregestacijska telesna težina (kg)	61,40 [55,90-75,00]	65,70 [56,80-90,90]	p>0,05	61,40 [54,50-76,15]	65,25 [57,70-77,30]	p>0,05
BMI na porođaju (kg/m²)	29,20 [26,10-34,40]	31,50 [26,90-42,50]	p>0,05	29,10 [25,90-33,60]	32,50 [26,95-36,10]	p>0,05
Telesna težina na porođaju (kg)	79,50 [70,50-91,40]	84,10 [73,20-117,00]	p>0,05	79,10 [70,50-91,40]	82,50 [71,85-99,10]	p>0,05
Dodata telesna težina u trudnoći (kg)	15,00 [11,40-18,30]	12,70 [10,9-14,50]	p>0,05	14,50 [11,30-19,10]	13,65 [12,00-18,20]	p>0,05



Ispitanice koje su imale visoke vrednosti Hsp 27 i GP-BB u umbilikalnoj krvi se nisu razlikovale po krvnim pritiscima sa onima koji su imale niske vrednosti (Tabela 39).

Tabela 39. Karakteristike vitalnih znakova trudnica sa koncentracijama Hsp 27 i GP-BB u serumu umbilikalne krvi iznad maksimalnih koncentracija u testu u odnosu na one sa nižim koncentracijama

	Hsp 27		p- vrednost	GP-BB		p- vrednost
	Vrednosti koncentracija <4 ng/ mL N=106	Vrednosti koncentracija >4 ng/mL N=14		Vrednosti koncentracija< 16 ng/mL N=94	Vrednosti koncentracija> 16 ng/mL N=26	
SKP na prijemu (mm/Hg)	126,28± 14,80	138,79 ±22,52	p>0,05	126,49± 16,72	132,48 ±13,81	p>0,05
DKP na prijemu (mm/Hg)	76,77 ± 10,32	82,86 ± 8,74	p>0,05	76,95 ±10,09	79,52± 11,04	p>0,05
SF na prijemu (/min)	87,51 ± 16,42	82,14 ± 11,89	p>0,05	87,04 ± 16,37	86,28± 14,83	p>0,05
SKP u 1. satu (mm/Hg)	124,36± 15,91	128,48± 20,49	p>0,05	124,17± 16,57	127,27± 16,13	p>0,05
DKP u 1. satu (mm/Hg)	70,74 ± 10,77	74,37 ± 10,21	p>0,05	71,29± 11,06	70,70 ± 9,62	p>0,05
SF u 1. satu (/min)	90,69 ± 15,19	86,21± 12,88	p>0,05	89,68± 15,00	91,93 ± 14,99	p>0,05
SKP u 2. satu (mm/Hg)	124,05 ±16,33	129,58 ±25,38	p>0,05	125,10± 18,03	123,29± 15,81	p>0,05
DKP u 2. satu (mm/Hg)	70,50 ± 11,20	71,30 ± 12,42	p>0,05	71,08± 11,57	69,09 ± 10,41	p>0,05
SF u 2. satu (mm/Hg)	87,45 ± 14,65	83,27 ± 9,22	p>0,05	86,26 ± 14,04	89,19± 14,72	p>0,05
SKP u 3. satu (mm/Hg)	125,83 ±17,36	137,25± 24,39	p>0,05	126,40± 18,19	129,25 ±19,64	p>0,05
DKP u 3. satu (mm/Hg)	72,35 ±12,23	77,40 ± 12,90	p>0,05	73,15± 12.,47	72,39± 12,22	p>0,05
SF u 3. Satu (/min)	85,52 ± 13,70	82,06 ± 11,17	p>0,05	85,09 ± 14,06	85,18 ± 11,81	p>0,05



Vrednosti hemoglobina su bile značajno više u grupi ispitanica sa visokim GP-BB koncentracijama (Tabela 40).

Tabela 40. Parametri krvne slike trudnica sa koncentracijama Hsp 27 i GP-BB u serumu umbilikalne krvi iznad maksimalnih koncentracija u odnosu na one sa nižim koncentracijama

	Hsp 27		p-vrednost	GP-BB		p-vrednost
	Vrednosti koncentracija <4 ng/ mL N=106	Vrednosti koncentracija >4 ng/ mL N=14		Vrednosti koncentracija <16 ng/mL N=94	Vrednosti koncentracija >16 ng/mL N=26	
WBC (k/uL)	11,34± 3,63	10,46 ± 1,78	p>0,05	11,21± 3,50	11,32± 3,41	p>0,05
RBC (k/uL)	4,13± 0,50	4,12 ± 0,48	p>0,05	4,10 ± 0,48	4,25± 0,52	p>0,05
HGB (g/dl)	12,37± 3,02	12,15 ± 1,18	p>0,05	12,06 ± 1,32	13,41± 5,64	p<0,05
HCT (%)	36,19 ± 3,90	36,62 ± 3,40	p>0,05	210,42± 57,7	36,93± 4,25	p>0,05
Plt (k/uL)	207,04±59,04	221,69±32,88	p>0,05	210,42±57,71	202,70±53,24	p>0,05
Neutro (%)	57,29 ± 14,90	55,00±21,21	p>0,05	55,75 ± 14,93	61,02± 15,86	p>0,05
Limfociti (%)	17,15± 6,10	15,80 ± 4,63	p>0,05	16,92 ± 5,88	17,36 ± 6,41	p>0,05
Mono (%)	6,20 ± 2,51	9,00 ± 1,41	p>0,05	6,41 ± 2,67	6,70 ± 2,39	p>0,05
Neutro (k/uL)	8,91 ± 3,59	7,93 ± 1,66	p>0,05	8,80± 3,44	8,81 ±3,59	p>0,05
Limfociti (k/uL)	2,03 ± 1,64	1,60 ± 0,52	p>0,05	2,04± 1,72	1,74 ± 0,55	p>0,05
Mono (k/uL)	0,63 ±0,60	0,56 ± 0,21	p>0,05	0,64 ± 0,62	0,57 ±0,25	p>0,05

WBC - bela krvna zrnca, RBC - eritrociti, HGB - hemoglobin, HCT - hematokrit, Plt - trombociti, Neutro - neutrofili, Mono - monociti

Znatno je bilo više porođaja sa mekonijalnom plodovom vodom kod ispitanica sa visokim koncentracijama GP-BB u umbilikalnoj krvi (Tabela 41).



Tabela 41. Karakteristike porođaja grupa ispitanica sa koncentracijama Hsp 27 i GP-BB u serumu umbilikalne krvi iznad maksimalnih koncentracija u odnosu na one sa nižim koncentracijama

	Hsp 27		p-vrednost	GP-BB		p-vrednost
	Vrednosti koncentracija <4 ng/ mL N=106	Vrednosti koncentracija >4 ng/ mL N=14		Vrednosti koncentracija <16 ng/mL N=94	Vrednosti koncentracija >16 ng/mL N=26	
Način porođaja						
CS	54 (51%)	9 (64%)	p>0,05	48 (51%)	15 (58%)	p>0,05
Vag	52 (49%)	5 (36%)		46 (49%)	11 (42%)	
PPO						
Jatrogeno	70 (66%)	9 (64%)	p>0,05	63 (67%)	16 (62%)	p>0,05
Spontano	36 (34%)	5 (36%)		31 (33%)	10 (38%)	
Boja amnionske tečnosti						
Bistra	88 (83%)	11 (79%)	p>0,05	85 (90%)	14 (54%)	p<0,0001
Mekonijalna	18 (17%)	3 (21%)		9 (10%)	12 (46%)	
Indikacija za carski rez						
Zastoj u dilataciji	14 (27%)	2 (22%)	p>0,05	10 (21%)	6 (46%)	p<0,0001
Pali tonovi fetusa	6 (12%)	1 (11%)		2 (4%)	5 (38%)	
Elektivni	31 (61%)	6 (67%)		35 (74%)	2 (15%)	

Tabela 42. Apgar skorovi, težina na rođenju i broj oživljavanja u grupama trudnica sa koncentracijama Hsp 27 i GP-BB u serumu umbilikalne krvi iznad maksimalnih koncentracija u odnosu na one sa nižim koncentracijama

	Hsp 27		p-vrednost	GP- BB		p-vrednost
	Vrednosti koncentracija <4 ng/ mL N=106	Vrednosti koncentracija >4 ng/ mL N=14		Vrednosti koncentracija <16 ng/mL N=94	Vrednosti koncentracija >16 ng/mL N=26	
Apgar 1 min	9 [8-9]	9 [7-9]	p>0,05	9 [8-9]	9 [8-9]	p>0,05
Apgar 5 min	9 [9-9]	9 [8-9]	p<0,05	9 [9-9]	9 [9-9]	p>0,05
Težina neonatusa na rođenju (g)	3126,13 ± 694,543	3035,71 ± 770,17	p>0,05	3132,66 ± 744,12	3053,85 ± 523,05	p>0,05
Oživljavanje						
Ne	99 (93%)	8 (57%)	p<0,0001	87 (93%)	20 (77%)	p<0,05
Da	7 (7%)	6 (43%)		7 (7%)	6 (23%)	



Grupe sa visokim i niskim koncentracijama Hsp 27 i GP-BB su se razlikovale po broju dece koja su oživljavana na rođenju (Tabela 42).

Gasovi arterijske i venske krvi neonatusa se nisu razlikovale zavisno od koncentracija Hsp 27 i GP-BB (Tabela 43).

Tabela 43. Gasovi venske i arterijske krvi neonatusa u grupama trudnica sa koncentracijama Hsp 27 i GP-BB u serumu umbilikalne krvi iznad maksimalnih koncentracija u testu u odnosu na one sa nižim koncentracijama

	Hsp 27		p-vrednost	GP-BB		p-vrednost
	Vrednosti koncentracija a <4 ng/ mL N=106	Vrednosti koncentracija >4 ng/ mL N=14		Vrednosti koncentracija <16 ng/mL N=94	Vrednosti koncentracija >16 ng/mL N=26	
Venska pH	7,28 ± 0,09	7,25 ± 0,09	p>0,05	7,28 ± 0,08	7,26 ± 0,11	p>0,05
Venski PCO ₂	46,80 ± 9,40	49,07 ± 8,80	p>0,05	46,27 ± 8,55	49,79 ± 11,28	p>0,05
Venski PO ₂	26,08 ± 10,45	27,17 ± 15,50	p>0,05	26,65 ± 11,7	24,82 ± 8,76	p>0,05
Venska BSE	5,41 ± 3,92	6,64 ± 3,28	p>0,05	5,45 ± 3,87	5,97 ± 3,82	p>0,05
Venski HCO ₃	22,56 ± 8,38	20,84 ± 1,84	p>0,05	21,51 ± 3,20	25,07 ± 15,19	p>0,05
Venska sat. O ₂	54,29 ± 18,86	56,08 ± 14,61	p>0,05	54,57 ± 18,71	54,26 ± 17,53	p>0,05
Arterijska pH	7,20 ± 0,08	7,15 ± 0,09	p>0,05	7,21 ± 0,07	7,16 ± 0,08	p>0,05
Arterijski PCO ₂	55,07 ± 10,16	62,74 ± 8,48	p>0,05	54,79 ± 9,38	59,08 ± 12,23	p>0,05
Arterijski PO ₂	19,27 ± 6,43	18,23 ± 7,62	p>0,05	18,84 ± 6,49	20,12 ± 6,61	p>0,05
Arterijska BSE	7,60 ± 3,90	8,50 ± 3,72	p>0,05	7,35 ± 3,73	8,78 ± 4,18	p>0,05
Arterijski HCO ₃	20,99 ± 3,55	21,37 ± 2,37	p>0,05	21,15 ± 3,37	20,65 ± 3,73	p>0,05
Arterijska sat. O ₂	37,88 ± 17,71	33,15 ± 17,90	p>0,05	37,67 ± 18,70	36,72 ± 14,51	p>0,05

Srčana akcija neonatusa se nije razlikovala zavisno od koncentracija Hsp 27 i GP-BB u satima nakon porođaja (Tabela 44).



Tabela 44. Srčana akcija neonatusa u grupama trudnica sa koncentracijama Hsp 27 i GP-BB u serumu umbilikalne krvi iznad maksimalnih koncentracija u odnosu na one sa nižim koncentracijama

	Hsp 27		p-vrednost	GP- BB		p-vrednost
	Vrednosti koncentracija <4 ng/ mL N=106	Vrednosti koncentracija >4 ng/ mL N=14		Vrednosti koncentracija <16 ng/mL N=94	Vrednosti koncentracija >16 ng/mL N=26	
SAN u porodajnoj sali (/min)	136,94 ± 15,31	139,75 ± 11,95	p>0,05	137,47 ± 12,04	136,79 ± 22,50	p>0,05
SAN u 1. satu (/min)	146,29 ± 8,49	143,59 ± 8,56	p>0,05	146,57 ± 8,92	143,88 ± 6,58	p>0,05
SAN u 2. Satu (/min)	141,93 ± 8,10	143,07 ± 8,56	p>0,05	142,12 ± 8,65	141,90 ± 4,95	p>0,05
SAN u 3. Satu (/min)	140,67 ± 12,97	141,82 ± 6,45	p>0,05	141,53 ± 8,73	138,31 ± 20,56	p>0,05

*SAN Srčana akcija neonatusa

Tabela 45. Karakteristike neonatusa u grupama trudnica sa koncentracijama Hsp 27 i GP-BB u serumu umbilikalne krvi iznad maksimalnih koncentracija u testu u odnosu na one sa nižim koncentracijama

	Hsp 27		p-vrednost	GP- BB		p-vrednost
	Vrednosti koncentracija <4 ng/ mL N=106	Vrednosti koncentracija >4 ng/ mL N=14		Vrednosti koncentracija <16 ng/mL N=94	Vrednosti koncentracija >16 ng/mL N=26	
GA<34 nedelje	7 (7%)	2 (14%)	p>0,05	8 (9%)	1 (4%)	p>0,05
GA<37 nedelja	14 (13%)	3 (21%)	p>0,05	15 (16%)	2 (8%)	p>0,05
Respiratorni distres	3 (3%)	1 (7%)	p>0,05	4 (4%)	0 (0%)	p>0,05
Sepsa	0 (0%)	0 (0%)	NE	0 (0%)	0 (0%)	NE
NICU (broj neonatusa)	11 (10%)	3 (21%)	p>0,05	11 (12%)	3 (12%)	p>0,05
Hospitalizacija (dani)	4 [3-4]	4 [3-4]	p>0,05	4 [3-4]	4 [3-4]	p>0,05

GA - gestacijska starost

NICU - neonatalna intenzivna nega



Neonatusi su nisu razlikovali po starosti gestacije, ali ni po trajanju hospitalizacije, boravljenju u intenzivnoj nezi ni doživljenoj sepsi i respiratornom distres sindromu u grupama sa različitim koncentracijama Hsp 27 i GP BB (Tabela 45).

KTG karakteristike i frekvence srca fetusa, ali i pol i prezentacija fetusa se nisu statistički značajno razlikovali u grupama sa različitim koncentracijama Hsp 27 i GP-BB (Tabela 46).

Tabela 46. Karakteristike fetusa u grupama trudnica sa koncentracijama Hsp 27 i GP-BB u serumu umbilikalne krvi iznad maksimalnih koncentracija u testu u odnosu na one sa nižim koncentracijama

	Hsp 27		p-vrednost	GP- BB		p-vrednost
	Vrednosti koncentracija <4 ng/ mL N=106	Vrednosti koncentracija >4 ng/ mL N=106		Vrednosti koncentracija <16 ng/mL N=94	Vrednosti koncentracija >16 ng/mL N=26	
KTG Kategorija 1 Kategorija 2	101 (97%) 3 (3%)	14 (100%) 0 (0%)	p>0,05	90 (98%) 2 (2%)	25 (96%) 1 (4%)	p>0,05
Varijabilnost FSF Umerena	104 (100%)	14 (100%)	NE	92 (100%)	26 (100%)	NE
Prezentacija fetusa Karlična Potpuna Karlična Glavicom Licem Sitnim delovima	11 (10%) 0 (0%) 94 (89%) 1 (1%) 0 (0%)	2 (14%) 0 (0%) 12 (86%) 0 (0%) 0 (0%)	p>0,05	13 (14%) 0 (0%) 80 (85%) 1 (1%) 0 (0)	0 (0%) 0 (0%) 26 (100%) 0 (0%) 0 (0%)	p>0,05
Ženski pol	51 (48%)	5 (36%)	p>0,05	44 (47%)	16 (62%)	p>0,05

5. DISKUSIJA



Trudnoća predstavlja vulnerabilno stanje žene kojim vladaju nova fiziološka pravila. Glavni predmet kojim se bavi ovo istraživanje su gestacijski dijabetes i preeklampsija i uticaji koje ova posebna stanja tokom trudnoće nose na razvoj ploda procenjeno kroz koncentracije Hsp, Tn i GP-BB molekula.

5.1. Etnička pripadnost

New York, kao grad koji u kome postoji suštinska etnička raznovrsnost, kao i ogroman broj porođaja, je idealno mesto da se prouči uticaj etničkih grupa na zdravlje trudnica, odnosno da se prouči veza između PIH i GDM u odnosu na etničku pozadinu (Gong i sar. 2012).

Na osnovu naših istraživanja dajemo prikaz etničke pripadnosti ispitanica iako cilj ovog istraživanja nije bio ispitivanje razloga uticaja etničkih grupa na razvoj bolesti. Najzastupljenije su bile pripadnice evropeidne rase, najviše u PIH grupi sa 67%, a najmanje u GDM eksperimentalnoj grupi (50%). Najviše pripadnica orijentalne rase bilo je u CS grupi (17%), najviše afro-amerikanki među GDM pacijentkinjama, a latino-amerikanki među VAG pacijentkinjama. U GDM eksperimentalnoj grupi najviše je zastupljena evropeidna rasa sa 50%, afro-američka sa 20%, latino-američka sa 17% i orijentalna sa 13%. Dakle, među obolelima od GDM bilo je manje pacijentkinja za koje se može pretpostaviti da nisu bile sa Severno-Američkog područja u odnosu na pripadnice evropeidne rase.

Međutim, podaci iz literature su nešto drugačiji. Mnoge studije u kojima su upoređivane karakteristike trudnica različite etničke pripadnosti koje su razvile GDM idu u prilog trudnica evropeidne rase (Aulinas i sar. 2013). Naime, u Americi je potvrđeno da je veća incidenca GDM u afro-američkoj i latino-američkoj grupi pacijentkinja u odnosu na trudnice evropeidne rase (Green i sar. 1990). Slično je u Australiji gde je veća incidenca kod žena aboridžinskog porekla u poređenju sa trudnicama ne-aboridžinskog porekla, kao i veća incidenca GDM kod onih trudnica rođenih u Aziji i Indiji, u odnosu na pojavu GDM kod trudnica domaćeg australijskog stanovništva (Ishak i sar. 2003). Velika studija u Engleskoj je takođe pokazala da se GDM uglavnom javlja kod žena manjinskih rasnih zajednica (Dornhorst i sar. 1992).



Objasnenja treba tražiti u promenjenim životnim uslovima emigranata, koji se svakako reflektuju na zdravlje (Urquia i sar. 2014). Žene manje traže pomoć od lekara, trudnice često ne idu na redovne preglede, loše se hrane i ne može se znati da li imaju fizičku aktivnost (Gong i sar. 2012). Kada se govori o imigracionom stanovništvu, treba napomenuti da se ono nikada ne može dovoljno precizno proučiti kao domaće, pogotovu u Americi, gde je pitanje zdravstvenog osiguranja vrlo kompleksno (Urquia i sar. 2014).

U našem istraživanju, od svih grupa najveći procenat (17%) trudnica orijentalnog porekla je bio u kontrolnoj grupi CS, a najmanji u PIH eksperimentalnoj grupi i VAG kontrolnoj grupi (10%). Iz literature saznajemo da trudnice orijentalnog porekla koje žive u Aziji imaju, manju incidencu nastajanja GDM od onih koje žive van područja svog porekla (Yang i sar. 2002). U vezi sa Kineskinjama treba reći da su one imale daleko veće vrednosti glukoze tolerans testa (Green i sar. 1990; Lee i sar. 2007), čak i kada su se trudnice sa gestacijskim dijabetesom isključile iz istraživanja. To ukazuje da rezultati nisu posledica samo povećane incidence GDM u ovoj etničkoj grupi, već i metaboličkog odgovora na glukozu svojstvenim za pacijentkinje ovog porekla (Green i sar. 1990). Ova razlika u metabolizmu glukoze može biti jako važna u određivanju one koncentracije glukoze, koja je okidač za razvijanje fetopatije usled dijabetesa, i svakako da je potrebno da se naprave standardi i kriterijumi u okviru svake etničke grupe (Green i sar. 1990). Naravno da se utemeljenje ove teorije nalazi u predodređenosti metaboličkih odgovora na stres.

Incidencija hipertenzivnih poremećaja je velika u zemljama u razvoju usled malnutricije, hipoproteinemije i slabih uslova za porođaj. Zavisno od pripadnosti etničkoj grupi, incidencija PIH se kreće od 3% do 7% kod zdravih prvorotki i 1% do 3% kod višerotki (Aabidha i sar. 2015). U evropskim zemljama se kreće od 2,2% u Holandiji do 4,5% u Norveškoj (Purde i sar. 2015), dok je u Kini je prevalencija blagog oblika PIH 1,42% i ozbiljnog oblika 0,49%. Međutim, interesantno je da one Kineskinje koje su emigrirale, imaju manju prevalenciju za razvoj PIH od trudnica evropeidne rase koje tu predstavljaju domaće stanovništvo. To otvara novo poglavlje rasprave o uzrocima. Doprinos tome može biti manji BMI i stil života (Xiao i sar. 2014).

U našem istraživanju, PIH eksperimentalnu grupu je ponovo najviše činilo pripadnica evropeidne rase - 67%, zatim afro-amerikanki - 13%, dok su pripadnice orijentalne i latino-



američke rase bile podjednako zastupljene među pacijentkinjama obolelim od PIH, po 10%. Mi nismo vodili protokol o tome da li su trudnice uključene u istraživanje rođene u Americi, već smo samo izdvojili pripadnice različitih etničkih grupa. Trudnice afro-američkog i latino-američkog porekla imaju značajno veći rizik za PIH u literaturi (James-Todd i sar. 2014).

Svaka studija o demografskim karakteristikama je u startu limitirana u odnosu na veličinu uzorka stanovništva, koji nikako ne mora biti reprezentativan. Objašnjenje za odstupanje naših rezultata od onih u literaturi je uzorak pacijetkinja iz bolnice, gde možda i dominira evropeidno stanovništvo, pacijetkinja koje su u mogućnosti da dođu kod svog izabranog lekara, i koje se, čak i da su emigrirale, verovatno ne sreću sa problemima koje imaju emigrantkinje.

5.2. Godine starosti

Svaki organizam funkcioniše u kontekstu sopstvenih bioloških mogućnosti, a u cilju da ostvari maksimum zdravlja. Međutim, i ovi fiziološki koncepti se tokom života menjaju, najpre zavisno od godina i uzrasta u kome se dešavaju. Sa tim u vezi, jako je važno u kojim starosnim okvirima se dešava trudnoća. Pokazano je naime da je pozitivan tročasovni glikozni test bio jednim delom pod uticajem kako BMI, tako i godina trudnice (Green i sar. 1990).

Trudnice iz našeg istraživanja su nešto starije od proseka koji je nađen u drugim studijama. Prosečna starost trudnica od 35 godina je na granici iznad koje raste rizik za razvoj komplikacija. One koje su obolele od GDM ($35,2 \pm 4,74$) i PIH ($33,9 \pm 6,21$) bile su nešto starije (oko 35 god), u odnosu na trudnice porođene CS koje su imale oko $32,93 \pm 5,18$, i na one porođene vaginalnim putem koje su bile stare $31,9 \pm 5,14$.

Veza između majčinih godina i pregestacijske težine sa GDM nije linearna. Trudnice iznad 35 godina sa težinom ispod 49 kg i iznad 65 kg imaju povećani rizik (McMahon i sar. 1998). Po nekim autorima prosečna starost trudnica kod kojih se razvio GDM iznosi oko 29 godina (Moradi i sar. 2015). Grupu obolelih od GDM u našem istraživanju činilo je 30 osoba, dok je u literaturi taj broj bio mnogo veći, tako da je to svakako jedan od razloga koji su izazvali različit prosek godina.



Starost trudnice generalno utiče na ishod trudnoće. Pokazano je da trudnice koje su starije od 35 godina imaju veći rizik za razvoj GDM (Xiong i sar. 2001), a sa tim i za veći procenat carskih rezova, dece sa makrozomijom i svih ostalih ishoda koji se vezuju za GDM (Cleary-Goldman i sar. 2005).

Podaci iz literature u vezi PIH nisu tako saglasni. Dok neki autori smatraju da stariji uzrast majki predstavlja nezavisan faktor rizika za razvoj PIH (Hernandez- Diaz i sar. 2009), drugi autori nisu uspeli da pokažu da starije trudnice imaju veći rizik (Paré i sar. 2014). Same godine su po statistikama ozbiljan teret kod trudnica koje se nisu razlikovale po ostalim karakteristikama. Na primer, ako se porede one koje imaju PIH i one koje su gojazne, više će se komplikacija naći kod onih koje su starije od 35 godina: makrozomije među bebama malih Apgar skorova i prevremeni porođaji pre 28 nedelje trudnoće (Lamminpää i sar. 2015). Svakako da i ove kriterijume treba uzimati sa rezervom, u smislu da svaki narod ima neke svoje karakteristike, i da se u vremenske odrednice svakako upliće i socioekonomska pozadina.

5.3. Paritet

Istorija prethodnih trudnoća, pobačaja i abortusa je takođe jedan od prediktivnih faktora za razvoj GDM (McMahon i sar. 1998), zbog čega smo pokušali da procenimo da li se naše studijske grupe razlikuju i po broju prethodnih trudnoća. U vezi sa GDM, neki opšti nalazi su da je broj dece $0,8 \pm 0,9$ po IADPSG, $0,9 \pm 1$ po WHO (Moradi i sar. 2015), a ukupan broj trudnoća $2,2 \pm 1,1$ po ADA, $1,9 \pm 1$ po IADPSG, $2,1 \pm 1$ po WHO (Moradi i sar. 2015). U našem istraživanju je sličan nalaz. Najviše zabeleženih trudnoća ima kod trudnica koje su bolovale od GDM $2,63 \pm 1,85$, mada se grupe nisu značajno razlikovale među sobom ($p > 0,05$).

Najveći broj spontanih pobačaja je bio prisutan kod VAG kontrolne grupe $0,4 \pm 0,81$. Međutim, etiologija spontanih pobačaja je zaista raznovrsna.

Smatra se da je paritet veći od 3 jedan od rizika za razvoj PIH, mada se on zapostavlja, pošto je u zapadnom svetu uglavnom zastupljen mali broj trudnoća za vreme reproduktivnog perioda žene (Purde i sar. 2015). Trudnice obolele od PIH u našem istraživanju su imale do dvoje dece, i isto toliko spontanih pobačaja (0 [0-2]).



5.4. Gojaznost i trudnoća

Gojaznost se često identifikuje kao faktor rizika za nastanak različitih drugih patoloških stanja. Kod trudnica raste stopa gojaznosti, ali sa njom i komplikacije u trudnoći, ne samo vezano za majku, već i za fetus, i kasnije za novorođeno dete. Dovodi se u vezu sa GDM, hipertenzijom u trudnoći, učestalošću carskog reza, makrozomijom i infekcijama (Awan i sar. 2015).

Pregestacijska telesna težina i BMI nikako nisu za zanemarivanje. Osobe koje su imale visok pregestacijski BMI, imale su i jako visok rizik za razvoj GDM i PIH, ali i rizik za indukciju porođaja, prolongiran drugi stadijum porođaja, veći rizik za carski rez i ostale obstetrijske procedure (Vinturache i sar. 2014, Boghossian i sar. 2014, Somprasit i sar. 2015, Taebi i sar. 2015). Ukoliko je BMI ispod 19,8 smatra se protektivnim faktorom za razvoj PIH (Conde-Agudelo i sar. 2000). U našem istraživanju su se značajno razlikovali pregestacijski BMI među grupama ($p < 0,001$), međutim, nijedna srednja vrednost nije bila u domenu gojaznosti. Telesne težine pre trudnoće su se takođe značajno razlikovale između grupa ($p < 0,01$). Najveću vrednost medijane je ipak imala grupa obolela od PIH ($71,88 \pm 16,02$ kg), dok je najveća srednja vrednost bila zabeležena kod kontrolne grupe CS ($73,49 \pm 19$ kg). Oba ova nalaza imaju opravdanja u literaturi, s' obzirom na dobro poznatu činjenicu da je gojaznost faktor rizika, kako za razvoj PIH, tako i za posledični CS.

U našem istraživanju, BMI u PIH grupi iznosio je $26,73 \pm 6,02$ kg/m², dok je na porođaju bio $32,93 \pm 6,97$ kg/m². Studijske grupe su se, inače, značajno razlikovale po BMI u vreme porođaja ($p < 0,01$). U jednom od istraživanja u literaturi trudnice sa PIH su imale BMI nešto veći nego u našem istraživanju $29,47 \pm 6,90$ kg/m², dok je u njihovoj kontrolnoj grupi BMI bio $26,14 \pm 2,92$ kg/m². Vrednosti BMI u našim kontrolnim grupama iznosile su $27,29 \pm 3,26$ kg/m² kod vaginalnih porođaja i $33,02 \pm 7,17$ kg/m² u CS grupi, dakle nešto su veće nego u literaturi.

Trudnice koje smo pratili i koje su u toku svoje trudnoće razvile dijabetes, nisu bile gojazne u pregestacijskom periodu. Pre trudnoće, BMI im je iznosio $24,6 \pm 4,78$ kg/m², a težina im je bila $62,86 \pm 11,37$ kg, što spada u domen normalnih vrednosti. Međutim, u vreme porođaja BMI im je iznosio $33,02 \pm 7,17$ kg/m², što već po prihvaćenim kriterijumima spada u gojaznost.



Ustanovljeno je da velika težina pre trudnoće, posebno u kombinaciji sa brzim gojenjem za vreme trudnoće, može da determiniše nastanje GDM (Padayachee i sar. 2015). Mi nismo pratili koliko je težina brzo napredovala tokom trudnoće, ali im je u vreme porođaja telesna masa iznosila $78,15 \pm 13,32$ kg, i u proseku su dodale $12,75 [5-36,3]$ kg tokom trudnoće.

Institute of medicine je 2009. godine dao nove predloge za procenu povećanja telesne mase tokom trudnoće prema pregestacijskom BMI. Po njima ekstremno gojenje u prvom trimesečju donosi veći rizik za razvoj GDM (Hedderson i sar. 2010).

Smatra se da su veliki depoi masti snažan stimulus za pojačavanje inzulinske rezistencije i iscrpljenja ostrvaca pankreasa (Hedderson i sar. 2010). Neke studije su čak i pokazale inverznu vezu između masti majke i inzulinske senzitivnosti, merene u periodu od pre koncepcije do perioda 12-14. nedelje trudnoće. U našem istraživanju nismo pratili povećanje telesne mase majke u trudnoći po trimestrima, već samo ukupno povećanje težine na porođaju, i jedino su vrednosti Hsp 27 bile u značajnoj negativnoj korelaciji sa ukupnim dodatim kilogramima u trudnoći ($p < 0,001$). Objašnjenje ovakvih fenomena leži u metaboličkom sindromu trudnoće (Gruppuso i sar. 1981, Kaaja i sar. 1995), i rastu koncentracije Hsp 27 i njihovoj ulozi kao šaperona tokom metaboličkog sindroma (Reddy i sar. 2014).

Ne treba zaboraviti da putevi nastajanja PIH i GDM imaju dosta zajedničkih karakteristika koje se uglavnom prepliću u resistenciji na inzulin, hiperlipidemiji i povećanim trigliceridima i LDL (Gruppuso i sar. 1981, Kaaja i sar. 1995). Ukoliko se PIH posmatra kao poremećaj superponiran na već postojeći metabolički sindrom u trudnoći (Gruppuso i sar. 1981, Kaaja i sar. 1995), onda su upravo ti patofiziološki putevi odgovorni za nastanak kliničkih detalja slike karakteristične za PIH, između ostalog, i za veće dodavanje u težini. Kao što je već pomenuto, PIH između ostalog nastaje i aktivacijom citokinske mreže i izmenom inflamatornih puteva, imajući u vidu da je masno tkivo sa imunskog aspekta izuzetno aktivno i bogato inflamatornim molekulima. U komunikaciji između ćelija koje čine masno tkivo može se naći većina molekula koji su osnova ćelijske komunikacije limfnog / imunskog tkiva. To dalje znači da upravo ova citokinska mreža masnog tkiva dalje dograđuje imunopatološke elemente kliničke i patofiziološke slike bolesti kakva je PIH (Poloni i sar. 2015).



U našim rezultatima jedino je koncentracija cTnI u umbilikalnoj krvi bila u pozitivnoj korelaciji sa pregestacijskim BMI ($p < 0,001$), sa pregravidnom telesnom težinom ($p < 0,01$), sa BMI na porođaju ($p < 0,001$), i sa telesnom težinom na porođaju ($p < 0,05$). Međutim, analizu dobijenih rezultata otežava činjenica da se svi radovi koji povezuju cTnI i gojaznost tiču odraslih ljudi i faktora rizika od nastanka kardiovaskularnih bolesti i smrti (Apple i sar. 2012).

Međutim, poznato je da je stradanje tkiva usko povezano sa njegovom inflamacijom. Marker ćelijskog stradanja, cTnI, jeste ujedno i marker te iste infalmacije, bez obzira što je ona vrlo često opšteg, sistemskog karaktera. Naime, PIH su kao fenomen i proučavali kroz prizmu sistemskih markera inflamacije, kakvi su trigliceridi ili C-reaktivni protein. Rezultati su pokazali da se kod PIH nalaze visoke vrednosti CRP, triglicerida, ukupnog holesterola, ali zato niske vrednosti HDL kao protektivnog holesterola (Onuegbu i sar. 2015). Iako je cTnI dobijen iz umbilikalne krvi, svakako da i fetus posmatramo u okviru ove slike sistemske inflamacije. Upravo tako se može videti da sistemska inflamacija učestvuje kao jedan od aktera u stradanju tkiva, ili bar infalamacijskim promenama tkiva fetusa.

5.5. Metabolizam glukoze kod neonatusa

Kada su majke pothranjene očekuje se hipoglikemija fetusa (Polin i sar. 2011; Phillips. 2011, Bloch i sar. 1993). Sve više se uočava da pregestacijska telesna masa ima udela u predilekciji za GDM (Liu i sar. 2015). U našem istraživanju, trudnice GDM grupe nisu bile pothranjene u pregestacijskom periodu ($BMI 30,6 \pm 5,01 \text{ kg/m}^2$), i možda to jeste doprinelo stabilnom metabolizmu glikoze neonatusa nakon porođaja.

Mišljenje da hipoglikemija nastaje odmah nakon rođenja nije dokazana Ako je beba zdrava, hipoglikemija koja se javlja odmah nakon rođenja trebalo bi da je tranzitorna. Svaka hipoglikemija koja se javi posle 24 sata od rođenja, trebalo bi da se dublje ispita u smislu postojanja metaboličkih bolesti ili nekih drugi razloga za hipoglikemiju (Cowett, 2011).

Svi neonatusi iz našeg istraživanja su bili metabolički stabilni bez kasno nastale ili dugotrajne hipoglikemije (ispod 40 mg/mL), osim jednog koji je rođen iz GDM trudnoće i čija je glikemija bila 35 mg/mL. U GDM grupi srednja vrednost glikoze je bila 62,5 mg/mL.



Koncentracija glukoze nije bila u korelaciji sa ispitivanim molekulima biomarkerima stradanja tkiva, ali se u tim odnosima ponovo postavlja pitanje hroniciteta GDM i uticaja malog uzorka ispitanica uključenih u istraživanje.

Dijabetes jeste glavni, ali ne i jedini faktor hipoglikemije. Treba shvatiti da majka i fetus žive u jednoj savršenoj homeostatskoj zajednici, i da na svaku hiperglikemiju i hiperinzulinemiju majke, koja prelazi u krvotok fetusa, on odgovara smanjenom sekrecijom inzulina i nepromenjenom potrošnjom kiseonika. Samostalna glukoneogeneza u fetusu se dešava tek nakon 37. nedelje gestacije, dok se upotreba glukoze povećava za 50%, usled porasta i kortizola i kateholamina tokom porođaja. Taj nagli porast kateholamina u vreme rađanja predstavlja jako važan adaptivan fiziološki mehanizam (Cowett, 2011). Na animalnim modelima je pokazano da je vrednost glikoze u tek rođenom štenetu 2-3 puta veća nego kod odraslog psa, jer kod neonatalnog šteneta nije još uspostavljena fina kontrola glikemije (Cowett, 2011). Međutim, u našem istraživanju vrednosti glikoze kod neonatusa bile su u granicama normalnih vrednosti.

5.5.1. Glikogen fosforilaza BB - GP-BB

Tokom celog istraživanja pokušavali smo da pokažemo razlike kod neonatusa rođenih iz trudnoća tokom kojih je, u bilo kom trenutku, vladala hipoksija, koja može poremetiti fiziološko formiranje tkiva fetusa, ali i da dešavanja na samom porođaju takođe imaju uticaja na adaptaciju fetusa na stres i remodelovanje tkiva neonatusa (Patterson i sar. 2010). Naravno da postoje i ona istraživanja koja govore upravo suprotno, da se tkiva baš zbog akumuliranog glikogena slabo adaptiraju na stres (Reichelt i sar. 2013).

Fetus čoveka starosti do 12 nedelja gestacije ima najveću količinu glikogena u srcu, i to $59,85 \pm 2,87$ mg/g svoje ukupne mase. Isto tako je i količina fosforilaze najveća u srcu u odnosu na pluća ili jetru fetusa, pa čak i placentu i ona se ne menja tokom razvoja trudnoće, odnosno kroz gestacijske nedelje (Gennser i sar. 1972; Ghosh i sar. 1989).

Zdravi fetusi pacova počnu da mobilišu glikogen jetre tek poslednjih 5 dana gestacije. Odavde se obezbeđuje neophodna glukoza za vreme porođaja i održava u cirkulaciji u toku prva 2 sata nakon porođaja, dok neonatus pacova nije dovoljno metabolički zreo da započne



sopstvenu glukoneogenezu (Gain i sar 1981). Pokazano je da soj fetusa koji ima nedostatak glikogen fosforilaze ima hipoglikemiju nakon rođenja (Gain et al, 1981).

Kod ljudi je slično, povećanje aktivnosti glikogen sintetaze od 21. do 36. nedelje gestacije posledično izaziva skladištenje glikogena. Brzo smanjenje skladišta glikogena na samom rođenju praćeno je povećanom aktivnošću glikogen fosforilaze i pripremanjem prenatalnog fetusa na njegov nezavisan i samostalan život (Devi i sar. 1992). Istraživanja su pokazala da je glikoneogeneza smanjena sve do nekoliko dana pred porođaj, kada počinje da raste korišćenje glukoze i do 50%, paralelno sa porastom nivoa kortizola i kateholamina u krvi (Phillips, 2011). Tako se deo registrovane GP-BB na rođenju, može tumačiti njenim fiziološkim i očekivanim povećanjem.

Svakako da steroidni hormoni tokom trudnoće imaju uticaja na deponovanje glikogena, budući da je kod ženki miševa dokazano da se tokom metaboličkog stresa ne menja količina, kao jedan protektivni mehanizam u odnosu na nastanak hipoglikemije, što se ne može reći i za mužjake (Reichelt i sar. 2013).

U istraživanjima na fetusima ovaca je pokazano da hipoksija treba da traje bar 4 sata, kako bi se glikogen u jetri smanjio, sa tim što se od 4. do 24. sata njegova količina više ne menja, već se održava na istom nivou, što znači da se glikogenoliza, odnosno aktivnost glikogen fosforilaze, inhibiše (Stratford i sar. 1997). Regulacijski mehanizmi ćelije funkcionišu tako, da čim se normalizuje dopremanje kiseonika, sadržaj glikogena počinje da se obnavlja, i potrebno mu je 48 sati da se vrati na normalne vrednosti u ćelijama. Čak je u eksperimentima na kulturama ćelija pokazano da normoksija koja traje do 120 sati, povećava glikogen do čak 170% normalnih vrednosti u ćeliji (Vigoda i sar. 2003). Dakle, kardiomiociti imaju fenomen kompenzacije glikogenskih depoa, što u prevodu znači da je skladištenje glikogena omogućeno povećanom asporpcijom glukoze i aktivnošću glikogen sintetaze, uz istovremeno smanjenje aktivnosti fosforilaze, što sve rezultira akumulacijom glikogena i predstavlja kardioprotektivni efekat (Vigoda i sar. 2003). Povećane količine glikogena u srcu imaju zaštitni efekat u ishemijskim poremećajima (Vigoda i sar. 2003). Razgradnja glikogena u ćelijama placente, pluća i srca predstavlja rezervni izvor glukoze ovim ćelijama. Za tkiva kakva su srce i placenta,



ovo predstavlja protektivni mehanizam, jer ih štiti od iznenadne hipoglikemije, a time i hipoksije (Phillips, 2011).

Tokom hipoksije je oksidativni metabolizam smanjen ili onemogućen, i tada ćelije pribegavaju ubrzanju glikogenolize. Posledica glikogenolize je ne samo povećano stvaranje energije, već i nagomilavanje produkata tih metaboličkih procesa, kao što su laktat i vodonikovi joni (Tracey i sar. 2004), koji inhibišu Na^+/H^+ i $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ pumpe na ćelijskim membranama ćelija srca. To dovodi do nagomilavanja kalcijuma i posledičnog poremećaja kontraktilnosti srca (Tracey i sar. 2004). Rad srca u hipoksiji označava brzinu njegovog metabolizma (Phillips, 2014). U našem istraživanju, čak i da je kontraktilnost srca fetusa zaista poremećena, to se nije odrazilo na parametre koje smo pratili i koji su bili u normalnim granicama. Frekvencija srca fetusa neposredno pred porođaj se kretala od 135 [115-154.66] u PIH grupi, do 138 [120-161.66] u GDM grupi, i nije bilo značajne razlike ($p > 0,5$). Frekvencija srca neonatusa je neposredno nakon porođaja, u porođajnoj sali, iznosila od 135 [120-160] u PIH grupi, do 136 [103-160] u CS kontrolnoj grupi, ($p > 0,05$). Dok je u prvom satu već bilo značajne razlike u frekvenciji srca neonatusa, ($p < 0,05$, kao i u drugom satu ($p < 0,05$). Samo je jedan fetus imao frekvenciju 165 u satu pred porođaj i koncentraciju GP-BB 18,8 ng/mL.

S' obzirom da se ne može meriti odgovor na stres merenjem glikogena fetusa i neonatusa ljudi, jedan od indirektnih pristupa je određivanje koncentracija GP-BB. Po svemu što smo saznali iz literature, ostaje da se ustanovi da li niske koncentracije GP-BB znače da se glikogen štedi, jer su uslovi nepovoljni po ćelije srca, ili pak njegove visoke koncentracije znače upravo da se radi o akutno nastaloj hipoksiji ili ishemiji.

Pre rođenja pacova, koncentracija glikoze fetusa je 20 % koncentracije glukoze majke mereno na 21. dan gestacije. Koncentracije glukoze i majke i fetusa rastu proporcionalno u poslednja 24 sata pre rođenja. Ukoliko fetus pacova ima deficijenciju glikogen fosforilaze b, onda nivo njegove glikoze iznosi samo 50% od očekivane vrednosti, i ne doživljava očekivani porast pred porođaj. To samo znači da je GP-BB jako aktivna pred porođaj, i da upravo ona održava nivo glikoze u vreme i neposredno nakon porođaja, jer su GP-BB-deficijentni pacovi u hipoglikemiji nakon porođaja (Gain i sar. 1981). Interesantno je i to da fetusi zdravih pacova i bez genetskih grešaka, koji ostaju pored majke nakon rođenja, ne razvijaju hipoglikemiju nakon



rođenja (Gain i sar. 1981). Nikako ne treba zanemariti snažne uticaje bioloških veza. Svakako da se ova pojavu odnosi i na neonatuse u našem istraživanju, koji su odmah nakon rađanja stavljeni na grudi majke, i bili uz nju sve vreme ostanka u bolnici.

Kod neonatusa sa oštećenjem miokarda, koncentracija GP-BB se značajno razlikovala od onih neonatusa koji su bili zdravi. Takođe je koncentracija GP-BB kod neonatusa u asfiksiji znatno veća nego kod onih iz kontrolnih grupa. Ove koncentracije GP-BB su u korelaciji sa nespecifičnim laboratorijskim znacima stradanja tkiva, kao što su CK, CK-MB i LDH, tako da se GP-BB može smatrati ranim znakom asfiksije, ali i parametrom koji se može koristiti u proceni koliko nastala asfiksija ima težak oblik kod novorođene dece (Lin i sar. 2010).

Bebe iz našeg istraživanja su bile mahom zdrave, međutim, postojala je značajna razlika u broju dece koja su oživljavana na rođenju zavisno od koncentracije GP-BB. Od dece koja su imala visoke koncentracije GP-BB 23% je bilo oživljavano na rođenju, dok je u grupi sa nižim koncentracijama GP-BB samo 7% dece oživljavano ($p < 0,05$) (Tabela 42). Ovo je možda i najubedljiviji pokazatelj da je GP-BB usko povezana sa asfiksijom i akutnim metaboličkim promenama ćelija nastalih u naporu da obezbede dovoljnu količinu energije za život, dok su bez kiseonika.

Ne postoji uvid u to koliko je trajala intrauterino nastala hipoksija ni vreme kada je nastajala u trudnoćama eksperimentalnih grupa. Jedino što je bilo dostupno je krajnja vrednost količine GP-BB u trenutku rađanja deteta. Kako je poluzivot GP-BB 4-6 sati (Mair i sar. 1994), detektovana koncentracija može biti samo rezultat hipoksičnih dešavanja u toku porođaja ili u toku same ekspanzije. Ali čak i u tim okolnostima, ne možemo biti sigurni da li se radi o kumulativnom nagomilavanju molekula GP-BB i rezultatu hipoksije koja se intermitentno javljala i nestajala, ili se radi o hipoksiji koja je trajala u kontinuitetu bar 4 sata. U svakom slučaju, tamo gde je hipoksija postojala, bilo je povećanja GP-BB koncentracije.

U našem istraživanju su se visoke koncentracije GP-BB javljale kod onih neonatusa kod kojih je registrovana mekonijalna plodova voda, i te su koncentracije bile znatno drugačije od onih gde je plodova voda bila bistra ($p < 0.0001$). Postojanje mekonijuma u plodovoj vodi je udruženo najčešće sa povećanim morbiditetom neonatusa, a znak je intrauterine inflamacije



plućnog tkiva, ali i inflamacije horiona i umbilikalnih krvnih sudova (Hutton i sar. 2014). Mada je plodova voda bila uglavnom bistra u svim studijskim grupama ($p > 0,05$), ipak je najveći broj trudnoća sa mekonijalnom plodovom vodom bio u PIH grupi 27%, čemu je možda doprinelo i 57% vaginalnih porođaja komplikovanih PIH.

Takođe se koncentracija GP-BB pokazala kao jako senzitivni marker u porođajima koji su se završili carskim rezovima, jer je kod različitih indikacija za carski rez koncentracija ovog enzima bila različita ($p < 0,001$); i to kod zastoja u dilataciji 12,74 [0,93-27,11] ng/ml, 17,28 [6,43-23,24] ng/ml kod zabrinjavajuće srčane akcije fetusa, a kod zakazanog carskog reza 3,80 [0-17,80] ng/ml. Prve dve indikacije su znak da je u tom periodu fetus bio u stanjima izražene deprivacije kiseonika.

Naše trudnice su se porađale u visoko stručnoj tercijarnoj ustanovi. Iako su preference samih ordinirajućih lekara imale uticaj na menadžment pacijenta, ipak smo u našem istraživanju mogli da izvedemo neke zaključke o odnosu vaginalnih porođaja i carskih rezova u odnosu na literaturne podatke (Vinturache i sar. 2014).

Usporena dilatacija je bila razlog za CS kod 46% trudnoća sa visokim vrednostima GP-BB, u odnosu na 21% kod niskih koncentracija. Zabrinjavajuća srčana akcija fetusa je bila razlog CS u 38% slučajeva kod visokih GP-BB koncentracija, a u samo 4% kod niskih, dok se zakazani CS našao u 74% kod niskih vrednosti GP-BB, u odnosu na 15% kod visokih GP-BB koncentracija. Ove su se grupe po akutnim dešavanjima u porođaju dosta značajno razlikovale ($p < 0,0001$).

Zastoj u porođaju (distocija) je spora dilatacija cerviksa ili potpun prestanak napredovanja dilatacije. U literaturi je poznato da on predstavlja uzrok 18% primarnih CS, ali zato 60% ukupnog broja CS, i jedan je od najčešćih indikacija za CS koji najverovatnije nastaje usled funkcionalnog poremećaja u kontraktilnosti miometrijuma (Chaemsathong i sar. 2013).

Nepovoljna akcija srca fetusa je sledeći razlog zbog čega trudnoće završavaju carskim rezom. Najveći broj carskih rezova u PIH grupi je bio zakazan (58%), međutim ostalih 25% je urađeno zbog zastoja u porođaju, a 17 % slučajeva zbog zabrinjavajućeg fetalnog monitoringa.



Kod GDM grupe srčana akcija fetusa je bila razlog za CS kod 17 % porođaja, a 39% je završeno carskim rezom usled zastoja u dilataciji.

U našem istraživanju koncentracije GP-BB značajno su se razlikovale među studijskim grupama ($p < 0,05$). U kontrolnim grupama vrednost medijane je bila najniža, u VAG 2,88 (1,29-11,03) ng/ml i u CS 4,93 (1,48-10,44) ng/ml, u GDM grupi je bila znatno viša 7,41 (4,77-15,03) ng/ml, dok je u PIH grupi bila daleko najveća, iznosila je 12,45 ng/ml (3,57-20,54). Trudnice sa GDM svakako imaju veći rizik od prevremenog prsnuća plodovih ovojnica (Xiong i sar. 2001). Međutim, u našem istraživanju najrizičnije su bile trudnoće iz PIH grupe koje su najkraće trajale, 38,15 [32-41,1] gestacijskih nedelja, dok su najduže trajale trudnoće kod normalnih vaginalnih porođaja 39,45 [33,5-41,2] gestacijskih nedelja.

Kod 26 trudnica u serumu umbilikalne krvi registrovane su visoke koncentracije GP-BB (iznad 16 ng/ml), a kod 94 vrednosti su bile niže od 16 ng/ml. Trajanje trudnoće se nije statistički značajno razlikovalo između trudnica koje su imale visoke ($38,77 \pm 2,10$ gestacijskih nedelja) i niske ($38,26 \pm 2,47$ gestacijskih nedelja) koncentracije GP-BB ($p > 0,05$), što znači da gestacijska starost ne utiče na ove vrednosti. Postoji fiziološko povećanje koncentracije GP-BB u plazmi tokom trudnoće za koje se smatra da je placentalnog porekla, iako ima i mišljenja da aktivnost GP-BB ostaje konstantna tokom trudnoće (Lee i sar. 2012). Na osnovu naših rezultata, koncentracija GP-BB u umbilikalnoj krvi nije u zavisnosti od gestacijske starosti ($p > 0,05$). Sve ovo ukazuje da se GP-BB ne može usko vezati za nedozrelost fetusa, već isključivo za postojanje intrauterine hipoksije.

Na koncentraciju GP-BB nije uticala ni porođajna masa neonatusa. Koncentracije GP-BB bila je ista kod trudnica koje su rađale neonatuse male porođajne mase, kao i kod onih čija su novorođančad bila očekivane porođajne mase (Lee i sar. 2012). U našem istraživanju srednja porođajna masa kod neonatusa sa niskim koncentracijama GP-BB bila je $3132,66 \pm 744,12$ g, a kod neonatusa sa visokim koncentracijama u proseku $3053,85 \pm 523,05$ g ($p > 0,05$).

Koncentracija GP-BB je u istraživanjima bila veća kod trudnica u poređenju sa ženama iste starosne dobi koje nisu bile u drugom stanju, i ta razlika je bila čak i očiglednija kada bi se dve grupe podudarale i po paritetu i po pripadanju istoj etničkoj grupi (Lee i sar. 2012). U našem



istraživanju starost trudnica nije bila različita u grupama ispitanica koje su imale različite koncentracije GP-BB u serumu umbilikalne krvi ($p > 0,05$).

Nisu postojale značajne statističke razlike u telesnoj masi pre trudnoće kod trudnica sa niskim i visokim koncentracijama GP-BB, kao ni u dodavanju kilograma tokom trudnoće ($p > 0,05$). Ovo ukazuje da adipozno tkivo majke svojim uticajem na razvoj metaboličkog sindroma, nije moglo uticati na povećane koncentracije GP-BB u serumu umbilikalne krvi novorođenih beba, što dalje sužava krug mogućih značajnih uticaja na tok trudnoće i porođaja.

Trudnice sa različitim koncentracijama GP-BB u umbilikalnoj krvi imale su i različite vrednosti hemoglobina neposredno pred porođaj ($p < 0,05$). Veće vrednosti hemoglobina bile su u grupi sa povećanim koncentracijama GP-BB. Međutim, ni jedna ni druga vrednost hemoglobina nisu spadale u referentne vrednosti anemije (Hb trudnica sa niskim GP-BB u umbilikalnoj krvi iznosio je $12,06 \pm 1,32$ mg%; a Hb trudnica sa visokim GP-BB u umbilikalnoj krvi $13,41 \pm 5,64$ mg%).

Sve studijske grupe su se razlikovale po krvnim pritiscima, kako na prijemu u bolnicu, tako i u satima pred porođaj ($p < 0,05$). Najveći krvni pritisak imale su trudnice iz PIH grupe. Sistolni pritisak je bio najviši ($142,70 \pm 11,93$ mmHg) u satu pred porođaj, a dijastolni ($82,02 \pm 11,48$ mm Hg) tri sata pred porođaj, dok se ostale grupe nisu značajno razlikovale. Sistolni krvni pritisak se značajno menjao ($p < 0,001$) iz sata u sat pre porođaja dok dijastolni nije pokazivao značajne promene.

Trudnice sa visokim i niskim vrednostima GP-BB u umbilikalnoj krvi nisu se razlikovale po vrednostima krvnih pritisaka pre porođaja iako je postojala statistički značajna razlika u vrednostima krvnog pritiska na prijemu u bolnicu. Ne možemo sa sigurnošću tvrditi da su hipoksične promene već tada počele da napreduju. Ali, čak i da jesu, sudeći po literaturi glikogen se jako brzo obnavlja u uslovima normoksije i ne bi trebalo da hipertenzija, koja čak i nije bila izražena, utiče na razliku u koncentracijama GP-BB.

Međutim, SKP je bio u pozitivnoj korelaciji sa GP-BB ($p < 0,05$) jedino na prijemu, a sa cTnI na prijemu ($p < 0,01$) i tri sata pred porođaj ($p < 0,001$). Koncentracije GP-BB rastu u trudnoćama koje su opterećene krvnim pritiskom, kao što je PIH (Kenny i sar. 2013; McCarthy i



sar. 2015). Svakako da je ta povećana koncentracija posledica jednog dubljeg sistemskog stimulansa koji je zajednički i za izolovanu hipertenziju i za PIH.

Glikogenoliza je inicirana svuda gde postoje ishemija i hipoksija, i to konverzijom glikogen fosforilaze u aktivan, solubilisan oblik. Kako ćelijske membrane tokom hipoksije postaju permeabilnije, velika koncentracija glikogen fosforilaze se nađe u cirkulaciji. U trudnoći i inače žene doživljavaju dinamičan i vrlo intenzivan metabolički stres, koji je u skladu sa rastom i fetusa i placente, a posebno je u porastu kod komplikacija kakva je u prvom redu PIH (Lee i sar. 2012). Sa tim u vezi, laboratorijski znaci trudnoće predstavljaju nespecifične znake inflamacije. Nije se moglo očekivati da će ovako nespecifični znaci pokazivati izraženu korelaciju sa koncentracijama proteina inflamacije. Jedino je GP-BB u negativnoj korelaciji sa apsolutnim brojem limfocita ($p < 0,05$). Uopšteno prikazujući naše studijske grupe, možemo reći da se u relativnoj leukocitarnoj formuli najveći procenat neutrofila nalazi u grupi vaginalnih porođaja $79,15 \pm 7,86\%$ ($p < 0,01$), apsolutni broj neutrofila je najviši kod PIH grupe ($9,66 \pm 4,17 \times 10^9/\text{mL}$), ($p < 0,01$), dok je procentualni odnos limfocita najviši u kontrolnoj grupi CS $19,2 \pm 4,64\%$, ($p < 0,05$) (Tabela 40).

Vreme koje je proteklo od prsnuća membrana do porođaja značajno se razlikovalo među grupama, ($p < 0,01$), i iznosilo je 81 [0-2385] min u GDM grupi i 295 [0-2508] min u PIH grupi. Vreme od prsnuća membrana je u pozitivnoj korelaciji sa GP-BB, ($p < 0,001$). Međutim, ukupno vreme porođaja, kao ni stadijumi porođaja, nisu pokazivali korelaciju sa merenim koncentracijama. Najduže je trajao porođaj kod GDM grupe trudnica 612,5 [45-1995] min, dok je najduži drugi stadijum porođaja, stadijum intenzivnih kontrakcija, bio u VAG kontrolnoj grupi 86 [1-199] min, najduži prvi stadijum porođaja je bio u PIH grupi 705 [171-1787] min. Međutim stadijume porođaja treba uzeti sa rezervom, jer je onaj prvi trenutak proizvoljna procena trudnice, i ne može predstavljati jaku uporišnu tačku na koju bi smo se sa sigurnošću oslonili.



5.6. Značaj promena heat shock proteina (Hsp)

5.6.1. Hsp 27

Oksidativni stres je snažan pokretač mnogih metaboličkih procesa, i predstavlja svojevrsnu rušilačku snagu, koja se kao suštinska komponenta nalazi u bazi mnogih poremećaja. I u ovom, a i u mnogim drugima izlaganjima, je već pojašnjeno da je biologija tkiva tako formirana da se gotovo istovremeno sa poremećajima aktiviraju i odbrambene snage, ili bar oni procesi koji bi trebalo da neutrališu ovako nastala oštećenja. Prva “vojnici” koji se regrutuju u te svrhe su Hsp (Zhang i sar. 2015).

U PIH zajedno sa razvojem oksidativnog stresa, dolazi i do sinteze Hsp, a među njima i Hsp 27 (Abdulsid i sar. 2013, Abdulsid i sar. 2014). Međutim, mediana koncentracije Hsp 27 u PIH studijskoj grupi našeg istraživanja je iznosila 0,86 ng/ml (0,58-3,29), što se nije statistički značajno razlikovalo od drugih studijskih grupa u istraživanju, ($p>0,05$). Mnogi autori su uglavnom pokušavali da rasvetle sintezu Hsp 27 *in situ*, i shodno tome se bavili njegovom ekspresijom u placenti. Utvrđeno je da je ekspresija Hsp 27 izuzetno pojačana u placenti trudnice obolele od PIH u odnosu na placentu trudnica koje su bile zdrave (Abdulsid i sar. 2013; Abdulsid i sar. 2014).

Heat shock protein predstavljaju grupu filogenetski izuzetno konzerviranih proteina koji mogu imati ključnu ulogu u adaptaciji na fiziološki stres (Brophy i sar. 1998). Funkcije Hsp 27 su usko povezane sa fosforilacijom njegovih serinskih rezidua (Wettstein i sar. 2012). On, naime, može da ima dve forme: aktivnu, kada je u fosforilisanom stanju, i neaktivnu, kada nije fosforilisan (Ekambaram i sar. 2011). Uočava se da je upravo u placentama trudnica obolelih od PIH koje su bile u porođaju, povećana fosforilacija Hsp 27 molekula na poziciji serinske rezidue 15 u poređenju sa kontrolnim grupama zdravih trudnica, ali i trudnica obolelih od PIH koje nisu bile u porođaju, međutim nije bilo promena fosforilacije serina na mestima 82 ili 78 (Abulsid i sar. 2014). Naravno, da ostaje da se rasvetli klinički značaj ove pojave (Abulsid i sar. 2013).

Ako tražimo objašnjenja u analognim istraživanjima, možda je najilustrativniji primer upotrebe hemioterapije. Ispitivanjem kardiomiocita koji su bili pod dejstvom doksorubicina, u njima se elektroforezom izdvojilo 6 izoformi Hsp 27, koje su sve bile fosforilisane različitim



protein kinazama. Ustanovljeno je da su fosforilacije Hsp 27 na serinskim reziduama 15 i 85 ključni koraci na putu zaustavljanja apoptoze koji ne samo da olakšavaju remodelovanje aktinskih filamenata, nego i u omogućavaju taj proces (Venkatakrishnan i sar. 2006). Verovatno istu svrhu ima i fosforilacija Hsp 27 u placenti, koja je neophodna da bi Hsp 27 postao funkcionalan.

U svakoj manipulaciji tkivom, treba imati na umu, da način uzorkovanja tkiva i dodatna traumatizacija povećavaju koncentraciju merenih proteina, pogotovu kada se radi o proteinima stresa koji su usko povezani sa erodiranjem i oštećenjem tkiva (Molvarec i sar. 2010). U ovom istraživanju smo smatrali da je umbilikalna krv dostupnija, lakša za obradu, i da ne dolazi do opasnosti da će oštećenje tkiva uticati na rezultate, već se indirektno iz seruma meri količina markera stresa tkiva. U nekom budućem kliničkom radu serum umbilikalne krvi usled svih ovih razloga može sigurno naći svoje mesto u dijagnostici.

5.6.2. Vrednosti Hsp 27 kod trudnica obolelih od gestacijskog dijabetesa

U našem istraživanju je medijana vrednost Hsp 27 u GDM grupi bila 0,84 ng/mL (0,34-1,43) u serumu umbilikalne krvi na porođaju, što je ujedno i najniža vrednost među posmatranim grupama. Naravno, ovo je koncentracija u serumu, i potrebna su dodatna ispitivanja da bi se potvrdilo da li ona reflektuje stanje srca fetusa. Gestacijski dijabetes podrazumeva postojanje hiperglikemije ustanovljeno nakon 24 nedelje trudnoće. Međutim, ono se često javlja i kasnije tokom trudnoće, tako da je pitanje hroniciteta gestacijskog dijabetesa naših trudnica vrlo diskutabilno, odnosno, možda stanje inzulinske rezistencije nije trajalo dovoljno dugo da bi ostavilo ovakve posledice po srce fetusa, pa su niske koncentracije Hsp 27 posledica toga.

Heat shock protein 27 je, inače, protein visokospecifičan za srce (Chen i sar. 2005; Seemampillai i sar. 2014) i njegova uloga je povezana sa zaštitom miocita od oksidativnog ili mehaničkog stresa (Dubiška-Magiera i sar. 2014). Kako su najzastupljenije organele u kardiomiocitima mitohondrije, usled velike potrebe za energijom dolazi i do stvaranja značajne količine slobodnih kiseoničnih radikala. Posledice njihovog razornog dejstva saniraju upravo Hsp 27 proteini (Christians i sar. 2012)



Heat shock protein 27 i alfa B kristalin (cryAB), takođe konzervirani molekul, su u velikoj meri prisutni u srcu i skeletnim mišićima (Clements i sar. 2007). Usled hiperglikemije se dešava ushodna regulacija proteina stresa, a time i Hsp 27 i cryAB, koji se fosforilišu i pomeraju do sarkomera, na ili blizu Z-linije i interkalarnog diska (Clements i sar. 2007). Oni u svom aktivnom, fosforilisanom, stanju održavaju integritet mikrotubula i aktinskog citoskeleta, čuvajući ga od degradacije i fragmentacije (Chen i sar. 2005, Clements i sar. 2007, Wettstein i sar. 2012). Pored toga što strukturu čine otpornom, oni moduliraju kontraktilnu funkciju u odgovoru na ishemijske promene (Clements i sar. 2007; Reddy i sar. 2014; Dubińska-Magiera i sar. 2014; Waddingham i sar. 2015).

Nabrojani efekti Hsp 27 ostavljaju utisak da hronična hiperglikemija, čini srce otpornijim. Međutim, u stanju hiperglikemije Hsp 27 ne intereaguje sa cryAB, kako bi se očekivalo u fiziološkim uslovima, što znači da u stanjima hiperglikemije pate evolutivno konzervirani reparacioni mehanizmi tkiva (Reddy i sar. 2014).

Kroz naše rezultate sve ovo se nije moglo videti. Jedino objašnjenje je da su deca rođena u toku istraživanja ipak bila zdrava. U satu pred porođaj frekvenca srca je bila 138 [120-161, 66] u GDM grupi fetusa, a nakon rođenja, dok su još neonatusi pod dejstvom anestezije, 133,50 [80-175], a u prvom satu nakon rođenja 143,75 [124-162,66]. Srčana akcija u prvom satu se jedina razlikuje od onih merenih u ostalim studijskim grupama ($p < 0,05$).

Neonatusi u našem istraživanju su bili uglavnom zdravi. Posmatrajući ih kroz prizmu Hsp 27, samo je jedan neonatus sa visokim Hsp 27 koncentracijama u umbilikalnoj krvi doživeo respiratorni distres, i troje je bilo lečeno u NICU, ali razlozi nisu bile strukturne bolesti srca, niti funkcionalni poremećaju srca.

U ispitivanjima na miševima su promene koncentracije Hsp 27 imale svoj tok. Naime Hsp 27 je rastao nedelju dana nakon rođenja, i te vrednosti su bile tri puta veće od fetalnih, da bi ponovo naglo pale u 13. nedelji života na deseti deo svoje maksimalne vrednosti. Kod novorođenog deteta su vrednosti mnogo veće, ali se snižavaju od 2. do 11. meseca života, što nismo pratili u našem istraživanju. Smatra se da rođenje pokreće niz reparacionih mehanizama usled remodelovanja tkiva nastalog na rođenju (Shama i sar. 1999; Patterson i sar. 2010). Možda



bi trebalo napraviti jednu prospektivnu studiju u kojoj bi se Hsp 27 pratio kroz razvoj neonatusa i razvoj kliničke slike, ali ovakvo ispitivanje nosi sa sobom diskutabilnu etičku pozadinu istraživanja. Međutim, kako je nemoguće ispitivati serum fetusa intrauterino, ne može se sa sigurnošću tvrditi da reparacioni mehanizmi srca ne počinju još za vreme trudnoće i razvoja ploda, za vreme nekih mnogo ranije nastalih hipoksija, nego što je to hipoksija na rođenju. Jer je već poznato da Hsp 27 i mali Hsp imaju ulogu u menjanju reagovanja krvnih sudova, u smislu kontrakcije i relaksacije vaskularnih glatkih mišića, a posebno ekspresije Hsp tokom vazospazma umbilikalne arterije (Brophy i sar. 1998).

Rešenje treba tražiti i u korelacijama sa drugim proteinima stresa, koje bi možda navele na pravi put i odgovor da li se preko seruma umbilikalne krvi može pratiti koliko trpi srce fetusa u stanjima hipoksije i inzulinske rezistencije. Za sada nisu poznati podaci o Hsp 27 seruma umbilikalne krvi u literaturi. U našem istraživanju, fetusi su bili u svim studijskim grupama u najvećem broju postavljeni prednjačecom glavicom, ($p > 0,05$) i na samom prijemu u bolnicu KTG nije pokazivao značajne razlike među frekvencama srca fetusa, ($p > 0,05$), dok su se u kasnijem toku razlikovale samo tri sata pred porođaj, ($p < 0,05$).

Međutim, u prvim satima života se srčana frekvencija razlikovala između grupa - $p < 0,05$ u prvom satu i $p < 0,05$ u drugom, ali nisu bile ni u kakvoj korelaciji sa izmerenim koncentracijama Hsp 70. Interesantno je da su najveće vrednosti Hsp 27 bile u kontrolnim grupama i to 0,88 ng/ml [0,52-1,5] kod vaginalnih porođaja, i 0,71 ng/ml [0,37-1,25] kod porođaja CS.

U tumačenju koncentracija Hsp ne treba zaboraviti njihovu osnovnu ulogu, koja se ogleda u održavanju homeostaze i fizioloških procesa, pre svega kroz sklapanje tercijarne i kvaternerne strukture proteina i vezivanje za denaturisane proteine i ublažavanje delovanja oksidativnog stresa (Purandhar i sar. 2014). Tako da ove manje koncentracije Hsp 27 kod eksperimentalnih grupa GDM i PIH mogu biti samo rezultat aktivnosti Hsp 27 i njihove reparacione uloge u tkivima ovih fetusa, odnosno da su im se koncentracije potrošile u svrhu popravljavanja oštećenog tkiva. Pogotovu u vreme porođaja, gde se dešava fiziološko remodelovanje tkiva, aktivirana apoptoza i drugi procesi koji traže angažovanje molekula Hsp (Patterson i sar. 2010) i njihovu redistribuciju u umbilikalnim krvnim sudovima i placenti (Li i sar. 1996).



Iako je funkcija ovih molekula relativno dobro proučena, njihovo ispitivanje u različitim tkivima tokom razvoja fetusa je oduvek limitirano poteškoćama obebeđivanja tkiva za analizu. Njih ima u tkivima zavisnim od steroida i ako sledimo analogiju da ih ima u tkivima tumora endometrijuma i tumora dojke, onda ih možemo očekivati i u razvojnim tkivima feto-placentne jedinice koja je jako zavisna od steroidnih polnih hormona (Fuqua i sar. 1989). U literaturi nema mnogo radova koji se bave Hsp 27 u serumu umbilikalne krvi. Dakle, njihova niska koncentracija se može objasniti time da što je trudnoća više opterećena komplikacijama, to je veće angažovanje Hsp proteina i njihovo veće trošenje, pogotovu u vreme porođaja, kada se dešavaju i fiziološki procesi remodelovanja (Patterson i sar. 2010).

U našem istraživanju nisu svi neonatusi imali niske vrednosti Hsp 27. Naime, kod 14 su koncentracije bile više od 4 ng/ml, odnosno od maksimalne koncentracije označene u uputstvu korišćenog ELISA testa. Majke ove dece su bile sličnih godina kao i majke dece koja su imala niske vrednosti Hsp 27 ($p > 0,05$). Takođe, nisu se razlikovale ni po trajanju trudnoća. Trudnoće sa niskim Hsp 27 su trajale $38, 46 \pm 2,38$, dok one sa visokim $37,69 \pm 2,49$.

Danas se sve više shvata da pregravidna težina majke, ali i BMI, imaju uticaja na tok i ishod trudnoće, međutim, u ovom istraživanju one nisu imale uticaja na razliku u koncentracijama Hsp 27. Pregravidna BMI se nije značajno razlikovala u ovim dvema grupama, kao ni BMI na porođaju, mada su trudnice sa niskim Hsp 27 u serumu umbilikalne krvi spadale u one sa povećanim BMI $29,20 \text{ kg/m}^2$, a one sa visokim koncentracijama u čak gojazne $31,50 \text{ kg/m}^2$ (prva grupa je imala medijana vrednost težine 79,50 kg na porođaju, dok je druga grupa bila teška 84,10 kg).

Naime, smatra se da indukovanje produkcije Hsp 27 može do popraviti inzulinsku rezistenciju i komunikaciju molekula inzulina sa svojim receptorima kod gojaznih osoba i onih koji boluju od DM2, tako što inhibišu kinaze stresa (Simar i sar. 2012). Koncentracija anti-Hsp 27 antitela, kao indirektni pokazatelj količine Hsp 27, koju mi pak nismo pratili, kod gojaznih osoba je znatno viša nego kod osoba koje su imale samo višak kilograma, dok je kod osoba normalne težine najmanja. Ta visoka koncentracija anti-Hsp 27 antitela može biti posledica povišene aktivacije imunskog sistema koja se jednostavno sreće kod gojaznosti (Tavallaie i sar. 2012). Ako anti-Hsp 27 antitela zaista predstavljaju ogledalo količine koncentracija Hsp 27,



možemo u tome naći obrazloženje za visoke koncentracije Hsp 27 kod gojaznih trudnica, odnosno trudnica sa metaboličkim sindromom.

Jedina očigledna razlika kod trudnica sa različitim koncentracijama Hsp 27 bila je u krvnim pritiscima na prijemu u bolnicu. Sistolni krvni pritisak kod grupe sa niskim koncentracijama Hsp 27 iznosio je $126,28 \pm 14,80$ mmHg, dok je u grupi sa visokim koncentracijama iznosio $138,79 \pm 22,52$ mmHg. Iako ove vrednosti nisu bile izuzetno povećane, njihova razlika je bila statistički značajna ($p < 0,01$). Isto je i sa dijastolnim krvnim pritiskom koji je $76, 77 \pm 10, 32$ mmHg kod niskih koncentracija, $82, 86 \pm 8, 74$ mmHg kod visokih, ($p < 0,05$). Budući da je poznato da je u aterosklerotskim plakovima i izmenjenom endotelu visoka ekspresija Hsp 27 (Mohammadpour i sar. 2011), može se očekivati i njegova povećana količina u serumu krvi sa aktivisanim endotelom.

Interesantno je da je pronađena pozitivna korelacija Hsp 27 sa izmerenom temperaturom na prijemu u bolnicu ($p < 0,01$), dok je cTnI bio u negativnoj ($p < 0,05$). Telesne temperature nisu bile visoke, a trudnice nisu imale dokazan horioamnionitis. Porast Hsp 27 je očekivan tokom povišene temperature, jer su Heat shock proteini i dobili ime po angažovanju u groznici (Wang i sar. 2014), a dokazano je da Hsp koji se izluče tokom visoke temperature deluju protektivno na srce (pacova) (Arnaud i sar. 2002). Međutim, inverzna korelacija cTnI sa temperaturom, govori u prilog tome da što je manje stradanje ćelija, manja je i biološka potpora razvoju temperature, jednog iskonskog znaka sistemske aktivacije organizma.

Na Hsp 27 nisu uticali nespecifični laboratorijski znaci inflamacije kakvi su bele krvne ćelije ili monociti. Grupe pacijetkinja sa različitim koncentracijama Hsp 27 čak nisu pokazivale razlike u stepenu anemije (kod grupe trudnica sa niskim Hsp 27 koncentracija Hb je iznosila $12,37 \pm 3,02$, dok je kod grupe sa visokim koncentracijama bila $12,15 \pm 1,18$).

Heat shock protein 27 se pokazao kao jako senzitivni znak pre svega nezrelosti deteta. Kod trudnoća koje su trajale ispod 37 nedelja, koncentracija mu je iznosila 1,25 ng/ml, što se razlikovalo značajno od koncentracije kod terminskih trudnoća ($p < 0,05$). Njegove koncentracije su bile takođe osetljive kod još mlađih trudnoća, jer je u onim trudnoćama koje su se završavale



porođajem pre 34. nedelje koncentracija je iznosila 0,76 ng/ml, i bila značajno niža u odnosu na starije trudnoće ($p < 0,05$).

Kao i kod koncentracija GP-BB, i ovde su se trudnice sa visokim i niskim koncentracijama Hsp 27 razlikovale po tome koliko je dece oživljavano na rođenju, i to je ujedno i zajednička karakteristika sa onim trudnicama kod kojih je serum umbilikalne krvi imao visoke GP-BB koncentracije. Naime, u grupi trudnica sa visokim Hsp 27 koncentracijama je bilo 43% dece koja su oživljavana na rođenju, u odnosu na 7% u grupi sa niskim koncentracijama. Broj dece koji nije tražio ovakvu vrstu intervencije je iznosio 57% onih koji su imali visoke koncentracije Hsp 27, i 93% onih koji su imali niske koncentracije. U svakom slučaju je razlika među njima bila statistički značajna, $p < 0,0001$.

Deca koja su bila u teškom stanju na rođenju i bila oživljavana su takođe imale visoke koncentracije Hsp 27 i to 1,25 ng/ml, u odnosu na onu decu koja su bila zdrava ($p < 0,01$), I, sasvim očekivano, i deca koja su se posledično lečila u intenzivnoj nezi su imala visoke koncentracije ovog proteina - 1,19 ng/ml, dosta drugačije od koncentracija dece sa odeljenja koja su bila uz majku, ($p < 0,05$). U kliničkim stanjima u kojima su tako poremećene funkcije deteta, da osnovni mehanizmi disanja i rada srca nisu započeli na vreme, očekuje se da proteini stresa imaju prvi angažman u popravljaju osnovnih kontraktilnih funkcija miocita i rada srca (Clements i sar. 2007; Reddy i sar. 2014; Dubińska-Magiera i sar. 2014; Waddingham i sar. 2015).

Apgar skorovi su se značajno razlikovali među grupama i u prvom ($p < 0,001$), i u petom minutu, ($p < 0,05$) i koncentracije Hsp 27 su bile u negativnoj korelaciji sa Apgar skorom u petom minutu, ($p < 0,01$), što samo ukazuje na smanjenje njegove koncentracije zajedno sa popravljajem kliničkog stanja deteta.

Ne može se reći da su deca i visokih GP-BB i visokih Hsp 27 bila u acidozi. Vrednosti pH krvi se kreću od 7,28 kod grupa niskih koncentracija do pH 7,25 i 7,26 kod visokih koncentracija. U obema grupama pacijentkinja, vrednosti pH nemaju statistički značajne razlike ($p > 0,05$). Gasovi umbilikalne krvi su se razlikovali među sobom. Iako su se pritisci gasova venske umbilikalne krvi u različitim studijskim grupama razlikovali među sobom i to pCO_2



($p < 0,01$), pO_2 ($p < 0,05$), HCO_3 ($p < 0,01$), i saturacija O_2 ($p < 0,05$), oni pojedinačno nisu bili u korelaciji sa koncentracijama proteina iz umbilikalne venske krvi. Međutim, u arterijskoj umbilikalnoj krvi je situacija obrnuta; pritisci gasova nisu bili različiti po grupama, ali su bili u korelaciji sa proteinima. pH arterijske krvi, koji je za razliku od venske bio u domenu acidoze, takođe je pokazivao negativnu korelaciju sa Hsp 27 ($p < 0,05$), ali zato je, u sklopu te slike, Hsp 27 bio u pozitivnoj korelaciji sa BSE, viškom baza u arterijskoj krvi ($p < 0,05$).

Metabolička acidoza koja se razvije u fetusu tokom porođaja se često sreće, i dugo se smatralo da je majčinog porekla. Smatralo se da toj acidozi najviše doprinosi mlečna kiselina, nastala usled mišićnog napora tokom porođaja. Potvrda je svakako bila to što je acidoza bila izraženija u porođajima koji su duže trajali, pogotovu u onima u kojima je druga faza porođaja duže trajala. Međutim, kako nije pronađena korelacija između fetalne acidoze i nivoa laktata u krvi majke, i kako nije bilo očekivanog gradijenta koncentracije laktata, došlo se do zaključka da je acidoza u fetusu ipak samo fetalnog porekla (Piquard i sar. 1991). Međutim, treba objasniti i to da vreme uzimanja krvi takođe utiče na pH, i da je pH manji, a pCO_2 umbilikalne krvi veći kod onih porođaja koji su prolongirani, pogotovu vaginalnih (Mokarami i sar. 2013). Vrednost pH jeste u vezi sa stradanjem tkiva koje se neosporno dešava tokom porođaja. I naravno da će u prolongiranim porođajima, i prolongiranim hipoksijama za dete, ovo stradanje biti još izraženije, a time i izraženiji stimulus za produkciju Hsp 27.

Neonatusi sa niskim vrednostima Hsp 27 se nisu razlikovali po porođajnoj težini od onih koji su imali visoke koncentracije ovog proteina. Posmatrajući svu novorođenčad, Hsp 27 je u negativnoj korelaciji sa porođajnom masom deteta ($p < 0,05$), što znači da su niže koncentracije bile prisutne kod dece veće mase. To se razlikuje od podataka po kojima su nivoi Hsp 27 niži kod neonatusa male porođajne mase u poređenju sa onim neonatusima očekivane porođajne mase za uzrast (Cañete i sar. 2012).

Neonatusi najmanje porođajne težine, kao onaj koji je bio težak 1390 g (32 gestacijske nedelje), imao koncentraciju Hsp 27 5,05 ng/ml u serumu umbilikalne krvi, dok je koncentracija ovog molekula kod neonatusa težine 1590g (40,3 gestacijske nedelje) bila 5,29 ng/ml. To nisu najveće koncentracije Hsp 27. Najveće koncentracije (7, 22 ng/ml) su imali: beba ženskog pola 3490g (37,4 gestacijskih nedelja), Apgar skora 9 i u prvom i u petom minutu,



potpuno zdrava, čija je majka imala gestacijski dijabetes i beba porođajne težine 2810g, 38,1 gestacijske nedelje, takođe ženskog pola, koja je oživljavana na rođenju i imala Apgar skorove 7 u prvom i petom minutu, a rođena iz trudnoće sa PIH (7,75 ng/ml). Ovo sve ukazuje na kompleksnost pozadine stvaranja tkiva, i činjenicu da se svaki porast koncentracije reparacionih molekula mora posmatrati u sklopu celokupne slike dešavanja na rođenju.

Porođajna telesna masa bebe je bila najmanja kod majki koje su bolovale od PIH 2780 g, kako se i po nalazima iz literature očekivalo (Vinturache i sar. 2014). Najveća vrednost je bila kod CS kontrolne grupe 3425 g [1130-4110]. Tačno je da je velika telesna masa novorođenčeta rizik za carski rez, ali ove vrednosti još uvek nisu spadale u patološke. Kod VAG kontrolne grupe je mediana porođajne mase beba iznosila 3375 g [1925-4500], a kod GDM 3120 g [1255-4740]. Porođajne telesne mase beba se nisu značajno razlikovale između VAG i CS grupe, dok su vrednosti u GDM i PIH grupama bile značajno različite u odnosu na CS grupu ($p < 0,01$).

5.6.3. Hsp 70

Sa Hsp 70 je drugačija situacija, pošto se njegove koncentracije statistički značajno razlikuju među grupama u našem istraživanju. Grupa GDM ima daleko veće Hsp 70 vrednosti (0,07 ng/ml) od VAG (0,02 ng/ml) i CS (0,02 ng/ml) studijskih grupa. Kod pacijentkinja obolelih od PIH, koncentracija je bila 0,04 ng/ml.

Naravno da smo odgovore potražili u postojećoj literaturi. U studijama koje su poredile ekspresiju iRNK za Hsp 72 u tkivu umbilikalnih krvnih sudova trudnica koje su se porodile carskim rezom sa trudnicama koje su se porodile vaginalnim porođajem, nije bilo razlika. Oni su bili u istoj meri difuzno raspoređeni u fibrilima glatkih mišićnih vlakana umbilikusa i jedne i druge studijske grupe (Li i sar. 1996). Mi smo određivali koncentraciju Hsp 70 u serumu kontrolnih VAG i CS grupa i takođe nismo našli razlike u koncentracijama, iako je metoda merenja bila različita.

U nekim radovima je ukazano da je iRNK za Hsp 72 difuzno raspoređena u placenti, ali iznenađujuće manje nego u umbilikalnim krvnim sudovima. Za razliku od iRNK, Hsp 27 proteini su drugačije raspoređeni Konstitutivno ispoljeni Hsp 27, kao i 72, i inducibilni Hsp 73



su bili 10 puta više zastupljeni u umbilikalnoj vrpici u odnosu na placentu (Li i sar. 1996). Možda je razlog ovome stimulacija alfa-1 adrenergičkih receptora tokom porođaja (Resch i sar. 2003). Poznato je da Hsp 70 reaguje na stimualciju alfa-1 adrenergičkih receptora, kojih ima mnogo u umbilikalnim krvnim sudovima, usled čije stimulacije, bi se i očekivalo povećanje Hsp 70 (Li i sar. 1996). Posmatrajući naše rezultate u kojima je u eksperimentalnim grupama preeklampsije i gestacijskog dijabetesa bila viša koncentracija Hsp 70, pored stimulacije receptora u stresu, sigurno da postoje još neka objašnjenja.

Jedan od zajedničkih procesa u razvoju PIH i GDM je inzulinska rezisencija. U animalnim modelima na pacovima, gde je metabolički sindrom predstavljen kroz gojaznost pacova, Hsp 70 je bio povećan kod onih pacova koji su imali veću telesnu masu. Kada je ekspresija Hsp 70 bila indukovana aktivatorom BGP-15, specifičnim za Hsp 70, kod tih pacova je bila registrovana manja koncentracija triglicerida, ukupnog holesterola, glikoze, ali i smanjena koncentracija inzulina u serumu. To nam upravo govori da su koncentracije Hsp 70 obrnuto srazmerne razvoju metaboličkog sindroma tokom trudnoće (Xing i sar. 2015).

Veće koncentracije Hsp 70 u eksperimentalnim grupama u našem istraživanju, mogu biti posledica upravo pokušaja organizma da smiri štetne uticaje metaboličkog sindroma koji vladaju kako u PIH tako i kod GDM.

Merenjem koncentracija Hsp molekula nakon OGTT testa, uvidelo se da Hsp možda i u ovim okolnostima ima protektivnu ulogu. Dakle, u stanju hiperglikemije raste Hsp72. To je verovatno posledica već stvorenih i skladištenih molekula Hsp72, pre nego *de novo* stvorenih (Saito i sar. 2012). Raste i koncentracija ukupnog Hsp 70 (Jaffe i sar. 2013). U cirkulaciji, Hsp 72 ima protektivni efekat, štiti i majku i plod od hiperglikemije, hiperinzulinemije, ali i od promena imunskog sistema. Indukcija GDM kod pacova dovelo je do izraženog povećanja cirkulišućih molekula Hsp 72, a sve to u cilju minimiziranja posledica koji bi ovaj metabolički poremećaj imao na plod i majku (Saito i sar. 2012).

Interesantno je da je detaljnijom analizom uočeno da je porast Hsp 70 zabeležen samo kod onih trudnica koje nisu bile gojazne, sa BMI manjim od 30. Koncentracija inzulina takođe je



rasla nakon OGTT testa kod trudnica niskog BMI, ali zato ostala nepromenjena kod gojaznih žena (Jaffe i sar. 2013).

Hsp 70 je jedan od filogenetski neizmenjenih proteina, i nalazi se u serumu i zdravih i trudnica sa patološkim stanjima. On, kao i ostali Hsp molekuli, obavlja svoju ulogu šaperona i citoprotektivnu ulogu. Očekivalo bi se da se u serumu zdrave trudnice nađe u manjoj koncentraciji, kao posledica potrošnje molekula na neutralisanje štetnih posledica metaboličkog sindroma (Molvarec i sar. 2010). U jednoj od retkih studija koje su merile koncentracije Hsp 70 u serumu trudnica obolelih od PIH, koncentracije su bile najveće u teškim stanjima PIH, niže kod blažih oblika, a obe vrednosti su bile veće nego kod kontrolnih grupa (Zhu i sar. 2014). U našem istraživanju su takođe vrednosti bile veće nego u kontrolnim grupama VAG i CS, sa tim što su koncentracije u navedenom istraživanju drugih autora bile daleko veće od onih koje smo mi našli u serumima umbilikalne krvi.

Trudnice koje su učestvovalе u našem istraživanju nisu bile dekompenzovane, niti u teškom kliničkom stanju. Jedno od objašnjenja za niske koncentracije Hsp 70 je što ga, u fiziološkim trudnoćama, urođeni imunski sistem uklanja iz ekstracelularnog prostora, a male koncentracije koje ostaju održavaju tolerantnost imunskog sistema majke prema plodu (Sacks i sar. 1999). U tome učestvuju scavengeri, receptori na aktivisanim monocitima i makrofagima, koji se potencijalno mogu vezati za Hsp 70 (Delneste i sar. 2002). Hsp 70 se može ukloniti i vezivanjem za antitela, anti-Hsp 70 antitela, koji se vezuju za molekule Hsp 70 (Molvarec i sar. 2009). Ovo su moguća pojašnjenja niskih koncentracija Hsp 70, u naših zdravih ili bar dobro kompenzovanih trudnica.

Pored toga, Hsp 70 je jedini molekul koji u našem istraživanju nije pokazao korelacije sa merenim karakteristikama ni trudnoće, ali ni fetusa, niti majke. Jedino je ustanovljena pozitivna korelacija sa vremenom od prsnuća membrana do porođaja ($p < 0,05$). Hsp molekuli, kao deo urođenog imunskog sistema, su uglavnom proučavani kroz prizmu infekcija, pa sa tim u vezi ispitan je i horioamnionitis i prevremeni porođaj. Pokazano je da je u kulturama ćelijskih membrane, gde je kolonizovana *E. Colli*, došlo do naglog porasta Hsp 70 u prvim satima inkubacije, za kojima je usledila sekrecija proinflamacijskih citokina (Osorio-Caballero i sar. 2015). U našem istraživanju, mi smo pokazali da trudnice uglavnom nisu imale infekcije na



pregledima pred porođaj i da infekcije nisu uticale na dobijene rezultate. Tokom porođaja nismo dokazivali postojanje horioamnionitisa kod retkih trudnica sa povišenom temperaturom. Kada bi se temperatura javila nije bila uporna, mogla se sanirati, i nije bila praćena tako visokim brojem leukocita da bi se potvrdio horioamnionitis. U svakom slučaju, inflamacija tokom porođaja pokreće imunske mehanizme a time i sekreciju Hsp 70, ili jednostavno dolazi do izražaja njegova reparaciona uloga, jer je u našem istraživanju koncentracija Hsp 70 rasla sa količinom proteklog vremena od trenutka prsnuća membrana.

5.7. Troponini

Uporna ishemija miokarda rezultira ćelijskom nekrozom i propuštanjem proteina srca u cirkulaciju, kada se oni mogu i registrovati, a podaci o njihovoj količini u krvi koristiti u dijagnostičke svrhe. Tako je i sa proteinima neonatalnog srca (Alexandre i sar. 2008). U literaturi se biohemijske pozadine kliničkih stanja traže upravo u vezi sa različitim kliničkim stanjima koja predstavljaju očiglednu opasnost po život deteta. Najviše istraživačkih radova ima vezanih za stanja asfiksije, jer je perinatalna asfiksija jedan od vodećih razloga disfunkcije srca kod neonatusa (Alexandre i sar. 2008).

Troponin T je visoko specifičan za srce i normalno se ne detektuje u zdravoj populaciji. Vrlo je senzitivan i detektuje čak i minimalna oštećenja miokarda (Narin i sar. 1999). Kod odraslih cTnT se smatra najsenzitivnijim biohemijskim markerom oštećenja miokarda. Međutim, mereno u trećem tromesečju trudnoće, gornje granice cTnT su bile slične kao one pronađene u neonatusima (Nomura i sar. 2009). Naše istraživanje je jedno od retkih koje je pokušalo da otkrije koje su to koncentracije troponina umbilikalne krvi u populaciji trudnica obolelih od GDM i PIH.

U literaturi još uvek nisu određene referentne vrednosti proteina cTnT i cTnI kod zdrave dece. Istraživanja su se uglavnom bavila bolesnom decom, nakon asfiksije. Međutim, u akutnim stanjima je postavljanje dijagnoze disfunkcije miokarda kod neonatusa možda i u zakašnjenju usled toliko drugih kliničkih znakova koje treba sagledati i sanirati (Alexandre i sar. 2008). Svi autori koji su se bavili troponinima su se složili u jednom, a to je da se stanje srca novorođenog



deteta može proceniti kroz detekciju biohemijskih promena, kada one morfološki još uvek nisu vidljive. Biohemijski markeri imaju veću specifičnost i senzitivnost nego ultrazvuk ili druga sredstva u postavljanju dijagnoze, tako da se mogu koristiti u dijagnostici onih mikroskopskih lezija, koje se još uvek ne mogu detektovati ultrazvukom (Araújo i sar. 2004; Russell i sar. 2009).

Smatra se da koncentracija cTnT ne zavisi od starosti trudnoće, načina porođaja, porođajne težine deteta (Clark i sar. 2001; Russell i sar. 2009). Šta zapravo koncentracije cTnT govore o stanju srca, ostaje da se utvrdi, s' obzirom da dosadašnja znanja ne pružaju čvrste dokaze i konačnu istinu o tome. Fetusi kod kojih je oštećenje miokarda otkriveno ehokardiografijom su pokazivali znake povećanog venskog pritiska i povećanih cTnT koncentracija na rođenju, posebno u slučajevima gde je Doplerom pokazano vraćanje krvi kroz umbilikalne vene, odnosno dokazane pulzacije umbilikalnih vena (Nomura i sar. 2009). Međutim, korelacija morfoloških merenja srca nije pokazivala korelaciju na primer sa NT pro BNP, tako da se možda može po toj analogiji zaključiti da i koncentracije cTnT nisu u korelaciji sa morfološkim dimenzijama srca fetusa. U svakom slučaju, čak i kada dolazi do curenja cTnT u cirkulaciju iz kardiomiocita, to uglavnom reflektuje samo trenutni funkcionalni poremećaj srca ili mikro lezije, koje nisu vidljive morfološki, zato se i ne očekuje da ova dva parametra korelišu jedan sa drugim (Mert i sar. 2015).

Ona istraživanja koja su se bavila dijabetesom i koncentracijama cTnT u krvi umbilikalnih krvnih sudova su pokazala vezu ovih proteina sa dijabetesom. Registrovane su više koncentracije cTnT kod trudnica obolelih od dijabetesa, ali i kod makrozomične dece rođene od zdravih majki i u zdravim trudnoćama, a razlika u odnosu na vrednosti kod zdravih trudnica je bila statistički značajna (Russell i sar. 2009; Mert i sar. 2015).

Iako zvanično nije prihvaćeno da koncentracije cTnT pokazuju korelaciju sa eho i dopler nalazima srca i umbilikalnih krvnih sudova, ipak je utvrđeno da postoji pozitivna korelacija između fetalne cTnT i arterijskog pulsatilnog indeksa u trećem tromesečju trudnoće. I naravno, na kraju, postojala je pozitivna korelacija fetalnog cTnT sa lošim ishodom porođaja, dok i dalje korelacija proteina sa funkcionisanjem srca u trećem tromesečju nije ustanovljena. Možda ehokardiografiju srca fetusa treba uraditi što bliže porođaju (Russell i sar. 2009).



Naše istraživanje se nije bavilo detaljima vezanim za morfologiju srca fetusa. U našem istraživanju je mediana koncentracija cTnT kod trudnica GDM grupe bila 0,01 ng/ml i iznosila isto kao kod zdravih trudnica koje su se porodile normalnim vaginalnim porođajem. Možda detaljnija obrazloženja uzročno posledičnih fizioloških veza treba tražiti u korelacijama sa drugim molekulima, što će uslediti u daljem tekstu.

Prema podacima iz literature koncentracije cTnT umbilikalne krvi dece iz trudnoća opterećenih dijabetesom su bile $0,02 \pm 0,04$ microg/L (Russell i sar. 2009), a kod zdravih neonatusa 0,22 microg/L (Araujo i sar. 2004), što se slaže sa našim nalazima. Interesantno je da je dijagnostički značajna koncentracija cTnT za infarkt miokarda 0,03 microg/L, naravno uz postojanje simptoma (McCann i sar. 2008). Kada upoređujemo koncentracije markera stradanja kardiomiocita kod novorođene dece i odraslih, svakako da ne treba zaboraviti da su uzorci krvi ipak uzimani neposredno nakon porođaja. Tada stresu i hipoksiji koja je postojala tokom trudnoće i razvoju tkiva fetusa treba dodati i onaj stres kroz koji tkiva prolaze tokom rađanja, kao i stepen stradanja i remodelovanja tkiva i organa, kao deo fiziološkog formiranja njihovog konačnog oblika (Patterson i sar. 2010). Zato još uvek postoji otvoren problem postavljanja prihvaćenih referentnih vrednosti koncentracija cTnI i cTnT.

I u slučaju PIH, vrednosti cTnT u umbilikalnoj krvi su bile slične kao i u literaturi i to 0,00 [0,00-0,02] ng/ml. Izgleda da se pri praćenju proteina stradanja ćelija, treba fokusirati na stanja dece koja se kroz te biohemijske slike klinički analiziraju. Deca u našem istraživanju su ipak bila klinički stabilna u trenucima uzorkovanja krvi.

Kod trudnica obolelih od PIH se očekuje stradanje miokarda. Već su pokazane neke histološke promene na srcima trudnica sa PIH, kao i kod svih onih kod kojih se u trudnoći razvila hipertenzija. Javljaju se fine lezije srca, koje se mogu dijagnostikovati troponinima u cirkulaciji. To je deo očekivanog razvoja PIH, gde srce spada u jedan od ciljnih organa zajedno sa bubrezima (Fleming i sar. 2000). Koncentracije cTnT u serumu majki obolelih od PIH (0,70 ng/ml) su bile značajno veće od onih u kontrolnim grupama (0,10 ng/ml) (Narin i sar. 1999). Sa tom idejom treba prići i eventualnim promenama srca fetusa.



Vrednosti cTnT su dosta više kod neonatusa koji su bolesni i koji dodatno razviju respiratorni distres, u poređenju sa zdravim neonatusima, što sugerise da se stepen komrpomitovanja kardiopulmonarnog sistema može procenjivati ovim biohemisjkim markerima (Clark i sar. 2004). Deca koja dožive asfiksiju na rođenju imaju povećane vrednosti cTnT iznad 0,1 ng/ml, a nijedno zdravo dete iz kontrolnih grupa nema takve vrednosti. Takođe je uočeno da su vrednosti cTnT nezavisne i od acidoze, dakle od pH krvi, i od Apgar skorova i u prvom i u petom minutu (Uzodimma i sar. 2012).

Ima i suprotnih mišljenja da su neke kliničke procene kakvi su Apgar skorovi i monitoring srca fetusa ipak u korelaciji sa koncentracijom ovog proteina. Literaturni podaci pokazuju da je kod fetusa kod kojih nije bilo deceleracija srednja vrednost cTnT bila je $0,045 \pm 0,011$ ng/mL, dok kod onih sa usporavanjem srčanog rada iznosila $0,032 \pm 0,011$ ng/mL. Kod malog Apgar skora vrednosti cTnT su bile $0,043 \pm 0,010$ ng/mL, a kod normalnog Apgar skora $0,033 \pm 0,012$ ng/mL (Shiva i sar. 2013). Kod normalnog vaginalnog porođaja vrednosti su iznosile $0,022 \pm 0,009$ ng/mL, a kod carskog reza $0,035 \pm 0,013$ ng/mL (Shiva i sar. 2013). Dakle, vrednosti cTnT rastu u slučajevima fetalne bradikardije ili kasnih deceleracija, jer obe ove pojave pokazuju aktivnost srčanih miofibrila (Fleming i sar. 2001). Iznosimo tačne vrednosti radi lakše ilustracije da su klinički teža stanja uglavnom udružena i sa stradanjem tkiva srca, ili pak sa povećanom propustljivošću ćelijskih membrane i prolaskom ovih strukturnih proteina u cirkulaciju, što je svakako znak nefizioloških okolnosti koje su zadesile srce fetusa.

Posmatrajući vrednosti koncentracija jasno vidimo da se one nisu mnogo razlikovale od onih iz naših istraživanja, pogotovu uzevši u obzir to da su fetusi naših trudnica bili mahom zdravi, bez decelacija u monitoringu, ili sa decelacijama koje su brzo sanirane. Neonatusi su bili mahom zdravi i većinom sa visokim Apgar skorovima. Po svemu ovome se očekuju da molekuli koji reflektuju patnju srca i stradanje ćelija imaju niske vrednosti. Dakle, mediane vrednosti koncentracija cTnT se nisu statistički značajne razlikovale. Najčešća vrednost dobijena kod GDM i VAG grupa bila je 0,01 ng/ml, dok su najčešće vrednosti u PIH i CS studijskoj grupi bile 0,00 ng/ml, i uglavnom se nisu mogle detektovati korišćenim visokosenzitivnim testom. Već je pokazano da povećane vrednosti cTnT mogu da budu tek posledica intaruterine hipoksije koja neko vreme vlada u materici (Shiva i sar. 2013).



Najviše porođaja sa mekonijalnom plodovom vodom je bilo u PIH grupi 27%, što se u potpunosti poklapa sa procentom broja dece koja je u PIH studijskoj grupi oživljavana (27%). Interesantno je da iako se cTnT nije pokazao kao tako senzitivni marker stradanja ćelija u našem istraživanju, njegove vrednosti u umbilikalnoj krvi se značajno razlikuju kod dece koja su oživljavana na rođenju od onih koja nisu ($p < 0,05$).

Novorođena deca koja dožive intrapartalnu asfiksiju imaju povećane vrednosti ne samo cTnT, već i cTnI u umbilikalnoj krvi (McAuliffe i sar. 2004). Fleming i sar. nisu pronašli korelaciju između abnormalne srčane akcije fetusa i cTnI u umbilikalnoj krvi, a objašnjenje su pronašli u tome da srčana akcija fetusa nije prelazila 100, a da su koncentracije cTnI rastle samo kod srčane akcije fetusa veće od 160 (Fleming i sar. 2001). Vodeći se time, niske vrednosti cTnT su u korelaciji sa ovim podacima. U satu neposredno pred porođaj, mediana vrednosti srčane akcije fetusa bila je u VAG grupi 136,13, u CS 135, dok je u eksperimentalnim grupama u GDM bila 138, a u PIH grupi 135. Interesantno je da su najviše srčane frekvence zabeležene u VAG kontrolnoj grupi, čak do 171,60, i kod ove dece je cTnT i bio povećan u odnosu na ostale neonatuse (0,029 ng/mL, u konkretnom slučaju). Međutim to nije bilo pravilo, jer kod nekih fetusa sa srčanom frekvencom 168 u satu pred porođaj, koncentracije cTnT su bile 0 ili 0,004 ng/ml. Interesantno je da su ovi fetusi bili u acidozi (pH manji od 7,25). Da li to onda znači da cTnT reflektuje samo stanje srca, a nije adekvatan marker za globalno stanje novorođenčeta?

I GDM i PIH su stanja povećane intrauterine hipoksije, bez obzira na regulacijske mehanizme koje fetus drže kompenzovanim i omogućavaju fiziološki rast i razvoj u materici. Studije su pokazale da su visoke vrednosti cTnT udružene još i sa nižim mitralnim A vrednostima i višim mitralnim E/A odnosom neonatusa kod PIH majki, što reflektuje oštećenje miokarda neonatusa rođenih od PIH majki (Narin i sar. 1999). U nekim studijama, međutim, nije pronađena korelacija cTnT sa funkcionisanjem srca u trećem triomesečju trudnoće kod trudnica obolelih od dijabetesa (Russell i sar. 2009).

Vaskularne lezije u placenti su odgovorne za smanjeni protok kroz placentu i uterus i posledično usporavanje rasta fetusa. Smatra se da su upravo to uslovi u kojima se razvija i srce fetusa. Kod PIH majki u literaturi je koncentracija cTnT u umbilikalnoj krvi bila 0,70 ng/ml, što je bilo daleko veće nego kod zdravih trudnica, 0,10 ng/ml (Narin i sar. 1999).



U našem istraživanju su vrednosti cTnT bile 0,00 [0,00- 0,02] ng/ml. Ako se vratimo na tumačenja fetalne srčane frekvence i na to da nije bilo izraženih decelarcija, niti fatalne tahikardije, onda imamo adekvatno objašnjenje zašto su koncentracije bile tako niske. Čak i ona deca koja su imala bradikardiju nakon rođenja, i jedno koje je imalo patent duktus arteriozus, a sva su poticala iz trudnoća sa PIH, su imala 0 ng/ml cTnT.

Smatra se da cTnI ima veću specifičnost od cTnT. Ovog proteina nema u skeletnim mišićima, nalazi se samo u srcu, i dokazano je da njegova koncentracija raste u umbilikalnoj krvi samo u slučajevima hipoksije fetusa koja je izazvala intrauterino oštećenje miokarda i nije u vezi sa dešavanjima tokom porođaja (Alexandre i sar. 2008). Turker i sar. (2004) su pokazali da cTnI raste u umbilikalnoj krvi, kao i CK-MB, kod hipoksične dece u odnosu na zdravu. Tako da cTnI može biti rani marker hipoksije na rođenju (Türker i sar. 2004), i da je važan marker oštećenja miokarda u toku asfiksije na rođenju (Shiva i sar. 2013).

Studijske grupe u našem istraživanju su se takođe razlikovale i po vrednostima cTnI u umbilikalnoj krvi ($p < 0,0001$). Mediane vrednosti su iznosile 2,70 ng/mL u GDM grupi, 9,11 ng/mL u PIH grupi, a u CS kontrolnoj grupi je koncentracija bila 7,20 ng/mL, dok je u umbilikalnoj krvi trudnica koje su se porađale normalnim vaginalnim porođajima medijana vrednosti iznosila 0,00 ng/mL. Kada uporedimo vrednosti među grupama, vidimo da su vrednosti u PIH grupi veće od onih u VAG i GDM grupama, a da je vrednost u CS grupi značajno veća od koncentracija cTnI u VAG i GDM grupama. Postavlja se pitanje zašto je vrednost cTnI veća kod CS u odnosu na GDM grupu. Da li cTnI reflektuje stradanje ćelija usled CS ili je posledica prvobitnih indikacija za CS?

Zbog zabrinjavajuće srčane akcije fetusa, 7% beba iz CS grupe je porođeno dok je 17% iz grupe sa GDM završilo carskim rezom iz istog razloga. Koncentracija cTnI fetusa porođenih carskim rezom zbog poremećaja srčanog rada bila je 6,06 ng/ml, kod zastoja u dilataciji 5,99 ng/ml, a kod zakazanog CS 5,77 ng/ml, tako da između njih ne postoje statistički značajne razlike. Time se nameće zaključak da način porođaja, a i razlog porođaja carskim rezom ne utiče na koncentraciju cTnI, i da razloge viših koncentracija cTnI u CS kontrolnoj grupi u odnosu na GDM grupu treba tražiti u drugim karakteristikama fetusa. Mediana vrednosti akcije srca fetusa u satu pred porođaj u CS grupi je iznosila 135, dok u GDM grupi 138, međutim frekvencija srca



nije pokazala statistički značajnu korelaciju sa cTnI. Ako tražimo razlog u pH umbilikalne krvi (pH arterijske krvi) kod trudnica CS grupe (7,23) i GDM grupe (7,21), ni između njih nije bilo statistički značajne razlike, kao ni između pH venske krvi.

U literaturi se razlike u koncentracijama uglavnom objašnjavaju različitim senzitivnošću testova (Trevisanuto i sar. 2003). Iako su u našem istraživanju korišćeni testovi visoke senzitivnosti za oba proteina, koncentracije cTnI su bile daleko veće od cTnT. Studije u kojima su koncentracije cTnI visoke kod neonatusa u asfiksiji su sugerisale dva moguća objašnjenja. Prvo da hipoksija i asfiksija determinišu povećanu ekspresiju cTnI u fetoneonatalnom miokardu, a drugo da je cTnI u stvari majčinog porekla, ili pak da je u pitanju slobodan cTnI iz citozola miocita srca (Trevisanuto i sar. 2009).

U mnogim istraživanjima je testirana i majčina krv u potrazi za dokazom, mada je već poznato da je troponin protein velike molekulske mase, koji nije u stanju da prođe placentnu barijeru (Alexandre i sar. 2008). Neki autori se slažu sa tom hipotezom zbog toga što smatraju da troponin može poticati samo iz srca neonatusa. Pošto je troponinski kompleks preveliki (24 000 kDa) da bi prošao kroz placentu, moramo se složiti da je cTnI iz umbilikalne krvi fetalnog porekla (Trevisanuto i sar. 2003). Mi u našem istraživanju nismo merili majčine koncentracije ovih proteina, da bismo to sa sigurnošću mogli da tvrdimo.

Još jedna činjenica govori u prilog tome da je registrovani cTnI iz umbilikalne krvi fetalnog porekla. Naime, kao što je već pomenuto, cTnI se u fetusu nalazi dominantno u skeletnoj formi koja se postepeno do 9. meseca gestacije zamenjuje miokardnom formom, pa se smatra se da se cTnI ne može registrovati u zdravom fetusu. Zbog toga neki autori smatraju da cTnI nije adekvatan biohemijski marker oštećenja kardiomiocita u neonatalnom periodu. Međutim, kao i svakom stavu, i ovome protivureče neke činjenice, koje kažu da stanja hipoksije i asfiksije upravo utiču na raniju zamenu skeletne forme miokardijalnom formom cTnI (Trevisanuto i sar. 2009).

Ovakvo tumačenje baca novo svetlo na naše istraživanje, gde su koncentracije cTnI bile jako visoke u odnosu na cTnT. To možda znači da su se fetusi formirali u stanju izražene hipoksije. Ali, sa druge strane, frekvencija srca fetusa je bila u okviru normalnih vrednosti u svim



ispitivanim grupama. To sada otvara novo pitanje, da li je frekvencija srca fetusa dovoljan marker koji ilustruje stanje srca i da li još tokom intrauterinog života treba uvesti nova dijagnostička sredstva, pored KTG; kojima bi se obezbedila bolja orijentacija o zdravlju fetusa koji se formira. Zatim postoje neke indicije o tome, da nevezani cTnI srca može da se spere iz ćelije, i da se tako registruje nerealno veća koncentracija u serumu umbilikalne krvi (Trevisanuto i sar. 2009).

Dakle, na osnovu ovog istraživanja mi samo možemo da posumnjamo da se prelaženje skeletne forme sTnI na cTnI, dakle fenotip miokarda dešava nakon rođenja, i potpuno dovršava tek nakon 9 meseci postnatalnog razvoja, kao što je navedeno i u literaturnim podacima. Pošto je fetus zauzet konvertovanjem TnI u miokardu od skeletnih sporih TnI do srčanih TnI, može biti da se stvarno radi o visokim koncentracijama cTnI koje su jednostavno isprane iz ćelija. Ali, ovo je samo hipoteza i nije sasvim jasno definisan proces (Trevisanuto i sar. 2009).

Kod odraslih je porast koncentracija cTnI u serumu usko povezan sa oštećenjem miofibrila u srcu (Trevisanuto i sar. 2009). U našem istraživanju smo se bazirali samo na biohemijske promene, i nismo pratili Eho ili EKG znake oštećenja srca.

Kod neonatusa u našem istraživanju se vrednosti cTnT nisu mogle detekovati u više od polovine neonatusa, što može da znači da su koncentracije bile ispod i najmanje koncentracije molekula koji je test u stanju da registruje, što dalje znači da su neonatusi bili zdravi, jer nisu bili u kliničkom stanju koje izaziva značajno propuštanje troponina u cirkulaciju.

Postoji još jedno važno pojašnjenje, a to je da vreme uzorkovanja krvi nije bilo pravo da bi se registrovao porast koncentracije cTnT. Naime, mi smo krv uzorkovali na porođaju, odnosno odmah nakon rađanja deteta. Dobro je poznato da troponini, čak i kod odraslih ljudi, tek nastavljaju da rastu u satima nakon oštećenja ćelija, odnosno 12-24 sata. Dakle, scenario koji bi odgovarao ovakvom objašnjenju je da fetusi nisu trpeli takvu hipoksiju koja bi izazvala izlazak cTnT iz ćelija, a da na samom rođenju, ili nije bilo lezija, ili je krv bila uzorkovana prerano, o čemu ima podataka i u istraživanjima drugih autora (Trevisanuto i sar. 2009). Diskrepanca dakle postoji, i ona ostavlja utisak da je cTnI senzitivniji marker hipoksije od cTnT.

Jako je teško pronaći kada se hipoksija dogodila tokom prenatalnog perioda, i koliko je trajala. Savremena medicina ne poznaje sredstva koja bi determinisala ovakve trenutke. U svemu



je najvažnije šta je ta hipoksija ostavila za sobom. Ali se onda ponovo susrećemo sa tim, da kada su lezije već nastale, da je prekasno pokušavati vratiti morfologiju tkiva u okvire zdravog stanja. Potrebne su neke nove studije koje će se baviti samo kinetikom molekula u hipoksiji, između ostalog i troponina u hipoksiji i asfiksiji.

Ostanak u bolnici, kao i lečenje u intenzivnoj nezi, takođe su se razlikovali među decom iz različitih grupa. Najviše dece kojima je bila potrebna intenzivna nega su iz PIH i GDM grupe, kao što se i očekivalo. Međutim, samo je cTnI je bio u pozitivnoj korelaciji sa dužinom boravka u bolnici.

Srčani TnI je bio u negativnoj korelaciji sa Apgar skorom u prvom i petom minutu, ali i sa porođajnom telesnom masom deteta, što znači da u porođajima gde su ove vrednosti rasle, koncentracije cTnI su padale. Takođe, dokazana je negativna korelacija cTnI sa bikarbonatima umbilikalne krvi. Poznato je iz literature da je cTnI visok u hipoksičnih neonatusa. Rezultati drugih autora se slažu sa našim da je cTnI u korelaciji sa bikarbonatima i Apgar skorom neonatusa, ali i sa pH, baznim deficitom u gasovima krvi. Oni su, naime, potvrdili da samo hipoksični neonatusi imaju povišene vrednosti cTnI, bez obzira na gestacijsku starost (Turker i sar. 2004). U svakom slučaju stradanja ili hiperpermeabilnosti ćelija usled hipoksije, treba dodati faktore remodeliranja tkiva tokom rađanja i fiziološki programirane smrti ćelija koji se tada dešavaju, a u cilju stvaranja konačnog oblika srca i njegove funkcije (Patterson i sar. 2010).

Generalno, cTnI je viši kod vaginalnih porođaja i u negativnoj je korelaciji sa trajanjem trudnoće. Sudeći po našim istraživanjima, cTnI je daleko senzitivniji znak inflamacije od cTnT. Po literaturnim podacima, koncentracija cTnT i nije zavisila od načina porođaja (Shiva i sar. 2013), mada je Kocilowski sa saradnicima pokazao da cTnT raste kod vaginalnih porođaja (Kocylowski i sar. 2009), sa čime se slažu i rezultati našeg istraživanja.

Verovatno postoji i neki uticaj majčinih faktora s' obzirom na pozitivnu korelaciju cTnI sa SKP na prijemu i sa SKP merenim tri sata pred porođaj. Takođe, cTnI je u korelaciji sa procentualnom zastupljenošću monocita i limfocita u diferencijalnoj krvnoj slici trudnice, kao nespecifičnim znacima inflamacije.



5.8. Međusobni odnosi određivanih proteina i enzima u serumu umbilikalne krvi neonatusa

Kao molekuli koji reaguju u akutnim hipoksičnim stanjima, očekivalo bi se da koncentracije Hsp 27 i GP-BB korelišu. Međutim, ni u ukupnom broju pacijenata, niti pojedinačno u grupama oni nisu bili u zavisnom odnosu. Pretpostavlja se, iako oba molekula možemo nazvati molekulima akutnih stanja, da ipak u patološkim stanjima trudnoća koje smo ispitivali oni nisu delovali istovremeno. Koncentracije Hsp 27 se nisu značajno razlikovale među sobom, odnosno one iz patoloških trudnoća nisu bile mnogo drugačije od onih iz zdravih trudnoća.

Jedno od objašnjenja je da su se koncentracije kod patoloških trudnoća već potrošile tokom reparacionih procesa stvaranja tkiva. Naime, Hsp 27 je konstitutivno prisutan u svim ćelijama, pa i u kardiomiocitima, i njegova osnovna uloga kao šaperon proteina je da omogući ponovno sklapanje denaturisanih proteina u njihove aktivne konformacione oblike, ali i da menja F aktin i da se bori protiv apoptoze (Jin i sar. 2014). Sudeći po drugim studijama, njegova povećana koncentracija znači da on upravo štiti kardiomiocite od ishemijskih procesa (Vander i sar. 2002).

U istraživanjima gde je ishemija izazivana klemovanjem krvnih sudova, dokazano je da je najveća koncentracija Hsp 27 postignuta nakon puštanja protoka kroz klemovane krvne sudove, a da je koncentracija Hsp 70 najveća baš tokom ishemije (Jin i sar. 2014). Ako znamo da je GP-BB enzim koji prvi odvaja glukozu iz glikogena tokom hipoksije, i da merenjem GP-BB mi, zapravo, indirektno merimo stepen akutnog stradanja kardiomiocita (Dobrić i sar. 2015), onda bi pozitivna korelacija sa Hsp 70 trebalo da bude i očekivana. Međutim, nju srećemo samo u ukupnom broju pacijenata, sa visokim stepenom statističke značajnosti ($p < 0,01$) i kod kontrolne grupe (CS), gde je ta veza nešto slabija ($p < 0,05$). U našem istraživanju nisu svi CS bili elektivni, već je u 27% CS rađen kao intervencija: ili usled nepropagiranja dilatacije cerviksa u porođaju, ili usled usporavanja srčane frekvencije. Ovako nastalim stanjima nedostatka adekvatne količine kiseonika intrautero prilagođavaju se i kardiomiociti, i to pre svega pribegavanjem metaboličkim procesima u hipoksiji, kao što je oslobađanje GP-BB (Dobrić i sar.



2013) i Hsp 70 (Jin i sar. 2014). U ćelijskoj komunikaciji je ovo pre svega jedan način pobuđivanja ostatka tkiva i poziv na što bržu reparaciju.

Na animalnim modelima je pokazano mnogo veće oslobađanje Hsp 27 od Hsp 70 u toku ishemije (Jin i sar. 2014). Mi svakako da u kontekstu trudnoća ne govorimo o pravim ishemijama, ali se bavimo stanjima vladajuće hipoksije u materici, koja su se kao takva karakterisala većom koncentracijom Hsp 27 u svim grupama, od kojih su ova dva konzervirana molekula korelisala međusobno samo u grupi GDM ($p < 0,01$). Naime, u hiperglikemiji dolazi do povećanja Hsp 27 koji pospešuje vezivanje molekula inzulina za svoje receptore i utiče na njegovu bolju signalizaciju (Clements i sar. 2007; Simar i sar. 2012), dok su povećane koncentracije Hsp 70 takođe bile u korelaciji sa inzulinskom rezistencijom i dijabetesom (Xing i sar. 2015; Krause i sar. 2015). Kao potvrda ovome u našem istraživanju, postojala je pozitivna korelacija koncentracija glukoze krvi majke i Hsp 70 ($p < 0,05$), ali i cTnI i glukoze ($p < 0,05$).

Američko Društvo Dijabetičara (ADA) je 1997. godine predložilo kriterijume za postavljanje dijagnoze GDM u 24-oj nedelji trudnoće, a 2011. The International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) je uvela nove kriterijume za GDM koji su još senzitivniji od onih postojećih (Metzger i sar. 2008). Međutim, istraživanje sprovedeno 2008. godine u devet zemalja poznato kao HAPO (Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome), pokazalo je da čak i kod majki sa normalnom glukozom, postoji još uvek jaka korelacija između komplikacija u trudnoći, kao posledica metaboličkih promena, i nivoa glukoze u plazmi. Biće da su metabolički putevi previše kompleksni i sofisticirani da bi se na njih obraćala pažnja samo kada su potpuno dekompenzovani i kada rezultuju dijagnozom dijabetesa. Način tolerancije i održavanja glikoze tokom trudnoće je u stvari taj koji diktira posledice nastale u fetusu, a i u trudnoći. Kod neonatusa naime nije bilo korelacije između nivoa glukoze i koncentracije proteina.

Stiče se utisak da u dijabetesu Hsp 27 i Hsp 70 u jednom sinergizmu pružaju balans vladajućoj inzulinskoj rezistenciji, i zajedno rade na tome da metabolički procesi u ćeliji bolje odgovore na uticaj inzulina, jer je dokazano da je u tkivu koje je tretirano toplotom dolazilo do povećane produkcije Hsp 70, posledičnog smanjenja inzulinske rezistencije i do bolje signalizacije inzulina (Silverstein i sar. 2015).



Srčani TnT ima poluživot 90 minuta, tako da su sve koncentracije koje se mogu registrovati danima nakon toga proizvod ireverzibilno oštećenog tkiva (Mohammed i sar. 2011). U svakom obrazlaganju dešavanja na samom porođaju treba krenuti od toga da ne postoji način da se ispita da li je došlo do ireverzibilnih oštećenja tkiva još intaruterino pred sam porođaj. Dakle, za one kliničke znake koje mi smatramo u praksi zabrinjavajućim, poput bradikardije, se ne može tvrditi da li su u vezi s ireverzibilnim oštećenjima ili je došlo samo do propustljivosti ćelijskih membrana, a da nije bilo prave ishemije, kao što je uglavnom slučaj i sa oslobađanjem GP-BB (Dobrić i sar. 2013).

Posmatranjem svih studijskih grupa, uočava se negativna korelacija vrednosti cTnT sa koncentracijama Hsp 27 ($p < 0,01$). Srčani TnT i TnI su strukturni proteini kardiomiocita (Araujo i sar. 2004), i njihovo pojavljivanje u cirkulaciji je siguran znak da je do oštećenja ćelija srca došlo. Naime, koncentracije cTnT jesu u negativnoj korelaciji sa Hsp 27 i to jeste razumljivo s' obzirom da se Hsp 27 sada brzo mora vezati za aktinska vlakna, stabilizovati ih, i učiniti strukturu citoskeleta kardiomiocita, za početak, prvo stabilnom, a zatim pomoći da kardiomiocit ponovo postane funkcionalan (Clements i sar. 2007; Reddy i sar. 2014; Dubińska-Magiera i sar. 2014; Waddingham i sar. 2015). Ova negativna korelacija postoji kod GDM studijske grupe ($p < 0,01$), i kod VAG kontrolne grupe ($p < 0,01$), međutim nikakve korelacije nije bilo u CS kontrolnoj grupi, ni u PIH grupi. Ostavlja se nekim budućim istraživanjima, koja će možda imati dostupnu savremeniju tehnologiju da izbliza ispituju hipoksične procese tokom same trudnoće. Kako je PIH jako složen proces povezan sa stradanjem ciljnih organa, gde ipak nema dovoljno vremena za razvijanje kompenzatornih mehanizama, kao kod GDM, moguće je da se trenutak delovanja Hsp 27 i troponina ne poklapa, ili da se radi o većem broju dekompenzovanih hipoksija koje se javljaju sinhrono, ili jedna za drugom, kada su se iRNK za Hsp 27 dosta ranije morali transkribovati sa DNK i premestiti u citozol kako bi se ovim mehanizmima održavala funkcija ćelija srca.

Negativna korelacija je postojala kao opšta veza između cTnT i GP-BB ($p < 0,05$), i cTnT i cTnI ($p < 0,05$), ali isti ovakav odnos između cTnT i GP-BB se mogao videti i u kontrolnoj grupi vaginalnih porođaja ($p < 0,05$). Može biti da fetusu koje smo ispitivali ipak nisu doživeli tako izraženo stradanje ćelija, da bi bilo praćeno visokom koncentracijom cTnT koja bi, eventualno,



pozitivno korelirala sa koncentracijama GP-BB. Ovakvu postavku odnosa korelacija najočiglednije je tumačiti kao posledicu akutnih dešavanja na samom porođaju, i da je visoka GP-BB koncentracija, praćena niskom cTnT koncentracijom rezultat hipoksije, nastale tokom drugog stadijuma porođaja, koja je trajala od 65,5 min u GDM grupi do 86 min u VAG grupi ($p > 0,05$), ili pak kao posledica različitih razloga, gde je porođaj bio polongiran ili završen carskim rezom. U drugom stadijumu porođaja tokom intenzivnih kontrakcija, raste intrauterini pritisak, što može uticati na fetoplacentalnu razmenu gasova i izazvati poremećaj u homeostazi. Tome svedoči pet različitih oblika monitorngna frekvence srca fetusa na KTG i povećanje fetalnih laktata (Nordström i sar. 1998). Svemu tome treba svakako dodati i ono stradanje tkiva nastalo tokom remodelovanja tkiva i organa, kao deo fiziološkog formiranja njihovog konačnog oblika (Patterson i sar. 2010).

5.9. Karakteristike dece rođenih is komplikovanih i zdravih trudnoća tokom istraživanja

Sudeći prema broju i karakteristikama dijagnostikovanih patoloških stanja, neonatusi praćeni našim istraživanjem su uglavnom bili zdravi. Naime od 120 dece, 4 deteta su imala respiratorni distres, 6 je bilo posmatrano zbog temeprature ili sumnje na GBS infekciju (Group B Streptococcus infekcija), 3 je tretirano jer im je majka imala visoku temperaturu nakon porođaja, 17 je imalo žuticu od kojih je 12 bilo na fototerapiji, jedno dete je imalo nekrotizirajući kolon, jedno ustanovljenu dijagnozu anemije, a jedno primilo transfuziju zbog policitemije. Apneu je doživelo petoro dece. S' obzirom da smo se mi u ovom istraživanju dotakli najviše molekula koji su karakteristični za srce, i javljaju se kod patnje srca, možemo istaći da je od 120 dece jedno imalo kongenitalnu anomaliju PDA, sedmero je imalo u nekom trenutku tokom bolničkih dana bradikardiju, troje iz GDM i troje iz PIH grupe, takođe kod troje dece PIH grupe je zabeležen šum na srcu.

Ali, nijedno od ovih stanja nije bila u korelaciji sa proteinima koje smo ispitivali. Treba razumeti da su naše koncentracije bile one u trenutku porođaja, koje možda najbolje oslikavaju kako je trudnoća uticala na formiranje tkiva, i da su same osobine tih molekula prikazi akutnih



stanja stradanja i reparacije tkiva. Ako bi se pratio tok rasta ili pada ovih molekula u krvi neonatusa, sigurno da bi i oni bolje reflektovali promene stanja, koja bi predstavljala i biološku pozadinu kliničkih slika naših malih pacijenata.

6. ZAKLJUČCI

Analizom ovih podataka mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Zdrave trudnice kao i obolele od preeklampsije i gestacijskog dijabetesa u ispitivanoj populaciji su istih godina.
2. Dužina trudnoće se ne razlikuje značajno u zdravim i patološkim stanjima u ispitivanoj populaciji.
3. Trudnice obolele od preeklampsije, kao i zdrave trudnice koje su se porodile carskim rezom su imale najveće telesne mase i BMI. Novorođenčad rođena iz trudnoća komplikovanih preeklampsijom su bila najmanje telesne mase, i među nima je bilo najviše dece koja su oživljavana na rođenju.
4. Najveći broj belih krvnih zrnaca je zabeležen u leukocitarnoj formuli zdravih trudnica koje su se porodile vaginalnim putem.
5. Najveći krvni pritisak neposredno pred porođaj su imale trudnice obolele od preeklampsije. Najveći pritisak ugljen dioksida i najmanja saturacija kiseonika u venskoj krvi je bila kod novorođenčadi rođene carskim rezom, dok je u arterijskoj krvi najmanja saturacija bila kod dece rođene carskim rezom, a najveći pritisak ugljen dioksida kod dece iz preeklampsičnih trudnoća. Step en acidoze je u pozitivnoj korelaciji sa Hsp 27 iz ćelija miokarda.
6. Koncentracije Hsp 70, cTnI i GP-BB su se značajno razlikovale među patološkim i zdravim trudnoćama, i mogu se uzeti kao markeri odgovora neonatusa na stres. Hsp 70 je najsenzitivniji marker za trudnoće komplikovane gestacijskim dijabetesom, dok su cTnI i GP-BB su najsenzitivniji markeri odgovora na stres kod preeklampsičnih trudnoća.
7. Gestacijski zrelija deca imaju niže koncentracije cTnI u serumu.
8. Trudnice sa većom telesnom masom i višim BMI vrednostima su rađale decu sa višim koncentracijama cTnI u serumu, što ukazuje da metabolički sindromi predstavljaju stres za ćelije miokarda, koji se može registrovati višim koncentracijama cTnI.
9. Visoki krvni pritisci trudnica su u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijama GP-BB i cTnI u serumu fetusa, što dokazuje da visoki krvni pritisci majke predstavljaju stres za miokard fetusa, a kasnije i neonatusa, registrovanog višim GP-BB i cTnI koncentracijama.



10. Hsp 70, kao nespecifični marker stresa fetusa u gestacijskom dijabetesu, je u pozitivnoj korelaciji sa glikemijom tokom porođaja, odnosno u korelaciji je sa metaboličkim stresom merenim kroz koncentracije glukoze.
11. Sa povećanjem frekvence srca fetusa pred porođaj i stresa miokarda usled kontrakcija, povećava se i koncentracija Hsp 70 u serumu fetusa. Srčana frekvencija fetusa je u pozitivnoj korelaciji sa Hsp 70.
12. Sa učestalošću kontrakcija i mehaničkog stresa, nakon prsnuća plodovih ovoja, rastu i koncentracije Hsp 70 i GP-BB kao njihova direktna posledica.
13. Mekonijalna plodova voda je indikator hipoksije tokom porođaja. Kod beba rođenih sa mekonijalnom plodovom vodom je pronađena i veća koncentracija GP-BB, kao posledica anaerobnog metabolizma glukoze, nastale u istim uslovima hipoksije.
14. Fetusi sa zabeleženim padom srčanih tonova su imali najveće koncentracije GP-BB, kao posledica metabolizma miokarda tokom hipoksije.
15. Deca rođena iz trudnoća komplikovanih gestacijskim dijabetesom su duže bila hospitalizovana i češće su imala visoku temperaturu od one dece rođene iz trudnoća komplikovanih preeklampsijom, kod koje porast telesne temperature nije zabeležen.
16. Novorođena deca koja su na rođenju imala veće koncentracije cTnI su duže ostajala u bolnici nakon rođenja, odnosno cTnI koncentracije su bile u pozitivnoj korelaciji sa dužinom hospitalizacije neonatusa. Deca koja su na rođenju imala veće koncentracije Hsp 27, imaju tendenciju da budu hospitalizovana u intenzivnoj nezi, što je posebno bilo izraženo kod permaturusa.
17. Koncentracije GP-BB su u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom Hsp 70 kod stradanja tkiva fetusa u svim grupama subjekata zajedno, dok kod gestacijskog dijabetesa su koncentracije Hsp 27 i Hsp 70 u međusobnoj pozitivnoj korelaciji u serumima fetusa.
18. Tokom carskog reza rastu koncentracije GP-BB zajedno sa Hsp 70 u serumima novorođene dece i koncentracije GP-BB i Hsp 70 su pokazale pozitivnu korelaciju. S obzirom da nisu svi carski rezovi bili elektivni, moguće da su kontrakcije neposredno pred porođaj doprinele rastu i međusobnom uticaju ovih koncentracija.
19. Kod vaginalnih porođaja sa porastom Hsp 27 i GP-BB, kao posledica stradanja ćelija tokom hipoksije izazvane kontrakcijama, manja je koncentracija troponina T, odnosno



Hsp 27 i GP-BB su bile u negativnoj korelaciji sa cTnT, verovatno kao posledica drugačije dinamike rasta koncentracije cTnT. Poznato je da Hsp i GP-BB su prisutni u akutnim fazama, dok su za troponin T potrebni sati da se podignu koncentracije u krvi.

Određivanje koncentracija Hsp, ali i GP-BB i Tn bi moglo biti precizno dijagnostičko sredstvo u pronalaženju mikrolezija u srcu neonatusa, što bi dalje vodilo do pronalaženja individualne i adekvatne terapije za svako novorođenče, a možda i preveniranje daljih razvoja lezija u rastu i razvoju ka odraslom organizmu.

7. LITERATURA



1. Aabidha PM, Cherian AG, Paul E, Helan J. Maternal and fetal outcome in pre-eclampsia in a secondary care hospital in South India. *J Family Med Prim Care* 2015; 4(2): 257-260.
2. Abdulsid A, Lyall F. Heat shock protein 27 expression is spatially distributed in human placenta and selectively regulated during preeclampsia. *J Reprod Immunol* 2014; 101-102: 89-95.
3. Abdulsid A, Lyall F. Heat shock protein 27 expression is spatially distributed in human placenta and selectively regulated during preeclampsia. *Pregnancy Hypertens* 2013; 3(2): 68.
4. ACOG 2013. Institute of Medicine Weight Gain Recommendations for Pregnancy. Copyright January 2013 by the American College of Obstetricians and Gynecologists, Washington, DC 20090-6920. ISSN 1074-861X.
5. Adolph EF. Uptakes and uses of oxygen, from gametes to maturity: an overview. *Respir Physiol* 1983; 53(2): 135-160.
6. Alexandre SM, D'Almeida V, Guinsburg R, Nakamura MU, Tufik S, Moron A. Cord blood cardiac troponin I, fetal Doppler velocimetry, and acid base status at birth. *Int J Gynaecol Obstet* 2008; 100(2): 136-140.
7. Al-Jameil N, Aziz Khan F, Fareed Khan M, Tabassum H. A brief overview of preeclampsia. *J Clin Med Res* 2014; 6: 1-7.
8. Almeida CM, Carrapato MR, Pinto F, Pinto M, Ferreira S, Schmitt D, Marinho L. Biochemical markers of neonatal myocardial dysfunction. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011; 24(4): 568-573.
9. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No. 116: Management of Intrapartum Fetal Heart Rate Tracings. *Obstet Gynecol* 2010; 116(5): 1232-1240.
10. American College of Obstetricians and Gynecologists. Weight gain during pregnancy. Committee Opinion No. 548. *Obstet Gynecol* 2013; 121: 210-212.
11. American Diabetes Association. Gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26(Suppl 1): S103-S105.
12. Anderson PA. The heart and development. *Semin Perinatol* 1996; 20(6): 482-509.
13. Anselmino KY, Joffman F: Die Ursachen des Icterus Neonatorum. *Arch Gynalkol* 1930; 143: 477.



14. Apple FS, Steffen LM, Pearce LA, Murakami MM, Luepker RV. Increased cardiac troponin I as measured by a high-sensitivity assay is associated with high odds of cardiovascular death: the Minnesota Heart Survey. *Clin Chem* 2012; 58(5): 930-935.
15. Araújo K, da Silva J, Sañudo A, Kopelman B. Plasma concentrations of cardiac troponin I in newborn infants. *Clin Chem* 2004; 50(9): 1717-1718.
16. Arias F, Romero R, Joist H, Kraus FT. Thrombophilia: A mechanism of disease in women with adverse pregnancy outcome and thrombotic lesions in the placenta. *J Matern Fetal Med* 1998; 7: 277-286.
17. Arnaud C, Joyeux M, Garrel C, Godin-Ribuot D, Demenge P, Ribuot C. Free-radical production triggered by hyperthermia contributes to heat stress-induced cardioprotection in isolated rat hearts. *Br J Pharmacol* 2002; 135(7): 1776-1782.
18. Aulinas A, Biagetti B, Vinagre I, Capel I, Gestational diabetes mellitus and maternal ethnicity: high prevalence of fetal macrosomia in non-Caucasian women Ubeda J, María MÁ, García-Patterson A, Adelantado JM, Ginovart G, Corcoy R. *Med Clin (Barc)*. 2013; 141(6): 240-245.
19. Awan S, Bibi S, Makhdoom A, Farooq S, Sm T, Qazi RA. Adverse fetomaternal outcome among pregnant overweight women. *Pak J Med Sci* 2015; 31(2): 383-387.
20. Aydin C, Baloglu A, Cetinkaya B, Yavuzcan A. Cardiac troponin levels in pregnant women with severe pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol* 2009; 29(7): 621-623.
21. Bader D, Kugelman A, Lanir A, Tamir A, Mula E, Riskin A. Cardiac troponin I serum concentrations in newborns: a study and review of the literature. *Clin Chim Acta* 2006; 371(1-2): 61-65.
22. Beer R, Doll E, Wenner J. Shift in oxygen dissociation curve of the blood of infants in the first month of life.. *Plufgers Arch* 1958; 265: 526.
23. Beer R, Bartels H, Raczkowski HA. Oxygen dissociation curve of fetal blood and gas exchange in human placenta *Pflugers Arch* 1955; 260: 306.
24. Bennet L, Westgate JA, Liu Y, Wassink G, Gunn AJ. Fetal acidosis and hypotension during repeated umbilical cord occlusions are associated with enhanced chemoreflex responses in near-term fetal shee. *Journal of Applied Physiology* 2005; 99(4): 1477-1482.
25. Blanco CE, Dawes GS, Hanson MA. The response to hypoxemia of arterial chemoreceptors in fetal sheep and newborn lambs. *J Physiol* 1984; 351: 25-37.



26. Blanco CE, Hanson MA, McCooke HB. Studies of chemoreceptor resetting after hyperoxic ventilation of the fetus in utero. *Croom Helm* 1987; 221-227.
27. Blanco CE, Dawes GS, Hanson MA. The response to hypoxia of arterial chemoreceptors in fetal sheep and newborn lambs. *J Physiol* 1984. 351: 25-37.
28. Blanco CE, Dawes GS, Hanson MA, McCooke HB. Carotid baroreceptors in fetal and newborn sheep. *Pediatr. Res* 1988; 24: 342-346.
29. Bloch CA, Ozbun MA, Khan SA. Glycogen phosphorylase: developmental expression in rat liver. *Biol Neonate* 1993; 63(2): 113-119.
30. Bloom RS, Delivery room resuscitation of the newborn: Overview and initial management. U: Fanaroff AA, Martin RJ (ur.). *Neonatal-Perinatal Medicine*, ed 8, St. Louis, Mosby, 2006: str. 483.
31. Bocking AD, White SE, Homan J, Richardson BS. Oxygen consumption is maintained in fetal sheep during prolonged hypoxaemia, *J Dev Physiol* 1992; 17: 169-174.
32. Boghossian NS, Yeung E, Mendola P, Hinkle SN, Laughon SK, Zhang C, Albert PS. Risk factors differ between recurrent and incident preeclampsia: a hospital-based cohort study. *Ann Epidemiol* 2014; 24(12): 871-877e3.
33. Braddick L, Burrage D, Noakes D, Hanson MA, Green LR: The effect of early gestation nutrient restriction on late gestation fetal cardiovascular responses to angiotensin II in sheep, *J Soc Gynecol Investig* 2005; 12(2): 88-95.
34. Brophy CM, Beall A, Mannes K, Lamb S, Dickinson M, Woodrum D, DeVoe LD. Heat shock protein expression in umbilical artery smooth muscle. *J Reprod Fertil* 1998; 114(2): 351-355.
35. Brosens JJ, Pijnenborg R, Brosens IA. The myometrial junctional zone spiral arteries in normal and abnormal pregnancies: a review of the literature. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187(5): 1416-1423.
36. Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Annu.* 1972; 1: 177-191.
37. Brace RA, Cheung CY. Fetal blood volume restoration following rapid fetal hemorrhage. *Am J Physiol* 1990; 259(2 Pt 2): H567-573.
38. Brown DD, Christine KS, Showell C, Conlon FL. Small heat shock protein Hsp 27 is required for proper heart tube formation. *Genesis* 2007; 45(11): 667-678.



39. Buchanan TA, Xiang A, Kjos SL, Watanabe R. What is gestational diabetes? *Diabetes Care*. 2007; 30 Suppl 2: S105-111.
40. Cañete P, Monllor A, Pineda A, Hernández R, Tarín JJ, Cano A. Levels of heat shock protein 27 in placentae from small for gestational age newborns. *Gynecol Obstet Invest*. 2012; 73(3): 248-51.
41. Carroll JL, Kim I. Carotid chemoreceptor “resetting” revisited. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013; 185(1): 30–43.
42. Chaemsaitong P, Madan I, Romero R, Than NG, Tarca AL, Draghici S, Bhatti G, Yeo L, Mazor M, Kim CJ, Hassan SS, Chaiworapongsa T. Characterization of the myometrial transcriptome in women with an arrest of dilatation during labor. *J Perinat Med* 2013; 41(6): 665-681.
43. Chaiworapongsa T, Erez O, Kusanovic JP, Vaisbuch E, Mazaki-Tovi S, Gotsch F, Than NG, Mittal P, Kim YM, Camacho N, Edwin S, Gomez R, Hassan SS, Romero R. Amniotic fluid heat shock protein 70 concentration in histologic chorioamnionitis, term and preterm parturition. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2008; 21(7): 449–461.
44. Chance B. Reaction of oxygen with the respiratory chain in cells and tissues. *J Gen Physiol* 1965; 49(Suppl1): 163-195.
45. Chang A, Zhang Z, Jia L, Zhang L, Gao Y, Zhang L. Alteration of heat shock protein 70 expression levels in term and preterm delivery. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2013; 26(16): 1581-1585.
46. Chen HG, Wood CE. Reflex control of fetal arterial pressure and hormonal responses to slow hemorrhage. *Am J Physiol* 1992; 262(Heart Circ. Physiol. 31): H225–H233.
47. Chen H, Wu XJ, Lu XY, Zhu L, Wang LP, Yang HT, Chen HZ, Yuan WJ. Phosphorylated heat shock protein 27 is involved in enhanced heart tolerance to ischemia in short-term type 1 diabetic rats. *Acta Pharmacol Sin* 2005; 26(7): 806-812.
48. Chessex P. Relation between heart rate and energy expenditure in the newborn. *Pediatr Res* 1981; 15: 1077-1082
49. Christians ES, Ishiwata T, Benjamin IJ. Small heat shock proteins in redox metabolism: implications for cardiovascular diseases. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44(10): 1632-1645.



50. Clark SJ, Newland P, Yoxall CW, Subhedar NV. Concentrations of cardiac troponin T in neonates with and without respiratory distress. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004; 89(4): F348-52.
51. Clark SJ, Newland P, Yoxall CW, Subhedar NV. Cardiac troponin T in cord blood. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2001; 84(1).
52. Cleary-Goldman J, Malone FD, Vidaver J, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Saade GR, Eddleman KA, Klugman S, Dugoff L, Timor-Tritsch IE, Craigo SD, Carr SR, Wolfe HM, Bianchi DW, D'Alton M; FASTER Consortium. Impact of maternal age on obstetric outcome. *Obstet Gynecol* 2005; 105(5 Pt 1): 983-990.
53. Clements RT, Sodha NR, Feng J, Mieno S, Boodhwani M, Ramlawi B, Bianchi C, Sellke FW. Phosphorylation and translocation of heat shock protein 27 and alphaB-crystallin in human myocardium after cardioplegia and cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 134(6): 1461-1470.
54. Cohn HE, Sacks EJ, Heymann MA, Rudolph AM. Cardiovascular responses to hypoxemia and acidemia in fetal lambs. *Am J Obstet Gynecol* 1974; 120: 817-824.
55. Conrad KP, Benyo DF. Placental cytokines and the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1997; 37(3): 240-249.
56. Conde-Agudelo A, Belizán JM. Risk factors for pre-eclampsia in a large cohort of Latin American and Caribbean women. *BJOG* 2000; 107(1): 75-83.
57. Coustan DR, Nelson C, Carpenter MW, Carr SR, Rotondo L, Widness JA. Maternal age and screening for gestational diabetes: a population-based study. *Obstet Gynecol* 1989; 73: 557-561.
58. Cowett RM, Role of Glucoregulatory Hormones in Hepatic Glucose Metabolism During the Perinatal Period. U: RA Polin (ur.). *Fetal and Neonatal Physiology*. New York, New York: Columbia University; 2011. str.550-559.
59. Čubranić Z, Madyar Z, Matijević S, Dvornik S, Fisić E, Tomulić V, Kunisek J, Laskarin G, Kardum I, Zaputović L. Diagnostic accuracy of heart fatty acid binding protein (H-FABP) and glycogen phosphorylase isoenzyme BB (GP-BB) in diagnosis of acute myocardial infarction in patients with acute coronary syndrome. *Biochem Med (Zagreb)* 2012; 22(2): 225-236.
60. Darnall RA. The Carotid Body and Arousal in the Fetus and Neonate. *Respir Physiol Neurobiol* 2013; 185(1): 132-143



61. Darnall RA. The role of CO₂ and central chemoreception in the control of breathing in the fetus and the neonate. *Respir Physiol Neurobiol* 2010; 173(3): 201–212.
62. David JC, Landry J, Grongnet JF. Perinatal expression of heat-shock protein 27 in brain regions and nonneural tissues of the piglet. *J Mol Neurosci* 2000; 15(2): 109-120.
63. Davies KJ, Delsignore ME, Lin SW. Protein damage and degradation by oxygen radicals. II. Modification of amino acids. *J Biol Chem* 1987; 262(20): 9902-9907.
64. Dawes GS, Jacobson HN, Mott JC. The treatment of asphyxiated, mature fetal lambs and rhesus monkeys asphyxiated at birth. *J Pediatr* 1964; 65: 807
65. Delivoria-Papadopoulos M, McGowan JE, Oxygen Transport and Delivery. U: RA Polin (ur.). *Fetal and Neonatal Physiology* Columbia University, New York, New York. 2011: str. 970-979.
66. Devi BG, Habeebullah CM, Gupta PD. Glycogen metabolism during human liver development. *Biochem Int* 1992; 28(2): 229-237.
67. Dildy GA. The relationship between oxygen saturation and pH in umbilical cord: Implications for intrapartum fetal oxygen saturation monitoring. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 682
68. Dobrić M, Giga V, Beleslin B, Ignjatovic S, Paunovic I, Stepanovic J, Djordjevic-Dikic A, Kostic J, Nedeljkovic I, Nedeljkovic M, Tesic M, Dajak M, Ostojic M. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB plasma kinetics is not related to myocardial ischemia induced by exercise stress echo test. *Clin Chem Lab Med* 2013; 51(10): 2029-2035.
69. Dohke T, Wada A, Isono T, Fujii M, Yamamoto T, Tsutamoto T, Horie M. Proteomic analysis reveals significant alternations of cardiac small heat shock protein expression in congestive heart failure. *J Card Fail* 2006; 12(1): 77-84.
70. Dornhorst A, Paterson CM, Nicholls JS, Wadsworth J, Chiu DC, Elkeles RS, Johnston DG, Beard RW. High prevalence of gestational diabetes in women from ethnic minority groups. *Diabet Med* 1992; 9: 820–825.
71. Dubińska-Magiera M, Jabłońska J, Saczko J, Kulbacka J, Jagła T, Daczewska M. Contribution of small heat shock proteins to muscle development and function. *FEBS Lett* 2014; 588(4): 517-530.
72. Dunwoodie SL. The role of hypoxia in development of the Mammalian embryo. *Dev Cell* 2009; 17(6): 755-73.



73. Ebensperger G, Ebensperger R, Herrera EA, Riquelme RA, Sanhueza EM, Lesage F, Marengo JJ, Tejo RI, Llanos AJ, Reyes RV. Fetal brain hypometabolism during prolonged hypoxaemia in the llama. *J Physiol* 2005; 567(Pt 3): 963-975.
74. Edelstone DI: Fetal compensatory responses to reduced oxygen delivery, *Semin Perinatol* 1984; 8:184.
75. Edwards LJ, Simonetta G, Owens JA, Robinson JS, McMillen IC. Restriction of placental and fetal growth in sheep alters fetal blood pressure responses to angiotensin II and captopril. *J Physiol* 1999; 515 (Pt 3): 897-904.
76. Edwards LJ, McMillen IC. Periconceptional nutrition programs development of the cardiovascular system in the fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 283(3): R669-679.
77. Ehrenkranz RA, Walker AM, Oakes GK, McLaughlin MK, Chez RA. Effect of ritodrine infusion on uterine and umbilical blood flow in pregnant sheep. *Am J Obstet Gynecol* 1976; 126: 343-349.
78. Ekambaram P. HSP 70 expression and its role in preeclamptic stress. *Indian J Biochem Biophys* 2011; 48(4): 243-255.
79. Evans N, Kluckow M. Early determinants of right and left ventricular output in ventilated preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1996; 74(2): F88-94.
80. Federico A, Tuccillo C, Terracciano F, D'Alessio C, Galdiero M, Finamore E, D'Isanto M, Peluso L, Del Vecchio Blanco C, Loguercio C. Heat shock protein 27 expression in patients with chronic liver damage. *Immunobiology* 2005; 209(10): 729-735.
81. Ferrara A. Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus: a public health perspective. *Diabetes Care* 2007; 30(Suppl 2): S141-146.
82. Fisher DJ. Oxygenation and metabolism in the developing heart. *Semin Perinatol* 1984; 8(3): 217-225.
83. Fleming SM, O'Gorman T, O'Byrne L, Grimes H, Daly KM, Morrison JJ. Cardiac troponin I and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in umbilical artery blood in relation to fetal heart rate abnormalities during labor. *Pediatr Cardiol* 2001; 22(5): 393-396.
84. Fleming SM, O'Gorman T, Finn J, Grimes H, Daly K, Morrison JJ. Cardiac troponin I in pre-eclampsia and gestational hypertension. *BJOG* 2000; 107(11): 1417-1420.



85. Fox H, Agrafojo-Blanco A. Scanning electron microscopy of the human placenta in normal and abnormal pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1974; 4: 45-50.
86. Fuqua SA, Blum-Salingaros M, McGuire WL. Induction of the estrogen-regulated "24K" protein by heat shock. *Cancer Res* 1989; 49(15): 4126-4129.
87. Gain KR, Malthus R, Watts C. Glucose homeostasis during the perinatal period in normal rats and rats with a glycogen storage disorder. *J Clin Invest* 1981; 67(5): 1569–1573.
88. Gardner DS, Fletcher AJ, Bloomfield MR, Fowden AL, Giussani DA. Effects of prevailing hypoxaemia, acidaemia or hypoglycaemia upon the cardiovascular, endocrine and metabolic responses to acute hypoxaemia in the ovine fetus. *J Physiol* 2002; 540(Pt 1):351-366.
89. Gardner DS, Fletcher AJ, Fowden AL, Giussani DA. A novel method for controlled and reversible long term compression of the umbilical cord in fetal sheep, *J Physiol* 2001; 535: 217-229.
90. Gauda EB, Carroll JL, Donnelly DF. Developmental maturation of chemosensitivity to hypoxia of peripheral arterial chemoreceptors--invited article. *Adv Exp Med Biol* 2009; 648: 243-255.
91. Gauda EB, McLemore GL, Tolosa J, Marston-Nelson J, Kwak D. Maturation of peripheral arterial chemoreceptors in relation to neonatal apnoea. *Semin Neonatol*. 2004;9(3):181-94.
92. Geiger R1, Sharma HS, Mooi WJ, Berger RM. Pulmonary vascular remodeling in congenital heart disease: enhanced expression of heat shock proteins. *Indian J Biochem Biophys* 2009; 46(6): 4482-90
93. Gennser G, Lundquist I, Nilsson E. Carbohydrate content and glycogenolytic activity in human placenta and fetal heart and lung. *Biol Neonate* 1972; 21(1): 148-160.
94. Ghosh S, Thakurta GG, Mukherjee KL. Glycogen content & structure & some enzymes of glycogen metabolism in human foetal organs. *Indian J Med Res* 1989; 90: 147-153.
95. Gilbert JS, Ryan MJ, LaMarca BB, Sedeek M, Murphy SR, Granger JP. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294(2): H541-550.
96. Gill AB, Weindling AM. Randomised controlled trial of plasma protein fraction versus dopamine in hypotensive very low birthweight infants. *Arch Dis Child* 1993; 69(3 Spec No): 284-287.



97. Giussani DA, Spencer JAD, Moore PJ. Afferent and efferent components of the cardiovascular reflex responses to acute hypoxemia in term fetal sheep. *J Physiol* 1993; 461: 431-439
98. Gong J, Savitz DA, Stein CR, Engel SM. Maternal ethnicity and pre-eclampsia in New York City, 1995-2003. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2012; 26(1): 45-52.
99. Granger JP, Alexander BT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of pregnancy-induced hypertension, *Am J Hypertens* 2001; 14: 178S–185S.
100. Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Hypertension*. 2001; 38(3 Pt 2): 718-722.
101. Green LR. Programming of endocrine mechanisms of cardiovascular control and growth. *J Soc Gynecol Investig* 2001; 8(2): 57-68.
102. Green LR, Hawkins P, McGarrigle HH, Steyn C, Noakes DE, Hanson MA. Effect of maternal nutrient restriction in early gestation on the plasma angiotensin II and arginine vasopressin responses during acute hypoxaemia in late gestation fetal sheep. *Pediatr Res* 2001; 50(1): 24A.
103. Green LR, Kawagoe Y, Homan J, White SE, Richardson BS. Adaptation of cardiovascular responses to repetitive umbilical cord occlusion in the late gestation ovine fetus. *J Physiol*. 2001; 535(Pt 3): 879-888.
104. Green JR, Pawson IG, Schumacher LB, Perry J, Kretchmer N. Glucose tolerance in pregnancy: ethnic variation and influence of body habitus. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163(1 Pt 1): 86-92.
105. Gruppuso PA, Migliori R, Susa JB, Schwartz R. Chronic maternal hyperinsulinemia and hypoglycemia. A model for experimental intrauterine growth retardation. *Biol Neonate* 1981; 40(3-4): 113-120.
106. Gunn AJ, Maxwell L, De Haan HH, Bennet L, Williams CE, Gluckman PD, Gunn TR. Delayed hypotension and subendocardial injury after repeated umbilical cord occlusion in near-term fetal lambs. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183(6): 1564-1572.
107. Gupta JM, Tizard JP. The sequence of events in neonatal apnoea. *Lancet* 1967; 2(7506): 55-59.
108. Gupta SC, Sharma A, Mishra M, Mishra RK, Chowdhuri DK. Heat shock proteins in toxicology: how close and how far? *Life Sci* 2010; 86(11-12): 377-384.



109. Guyton AC: Regulation of cardiac output, *Anesthesiology* 1971. 29:235
110. Guyton AC. Regulation of cardiac output. *Anesthesiology*. 1968; 29(2): 314-343.
111. Guzy RD, Schumacker PT. Oxygen sensing by mitochondria at complex III: the paradox of increased reactive oxygen species during hypoxia. *Exp Physiol* 2006; 91(5): 807-819.
112. Harrington K, Thompson MO, Carpenter RG. Doppler fetal circulation in pregnancies complicated by pre- eclampsia or delivery of a small for gestational age baby:2. Longitudinal analysis. *Br J Obstet Gynecol* 1999; 106: 453-366.
113. Harris AP. Fetal cerebral and peripheral circulatory responses to hypoxia after nitric oxide synthase inhibition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 281: R381-R390.
114. Hay WW Jr. Recent observations on the regulation of fetal metabolism by glucose. *J Physiol* 2006; 572(Pt 1): 17-24.
115. Hay WW Jr, DiGiacomo JE, Meznarich HK, Hirst K, Zerbe G. Effects of glucose and insulin on fetal glucose oxidation and oxygen consumption. *Am J Physiol* 1989; 256(6 Pt 1): E704-E713.
116. Hedderson MM, Gunderson EP, Ferrara A. Gestational weight gain and risk of gestational diabetes mellitus. *Obstet Gynecol* 2010; 115: 597-604.
117. Hernández-Díaz S, Toh S, Cnattingius S. Risk of pre-eclampsia in first and subsequent pregnancies: prospective cohort study. *BMJ* 2009; 338: 2255.
118. Hertzberg T, Lagercrantz H. Postnatal sensitivity of the peripheral chemoreceptors in newborn infants. *Arch Dis Child* 1987. 62:1238-1241
119. Holyman IR, Philipps AF, Battaglia FC. Glucose , lactate, and ammonia production by the human placenta in vitro. *Pediatr Res* 1979; 13(2): 117-120.
120. Hooper SB. Fetal metabolic responses to hypoxia. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7(3): 527-538.
121. Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222(3): 222-235.
122. Hulbert AJ. Membrane fatty acids as pacemakers of animal metabolism. *Lipids* 2007; 42: 811-819.



123. Hutton EK, Thorpe J. Consequences of meconium stained amniotic fluid: what does the evidence tell us? *Early Hum Dev* 2014; 90(7): 333-339.
124. Ishak M, Petocz P. Gestational diabetes among Aboriginal Australians: prevalence, time trend, and comparisons with non-Aboriginal Australians. *Ethn Dis* 2003; 13(1): 55-60.
125. Itskovitz J, LaGamma EF, Bristow J, Rudolph AM. Cardiovascular responses to hypoxemia in sinoaortic-denervated fetal sheep. *Pediatr Res* 1991; 30(4): 381-385.
126. Itskovitz J., LaGamma E. F., Rudolph A. M. Baroreflex control of the circulation in chronically instrumented fetal lambs. *Circ Res* 1983; 52: 589-596.
127. Itskovitz J, LaGamma EF, Rudolph AM. Effects of cord compression on fetal blood flow distribution and O₂ delivery. *Am J Physiol*. 1987;252(1 Pt 2):H100-9.
128. Iturriaga R, Moya EA, Del Rio R. Carotid body potentiation induced by intermittent hypoxia: implications for cardiorespiratory changes induced by sleep apnoea. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2009; 36(12): 1197-11204.
129. Iwamota HS, Rudolph AM, Mirkin BL. Circulatory and humoral responses of sympathectomized fetal sheep to hypoxemia *Am J Physiol* 1983. 245: H267- H772
130. Jaffe S, Doulaveris G, Orfanelli T, Arantes M, Damasceno D, Calderon I, Rudge MV, Witkin SS. Induction of the 72 kDa heat shock protein by glucose ingestion in black pregnant women. *Cell Stress Chaperones* 2013; 18(4): 527-530.
131. James-Todd T, Janevic T, Brown FM, Savitz DA. Race/ethnicity, educational attainment, and pregnancy complications in New York City women with pre-existing diabetes. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2014; 28(2): 157-165.
132. Jansen AH, Belik J, Ioffe S, Chernick V. Control of organ blood flow in fetal sheep during normoxia and hypoxia. *Am J Physiol* 1989; 257(4 Pt 2): H1132-H1139.
133. Jelkmann W, Hellwig-Bürgel T. Biology of erythropoietin. *Adv Exp Med Biol* 2001; 502: 169-187.
134. Jensen A, Roman C, Rudolph AM. Effects of reducing uterine blood flow on fetal blood flow distribution and oxygen delivery. *J Dev Physiol* 1991; 15(6): 309-323.
135. Jin C, Cleveland JC, Ao L, Li J, Zeng Q, Fullerton DA, Meng X. Human myocardium releases heat shock protein 27 (HSP 27) after global ischemia: the proinflammatory



- effect of extracellular HSP 27 through toll-like receptor (TLR)-2 and TLR4. *Mol Med* 2014; 20: 280-289.
136. Johansen M, Redman CW, Wilkins T, Sargent IL. Trophoblast deportation in human pregnancy--its relevance for pre-eclampsia. *Placenta* 1999; 20(7): 531-539.
137. Jones CJ, Fox H. An ultrastructural and ultrahistochemical study of the human placenta in normal in maternal essential hypertension. *Placenta* 1981; 2: 193-204
138. Jones CT, Rolph TP. Metabolism during fetal life: a functional assessment of metabolic development. *Physiol Rev* 1985; 65(2): 357-430.
139. Kaaja R, Tikkanen MJ, Viinikka L, Ylikorkala O: Serum lipoproteins, insulin, and urinary prostanoid metabolites in normal and hypertensive pregnant women, *Obstet Gynecol* 1995; 85: 353–356.
140. Kaar K, Jouppila P, Kuikka J. Intervillous blood flow in normal and complicated late pregnancy measured by means of an intravenous C133Xe method. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1980; 59: 7-10.
141. Kalhan S, Parimi P. Gluconeogenesis in the fetus and neonate. *Semin Perinatol* 2000; 24(2): 94-106.
142. Kamitomo M, Longo LD, Gilbert RD. Cardiac function in fetal sheep during two weeks of hypoxemia. *Am J Physiol* 1994; 266 (6 Pt 2): R1778-R1785.
143. Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ, Kubota H, Tanguay RM, Bruford EA, Cheetham ME, Chen B, Hightower LE. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress Chaperones* 2009; 14(1): 105-111.
144. Karin J, Hirsch M, Akselrod S. An estimate of fetal autonomic state by spectral analysis of fetal heart rate fluctuations. *Pediatr Res* 1993; 34(2): 134-138.
145. Karsdorp VH, Dirks BK, van der Linden JC. Placenta morphology and absent or reversed end diastolic flow velocities in the umbilical artery: A clinical and morphometrical study. *Placenta* 1996; 17: 393-399.
146. Khalil A, Muttukrishna S, Harrington K, Jauniaux E Effect of antihypertensive therapy with alpha methyl dopa on levels of angiogenic factors in pregnancies with hypertensive disorders. *PLoS One* 2008; 3(7):e2766.
147. Khosh NKM, Abbaszadeh AS, Larijani B. Survey on Researches on Gestational Diabetes in different parts of Iran. *Iran Diab Lipid J* 2009; 8(1): 1–10.



148. Kenny L, Doyle A, Khashan A. PP054. Elevated maternal plasma glycogen phosphorylase isoenzyme BB as time of disease biomarker of pre-eclampsia and small-for-gestational-age. *Pregnancy Hypertens* 2013; 3(2): 86.
149. Kiang JG, Tsokos GC. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacol Ther* 1998; 80(2): 183-201.
150. Kiserud T, Jauniaux E, West D, Ozturk O, Hanson MA. Circulatory responses to hypoxaemia assessed non-invasively in fetal sheep at 0.3-0.5 gestation in acute experiments. *Brit J Obstet Gynecol* 2001; 108: 359-364.
151. Kluckow M, Evans N. Superior vena cava flow in newborn infants: a novel marker of systemic blood flow. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000; 82(3): F182-F187.
152. Kluckow M, Evans N. Ductal shunting, high pulmonary blood flow, and pulmonary hemorrhage. *J Pediatr* 2000; 137(1): 68-72.
153. Knight M, Redman CW, Linton EA, Sargent IL. Shedding of syncytiotrophoblast microvilli into the maternal circulation in pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105(6): 632-640.
154. Kocylowski RD, Dubiel M, Gudmundsson S, Sieg I, Fritzer E, Alkasi O, Breborowicz GH, von Kaisenberg CS. Biochemical tissue-specific injury markers of the heart and brain in postpartum cord blood. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200(3): 273.e1-273.e25.
155. Kumar P, Bin-Jaliah I. Adequate stimuli of the carotid body: More than an oxygen sensor? *Resp Physiol Neurobiol* 2007; 157: 12-21.
156. Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999; 340: 9-13
157. Kourtis A. Diabetes and Gestational Hypertension. *Curr Hypert Rev* 2012; 8: 127-129.
158. Krause M1, Bock PM1, Takahashi HK1, Homem De Bittencourt PI Jr1, Newsholme P2. The regulatory roles of NADPH oxidase, intra- and extra-cellular HSP 70 in pancreatic islet function, dysfunction and diabetes. *Clin Sci (Lond)* 2015; 128(11): 789-803.
159. Kuhnert M. Predictive agreement between the fetal arterial oxygen saturation and fetal scalp pH: results of the German multicenter study. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 330-335.



160. Lamminpää R, Vehviläinen-Julkunen K2, Gissler M3, Selander T4, Heinonen S5. Pregnancy outcomes of overweight and obese women aged 35 years or older - A registry-based study in Finland. *Obes Res Clin Pract* 2015; S1871-403X(15)00072-1.
161. Lee AJ, Hiscock RJ, Wein P, Walker SP, Permezel M. Gestational Diabetes Mellitus: Clinical Predictors and Long-Term Risk of Developing Type 2 Diabetes: A retrospective cohort study using survival analysis. *Diabetes Care* 2007; 30(4): 878-883.
162. Lee J, Romero R, Dong Z, Lee D-C, Dong Y, Mittal P, Chaiworapongsa T, Hassan S, Kim CJ. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB plasma concentration is elevated in pregnancy and preterm preeclampsia. *Hypertension* 2012; 59(2): 274-282.
163. Li DG, Gordon CB, Stagg CA, Udelsman R. Heat shock protein expression in human placenta and umbilical cord. *Shock*. 1996; 5(5): 320-323.
164. Lin LX, Mao QH, Zhang ZL, An CX, Kang XG. Plasma levels of N-terminal pro-brain natriuretic peptide and glycogen phosphorylase isoenzyme BB in neonates with asphyxia complicated by myocardial injury. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2010; 12(4): 252-255
165. Liu H, Hou F, Liang H, Liu G, Li Y. Effects of diagnostic ultrasound on HSP 70 expression in chorionic villi in rats during early pregnancy and the role of HSP 70 in apoptosis in chorionic villi. *Int J Mol Med* 2013; 32(5): 1085-1092.
166. Liu HS, Chu TY, Yu MH, Chang YK, Ko CS, Chao CF. Thromboxane and prostacyclin in maternal and fetal circulation in pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 1998; 63(1): 1-6.
167. Liu L, Hong Z, Zhang L. Associations of prepregnancy body mass index and gestational weight gain with pregnancy outcomes in nulliparous women delivering single live babies. *Sci Rep* 2015; 5: 12863.
168. Llanos AJ, Riquelme RA, Herrera EA, Ebensperger G, Krause B, Reyes RV, Sanhueza EM, Pulgar VM, Behn C, Cabello G, Parer JT, Giussani DA, Blanco CE, Hanson MA. Evolving in thin air--lessons from the llama fetus in the altiplano. *Respir Physiol Neurobiol* 2007; 158(2-3): 298-306.
169. Longo LD, Pearce WJ: Fetal cerebrovascular acclimatization responses to high-altitude, long-term hypoxia: A model for prenatal programming of adult disease? *Am J Physiol* 2005; 288: R16.
170. Lorijn RHW, Longo LD. Clinical nad physiological implications of increased fetal oxygen consumption, *Am J Obstet Gynecol* 1980; 136(4): 451 457.



171. Lueder FL, Kim SB, Buroker CA, Bangalore SA, Ogata ES. Chronic maternal hypoxia retards fetal growth and increases glucose utilization of select fetal tissues in the rat. *Metabolism* 1995; 44(4): 532-537.
172. Lucas A. Role of nutritional programming in determining adult morbidity. *Arch Dis Child* 1994; 71(4): 288-290.
173. MacFarlane PM, Ribeiro AP, Martin RJ. Carotid chemoreceptor development and neonatal apnea. *Respir Physiol Neurobiol* 2013; 185(1): 170-176.
174. Madazli R, Yuksel MA, Imamoglu M, Tuten A, Oncul M, Aydin B, Demirayak G. Comparison of clinical and perinatal outcomes in early- and late-onset preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet* 2014; 290: 53–57.
175. Mair P, Mair J, Krause EG, Balogh D, Puschendorf B, Rabitzsch G. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB mass release after coronary artery bypass grafting. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1994; 32(7): 543-547.
176. Mair J. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB to diagnose ischaemic myocardial damage. *Clin Chim Acta* 1998; 272(1): 79-86.
177. Makkonen N, Heinonen S, Kirkinen P. Obstetric prognosis in second pregnancy after preeclampsia in first pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 2000; 19(2): 173-81.
178. Marconi AM, Paolini CL, Zerbe G, Battaglia FC. Lactacidemia in intrauterine growth restricted (IUGR) pregnancies: relationship to clinical severity, oxygenation and placental weight. *Pediatr Res* 2006; 59(4 Pt 1): 570-574.
179. Matsuda Y, Patrick J, Carmichael L, Challis J, Richardson B. Effects of sustained hypoxemia on the sheep fetus at midgestation: Endocrine, cardiovascular, and biophysical responses. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 167: 531-540
180. Maynard SJ, Menown IBA, Adgey AAJ. Troponin T or troponin I as cardiac markers in ischaemic heart disease. *Heart* 2000; 83: 371–373.
181. McAuliffe F, Mears K, Fleming S, Grimes H, Morrison JJ. Fetal cardiac troponin I in relation to intrapartum events and umbilical artery pH. *Am J Perinatol* 2004; 21(3): 147-152
182. McCann CJ, Glover BM, Menown IB, Moore MJ, McEneny J, Owens CG, Smith B, Sharpe PC, Young IS, Adgey JA. Novel biomarkers in early diagnosis of acute myocardial infarction compared with cardiac troponin T. *Eur Heart J* 2008; 29(23): 2843-2850.



183. McCarthy F, Doyle A, Khashan A, Kenny L. Assessment of glycogen phosphorylase isoenzyme BB as a biomarker for pre-eclampsia and small for gestational age. *Lancet* 2015; 385 Suppl 1: S67.
184. McMahon MJ, Ananth CV, Liston RM. Gestational diabetes mellitus. Risk factors, obstetric complications and infant outcomes. *J Reprod Med* 1998; 43(4): 372-378
185. Meier PR. Fetal heart rate in relation to body mass. *Proc Soc Exp Biol Med* 1983; 172: 107-110.
186. Menon R, Gerber S, Fortunato SJ, Witkin SS. Lipopolysaccharide stimulation of 70 kilo Dalton heat shock protein messenger ribonucleic acid production in cultured human fetal membranes. *J Perinat Med*. 2001; 29(2):133-6.
187. Metzger BE, Buchanan TA, Coustan DR, de Leiva A, Dunger DB, Hadden DR, Hod M. Summary and recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2007; 30:S251–S260.
188. Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, Coustan DR, et al.; HAPO Study Cooperative Research Group. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 2008; 358: 1991-2002.
189. Mielke G, Benda N. Cardiac output and central distribution of blood flow in the human fetus. *Circulation* 2001; 103(12): 1662-1668.
190. Milner AD, Resuscitation of the newborn. In Rennie JM (ur.). *Textbook of Neonatology*, ed 4, Churchill Livingstone, 2005: str. 219.
191. Minoura S, Gilbert RD. Postnatal change of cardiac function in lambs: effects of ganglionic block and afterload. *J Dev Physiol* 1987; 9(2): 123-135.
192. Mohammed A. Al-Otaiby, Hussein S. Al-Amri, Abdulrahman M. Al-Moghairi. The clinical significance of cardiac troponins in medical practice. *J Saudi Heart Assoc* 2011; 23(1): 3–11.
193. Molvarec A, Tamási L, Losonczy G, Madách K, Prohászka Z, Rigó J Jr. Circulating heat shock protein 70 (HSPA1A) in normal and pathological pregnancies. *Cell Stress Chaperones*. 2010; 15(3): 237-247.
194. Molvarec A, Derzsy Z, Kocsis J, Boze T, Nagy B, Balogh K, Makó V, Cervenak L, Mézes M, Karádi I, Prohászka Z, Rigó J Jr. Circulating anti-heat-shock-protein antibodies in normal pregnancy and preeclampsia. *Cell Stress Chaperones* 2009; 14: 491–498.



195. Mokarami P, Wiberg N, Olofsson P. Hidden acidosis: an explanation of acid-base and lactate changes occurring in umbilical cord blood after delayed sampling. *BJOG* 2013; 120(8): 996-1002.
196. Moradi S, Shafieepour MR, Mortazavi M, Pishgar F. Prevalence of gestational diabetes mellitus in Rafsanjan: a comparison of different criteria. *Med J Islam Repub Iran*. 2015; 29: 209. eCollection 2015.
197. Moraga F, Monge C, Riquelme R, Llanos AJ. Fetal and maternal blood oxygen affinity: a comparative study in llamas and sheep. *Comp Biochem Physiol A Physiol* 1996; 115(2): 111-115.
198. Moss M, Moreau G, Lister G. Oxygen transport and metabolism in the conscious lamb: the effects of hypoxia. *Pediatr Res* 1987. 22: 177-183
199. Mert MK, Satar M, Özbarlas N, Yaman A, Özgünen FT, Asker HS, Çekinmez EK, Tetiker T. Troponin T and NT ProBNP Levels in Gestational, Type 1 and Type 2 Diabetic Mothers and Macrosomic Infants. *Pediatr Cardiol* 2016; 37(1):76-83
200. Metzger BE, Buchanan TA, Coustan DR, de Leiva A, Dunger DB, Hadden DR, Hod M. Summary and recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2007; 30:S251–S260.
201. Mohammadpour AH, Nazemian F, Moallem SA, Alamdaran SA, Asad-Abadi E, Shamsara J. Correlation between heat-shock protein 27 serum concentration and common carotid intima-media thickness in hemodialysis patients. *Iran J Kidney Dis* 2011; 5(4): 260-266.
202. Nanduri R. Prabhakar, Ganesh K. Kumar. Mechanisms of Sympathetic Activation and Blood Pressure Elevation by Intermittent Hypoxia. *Respir Physiol Neurobiol* 2010; 174(1-2): 156–161.
203. Narin N, Cetin N, Kiliç H, Başbuğ M, Narin F, Kafali M, Uzüm K, Genç E, Ustünbaş HB. Diagnostic value of troponin T in neonates of mild pre-eclamptic mothers. *Biol Neonate* 1999; 75(2): 137-142.
204. Neirmeyer S, Yang P, Shanmina D, Zhuang J, Moore LG. Arterial oxygen saturation and Tibetan and Han infants born in Lhasa, Tibet. *N Engl J Med* 1995; 333:1248-1252.
205. Nelson NM, Prod'hom LS, Cherry RB, Lipsitz PJ, Smith CA: Pulmonary function in the newborn infant: the alveolar- arterial oxygen gradient. *J Appl Physiol* 1963; 18: 534



206. Nijland R. The relationship between oxygen saturation and pH in umbilical cord: Implications for intrapartum fetal oxygen saturation monitoring. *Am J Gynecol* 1996; 175: 682
207. Nomura RM, Cabar FR, Costa VN, Miyadahira S, Zugaib M. Cardiac troponin T as a biochemical marker of cardiac dysfunction and ductus venosus Doppler velocimetry. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009; 47(1): 33-36.
208. Nordström L, Malcus P, Chua S, Shimojo N, Arulkumaran S. Lactate and acid-base balance at delivery in relation to cardiotocography and T/QRS ratios in the second stage of labour. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 76(2): 157-160.
209. Noori S, Seri I. Pathophysiology of newborn hypotension outside the transitional period. *Early Hum Dev* 2005; 81(5): 399-404.
210. Noori S, Friedlich PS, Istvan Seri I. (2011). Pathophysiology of Shock in the Fetus and Neonate. U: R.A. Polin. *Fetal and Neonatal Physiology* Columbia University, New York, New York. str. 853-863.
211. Oliver TK Jr, Demis JA, Bates GD: Serial blood gas tensions and acid- base balance during the first hour of life in human infants 1961. *Acta Paediatr* 1961; 50: 346-360
212. Onuegbu AJ, Olisekodiaka JM, Udo JU, Umeonihu O, Amah UK, Okwara JE, Atuegbu C. Evaluation of high-sensitivity C-reactive protein and serum lipid profile in southeastern nigerian women with pre-eclampsia. *Med Princ Pract* 2015; 24(3): 276-279.
213. Osorio-Caballero M, Perdigón-Palacio C, García-López G, Flores-Herrera O, Olvera-Sánchez S, Morales-Méndez I, Sosa-González I, Acevedo JF6, Guzmán-Grenfell AM, Molina-Hernández A, Díaz NF, Flores-Herrera H. Escherichia coli-induced temporal and differential secretion of heat-shock protein 70 and interleukin-1 β by human fetal membranes in a two-compartment culture system. *Placenta* 2015; 36(3): 262-269.
214. Osborn D, Evans N, Kluckow M. Randomized trial of dobutamine versus dopamine in preterm infants with low systemic blood flow. *J Pediatr*. 2002; 140(2): 183-191.
215. O'sullivan JB. Gestational diabetes. Unsuspected, asymptomatic diabetes in pregnancy. *N Engl J Med* 1961; 264: 1082-1085.
216. Padayachee C, Coombes JS. Exercise guidelines for gestational diabetes mellitus. *World J Diabetes* 2015; 6(8): 1033-1044.



217. Paré E, Parry S, McElrath TF, Pucci D, Newton A, Lim KH. Clinical risk factors for preeclampsia in the 21st century. *Obstet Gynecol* 2014; 124(4): 763-770.
218. Parimi PS, Croniger CM, Leahy P, Hanson RW, Kalhan SC. Effect of reduced maternal inspired oxygen on hepatic glucose metabolism in the rat fetus. *Pediatr Res* 2003; 53(2): 325-332.
219. Park MR, Park JY, Kwon DN, Cho SG, Park C, Seo HG, Ko YG, Gurunathan S, Kim JH. Altered protein profiles in human umbilical cords with preterm and full-term delivery. *Electrophoresis* 2013; 34(4): 493-500.
220. Patterson AJ, Chen M, Xue Q, Xiao D, Zhang L. Chronic prenatal hypoxia induces epigenetic programming of PKC{epsilon} gene repression in rat hearts. *Circ Res* 2010; 107(3): 365-373.
221. Paulick R. Metabolic, cardiovascular and sympathoadrenal reactions of the fetus to progressive hypoxia: animal experiment studies. *Y Geburtshilfe Perinatol* 1987; 191: 130
222. Pena JP, Tomimatsu T, Hatran DP, McGill LL, Longo LD. Cerebral blood flow and oxygenation in ovine fetus: responses to superimposed hypoxia at both low and high altitude. *J Physiol* 2007; 578(Pt 1): 359-370.
223. Philipps AF, Porte PJ, Stabinsky S, Rosenkrantz TS, Raye JR. Effects of chronic fetal hyperglycemia upon oxygen consumption in the ovine uterus and conceptus. *J Clin Invest* 1984; 74(1): 279-286.
224. Philipps AF, Dubin JW, Matty PJ, Raye JR. Influence of exogenous glucagon on fetal glucose metabolism and ketone production. *Pediatr Res* 1983; 17(1): 51-56.
225. Philipps AF, Oxygen Consumption and General Carbohydrate Metabolism of the Fetus. U: Polin R. *Fetal and Neonatal Physiology*, Columbia University Medical Center, New York, New York, 2011: str. 535-549.
226. Philipson EH, Kalhan SC, Riha MM, Pimentel R. Effects of maternal glucose infusion on fetal acid-base status in human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157(4 Pt 1): 866-873.
227. Piquard F, Schaefer A, Dellenbach P, Haberey P. Is fetal acidosis in the human fetus maternogenic during labor? A reanalysis. *Am J Physiol* 1991; 261(5 Pt 2): R1294-R1299.



228. Poloni A, Maurizi G, Ciarlantini M, Medici M, Mattiucci D, Mancini S, Maurizi A, Falconi M, Olivieri A, Leoni P. Interaction between human mature adipocytes and lymphocytes induces T-cell proliferation. *Cytotherapy* 2015; 17(9): 1292-1301.
229. Poston L. Leptin and preeclampsia. *Semin Reprod Med* 2002; 20(2): 131-138.
230. Prabhakar NR, Dick TE, Nanduri J, Kumar GK. Systemic, cellular and molecular analysis of chemoreflex-mediated sympathoexcitation by chronic intermittent hypoxia. *Exp Physiol* 2007; 92(1): 39-44.
231. Prabhakar NR, Peng Y, Kumar GK, Pawar A. Altered carotid body function by intermittent hypoxia in neonates and adults: Relevance to recurrent apneas 2007; 157(1): 148-153
232. Prévaille X, Salvemini F, Giraud S, Chaufour S, Paul C, Stepien G, Ursini MV, Arrigo AP. Mammalian small stress proteins protect against oxidative stress through their ability to increase glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and by maintaining optimal cellular detoxifying machinery. *Exp Cell Res* 1999; 247(1): 61-78.
233. Purandhar K, Jena PK, Prajapati B, Rajput P, Seshadri S. Understanding the role of heat shock protein isoforms in male fertility, aging and apoptosis. *World J Mens Health* 2014; 32(3): 123-132.
234. Purde MT, Baumann M, Wiedemann U, Nydegger U, Risch L, Surbek D, Risch M. Incidence of preeclampsia in pregnant Swiss women. *Swiss Med Wkly* 2015; 145: w14175.
235. Rabitzsch G, Mair J, Lechleitner P, Noll F, Hofmann U, Krause EG, Dienstl F, Puschendorf B. Immunoenzymometric assay of human glycogen phosphorylase isoenzyme BB in diagnosis of ischemic myocardial injury. *Clin Chem* 1995; 41(7): 966-978.
236. Rasanen J, Wood DC, Weiner S, Ludomirski A, Huhta JC. Role of the pulmonary circulation in the distribution of human fetal cardiac output during the second half of pregnancy. *Circulation* 1996; 94(5): 1068-1073.
237. Ramaekers VT, Daniels H, Casaer P. Brain oxygen transport related to levels of fetal haemoglobin in stable preterm infants. *J Dev Physiol* 1992; 17(5): 209-213.
238. Reddy VS, Kumar CU, Raghu G, Reddy GB. Expression and induction of small heat shock proteins in rat heart under chronic hyperglycemic conditions. *Arch Biochem Biophys* 2014; 558: 1-9.
239. Redman C. The six stages of pre-eclampsia. *Pregnancy Hypertens* 2014; 4(3): 246.



240. Redman CW, Sargent IL. Placental stress and pre-eclampsia: a revised view. *Placenta*. 2009; 30 Suppl A: S38-S42.
241. Reichelt ME, Mellor KM, Curl CL, Stapleton D, Delbridge LMD. Myocardial glycophagy - A specific glycogen handling response to metabolic stress is accentuated in the female heart. *J Mol Cell Cardiol* 2013; 65: 67-75.
242. Richardson BS, Bocking AD. Metabolic and circulatory adaptations to chronic hypoxia in the fetus. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 1998; 119(3):717-723.
243. Resch BE, Ducza E, Gáspár R, Falkay G. Role of adrenergic receptor subtypes in the control of human placental blood vessels. *Mol Reprod Dev* 2003; 66(2): 166-171.
244. Reuss ML, Rudolph AM: Distribution and recirculation of umbilical and systemic venous blood flow in fetal lambs during hypoxia, *J Dev Physiol* 1980; 2: 71-84.
245. Richardson B, Nodwell A, Webster K, Alshimmiri M, Gagnon R, Natale R. Fetal oxygen saturation and fractional extraction at birth and relationship to measures of acidosis *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 572-579.
246. Paoletti R, Bolego C, Poli A, Cignarella A. Metabolic Syndrome, Inflammation and Atherosclerosis. *Vasc Health Risk Manag* 2006; 2(2): 145–152.
247. Rothstein RW, Longo LD. Respiration in the fetal- placental unit. U: Cowett RM. *Principals of perinatal- neonatal metabolism*, New York: Springer- Verlag; 1998. str. 451.
248. Rozance PJ, Limesand SW, Barry JS, Brown LD, Thorn SR, LoTurco D, Regnault TR, Friedman JE, Hay WW Jr. Chronic late-gestation hypoglycemia upregulates hepatic PEPCK associated with increased PGC1alpha mRNA and phosphorylated CREB in fetal sheep. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 294(2): E365-E370.
249. Rudolph AM. Hypoxia: historical and unresolved issues. U: Haddad GG, Lister G, (ur). *Tissue oxygen deprivation: From molecular to integrated function*. New York: Marcel Dekker; 1996. str. 5-11.
250. Russell NE, Higgins MF, Amaruso M, Foley M, McAuliffe FM. Troponin T and pro-B-type natriuretic Peptide in fetuses of type 1 diabetic mothers. *Diabetes Care* 2009; 32(11): 2050-2055.
251. Ryan EA, O'Sullivan MJ, Skyler JS. Insulin action during pregnancy. Studies with the euglycemic clamp technique. *Diabetes* 1985; 34(4): 380-389.



252. Sacks G, Sargent I, Redman C. An innate view of human pregnancy. *Immunol Today* 1999; 20: 114–118.
253. Saito FH, Damasceno DC, Dallaqua B, Linhares IM, Rudge MV, De Mattos Paranhos Calderon I, Witkin SS. Heat shock protein production and immunity and altered fetal development in diabetic pregnant rats. *Cell Stress Chaperones* 2012; 18(1): 25–33.
254. Sasse S, Brand NJ, Kyprianou P, Dhoot GK, Wade R, Arai M, Periasamy M, Yacoub MH, Barton PJ. Troponin I gene expression during human cardiac development and in end-stage heart failure. *Circ Res* 1993; 72(5): 932-938.
255. Sattar N, Greer IA. Pregnancy complications and maternal cardiovascular risk: opportunities for intervention and screening? *BMJ* 2002; 325(7356): 157-160.
256. Scheler C, Müller EC, Stahl J, Müller-Werdan U, Salnikow J, Jungblut P. Identification and characterization of heat shock protein 27 protein species in human myocardial two-dimensional electrophoresis patterns. *Electrophoresis*. 1997; 18(15): 2823-2831.
257. Schimke I, Lutsch G, Schernes U, Kruse I, Dübel HP, Pregla R, Hummel M, Meyer R, Stahl J. Increased level of HSP 27 but not of HSP72 in human heart allografts in relation to acute rejection. *Transplantation* 2000; 70(12): 1694-1697.
258. Schrufer JJ, Heller CJ, Battaglia FC, Hellegers AE . Independence of whole blood and haemoglobin solution oxygen dissociation curves from haemoglobin type. *Nature* 1962; 196: 550-553.
259. Seemampillai B, Germack R, Felkin LE, McCormack A, Rose ML. Heat shock protein-27 delays acute rejection after cardiac transplantation: an experimental model. *Transplantation* 2014; 98(1):2 9-38.
260. Shama KM, Suzuki A, Harada K, Fujitani N, Kimura H, Ohno S, Yoshida K. Transient up-regulation of myotonic dystrophy protein kinase-binding protein, MKBP, and HSP 27 in the neonatal myocardium. *Cell Struct Funct* 1999; 24(1): 1-4.
261. Shelley HJ. Glycogen reserves and their changes at birth and in anoxia. *Brit Med Bull* 1961; 17: 137-143.
262. Shiva R, Maryam R, Hajie B. Cardiac troponin T levels of umbilical cord in neonates with abnormal fetal heart rate. *Iran J Pediatr* 2013; 23(1): 85-88.



263. Sidi D, Kuipers JR, Teitel D, Heymann MA, Rudolph AM. Developmental changes in oxygenation and circulatory responses to hypoxemia in lambs. *Am J Physiol* 1983; 245(4): H674-H682.
264. Silverstein MG, Ordanes D, Wylie AT, Files DC, Milligan C, Presley TD, Kavanagh K. Inducing Muscle Heat Shock Protein 70 Improves Insulin Sensitivity and Muscular Performance in Aged Mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2015; 70(7): 800-808.
265. Simar D, Jacques A, Caillaud C. Heat shock proteins induction reduces stress kinases activation, potentially improving insulin signalling in monocytes from obese subjects. *Cell Stress Chaperones* 2012; 17(5): 615-621.
266. Simonson SG, Welty-Wolf K, Huang YT, Griebel JA, Caplan MS, Fracica PJ, Piantadosi CA. Altered mitochondrial redox responses in gram negative septic shock in primates. *Circ Shock* 1994; 43(1): 34-43.
267. Simmons RA, Cell Glucose Transport and Glucose Handling During Fetal and Neonatal Development. U: RA Polin (ur). *Fetal and Neonatal Physiology*. New York: Columbia University; 2011. str. 560-568.
268. Siński M, Lewandowski J, Przybylski J, Bidiuk J, Abramczyk P, Ciarka A, Gaciong Z. Tonic activity of carotid body chemoreceptors contributes to the increased sympathetic drive in essential hypertension. *Hypertens Res*. 2012; 35(5): 487-491.
269. Singh R, Kolvraa S, Rattan SI. Genetics of human longevity with emphasis on the relevance of HSP 70 as candidate genes. *Front Biosci* 2007; 12: 4504-4513.
270. Snarr BS, Wessels A, McQuinn TC, Cardiovascular Development. U: RA. Polin (ur.). *Fetal and Neonatal Physiology*. New York: Columbia University; 2011. str. 696-704.
271. Somprasit C, Tanprasertkul C, Rattanasiri T, Saksiriwutth P, Wongkum J, Kovavisarach E, Jongfueangparinya K, Panichakul P, Wuthiwong J. High pre-pregnancy body mass index and the risk of poor obstetrics outcomes among Asian women using BMI criteria for Asians by world health organization Western Pacific Region (WPRO): a large cohort study. *J Med Assoc Thai* 2015; 98(Suppl 2): S101-S107.
272. Spragg RG. DNA strand break formation following exposure of bovine pulmonary artery and aortic endothelial cells to reactive oxygen products. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991; 4(1): 4-10.
273. Stein JC, Ellsworth ML. Capillary oxygen transport during severe hypoxia: role of hemoglobin oxygen affinity. *J Appl Physiol* (1985) 1993; 75(4): 1601-1607.



274. Stéphan-Blanchard E, Bach V, Telliez F, Chardon K. Perinatal nicotine/smoking exposure and carotid chemoreceptors during development. *Respir Physiol Neurobiol* 2013; 185(1): 110-119.
275. Sterni LM, Bamford OS, Tomares SM. Developmental changes in intracellular Ca²⁺ response of carotid chemoreceptor cells to hypoxia. *Am J Physiol* 1995; 268: L801-L808.
276. Stratford LL, Hooper SB. Effect of hypoxemia on tissue glycogen content and glycolytic enzyme activities in fetal sheep. *Am J Physiol* 1997; 272(1 Pt 2): R103-R110.
277. Sulistyowati S. The role of oxidative stress in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Pregnancy Hypertens* 2014; 4(3): 244.
278. Taebi M, Sadat Z, Saberi F, Kalahroudi MA. Early pregnancy waist-to-hip ratio and risk of preeclampsia: a prospective cohort study. *Hypertens Res* 2015; 38(1): 80-83.
279. Tavallaie S, Rahsepar AA, Abdi H, Moohebaty M, Moodi F, Pourghadamyari H, Esmaily H, Khorashadizadeh F, Ghayour-Mobarhan M, Ferns GA. Association between indices of body mass and antibody titers to heat-shock protein-27 in healthy subjects. *Clin Biochem* 2012; 45(1-2): 144-147.
280. Thakor AS, Giussani DA. Effects of acute acidemia on the fetal cardiovascular defense to acute hypoxemia. *Am J Physiol - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2009; 296(1): R90-R99.
281. Thorling EB, Erslev AJ. The "tissue" tension of oxygen and its relation to hematocrit and erythropoiesis. *Blood* 1968; 31(3): 332-343.
282. Towell ME, Figueroa J, Markowitz S, Elias B, Nathanielsz P. The effect of mild hypoxemia maintained for twenty-four hours on maternal and fetal glucose, lactate, cortisol, and arginine vasopressin in pregnant sheep at 122 to 139 days' gestation. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157(6): 1550-1557.
283. Tracey WR, Treadway JL, Magee WP, Sutt JC, McPherson RK, Levy CB, Wilder DE, Yu LJ, Chen Y, Shanker RM, Mutchler AK, Smith AH, Flynn DM, Knight DR. Cardioprotective effects of ingliforib, a novel glycogen phosphorylase inhibitor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286(3): H1177-H11784.



284. Trevisanuto D, Pitton M, Altinier S, Zaninotto M, Plebani M, Zanardo V. Cardiac troponin I, cardiac troponin T and creatine kinase MB concentrations in umbilical cord blood of healthy term neonates. *Acta Paediatr* 2003; 92(12): 1463-1467.
285. Trevisanuto D, Doglioni N, Altinier S, Zaninotto M, Plebani M, Zanardo V. Cardiac troponin I at birth is of fetal-neonatal origin. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2009; 94(6): F464-F466.
286. Troisi R, Braekke K, Harsem NK, Hyer M, Hoover RN, Staff AC. Blood pressure augmentation and maternal circulating concentrations of angiogenic factors at delivery in preeclamptic and uncomplicated pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 199(6): 653.e1-10.
287. Türker G, Babaoğlu K, Duman C, Gökalp A, Zengin E, Arisoy AE. The effect of blood gas and Apgar score on cord blood cardiac troponin I. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2004; 16(5): 315-319.
288. Urquia ML, Glazier RH, Gagnon AJ, Mortensen LH, Nybo Andersen AM, Janevic T, Guendelman S, Thornton D, Bolumar F, Río Sánchez I, Small R, Davey MA, Hjern A; ROAM Collaboration. Disparities in pre-eclampsia and eclampsia among immigrant women giving birth in six industrialised countries. *BJOG* 2014; 121(12): 1492-1500.
289. Uzodimma CC1, Okoromah CA, Ekure E, Ezeaka CV, Njokanma FO. Serum cardiac troponin T in asphyxiated term neonates delivered at two teaching hospitals in lagos, Nigeria. *World J Pediatr Congenit Heart Surg.* 2012;3(3):330-6.
290. van Roon JA, van Roy JL, Duits A, Lafeber FP, Bijlsma JW. Proinflammatory cytokine production and cartilage damage due to rheumatoid synovial T helper-1 activation is inhibited by interleukin-4. *Ann Rheum Dis.* 1995; 54(10):836-40.
291. Vander Heide RS. Increased expression of HSP 27 protects canine myocytes from simulated ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282(3): H935-H941.
292. Vapaavouri EK, Shinebourne EA, Williams RL, Heymann MA, Rudolph AM. Development of cardiovascular responses to autonomic blockade in intact fetal and neonatal lambs. *Biol Neonate* 1973;22(3):.177-188.
293. Venkatakrishnan CD, Tewari AK, Moldovan L, Cardounel AJ, Zweier JL, Periannan Kuppusamy, Ilangovan G. Heat shock protects cardiac cells from doxorubicin-induced toxicity by activating p38 MAPK and phosphorylation of small heat shock protein 27. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H2680–H2691.



294. Vicencio AG, Eickelberg O, Stankewich MC, Kashgarian M, Haddad GG. Regulation of TGF-beta ligand and receptor expression in neonatal rat lungs exposed to chronic hypoxia. *J Appl Physiol* (1985) 2002; 93(3): 1123-1130.
295. Vigoda A, Mamedova LK, Shneyvays V, Katz A, Shainberg A. Glycogen metabolism in rat heart muscle cultures after hypoxia. *Mol Cell Biochem* 2003; 254(1-2): 311-318.
296. Vittorini S, Storti S, Andreani G, Giusti L, Murzi B, Furfori P, Baroni A, De Lucia V, Luisi VS, Clerico A. Heat shock protein 70-1 gene expression in pediatric heart surgery using blood cardioplegia. *ClinChem Lab Med* 2007; 45(2): 244-248.
297. Waddingham MT, Edgley AJ, Tsuchimochi H, Kelly DJ, Shirai M, Pearson JT. Contractile apparatus dysfunction early in the pathophysiology of diabetic cardiomyopathy. *World J Diabetes* 2015; 6(7): 943-960.
298. Wang H, Fang Y, Bao Z, Jin X, Zhu W Wang L1, Liu T, Ji H, Wang H, Xu S, Sima Y. Identification of a *Bombyx mori* gene encoding small heat shock protein BmHsp 27.4 expressed in response to high-temperature stress. *Gene* 2014; 538(1): 56-62.
299. Wasicko MJ, Breitweiser GE, Kim I. Postnatal development of carotid body glomus cell response to hypoxia. *Resp Physiol Neurobiol* 2006; 154: 356- 371.
300. Walther FJ, Siassi B, Ramadan NA, Ananda AK, Wu PY. Pulsed Doppler determinations of cardiac output in neonates: normal standards for clinical use. *Pediatrics* 1985; 76(5):829-833.
301. Wettstein G, Bellaye PS, Micheau O, Bonniaud P. Small heat shock proteins and the cytoskeleton: an essential interplay for cell integrity? *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44(10): 1680-1686.
302. White MY, Hambly BD, Jeremy RW, Cordwell SJ. Ischemia-specific phosphorylation and myofilament translocation of heat shock protein 27 precedes alpha B-crystallin and occurs independently of reactive oxygen species in rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 2006; 40(6): 761-774.
303. Winterbourn CC, van den Berg JJ, Roitman E, Kuypers FA. Chlorohydrin formation from unsaturated fatty acids reacted with hypochlorous acid. *Arch Biochem Biophys* 1992; 296(2): 547-555.
304. Wolf M, Sandler L, Muñoz K, Hsu K, Ecker JL, Thadhani R. First trimester insulin resistance and subsequent preeclampsia: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(4): 1563-1568.



305. Wood CE. Baroreflex and chemoreflex control of fetal hormone secretion. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7: 479–489.
306. Wood CE, Chen HG, Bell ME. Role of vagosympathetic fibers in the control of adrenocorticotrophic hormone, vasopressin, and renin responses to hemorrhage in fetal sheep. *Circ Res* 1989; 64: 515–523.
307. World Health Organization (WHO): *Basic Newborn Resuscitation: A Practical Guide*, Geneva, 1998, World Health Organization.
308. Xiao J, Shen F, Xue Q, Chen G, Zeng K, Stone P, Zhao M, Chen Q. Is ethnicity a risk factor for developing preeclampsia? An analysis of the prevalence of preeclampsia in China. *J Hum Hypertens* 2014; 28(11): 694-698.
309. Xing B, Wang L, Li Q, Cao Y, Dong X, Liang J, Wu X. Hsp 70 plays an important role in high-fat diet induced gestational hyperglycemia in mice. *J Physiol Biochem* 2015; 71(4): 649-658.
310. Xiong X, Saunders LD, Wang FL, Demianczuk NN. Gestational diabetes mellitus: prevalence, risk factors, maternal and infant outcomes. *Int J Gynaecol Obstet* 2001; 75(3): 221-228.
311. Yang X, Hsu-Hage B, Zhang H, Yu L, Dong L, Li J, Shao P, Zhang C. Gestational diabetes mellitus in women of single gravidity in Tianjin City, China. *Diabetes Care* 2002; 25: 847–851.
312. Zhang Y, Kobayashi K, Kitazawa K, Imai K, Kobayashi M. Contribution of cooperativity and the Bohr effect to efficient oxygen transport by hemoglobin from five mammalian species. *Zool Sci* 2006; 23(1): 49-55.
313. Zhang B, Zheng J, Peng Y, Liu X, Hoffmann AA, Ma CS. Stress Responses of Small Heat Shock Protein Genes in Lepidoptera Point to Limited Conservation of Function across Phylogeny. *PLoS One* 2015; 10(7): e0132700.
314. Zhou Y, Genbacev O, Damsky CH, Fisher SJ. Oxygen regulates hman cytotrophoblast differentiation and invasion: Implications for endovascular invasion in normal pregnancy and in pre-eclampsia. *J Reprod Immunol* 1998; 39: 197-213
315. Zhou D, Haddad GG, Basic Mechanisms of Oxygen Sensing and Response to Hypoxia. U: RA. Polin (ur.). *Fetal and Neonatal Physiology*. New York: Columbia University; 2011. str. 992-998.



316. Zhu J, Li M, Li L. Expression and significance of heat shock protein 70 in maternal serum, umbilical cord blood and placenta of patients with hypertensive disorders complicating pregnancy. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2014; 49(9): 676-680.

8. BIOGRAFIJA AUTORA



Dr Ana Mrkaić je rođena u Nišu 1979. godine, gde je završila svoje osnovno i srednje obrazovanje. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Nišu 2006. godine. Na Katedri za pedijatriju, ocenom 10 i prosečnom ocenom 9, 65. Za vreme studija ja radila kao demonstrator na Katedri za fiziologiju i učestvovala je na brojim studentskim kongresima. Godine 2008. upisuje Doktorske akademske studije na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Nišu, studijski program Molekularna medicina.

Godine 2011. se seli u New York i počinje da radi kao istraživač na Odeljenju za ginekologiju i akušerstvo, Mount Sinai West Hospital, New York, New York. 2015. godine počinje specijalizaciju interne medicine. Autor je mnogih naučnih radova i abstrakata. Trenutno živi i radi u Las Vegasu.

9. IZJAVE AUTORA



9.1. Izjava o autorstvu

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

ОДНОС ХИТ ШОК ПРОТЕИНА И МАРКЕРА ИНФЛАМАЦИЈЕ МИОКАРДА КОД НЕОНАТУСА

која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, ни у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Лас Вегасу, Невада, 6.4.2017

Потпис аутора дисертације:

Ana Mrkaić
Др Ана Мркајић



9.2. Izjava o istovetnosti štampanog i elektronskog oblika disertacije

ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНОГ И ЕЛЕКТРОНСКОГ ОБЛИКА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наслов дисертације:

**ОДНОС ХИТ ШОК ПРОТЕИНА И МАРКЕРА ИНФЛАМАЦИЈЕ МИОКАРДА КОД
НЕОНАТУСА**

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, истовестан штампаном облику.

У Лас Вегасу, Невада 6.4.2017.

Потпис аутора дисертације:

Ana Mrkaić

Др Ана Мркић



9.3. Izjava o korišćenju u biblioteci

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Новом Саду унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

ОДНОС ХИТ ШОК ПРОТЕИНА И МАРКЕРА ИНФЛАМАЦИЈЕ МИОКАРДА КОД НЕОНАТУСА

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

Моју докторску дисертацију, унесу у Дигитални репозиторијум Универзитета у Новом Саду, могу користити сви који поштују одредбе садржане у олабраћеном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

У Лас Вегасу, Невада 6. А. 2017.

Потпис аутора дисертације:


Др Ана Мркајић