# Izraženost vaskularnog endotelnog čimbenika rasta u normalnim posteljicama i posteljicama iz trudnoća sa zastojem u rastu

**Predovan, Marina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2015**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:742210

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

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




*Repository / Repozitorij:*

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository








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

**Marina Predovan**

# Izraženost vaskularnog endotelnog čimbenika rasta u normalnim posteljicama i posteljicama iz trudnoća sa zastojem u rastu

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2015.**

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

**Marina Predovan**

# Izraženost vaskularnog endotelnog čimbenika rasta u normalnim posteljicama i posteljicama iz trudnoća sa zastojem u rastu

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za fiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Aide Salihagić Kadić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2014./2015.

Mentor rada: prof. dr.sc. Aida Salihagić Kadić, dr.med.

Marina Predovan

**Sadržaj**

Popis kratica……4
1. Sažetak……6
2. Summary……..7
3. Uvod……8
3.1. Uloga posteljice……8
3.1.1. Izmjena tvari i plinova……...8
3.1.2. Respiracijska uloga……8
3.1.2.1. Reakcija fetusa na promjene oksigencije……9
3.1.3. Metabolička i endokrina funkcija……10
4. Razvoj posteljice……...11
4.1. Implantacija……11
4.2. Korionske resice……11
4.3. Razvoj uteroplacentnih krvnih žila……12
4.4. Placentne resice……..13
4.5. Razvoj krvnih žila posteljice……..13
4.5.1. Vaskulogeneza……13
4.5.2. Angiogeneza……14
4.5.2.1. Granajuća angiogeneza……14
4.5.2.2. Negranajuća angiogeneza……15
5. Vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF)……...16
5.1. Regulacija ekspresije VEGF-a……...17
5.1.1. Hipoksija……...…17
5.1.2. Čimbenici rasta i citokini……18
6. Intauterini zastoj u rastu (IUZR)……...…19
6.1. Etiologija……19
6.2. Vrste intauterinog zastoja u rastu……...20
6.3. Dijagnostika……...21
6.3.1. Abdominalna palpacija i mjerenje udaljenosti fundus-simfiza……...22
6.3.2. Ultrazvučna dijagnostika……22
6.3.2.1. Doplerska pretraga……...23
6.4. Terapija……..24

6.5. Patofiziologija……24
7. Ekspresija čimbenika rasta i njihovih receptora u normalnim trudnoćama……..26
8. Ekspresija čimbenika rasta i receptora u IUZR-u…….27
8.1. Ekspresija VEGF-a je pojačana…….27
8.2. Ekspresija VEGF-a ovisno o trajanju IUZR-a……..…….28
8.3. Nepromijenjena ekspresija VEGF-a.....…….29
8.4. Ekspresija VEGF-a je smanjena…….……30
8.5. Ekspresija PIGF-a je pojačana……...31
8.6. Ekspresija PIGF-a je smanjena.....…….....31
8.7. Ekspresija sVEGFR-1 (sFlt-1) je pojačana……32
8.8. Ekspresija sVEGFR-1 je nepromijenjena……..…33
9. Zaključak……...34
10. Zahvale……35
11. Literatura…….36
12. Životopis…….45

**Popis kratica**

VEGF- vascular endothelial growth factor — vaskularni endotelni čimbenik rasta

PIGF- placental growth factor — placentni čimbenik rasta

HIF- hypoxia-inducible factor — čimbenik induciran hipoksijom

GLUT- glucose transporter — transporter glukoze

hPL- human placental lactogen — humani placentni laktogen

hCT- human chorionic thyrotropin — humani korionski tireotropin

hCACTH - human chorionic corticotropin — humani korionski kortikotropin

hCG- human chorionic gonadotropin — humani korionski gonadotropin

CRH- corticotropin-releasing hormone — kortikotropin-oslobađajući hormon

FGF- fibroblast growth factor — čimbenik rasta fibroblasta

PDGF- platelet-derived growth factor — trombocitni čimbenik rasta

TNF- tumor necrosis factor — čimbenik nekroze tumora

TGF- transforming growth factor — transformirajući čimbenik rasta

KGF- keratinocyte growth factor — čimbenik rasta keratinocita

IGF- insuline-like growth factor — inzulinu-sličan čimbenik rasta

IL- interleukin

IUGR- intrauterine growth restriction — IUZR- intrauterini zastoj u rastu

TORCH- toxoplasmosis, other, rubella, cytomegalovirus, herpes simplex

BPD- biparietal diametar — biparijetalni promjer

HC- head circumference — opseg glave

FL- femur length — duljina femura

AC- abdominal circumference — opseg abdomena

AFI- amniotic fluid indeks — indeks amnionske tekućine

RI- resistance indeks — indeks otpora

## 1. Sažetak

Posteljica je organ koji povezuje fetus i majku te ima ključnu ulogu u fetalnom rastu i razvoju prijenosom kisika i hranjivih tvari te uklanjanjem razgradnih i štetnih produkata.

Krvne žile posteljice se razvijaju tijekom cijele trudnoće vaskularizacijom te granajućom i negranajućom angiogenezom. Vaskulogeneza je proces stvaranja *de novo* krvnih žila iz mezenhimalnih stanica. Angiogeneza je proces neovaskularizacije iz već postojećih krvnih žila kao odgovor na hipoksiju, a zbiva se u embriju i u odrasloj dobi. U regulaciji vaskulogeneze i angiogeneze glavnu ulogu ima vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF). VEGF je signalna molekula koja regulira mnoge funkcije endotelnih stanica, kao što su mitogeneza, vaskularni tonus, propusnost i proizvodnja vazoaktivnih molekula. Glavni regulator ekspresije VEGF-a je hipoksija putem hipoksijom inducibilnih faktora (HIF) te razni citokini i čimbenici rasta. Napredovanjem normalne trudnoće raste intervilozni $pO_2$ te se postepeno snižavaju razine slobodnog VEGF-a, a povisuju razine placentnog čimbenika rasta (PIGF).

Intrauterini zastoj u rastu (IUZR) je česta dijagnoza u opstetriciji te je uzrok značajnog perinatalnog mortaliteta i morbiditeta. IUZR podrazumijeva usporenje rasta fetusa čiji je potencijal za rast veći od izmjerenog. Izmjereni rast označuje normalne vrijednosti fetalnog rasta u određenoj populaciji. U Hrvatskoj se koristi granica od 10. centile za određenu gestacijsku dob. Ovisno o fazi rasta u kojoj nastupa zastoj IUZR može biti simetrični i asimetrični. Patofiziologija zastoja u rastu još nije potpuno razjašnjena, ali su definirana tri vrste hipoksije: preplacentna, uteroplacentna i postplacentna.

U IUZR-u nastalom zbog insuficijencije placente promijenjene su razine čimbenika rasta. Provedena su brojna istraživanja o ekspresiji vaskularnih endotelnih čimbenika rasta i njihovih receptora u posteljicama fetusa s IUZR-om koja su dala oprečne rezultate.

## 2. Summary

Placenta is the organ that connects fetus to the mother. It has a key role in fetal growth and development by transferring oxygen and nutrients, and by removing harmful products.

The blood vessels of the placenta develop throughout pregnancy through the processes of vascularization and branching and non-branching angiogenesis. Vasculogenesis is the process of creating blood vessels *de novo* from precursor mesenchymal cells. Angiogenesis is the process of neovascularization from existing blood vessels in response to hypoxia which occurs in the embryo and in adults. Vascular endothelial growth factor (VEGF) family plays a key role in the regulation of vasculogenesis and angiogenesis. VEGF is a signaling molecule that regulates many functions of endothelial cells, such as mitogenesis, vascular tone, permeability and production of vasoactive molecules. The regulator of VEGF expression is hypoxia by hypoxia inducible factor (HIF), and various cytokines and growth factors. Along with the development of a normal pregnancy intervilous $pO_2$ increases gradually lowering the level of free VEGF, and increasing levels of PIGF.

Intrauterine growth restriction (IUGR) is a common diagnosis in obstetrics and is a significant cause of perinatal mortality and morbidity. IUGR implies reduced fetal growth, whose growth potential is greater than the measured. In Croatia limit of 10. percentile for a particular gestational age is used. Depending on the growth stage when growth restriction occurs, IUGR can be symmetrical and asymmetrical. Pathophysiology of growth retardation is not completely understood, but three types of hypoxia are defined: preplacental, uteroplacental and postplacental.

In IUGR, due to failure of the placenta, expression of growth factors is changed. Numerous studies of the expression of vascular endothelial growth factors and their receptor in IUGR were conducted with conflicting results.

## 3. Uvod

Posteljica je privremeni, autonomni organ koji povezuje fetus i majku. Glavne uloge posteljice su izmjena tvari i plinova, metabolička i endokrina uloga te imunološka tolerancija feto-paternalnih antigena.

### 3.1. Uloga posteljice

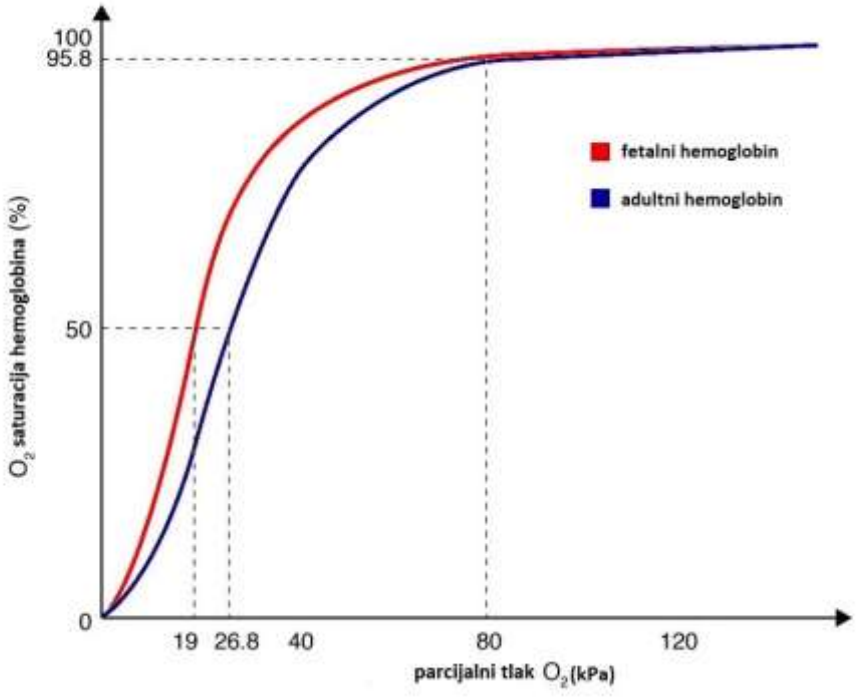
#### 3.1.1. Izmjena tvari i plinova

Kroz posteljicu iz majčine u fetalnu krv prolaze kisik, hranjive tvari, voda, elektroliti i majčina protutijela. U suprotnom smjeru prelaze ugljikov dioksid i produkti metabolizma. Izmjena tvari i plinova se obavlja na različite načine: običnom difuzijom, olakšanom difuzijom, aktivnim transportom, ultrafiltracijom i pinocitozom. Običnom difuzijom prolaze svi plinovi, lipidi, vitamini topljivi u lipidima, kreatinin, ureja i strane niskomolekularne tvari. Olakšanom difuzijom prelazi glukoza pomoću GLUT nosača. Fetus je ovisan o majčinoj glukozi jer sam stvara male količine glukoze. Glavni transporter je GLUT-1, kojeg akutno ne regulira inzulin. Aktivnim transportom se prenose aminokiseline, vitamini topljivi u vodi i rijetki metali, kao npr. željezo. Kod povećanih potreba za željezom, kao što je u slučaju fetalne hipoksije i posljedično pojačane eritropoeze, povećava se broj placentnih receptora za transferin. Ultrafiltracijom se prenosi voda s elektrolitima ($Na^+$,$K^+$,$Cl^-$). Pinocitoza služi za prijenos visokomolekularnih bjelančevina, kao što je IgG koji osigurava novorođenčetu pasivnu imunost tijekom 6 mjeseci [Guyton i Hall, 2006].

#### 3.1.2. Respiracijska uloga

U fiziološkim uvjetima kisik difundira iz majčine krvi u fetalnu krv, a ugljikov dioksid u obrnutom smjeru, u skladu s Fickovim zakonom. Prijenos plina ovisi o njegovom volumnom

postotku i parcijalnom tlaku, o površini i debljini membrane te o topljivosti plina u lipidima i veličini čestica plina. Zbog razlike u topljivosti $CO_2$ u usporedbi s $O_2$ difundira 20 puta brže kroz lipidne membrane. Fetalni hemoglobin ima veći afinitet prema kisiku i fetalne koncentracije hemoglobina su veće od majčinih. Odnos parcijalnog tlaka kisika i stupnja saturacije hemoglobina se prikazuje disocijacijskom krivuljom kisika (*Slika 1*). Zbog većeg afiniteta fetalnog hemoglobina za $O_2$, krivulja je pomaknuta ulijevo u odnosu na hemoglobin odraslih.




*Slika 1. Disocijacijska krivulja kisika (prilagođeno prema Guyton i Hall, 2006).*

### 3.1.2.1. Reakcija fetusa na promjene oksigenacije

Na promjene oksigenacije fetus odgovara kardiovaskularnim regulacijskim mehanizmima putem kemoreceptora i baroreceptora. U slučaju kronične hipoksije zakažu fiziološki mehanizmi autoregulacije te se podražajem kemoreceptora i posljedično simpatikusa izlučuju adrenalin i noradrenalin. Adrenalin i noradrenalin preko α i β adrenergičnih receptora

uzrokuju tahikardiju i vazokonstrikciju malog plućnog, kožnog i splanhičnog krvotoka s ciljem očuvanja protoka krvi kroz srce i mozak, te vazodilataciju pupčane arterije radi povećanja protoka krvi kroz pupkovinu te bolju oksigenaciju krvi.

### 3.1.3. Metabolička i endokrina funkcija

Endokrina funkcija posteljice je sinteza i izlučivanje humanog korionskog gonadotropina (hCG), proteinskih hormona (humani placentni laktogen- hPL, humani korionski tireotropin- hCT, humani korionski kortikotropin- hCACTH, prolaktin, relaksin, hormon oslobađanja kortikotropina- CRH, endotelin i inzulinu slični čimbenici rasta- IGF) i steroidnih hormona (progesteron i estrogeni).

Metabolička funkcija posteljice je sinteza glikogena, kolesterola i masnih kiselina [Đelmiš et al., 2014].

## 4. Razvoj posteljice

### 4.1. Implantacija

Spajanjem muške i ženske spolne stanice (oplodnja) u jajovodu nastaje zigota. Tri dana nakon oplodnje mitozom (brazdanjem) nastaje 16-stanična morula. U šupljini maternice tekućina ulazi kroz zonu pelucidu i nastaje blastocista koja je građena od dvije skupine stanica, unutarnjeg embrioblasta i vanjskog trofoblasta. Oko 6. dana razvoja trofoblast izlučuje proteaze i razgrađuje zonu pelucidu što omogućuje implantaciju blastociste. Implantacija je rezultat međudjelovanja endometrija i trofoblasta. L-selektin na stanicama trofoblasta se veže za ugljikohidrate na epitelu endometrija koji je u sekrecijskoj fazi pod utjecajem progesterona. U prodiranju blastociste kroz epitel sudjeluju integrini trofoblasta, perlekan, metaloproteaze i njihovi inhibitori, citokini Lif (leukemia inhibitory factor) i interleukin 11, te laminin i fibronektin endometrija. Tijekom idućih nekoliko dana trofoblast proliferira i diferencira se u dva sloja: citotrofoblast, unutarnji sloj stanica s jednom jezgrom i sinciciotrofoblast, vanjski sloj citoplazme s mnogo jezgara. Deveti dan se u sinciciotrofoblastu stvaraju vakuole čijim stapanjem nastaju lakune. Lakune su ispunjene mješavinom majčine krvne plazme i sekreta oštećenih žlijezda maternice, bogatim glikogenom, glikoproteinima i lipidima. Od 10. do 11. dana blastocista se potpuno ukopala u stromu endometrija. [Sadler, 2008].

### 4.2. Korionske resice

Geni važni za diferencijaciju trofoblasta su *Cdx2* (*Caudal type homeobox 2*) i *Eome*s (*Eomesodermin*), a za kasnu diferencijaciju je ključan gen *Mash2* (*Mammalian achaete-scute homologue 2*). Od 13. do 15. dana razvoja korionska ploča inducira proliferaciju citotrofoblasta koji se utiskuje u sinciciotrofoblast te nastaju primarne resice. Trofoblast koji čini površinu resice se naziva vilozni trofoblast. Osim citotrofoblasta i sinciciotrofoblasta

postoji još i intermedijarni trofoblast, čija su morfološka obilježja između sinciciotrofoblasta i citotrofoblasta. Stanice mezoderma 16. dan razvoja urastaju u primarne resice te nastaju sekundarne resice. Od 16. do 20. dana u resicama se iz mezenhimalnih stanica diferenciraju hemangioblasti od kojih nastaje endotel krvnih žila, a resice postaju tercijarne. Resice koje su pričvršćene za bazalnu deciduu nazivaju se usidrenim resicama na čijim bočnim stranama pupanjem nastaju slobodne resice.

### 4.3. Razvoj uteroplacentnih krvnih žila

Iz usidrenih resica proliferira intermedijarni trofoblast te infiltrira deciduu. Taj trofoblast nazivamo izvanresičnim trofoblastom. Tijekom invazije stanice izvanresičnog trofoblasta sintetiziraju VEGF-A, VEGF-C i PIGF te receptore za vaskularni endotelni čimbenik rasta VEGFR-1 i VEGFR-2. Invazija se odvija u dva razdoblja. U prvom valu od 6. do 8. tjedna dio spiralnih arterija decidualnog sloja ispunjen je stanicama endovaskularnog citotrofoblasta pa od ovih žila nastaju uteroplacentne krvne žile. U drugom valu od 14. do 20. tjedna iste promjene nastaju u spiralnim arterijama dublje u stijenci maternice, u unutarnjoj trećini miometrija. Pretvorba spiralnih arterija uskog lumena i velikog otpora u uteroplacentne krvne žile širokog lumena i malog otpora se događa prodiranjem trofoblasta i razgradnjom svih slojeva žile: endotela, glatkih mišićnih stanica i elastičnih vlakana. Na taj način nastaju arteriole koje ne mogu mijenjati širinu svog lumena, ni količini krvi, tj. nisu više pod utjecajem autonomnog živčanog sustava. Kasnije trofoblast zamijenjuje fibrin. U lumenu žila se nalazi čep trofoblasta koji sprječava nagli prodor majčine krvi. Potkraj prvog tromjesečja čep trofoblasta postepeno nestajate i krv ulazi u intervilozni prostor [Kos i Leniček, 2011].

### 4.4. Placentne resice

Prva generacija tercijarnih resica su **mezenhimske resice** građene od primitivne mezenhimske strome s tankim krvnim kapilarama, Hofbauerovim stanicama, citotrofoblastom i sinciciotrofoblastom. U terminskoj posteljici ove resice čine manje od 1% volumena posteljice. Od 5. tjedna mezenhimske se resice razvijaju u **nezrele intermedijarne resice** čiji je primarni zadatak stvaranje **matičnih resica** koje su ispunjene gustim vezivom i služe kao skelet perifernim ograncima. Matične resice čine 20-25% volumena terminske posteljice. U trećem se tromjesečju stvaraju **zrele intermedijarne resice** koje su izdužene, tanke, građene od manje količine strome s brojnim krvnim žilama. One čine 25% volumena terminske posteljice. Nakon 32. tjedna razvoja grananjem zrelih intermedijarnih resica nastaju **terminalne resice**, građene od oskudne strome i sinusoidnih kapilara koje zajedno s tankim slojem sinciciotrofoblasta čine vaskulosincicijalnu membranu. Terminalne resice zauzimaju 45% volumena terminske posteljice [Kaufmann et al., 1979].

### 4.5. Razvoj krvnih žila posteljice

#### 4.5.1. Vaskulogeneza

Vaskulogeneza je proces stvaranja *de novo* krvnih žila iz mezenhimalnih stanica od 19. dana razvoja. Vaskulogeneza se dijeli na tri stadija: **1.)** indukcija hemangioblasta i angioblasta putem čimbenika rasta fibroblasta (FGF); **2.)** stvaranje primordijalnih krvnih žila pod utjecajem VEGF-a; **3.)** aktivacija FGF i VEGF receptora za početak angiogeneze [Wang i Zhao, 2010]. Mezenhimalne stanice sekundarnih resica izlučuju vaskularne endotelne čimbenike rasta koji potiču diferencijaciju mezenhimalnih stanica u hemangioblaste. Hemangioblasti se nakupljaju stvarajući hemangiogene tračke. Stanice na rubu tračaka se difereciraju u angioblaste i stvaraju prve krvne žile, a hemangioblasti u središtu postaju

hematopoetske matične stanice koje se diferenciraju u krvne stanice. Za stvaranje hemangiogenih tračaka odgovorne su visoke razine VEGF-a u citotrofoblastu rane posteljice. Tijekom gestacije se postupno snižavaju slobodne razine VEGF-a, a povisuju razine PIGF-a [Huppertz i Peeters, 2005]. Vaskulogeneza se nastavlja do kraja trudnoće i preklapa se s angiogenezom.

### 4.5.2. Angiogeneza

Angiogeneza je proces neovaskularizacije iz već postojećih krvnih žila kao odgovor na hipoksiju, a zbiva se u embriju i odrasloj dobi (cijeljenje rane i upalni odgovor, formiranje žutog tijela u jajniku te tijekom razvoja endometrija) [Zygmunt et al., 2003]. U placenti se pojavljuje u 5. tjednu i traje do kraja trudnoće. Angiogeneza se dijeli na granajuću i negranajuću angiogenezu. Granajuća angiogeneza nastaje pupanjem postojećih krvnih žila ili njihovom intususcepcijom (stvaranje endotelnih pregrada koje dijele lumen krvnih žila). Negranajuća angiogeneza je produljenje krvnih žila proliferacijom endotela [Patan, 2000].

Tri su stadija angiogeneze: **1.)** stvaranje kapilarne mreže od 32. dana do 25. tjedna razvoja granajućom angiogenezom, **2.)** propadanje periferne kapilarne mreže i formiranje središnjih matičnih krvnih žila od 15. do 32. tjedna razvoja, **3.)** stvaranje terminalnih kapilarnih petlji negranajućom angiogenezom od 25. tjedna razvoja do kraja trudnoće [Kaufmann et al., 2004].

#### 4.5.2.1. Granajuća angiogeneza

Stupnjevi granajuće angiogeneze su: **1.)** vazodilatacija i povećana vaskularna propusnost, **2.)** razgradnja bazalne membrane proteazama, **3.)** ubrzanje proliferacije endotelnih stanica, **4.)** migracija endotelnih stanica, **5.)** formiranje cijevi od endotelnih stanica, **6.)** okupljanje

pericita oko kapilara [Charnock-Jones et al., 2004]. Pojavljuju se visoke razine VEGF-a koji vezanjem na receptore VEGR-1 i -2 stimulira granajuću angiogenezu [Demir et al., 2007].

#### 4.5.2.2. Negranajuća angiogeneza

Rastom parcijalnog tlaka kisika povećava se ekspresija PIGF-a i topljivog receptora vaskularog endotelnog čimbenika rasta (sVEGFR-1), a snižavaju se razine slobodnog VEGF-a. Sinciciotrofoblast i tunika medija resičnih krvnih žila sintetiziraju i izlučuju PIGF koji suprimira granajuću angiogenezu i potiče produženje postojećih kapilara te stvaranje terminalnih kapilarnih petlji [Kumazaki et al., 2002].

Ravnotežu između stvaranja VEGF-a i PIGF-a reguliraju metaboličke promjene, npr. hipoksija. Nizak $pO_2$ u ranoj trudnoći uzrokuje visoke koncentracije VEGF-a, a niske koncentracije PIGF-a. Porast $pO_2$ dovodi do smanjenog izlučivanja VEGF-a, a povećanog izlučivanja PIGF-a [Liu et al., 1995].

## 5. Vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF)

VEGF je signalna molekula koja regulira mnoge funkcije endotelnih stanica, kao što su mitogeneza, vaskularni tonus, propusnost i proizvodnja vazoaktivnih molekula [Zachary, 1998]. Između ostalog, ima ključnu ulogu u vaskulogenezi i angiogenezi tijekom razvoja posteljice [Charnock-Jones et al., 2004]. VEGF pripada obitelji angiogenih faktora koja uključuje VEGF (ili VEGF-A), PIGF, VEGF-B, VEGF-C i VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F [Ferrara, 2004]. VEGF-A ima mnoge izoforme ($VEGF_{121}$, $VEGF_{145}$, $VEGF_{165}$, $VEGF_{189}$, $VEGF_{206}$) kao rezultat posttranskripcijske obrade [Park et al., 1992]. Ovi čimbenici rasta obavljaju svoju funkciju vežući se za specifične transmembranske receptore. To su: VEGFR-1 (flt-1), VEGFR-2 (KDR), VEGFR-3 (flt-4), sVEGFR-1, neuropilin-1 i -2 [Shore et al., 1997]. VEGF-C i VEGF-D reguliraju preko VEGFR-3 receptora [Otrock et al, 2007]. VEGFR-1 veže homodimere VEGF i PIGF ili VEGF/PIGF heterodimere, dok VEGFR-2 veže samo VEGF homodimere ili VEGF/PIGF heterodimere [Neufeld et al., 1999]. VEGFR-1 i 2 su izraženi na posteljičnom viloznom endotelu, a samo je VEGFR-1 prisutan i na izvanresičnom trofoblastu [Schiessl et al, 2009]. Topljivi oblik VEGFR-1 (sVEGFR-1) blokira normalnu funkciju VEGF-a i PIGF-a i tako sudjeluje u fiziološkom i patološkom razvoju posteljice [Li et al., 2005].

Ključna uloga VEGF-a u vaskulogenezi i angiogenezi je dokazana studijama na *knockout* miševima. Inaktivacija samo jednog VEGF alela dovodi do embrionalne smrti [Ferrara et al, 1996. i Carmelit et al., 1996]. Isto tako, poremećaji gena koji kodiraju za VEGFR-1 i VEGFR-2 rezultiraju teškim abnormalnostima u formiranju krvnih žila [Shalaby et al., 1995]. Embriji bez gena *VEGFR-2* umiru intrauterino jer izostaje diferencijacija endotelnih stanica pa se ne razviju krvne žile [Shalaby et al., 1997]. Poremećaji gena koji kodiraju za VEGFR-1 teško narušavaju formiranje krvnih žila iz endotelnih stanica jer je aktivacija VEGFR-1 nužna za migraciju stanica [Fong et al., 1995].

## 5.1. Regulacija ekspresije VEGF-a

### 5.1.1. Hipoksija

Parcijalni tlak kisika ($pO_2$) i hipoglikemija su glavni regulatori ekspresije gena za *VEGF* [Shweiki et al., 1992]. Mnogi radovi opisuju utjecaj hipoksije na ekspresiju VEGF-a i angiogenezu. Hipoksija regulira ekspresiju VEGF-a na transkripcijskoj i posttranskripcijskoj razini [Minchenko et al., 1994].

Fiziološki rani razvoj posteljice se odvija u uvjetima niskog $pO_2$ (~2–8 % $O_2$) [Genbacev et al., 1997]. Hipoksija potiče proliferaciju endotelnih stanica, migraciju i formiranje struktura nalik na kapilare [Tucci et al., 1997]. Niske razine kisika povećavaju stabilnost VEGF mRNA i produljuju joj vrijeme poluživota s 30-45 min. na 6-8 h [Shima et al., 1995]. U hipoksičnim uvjetima VEGF mRNA je vezana na heterogeni jezgreni ribonukleoprotein L (hnRNP L) koji je stabilizira [Shih et al., 1999]. Uz to, stanice reagiraju na promjenu koncentracije kisika putem transkripcijskih čimbenika osjetljivih na kisik, hipoksijom inducibilnih faktora (HIF). U normoksičnim uvjetima produkti von Hippel-Lindau tumor supresor gena (*VHL*) brzo razgrade HIF-1α i HIF-2β. Međutim, u hipoksičnim uvjetima HIF-1α ili HIF-2α se spoje s HIF-1β i tvore funkcionalni transkripcijski čimbenik HIF-1. On interakcijom s *„hypoxia response element“* (HRE; karakteristični slijedovi DNA molekule na koje se vežu navedeni transkripcijski čimbenici) stimulira transkripciju gena potrebnih za staničnu prilagodbu na hipoksiju [Déry et al., 2005], između ostalog i gene za čimbenik rasta VEGF. Ovaj čimbenik inducira angiogenezu kako bi se nadoknadio stanični nedostatak kisika.

### 5.1.2. Čimbenici rasta i citokini

Razne molekule kao citokini, čimbenici rasta i gonadotropini ne djeluju izravno na angiogenezu nego djeluju angiogeno ili anti-angiogeno mijenjajući ekspresiju VEGF-a u određenim stanicama. Čimbenici koji potiču sintezu VEGF-a su: čimbenik rasta fibroblasta (FGF-4), trombocitni čimbenik rasta (PDGF), čimbenici nekroze tumora (TNF-α i TGF-β), čimbenik rasta keratinocita (KGF), inzulinu-sličan čimbenik rasta (IGF-I), interleukini IL-1β i IL-6, dok IL-10 i IL-13 inhibiraju otpuštanje VEGF-a [Neufeld et al., 1999].

Dušikov (II) oksid i VEGF se recipročno reguliraju. NO doprinosi učincima VEGF-a (vazodilatacija i povećana propusnost krvnih žila), a VEGF potiče endotelnu NO-sintazu (eNOS) na proizvodnju NO-a [Kimura i Esumi, 2003].

## 6. Intrauterini zastoj u rastu (IUZR)

Intrauterini zastoj u rastu podrazumijeva usporenje rasta fetusa čiji je potencijal za rast veći od izmjerenog. Izmjereni rast označuje normalne vrijednosti fetalnog rasta u određenoj populaciji. Znanstvenicima je teško dogovoriti se koja je granica tjelesne mase fetusa kojeg se treba proglasiti zaostalim u rastu. Ako se granica postavi previsoko, dio fetusa sa stvarnim zastojem u rastu neće biti dijagnosticiran, a ako se postavi prenisko veliki broj fetusa normalnog rasta će biti pogrešno uključen u skupinu djece sa zastojem u rastu, što dovodi do velikih troškova u zdravstvu, ali i straha roditelja. U Hrvatskoj se koristi granica od 10. centile.

Intrauterini zastoj u rastu je česta dijagnoza u opstetriciji. U razvijenim zemljama se dijagnosticira u 3% trudnoća, dok u nerazvijenim zemljama doseže do brojke od čak 15-20% svih trudnoća. Povezuje se s niskom porođajnom masom, preuranjenim porođajem i povišenim perinatalnim morbiditetom (3 puta veći u odnosu na fetuse normalnog intrauterinog rasta) i mortalitetom (8 puta veći u odnosu na fetuse normalnog intrauterinog rasta ) [Peleg et al., 1998]. Dugoročno praćenje je pokazalo kako je IUZR čimbenik rizika za koronarne bolesti, hipertenziju, inzult, dijabetes [Barker et al., 1989] i loš neurološki ishod. Neka djeca imaju niži IQ, probleme s pažnjom i učenjem [Geva et al., 2006.] te cerebralnu paralizu [Jacobsson et al., 1998].

### 6.1. Etiologija

Intrauterini rast fetusa rezultat je genetskog potencijala i potpore za rast. Poremećaj u rastu može uzrokovati bilo koji čimbenik koji utječe na jednu od ove dvije varijable. Uzrok zastoja u rastu može biti u samom fetusu (fetalni čimbenici) ili izvan njega (majčini i uteroplacentni

čimbenici), pa čimbenike možemo podijeliti na unutarnje i vanjske, *Tablica 1* [Kuvačić et al., 2009].

*Tablica 1. Mogući etiološki čimbenici intrauterinog zastoja u rastu (prilagođeno prema Kuvačić et al., 2009).*

| **Fetalni čimbenici** |
|---|
| - genski čimbenici (npr. aneuploidije, uniparentalna disomija)<br>- kongenitalne malformacije (npr. osteogenesis imperfecta)<br>- intrauterine infekcije (TORCH infekcije)<br>- višeplodna trudnoća |
| **Majčini čimbenici** |
| - bolesti koje remete uteroplacentnu cirkulaciju (npr. hipertenzija, dijabetes, preeklampsija)<br>- bolesti povezane s hipoksijom majke (npr. cijanotične srčane greške, srpasta anemija)<br>- pothranjenost, mali dobitak tjelesne mase u trudnoći<br>- bolesti probavnog sustava i apsorpcije (npr. ulcerozni kolitis)<br>- bolesti koje dovode do gubitka proteina (npr. nefrotski sindrom, preeklampsija)<br>- hematološke i imunosne bolesti (npr. antifosfolipidni sindrom)<br>- pušenje, alkohol, opojna sredstva<br>- medicinski potpomognuta metoda reprodukcije<br>- toksini (npr. valproat, metotreksat)<br>- kratak razmak između trudnoća<br>- kronični stres majke |
| **Uteroplacentni čimbenici** |
| - malformacije uterusa<br>- kronične infekcije<br>- infarkti posteljice<br>- abrupcija posteljice<br>- placenta previja<br>- mala posteljica ili smanjena sposobnost transporta<br>- skriveni placentni mozaicizam<br>- anatomske anomalije posteljice i pupkovine |

### 6.2. Vrste intrauterinog zastoja u rastu

U rastu i razvoju razlikuju se tri faze rasta:

1. Proces hiperplazije u prvih 16 tjedana trudnoće
2. Izmjena hiperplazije i hipertrofije od 16. do 32. tjedna trudnoće
3. Proces hipertrofije od 32. tjedna trudnoće do porođaja

Tip zastoja rasta ovisit će o fazi fetalnog rasta u kojoj dolazi do poremećaja. Zastoj diobe stanica u ranoj trudnoći uzrokovat će smanjen broj stanica normalnih dimenzija. Sve mjere fetusa su jednakomjerno smanjene (masa, duljina, opseg glave, prsa i trbuha). To je **proporcionalni ili simetrični zastoj u rastu**, a obuhvaća 30-40% svih zastoja u rastu. Najčešći uzroci su kongenitalne anomalije, virusne infekcije, kromosomske anomalije, teška pothranjenost majke, alkohol, pušenje, itd. Proporcionalno hipotrofična djeca imaju veći rizik postojanja kongenitalih malformacija od neproporcionalih, ali su manje ugroženi perinatalnim komplikacijama.

Čimbenici koji djeluju u kasnijoj fazi trudnoće (zadnje tromjesečje) ometaju hipertrofičnu fazu rasta (odlaganje masti, povećanje veličine stanica i količine međustanične tvari). Djeca su normalne duljine, ali smanjene težine za gestacijsku dob. Opseg trbuha zaostaje u rastu više nego glavica. Najvažniji uzrok tom **neproporcionalnom ili asimetričnom zastoju u rastu** je uteroplacentna insuficijencija sa smanjenim uteroplacentnim protokom krvi koja dovodi do preusmjeravanja fetalne krvi prema mozgu na štetu visceralnih organa i trupa. Uzroci su pušenje majke, neke majčine bolesti (kronična hipertenzija, preeklampsija, cijanotične mane srca, bolesti bubrega, itd.). Ova novorođenčad je ugrožena perinatalnim komplikacijama, češći su znakovi fetalne patnje, npr. aspiracija mekonija, hipoglikemija, policitemija, acidoza, hipotermija, cerebralna oštećenja i smrt djeteta [Mardešić et al., 2003].

### 6.3. Dijagnostika

Dijagnoza IUZR-a predstavlja veliki problem jer ne postoji pretraga kojom bi se sa sigurnosti donijela točna dijagnoza.

#### 6.3.1. Abdominalna palpacija i mjerenje udaljenosti fundus-simfiza

Leopoldovi hvatovi su jedna od najstarijih kliničkih metoda određivanja fetalne veličine, ali su istraživanja pokazala da nisu značajna pretraga za dijagnozu zastoja u rastu [Bais et al., 2004].

Mjerenje udaljenosti fundus-simfiza još uvijek je najčešća i najbolja *screening* pretraga za IUZR. Pretraga je vrlo jednostavna, jeftina i brza. Između 16. i 36. tjedna trudnoće broj centimetara odgovara broju navršenih tjedana uz standardnu devijaciju od 2 cm [Harkness i Mari, 2004]. Trudnice kojima se otkrije odstupanje od očekivanih vrijednosti za gestacijsku dob šalju se na ultrazvučnu procjenu mase fetusa.

#### 6.3.2. Ultrazvučna dijagnostika

Ultrazvukom se određuje gestacijska dob, veličina fetusa, otkrivaju se razne fetalne malformacije i abnormalnosti posteljice, mjeri se količina plodove vode, prati se fetalna aktivnost te se procjenjuje majčina i fetalna hemodinamika.

Parametri koji se koriste za procjenu fetalne mase su biparijetalni promjer (BPD), opseg glave (HC), opseg abdomena (AC) i duljina femura (FL). Najtočnija mjera od navedenih za otkrivanje IUZR-a je opseg abdomena [Warsof et al., 1986] koji je u fetusa s IUZR-om manji od referentnih vrijednosti zbog smanjene veličine jetre. Pri asimetričnom zastoju u rastu opseg abdomena je manji od referentnih vrijednosti, a ostale mjere (HC, BPD, FL) su normalne ili

blago odstupaju. U fetusa sa simetričnim zastojem u rastu sve su mjere jednakomjerno smanjene.

Ultrazvučna procjena količine plodove vode je važna jer oligohidramnij je jedan od pokazatelja zastoja u rastu [Lin et al., 1990], a nastaje zbog smanjene proizvodnje urina u fetalnim bubrezima. Oligohidramnij je količina plodove vode manja od 500 mL, tj. AFI je manji od 5. Uz zastoj u rastu i trisomiju 18 može se naći i polihidramnij.

Ultrazvučno se mjeri i debljina potkožnog masnog tkiva na trbušnoj stijenci, bedrima i subskapularno, a u fetusa sa zastojem u rastu je smanjena [Larciprete, 2005].

Važan je i detaljan pregled fetalne anatomije jer se često mogu naći velike malformacije.

#### 6.3.2.1. Doplerska pretraga

IUZR je često povezan s abnormalnim fetoplacentnim i uteroplacentnim protokom krvi. Zato je dijagnostika doplerom važna za razumijevanje patofiziologije IUZR-a i predviđanje hipoksije te acidemije. Za procjenu hemodinamike najčešće se radi dopler umbilikalne i srednje moždane arterije. Za procjenu otpora krvnih žila koristi se indeks otpora za čiji je izračun potrebna vršna brzina protoka u sistoli i brzina protoka na kraju dijastole ($RI = \frac{v(sistola) - v(dijastola)}{v(sistola)}$) [Harkness i Mari, 2004].

U trudnoća kompliciranih zastojem u rastu zbog anomalija posteljičnog krvožilnog sustava postoji kronološki proces karakteriziran: povećanim indeksom otpora pupčane arterije, nedostatkom protoka na kraju dijastole i obrnutim protokom krvi kroz pupčanu arteriju na kraju dijastole (RI>1). Pri obrnutom protoku krvi u dijastoli i nedostatku protoka na kraju dijastole uočen je povećan perinatalni mortalitet [Karsdorp et al., 1994].

Kao odgovor na hipoksiju u IUZR-u dolazi do vazocentralizacije i dilatacije moždanih i srčanih krvnih žila, tj. smanjenja otpora u navedenim žilama. Redistribucija krvi između mozga i posteljice kvantificira se korištenjem cerebro-umbilikalnog omjera (omjer indeksa otpora srednje moždane arterije i indeksa otpora pupčane krvne žile). Vrijednost omjera manji od 1 ukazuje  na preraspodjelu krvotoka prema mozgu. U slučaju kronične ili teške hipoksije ovaj mehanizam prilagodbe neće spriječiti razvoj perinatalnih lezija mozga [Salihagić Kadić et al., 2006].

Doplerska pretraga venske cirkulacije radi se kod patoloških nalaza arterijskog protoka i omogućuje prepoznavanje razdoblja nakon kojeg dolazi do sloma prilagodbenih mehanizama, hipoksije miokarda i trajnih neuroloških oštećenja [Đelmiš et al., 2014].

### 6.4. Terapija

Terapijske mogućnosti inrauterinog zastoja u rastu su ograničene. Važno je prepoznati rizike prijevremenog porođaja, ali jednako je važno praćenjem stanja fetusa (CTG, serijska ultrazvučna mjerenja rasta, procjena hemodinamike, određivanje biofizikalnog profila) prepoznati njegovo teško stanje i nužnost hitnog dovršenja trudnoće. Biofizikalni profil uključuje fetalne pokrete disanja, fetalnu motoriku, fetalni tonus, količinu plodne vode i non-stres test (fetalna srčana akcija) [Manning et al., 1980].
Ako se predviđa porođaj prije 34. tjedna nužna je primjena kortikosteroida, najbolje betametazona [Chammas et al., 2000].

Od ostalih terapijskih mogućnosti koriste se poboljšana prehrana majke uz uzimanje arginina, tirozina, cisteina, folne kiseline i kobalamina te mirovanje.

### 6.5. Patofiziologija

Patofiziologija zastoja u rastu još nije potpuno razjašnjena. Smatra se da je glavni razlog IUZR-a i fetalne hipoksije insuficijencija posteljice. Definirane su tri vrste hipoksije koje mogu uzrokovati IUZR [Kingdom i Kaufmann, 1997]:

**1.) Preplacentna hipoksija** je uzrokovana hipoksičnim uvjetima okoline (visoke nadmorske visine) ili bolestima majke (urođene cijanotične srčane greške, zatajenje srca, plućna hipertenzija ili anemija). Kao odgovor na dugotrajnu hipoksiju povećana je proliferacija trofoblasta te prevladava granajuća angiogeneza, pa se pod utjecajem povišenog VEGF-a, razviju bogato razgranate, ali kraće terminalne kapilarne petlje [Kingdom i Kaufmann, 1997].

**2.) Uteroplacentna hipoksija** nastaje zbog neuspjele invazije trofoblasta i remodelacije majčinih spiralnih arterija što ograničava dotok majčine krvi u placentu. Majčina je krv normalno oksigenirana, ali placenta i fetus su hipoksični. Hipoksija povisuje razine VEGF-a i stimulira granajuću angiogenezu. U posteljici se nalaze bogato razgranate kapilarne mreže i normalan ili smanjen fetalni otpor protoku krvi. Uteroplacentna hipoksija često nastaje u IUZR-u s očuvanim protokom krvi na kraju dijastole u trećem tromjesečju, s ili bez preeklampsije s kasnim početkom [Benirschke et al., 2006].

**3.) Postplacentna hipoksija** se pojavljuje kad normalno oksigenirana majčina krv dospije u intervilozni prostor, ali je fetoplacentna perfuzija poremećena. Uzroci su progresivno srčano zatajenje ili značajne genetske anomalije fetusa [Hutter et al., 2010]. Razine kisika u majčinoj krvi i posteljici su normalne, ali fetus je hipoksičan. Smanjeno fetalno korištenje kisika uzrokuje intraplacentnu hiperoksiju koja inhibira granajuću angiogenezu. Terminalne kapilarne petlje su slabo razvijene, tanke, dugačke i slabo razgranate. Postplacentna hipoksija postoji u IUZR-u bez protoka krvi ili s obrnutim protokom krvi na kraju dijastole u drugom tromjesečju s ili bez rano nastale preeklamspije. Povišene su razine PIGF-a koji potiče negranajuću angiogenezu, a snižene su razine VEGF-A [Khaliq et al., 1999].

## 7. Ekspresija čimbenika rasta i njihovih receptora u normalnim trudnoćama

Rani razvoj posteljice odvija se u hipoksičnim uvjetima koji povećavaju ekspresiju VEGF-a. VEGF stimulira vaskulogenezu i granajuću angiogenezu. Sazrijevanjem posteljice sve veći $pO_2$ u interviloznom prostoru potiče ekspresiju PIGF-a koji stimulira negranajuću angiogenezu [Arroyo i Winn., 2008]. Međutim, mjerenje ukupne razine VEGF-a (slobodna i vezana frakcija) tijekom trudnoće pokazuje postepeni porast koncentracije VEGF-a [Evans et al., 1998], što odgovara porastu koncentracije sVEGFR-1, antagonista VEGF-a [Clark et al., 1998]. Koncentracije slobodnog PIGF-a, također rastu tijekom normalne trudnoće s vrhuncem između 28. i 32. tjedna trudnoće [Chappell et al., 2002].

Schiessl i suradnici [2009] su na uzorcima posteljica iz normalnih trudnoća elektivno završenih između 8. i 10., 12. i 14., 16 i 20., te 37. i 42. tjedna trudnoće imununohistokemijskim bojanjem prikazali vremensku i prostornu lokalizaciju angiopoetinske i VEGF obitelji. VEGF-A se eksprimira u endovaskularnom, intramuralnom, intersticijskom mononuklearnom i multinuklearnom izvanresičnom trofoblastu. Intenzitet bojanja se tijekom trudnoće nije promijenio. VEGF-C i VEGF-D su lokalizirani u svim oblicima izvanresičnog trofoblasta, dok su samo razine ekspresije VEGF-C tijekom trudnoće pojačane. VEGFR-1 je lokaliziran u endovaskularnom, intramuralnom te intersticijskom mononuklearnom i multinuklearnom izvanresičnom trofoblastu, uz tendenciju smanjenja ekspresije u endovaskularnom trofoblastu tijekom trudnoće. VEGFR-2 i VEGFR-3 su lokalizirani u svim oblicima izvanresičnog trofoblasta. Ekspresija VEGFR-2 u endovaskularnom trofoblastu se smanjivala, dok se ekspresija VEGFR-3 nije mijenjala. Studija je pokazala kako prostorna i vremenska promjena ekspresije čimbenika rasta i njegovih receptora u izvanresičnom trofoblastu odgovara njihovoj ulozi u invaziji trofoblasta i remodeliranju spiralnih arterija.

## 8. Ekspresija čimbenika rasta i receptora u IUZR-u

Provedena su brojna istraživanja o ekspresiji vaskularnih endotelnih čimbenika rasta i njihovih receptora koja su dala oprečne rezultate. Slijedi pregled nekih od radova.

### 8.1. Ekspresija VEGF-a je pojačana

Lash i suradnici [2002] su izolirali stanice trofoblasta iz posteljica na kraju prvog i trećeg tromjesečja trudnoće te su ih 24 sata kultivirali u uvjetima 20- i 5-postotnog kisika. Rezultati su pokazali da stanice citotrofoblasta iz prvog i trećeg tromjesečja pri nižim koncentracijama kisika eksprimiraju više razine VEGF-a u odnosu na kontrolne uvjete. Uočili su i povećane razine VEGF mRNA za tri VEGF-A izoforme, a smanjeno izlučivanje PIGF-a i PIGF mRNA. Zaključili su da je to mogući kompenzacijski odgovor na hipoksiju u patogenezi bolesti kao što su preeklampsija i IUZR.

Barut i suradnici [2010] su sakupili 55 posteljica iz trudnoća kojima je zastoj u rastu dijagnosticiran procijenjenom tjelesnom masom ispod desete centile, smanjenom količinom plodove vode i nedostatkom protoka krvi na kraju dijastole dokazanim doplerskom pretragom krvnih žila pupkovine, te 55 posteljica iz normalnih trudnoća kao kontrolnu skupinu. Histološkom usporedbom normalnih posteljica i posteljica sa zastojem u rastu uočena su široka područja infarkta i povećana količina sincicijskih čvorića u posteljica s IUZR-om. Koristili su imunohistokemijsko bojanje za dokaz ekspresije VEGF-A, b-FGF i eNOS. Rezultati su pokazali statistički značajno pojačanu ekspresiju VEGF-A, b-FGF i eNOS u citotrofoblastu, sinciciotrofoblastu, izvanresičnom trofoblastu, endotelnim stanicama, glatkom mišiću krvnih žila i u stromi resica posteljice s IUZR-om u odnosu na posteljicu iz normalne trudnoće. Zaključili su da povišene vrijednosti ukazuju da angiogena aktivnost, uzrokovana nedovoljnom uteroplacentnom perfuzijom, rezultira razvojem IUZR-a.

Borras i suradnici [2014] su proveli prospektivno istraživanje koje je uključivalo 18 trudnica s dijagnozom IUZR-a i 24 trudnica uredne trudnoće kao kontrolnu skupinu. Autori su skupljali uzorke majčine venske krvi tijekom i na kraju trudnoće te fetalne krvi iz pupčane arterije i vene odmah po porođaju. U uzorcima su mjerene razine sVEGFR1-1 i slobodnog VEGF-a (f-VEGF). Razine f-VEGF i VEGFR-1 u majčinoj krvi iz skupine s IUZR-om su bile značajno više od onih u kontrolnim skupinama. U uzorcima fetalne krvi nije bilo značajne razlike u razinama angiogenih čimbenika. Zaključak autora je da majke fetusa s IUZR-om imaju veće anti-angiogeno okružje.

Szentpéteri i suradnici [2013] su prikupili 101 posteljicu iz trudnoća s IUZR-om i 140 iz normalnih trudnoća kao kontrolnu skupinu te usporedili ekspresiju gena *VEGF-A*. U skupini s IUZR-om je ekspresija gena *VEGF-A* bila je pojačana u odnosu na kontrolnu skupinu, ali nije nađena povezanost ekspresije gena i težine IUZR-a, već samo pozitivna povezanost jačine ekspresije i gestacijske dobi. Autori su zaključili da je ekspresija gena *VEGF-A* sekundarni odgovor na perzistirajuću hipoksiju, a ne primarni čimbenik u etiologiji zastoja u rastu.

Predojević i suradnici [2013] su proveli istraživanje čiji su rezultati prikazani na trećem kongresu Hrvatskog društva fiziologa. Imunofluorescentnim bojanjem su usporedili ekspresiju VEGF-a u 11 posteljica iz trudnoća kompliciranih IUZR-om i 11 posteljica iz normalnih trudnoća. Bojanje normalnih posteljica je pokazalo izostanak ili blagu VEGF obojanost u endotelu krvnih žila, stromalnim stanicama i sinciciotrofoblastu resica. U posteljicama iz trudnoća s IUZR-om VEGF obojanost je bila srednja do jaka što ukazuje na pojačanu ekspresiju VEGF-a. Nadalje, najjača ekspresija VEGF-a bila je u slučajevima čiji rani neurološki ishod nije bio optimalan.

### 8.2. Ekspresija VEGF-a ovisno o trajanju IUZR-a

Regnault i suradnici [2002] su proveli istraživanje na hipertermijom-induciranom ovčjem modelu placentne insuficijencije i intrauterinog zastoja u rastu. Težina posteljica je 90. dana razvoja bila smanjena otprilike 30%, a fetalna masa je bila značajno smanjena. Pedesetpetog i devedesetog dana razvoja mjerene su razine VEGF i PIGF mRNA te VEGFR-1 i VEGFR-2 mRNA s majčine i fetalne strane posteljice. Rezultati su pokazali da tijekom gestacije rastu vrijednosti VEGF i PIGF mRNA s obje strane posteljice. Pedesetpetog dana razvoja VEGF mRNA fetalne strane bila je značajno povišena u odnosu na kontrolnu skupinu, dok na majčinoj strani posteljice nije bilo razlike. Devedesetog dana razvoja više nije bilo razlike u razinama VEGF mRNA između dvije analizirane skupine. Koncentracije PIGF mRNA nisu se značajno razlikovale među skupinama. Razine mRNA receptora bile su slične u obje skupine 55. dana razvoja, ali je ekspresija VEGFR-1 i VEGFR-2 mRNA u hipertermnoj skupini s fetalne strane 90. dana razvoja bila smanjena otprilike 50%. Autori su zaključili da je fetalni dio placentoma osjetljiviji na utjecaje okoliša. Povišene vrijednosti VEGF mRNA 55. dana razvoja ukazuju na ulogu VEGF-a u akutnoj modulaciji angiogeneze u stresnim uvjetima. Snižene koncentracije VEGFR-1 i VEGFR-2 mRNA je vjerojatno posljedica smanjenog broja receptora kao dio kroničnog odgovora. Može se zaključiti da promijenjene razine VEGF-a i broja receptora mijenjaju razvoj krvnih žila i posljedično uzrokuju razvoj posteljice suboptimalne funkcije.

### 8.3. Ekspresija VEGF-a je nepromijenjena

Tse i suradnici [2001] prikupili su 17 posteljica iz trudnoća kompliciranih IUZR-om s očuvanim protokom krvi na kraju dijastole i 17 kontrolnih posteljica. Imunohistokemijskim bojanjem prikazali su ekspresiju VEGF-a u sinciciotrofoblastu korionskih resica i

intermedijarnom trofoblastu decidue. Nije bilo razlike u ekspresiji VEGF-a između posteljica s IUZR-om i normalnih posteljica. Autori su uočili povezanost intenziteta VEGF obojanosti i Apgar rezultata u 1. minuti. Usporedbom s rezultatima drugih istraživača zaključili su da se ekspresija VEGF-a, iako on ima važnu ulogu u angiogenezi, zbog varijabilnosti ne može koristiti u svrhu procjene ukupnog učinka poremećenog uteroplacentnog ili fetoplacentnog krvotoka.

### 8.4. Ekspresija VEGF-a je smanjena

Lyall i suradnici [1997] su proveli istraživanje u kojem su prikupili 24 uzorka pupčane venske krvi iz trudnoća kompliciranih preeklampsijom (od kojih su 4 imale i IUZR) i 24 kontrolna uzorka te su ELISA testom mjerili ekspresiju VEGF-a. Nije pronađena statistički značajna razlika.

Osim toga, prikupili su 9 posteljica iz trudnoća s preeklampsijom, 7 iz trudnoća s preeklampsijom i IUZR-om, 9 posteljica iz trudnoća kompliciranih samo IUZR-om te 11 kontrolnih posteljica. IUZR su definirali kao procijenjenu tjelesnu masu fetusa ispod 5. centile i nedostatak protoka krvi na kraju dijastole dokazan doplerskom pretragom krvnih žila pupkovine. Imunohistokemijskim bojanjem prikazali su ekspresiju VEGF-a u sinciciotrofoblastu i stromalnim stanicama resica. Intenzitet bojanja VEGF-a u sinciciotrofoblastu bio je značajno smanjen u skupini kompliciranoj preeklampsijom s ili bez IUZR-a. Autori su zaključili da je smanjena ekspresija VEGF-a povezana s povišenim interviloznim $pO_2$.

Jarvenpaa i suradnici [2007] su proučavali ekspresiju raznih gena u posteljicama iz dviju trudnoća kompliciranih preeklampsijom i IUZR-om i tri iz normalnih trudnoća. Profiliranje genske ekspresije je pokazalo smanjenu ekspresiju 9 gena, među kojima i gena *VEGF*, te

povećanu ekspresiju 4 gena u posteljicama iz trudnoća s preeklampsijom i IUZR-om u odnosu na kontrolnu skupinu.

### 8.5. Ekspresija PIGF-a je pojačana

Khaliq i suradnici [1999] su dokazali pojačanu ekspresiju PIGF-a u posteljicama iz trudnoća kompliciranih IUZR-om i visokim razinama kisika u interviloznom prostoru. Pokazali su da u prvom tromjesečju PIGF-2 inhibira rast endotelnih stanica te da koči bazalno otpuštanje NO, koji stimulira angiogenezu, iz trofoblasta.

### 8.6. Ekspresija PIGF-a je smanjena

Malamitsi-Puchner i suradnici [2005] su proveli istraživanje 25 slučaja asimetričnog IUZR-a i 25 kontrolnih trudnoća. Sakupili su sljedeće uzorke: majčinu vensku krv tijekom prvog stadija poroda ili prije anestezije u slučaju elektivnog carskog reza, krv iz dvostruko stegnute pupkovine (miješana arterio-venska fetalna krv) i krv novorođenčeta prvog i četvrtog dana nakon rođenja. U uzorcima su mjerili razine VEGF-a i PIGF-a. U skupini sa zastojem u rastu u majčinoj krvi pronašli su snižene vrijednosti PIGF-a i pozitivan odnos s porođajnom masom djeteta te negativnu korelaciju s majčinom tjelesnom težinom na početku trudnoće.

Helske i suradnici [2001] sakupljali su posteljice te uzorke amnionske tekućine i majčine krvi iz trudnoća kompliciranih preeklampsijom, dijabetesom, fetalnim alkoholnim sindromom, IUZR-om te zdrave kontrole. Analiza je pokazala najjaču ekspresiju VEGF-a u endotelnim stanicama velikih krvnih žila resica, ali bez značajne razlike u intenzitetu bojanja između skupina. U 50% uzoraka posteljica iz trudnoća s teškom preeklampsijom i IUZR-om nađena

je i povećana ekspresija VEGFR-1 u sinciciotrofoblastu. U serumu su mjerili razine PIGF-a čije su vrijednosti snižene u krvi iz trudnoća kompliciranih preeklampsijom i IUZR-om.

### 8.7. Ekspresija sVEGFR-1 je pojačana

Li i suradnici [2005] su izolirali stanice trofoblasta iz posteljica normalnih trudnoća i držali ih *in vitro* tri dana u normoksičnim (21% $O_2$) i hipoksičnim uvjetima (2% $O_2$). Rezultati su pokazali da su u stanicama trofoblasta pod hipoksičnim uvjetima više razine sVEGFR-1 i VEGFR-1 mRNA u odnosu na normoksične uvjete i da su u korelaciji s povećanom sintezom lipidne peroksidaze, koja je indikator oksidativnog stresa. Nađena je i pojačana ekspresija VEGF-a i VEGF mRNA, te smanjena ekspresija PIGF-a i PIGF mRNA. Autori su zaključili da hipoksijom induciran porast sVEGFR-1 koncentracije i nesrazmjer VEGF/PIGF sinteze mogu doprinijeti abnormalnostima posteljice.

Savvidou i suradnici [2006] su na uzorku normalnog nalaza doplerske pretrage uterine arterije u 42 trudnice, abnormalnog nalaza doplerske pretrage u 49 trudnica te abnormalnog nalaza doplerske pretrage (nedostatak ili obrnuti tok krvi na kraju dijastole) i IUZR-om u 15 trudnica dokazali povišene razine sVEGR-1 i snižene razine VEGF-a u skupini s IUZR-om. Međutim, nešto više koncentracije sVEGFR-1 u trudnica s lošijim ishodom svih skupina nisu bile statistički značajne.

McCarthy i suradnici [2007] su istražili ekspresiju gena u 4 posteljice iz trudnoća kompliciranih IUZR-om u odnosu na ekspresiju istih gena u 4 posteljice iz normalnih trudnoća. Rezultati su, između ostalog, pokazali u skupini s IUZR-om povišenu ekspresiju gena za sVEGFR-1, hCG i HIF-2α.

### 8.8. Ekspresija sVEGFR-1 je nepromijenjena

Wathén i suradnici [2006] su sakupili uzorke krvi 124 trudnica, od 12. do 15. i od 16. do 20. tjedna trudnoće. U 49 trudnica dijagnosticirana je preeklampsija, u 16 trudnica IUZR bez preeklampsije, a 59 je bilo normotenzivno. U uzorcima od 12. do 15. tjedna nije bilo statistički značajne razlike među koncentracijama sVEGFR-1. Međutim, u uzorcima iz kasnijih razdoblja trudnoće povišene koncentracije sVEGFR-1 nađene su samo u trudnica s preeklampsijom.

## 9. Zaključak

Poremećaji vaskulogeneze i angiogeneze u posteljici dovode do poremećaja u rastu fetusa, smrti fetusa ili teških neuroloških posljedica kasnije u životu. Čimbenici rasta posteljice su zasigurno važan dio patofiziologije fetalnog zastoja u rastu, iako se još ne zna točno što je uzrok, a što posljedica. Promijenjeni odnosi koncentracija VEGF-a i PIGF-a te njihovih receptora mogu pridonijeti razvoju fetalnog zastoja u rastu.

Razna istraživanja imaju proturječne rezultate ekspresije čimbenika rasta. Razlog tomu mogu biti različita uzorkovanja ispitanika, tj. različito definiranje IUZR-a. U nekim je istraživanjima uzorak bio malen i rezultat nije reprezentativan. Korištene su različite metode, kao i različita anti-VEGF protutijela u imunohistokemijskom bojanju. Osim toga, nisu svi istraživači definirali vrstu hipoksije i je li protok krvi kroz pupkovinu na kraju dijastole očuvan, nedostaje li ili je obrnut. Već opisani različiti mehanizmi hipoksije uzrokuju različite $pO_2$ u interviloznom prostoru i posljedično logičnu promjenu u VEGF i PIGF ekspresiji.

Određivanje koncentracija čimbenika rasta u patoloških trudnoća moglo bi biti važno u predviđanju i ranom otkrivanju fetalnog zastoja u rastu, kao i povezanosti jačine ekspresije čimbenika s težinom posljedica i krajnjim ishodom.

## 10. Zahvale

Zahvaljujem se mentorici, prof. Aidi Salihagić Kadić, na trudu, savjetima i prilici da surađujem s njom.

Zahvaljujem se Maji Predojević, dr.med., na prilici za sudjelovanje na raznim projektima i pomoći pri nabavci literature.

Zahvaljujem se ostalim članovima povjerenstva za diplomske radove što su odvojili vrijeme za čitanje i kritičku evaluaciju ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem se svim profesorima, doktorima, sestrama i svom osoblju koji su sudjelovali u mojoj edukaciji tijekom studija na Medicinskom fakultetu.

Zahvaljujem se svojoj obitelji na neizmjernoj moralnoj i materijalnoj pomoći tijekom cijelog školovanja i na beziznimnoj vjeri u moj uspjeh.

Zahvaljujem se svome dečku, Bruni Babojelić, na pruženoj podršci i ljubavi.

Zahvaljujem se svome bratu, Nikoli Predovan i Karolini Gucunski na pomoći pri prikupljanju literature.

## 11. Literatura

[1] Arroyo JA, Winn VD (2008)Vasculogenesis and angiogenesis in the IUGR placenta. Semin Perinatol. 32(3):172-7.

[2] Bais JM, Eskes M, Pel M, Bonsel GJ, Bleker OP (2004) Effectiveness of detection of intrauterine growth retardation by abdominal palpation as screening test in a low risk population: an observational study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 116(2):164-9.

[3] Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME (1989) Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. BMJ. 289:564-567.

[4] Barut F, Barut A, Gun BD, Kandemir NO, Harma MI, Harma M, Aktunc E, Ozdamar SO (2010) Intrauterine growth restriction and placental angiogenesis. Diagn Pathol. 5:24

[5] Benirschke K, Kaufmann P, Baergen R (2006) Pathology of the Human Placenta. 5th edn. New York: Springer.

[6] Borras D, Perales-Puchalt A, Ruiz Sacedón N, Perales A (2014) Angiogenic growth factors in maternal and fetal serum in pregnancies complicated with intrauterine growth restriction. J Obstet Gynaecol. 34(3):218-20.

[7] Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, Fahrig M, Vandenhoeck A, Harpal K, Eberhardt C, Declercq C, Pawling J, Moons L, Collen D, Risau W, Nagy A (1996) Normal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. Nature. 380:435–439.

[8] Chammas MF, Nguyen TM, Li MA, Nuwayhid BS, Castro LC (2000) Expectant management of severe preterm preeclampsia: is intrauterine growth restriction an indication for immediate delivery? Am J Obstet Gynecol. 183(4):853-8.

[9] Chappell LC, Seed PT, Briley A, Kelly FJ, Hunt BJ, Charnock-Jones DS, Mallet AI, Poston L (2002) A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 187:127–36.

[10] Charnock-Jones DS1, Kaufmann P, Mayhew TM (2004) Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. I. Molecular regulation. Placenta. 25(2-3):103-13.

[11] Clark DE, Smith SK, He Y, Day KA, Licence DR, Corps AN, Lammoglia R, Charnock-Jones DS (1998) A vascular endothelial growth factor antagonist is produced by the human placenta and released into the maternal circulation. Biol Reprod. 59(6):1540-8.

[12] Demir R1, Seval Y, Huppertz B (2007) Vasculogenesis and angiogenesis in the early human placenta. Acta Histochem. 109(4):257-65.

[13] Déry MA, Michaud MD, Richard DE (2005) Hypoxia-inducible factor 1: regulation by hypoxic and non-hypoxic activators. Int J Biochem Cell Biol. 37(3):535-40.

[14] Đelmiš J, Orešković S (2014) Fetalna medicina i opstetricija, Zagreb, Medicinska naklada.

[15] Evans PW, Wheeler T, Anthony FW, Osmond C (1998) A longitudinal study of maternal serum vascular endothelial growth factor in early pregnancy. Hum Reprod. 13:1057–62.

[16] Ferrara N, Carver Moore K, Chen H, Dowd M, Lu L, O'Shea KS, Powell Braxton L, Hillan KJ, Moore MW (1996) Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. Nature. 380:439–442.

[17] Ferrara N (2004)Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. Endocr Rev. 25(4):581-611.

[18] Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M, Breitman ML (1995) Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. Nature. 376(6535):66-70.

[19] Guyton AC, Hall JE (2006) Medicinska fiziologija, Zagreb, Medicinska naklada.

[20] Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, Fisher SJ (1997) Regulation of human placental development by oxygen tension. Science. 277:1669-1672.

[21] Geva R, Eshel R, Leitner Y, Valevski AF, Harel S (2006) Neuropsychological outcome of children with intrauterine growth restriction: a 9-year prospective study. Pediatrics. 118(1):91-100.

[22] Harkness UF, Mari G (2004) Diagnosis and management of intrauterine growth restriction. Clin Perinatol. 31(4):743-64.

[23] Helske S, Vuorela P, Carpén O, Hornig C, Weich H, Halmesmäki E (2001) Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies. Mol Hum Reprod. 7(2):205-10.

[24] Huppertz B, Peeters LL (2005) Vascular biology in implantation and placentation. Angiogenesis. 8(2):157-67.

[25] Hutter D, Kingdom J, Jaeggi E (2010) Causes and mechanisms of intrauterine hypoxia and its impact on the fetal cardiovascular system: a review. Int J Pediatr. 2010:401323

[26] Jacobsson B, Ahlin K, Francis A, Hagberg G, Hagberg H, Gardosi J (2008) Cerebral palsy and restricted growth status at birth: population-based case-control study. BJOG. 115(10):1250-1255.

[27] Jarvenpaa J, Vuoristo JT, Savolainen ER, Ukkola O, Vaskivuo T, Ryynanen M (2007) Altered expression of angiogenesis-related placental genes in pre-eclampsia associated with intrauterine growth restriction. Gynecol Endocrinol. 23(6):351-5.

[28] Karsdorp VH, van Vugt JM, van Geijn HP, Kostense PJ, Arduini D, Montenegro N, Todros T (1994) Clinical significance of absent or reversed end diastolic velocity waveforms in umbilical artery. Lancet. 344(8938):1664-8.

[29] Kaufmann P, Sen DK, Schweikhart G (1979) Classification of human placental villi. I. Histology. Cell Tissue Res. 200(3):409-23.

[30] Kaufmann P, Mayhew TM, Charnock-Jones DS (2004) Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. II. Changes during normal pregnancy. Placenta. 25(2-3):114-26.

[31] Khaliq A, Dunk C, Jiang J, Shams M, Li XF, Acevedo C, Weich H, Whittle M, Ahmed A (1999) Hypoxia down-regulates placenta growth factor, whereas fetal growth restriction up-regulates placenta growth factor expression: molecular evidence for "placental hyperoxia" in intrauterine growth restriction. Lab Invest. 79(2):151-70.

[32] Kimura H, Esumi H (2003) Reciprocal regulation between nitric oxide and vascular endothelial growth factor in angiogenesis. Acta Biochim Pol. 50(1):49-59.

[33] Kingdom JC, Kaufmann P (1997) Oxygen and placental villous development: origins of fetal hypoxia. Placenta. 18(8):613-21.

[34] Kos M, Leniček T (2011) Osnove patologije posteljice, Zagreb, Medicinska naklada.

[35] Kumazaki K, Nakayama M, Suehara N, Wada Y (2002) Expression of vascular endothelial growth factor, placental growth factor, and their receptors Flt-1 and KDR in human placenta under pathologic conditions. Hum Pathol. 33(11):1069-77.

[36] Kuvačić I, Kurjak A, Đelmiš J et al. (2009) Porodništvo, Zagreb, Medicinska naklada.

[37] Larciprete G, Valensise H, Di Pierro G, Vasapollo B, Casalino B, Arduini D, Jarvis S, Cirese E (2005) Intrauterine growth restriction and fetal body composition. Ultrasound Obstet Gynecol. 26(3):258-62.

[38] Lash GE, Taylor CM, Trew AJ, Cooper S, Anthony FW, Wheeler T, Baker PN (2002) Vascular endothelial growth factor and placental growth factor release in cultured trophoblast cells under different oxygen tensions. Growth Factors. 20(4):189-96.

[39] Li H, Gu B, Zhang Y, Lewis DF, Wang Y (2005) Hypoxia-induced increase in soluble flt-1 production correlates with enhanced oxidative stress in trophoblast cells from human placenta. Placenta 26:210-217.

[40] Lin CC1, Sheikh Z, Lopata R (1990) The association between oligohydramnios and intrauterine growth retardation. Obstet Gynecol. 76(6):1100-4.

[41] Liu Y, Cox SR, Morita T, Kourembanas S (1995) Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor gene expression in endothelial cells. Identification of a 5' enhancer. Circ Res. 77(3):638-43.

[42] Lyall F, Young A, Boswell F, Kingdom JC, Greer IA (1997) Placental expression of vascular endothelial growth factor in placentae from pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction does not support placental hypoxia at delivery. Placenta. 18(4):269-276.

[43] Malamitsi-Puchner A, Boutsikou T, Economou E, Sarandakou A, Makrakis E, Hassiakos D, Creatsas G (2005) Vascular endothelial growth factor and placenta growth factor in intrauterine growth-restricted fetuses and neonates. Mediators Inflamm. 2005(5):293-7.

[44] Manning FA, Platt LD, Sipos L (1980) Antepartum fetal evaluation: development of a fetal biophysical profile. Am J Obstet Gynecol. 136(6):787-95.

[45] Mardešić et al (2003) Pedijatrija, Zagreb, Školska knjiga.

[46] McCarthy C, Cotter FE, McElwaine S, Twomey A, Mooney EE, Ryan F, Vaughan J (2007) Altered gene expression patterns in intrauterine growth restriction: potential role of hypoxia. Am J Obstet Gynecol. 196(1):70.

[47] Minchenko A, Bauer T, Salceda S, Caro J (1994) Hypoxic stimulation of vascular endothelial growth factor expression in vitro and in vivo. Lab Invest. 71(3):174-379.

[48] Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z (1999) Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. FASEB J. 13(1):9-22.

[49] Otrock ZK, Makarem JA, Shamseddine AI (2007) Vascular endothelial growth factor family and receptors: review. Blood Cells Mol Dis. 38:258-268.

[50] Park JE, Keller GA, Ferrara N (1992)The vascular endothelial growth factor (VEGF) isoforms: differential deposition into the subepithelial extracellular matrix and bioactivity of extracellular matrix-bound VEGF. Mol Biol Cell. 4(12):1317-1326.

[51] Patan S (2000) Vasculogenesis and angiogenesis as mechanisms of vascular network formation, growth and remodeling. J Neurooncol. 50(1-2):1-15.

[52] Peleg D, Kennedy CM, Hunter SK (1998) Intrauterine growth restriction: identification and management. Am Fam Physician. 58(2):453-460.

[53] Predojevic M, Vukojevic K, Saraga-Babić M, Kos M, Starčević M, Predovan M, Salihagić Kadić A (2013) Expression of VEGF in normal and pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. Period biol. 115(2):49.

[54] Regnault TR, Orbus RJ, de Vrijer B, Davidsen ML, Galan HL, Wilkening RB, Anthony RV (2002) Placental expression of VEGF, PlGF and their receptors in a model of placental insufficiency-intrauterine growth restriction (PI-IUGR). Placenta. 23(2-3):132-44.

[55] Sadler TW (2008) Medicinska embriologija, Zagreb, Školska knjiga.

[56] Salihagić-Kadić A, Medić M, Jugović D, Kos M, Latin V, Kusan Jukić M, Arbeille P (2006) Fetal cerebrovascular response to chronic hypoxia--implications for the prevention of brain damage. J Matern Fetal Neonatal Med. 19(7):387-96.

[57] Savvidou MD, Yu CK, Harland LC, Hingorani AD, Nicolaides KH (2006) Maternal serum concentration of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and vascular endothelial growth factor in women with abnormal uterine artery Doppler and in those with fetal growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 195(6):1668-73

[58] Schiessl B, Innes BA, Bulmer JN, Otun HA, Chadwick TJ, Robson SC, Lash GE (2009) Localization of angiogenic growth factors and their receptors in the human placental bed throughout normal human pregnancy. Placenta. 30(1):79-87.

[59] Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, Gertsenstein M, Wu XF, Breitman ML, Schuh AC (1995) Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. Nature. 376(6535):62-6.

[60] Shalaby F, Ho J, Stanford WL, Fischer KD, Schuh AC, Schwartz L, Bernstein A, Rossant J (1997) A requirement for Flk1 in primitive and definitive hematopoiesis and vasculogenesis. Cell. 89(6):981-90.

[61] Shih SC, Claffey KP (1999) Regulation of human vascular endothelial growth factor mRNA stability in hypoxia by heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L. J Biol Chem. 274(3):1359-1365.

[62] Shima DT, Deutsch U, D'Amore PA (1995) Hypoxic induction of vascular endothelial growth factor (VEGF) in human epithelial cells is mediated by increases in mRNA stability. FESB Lett. 370(3):203-208.

[63] Shore VH, Wang TH, Wang CL, Torry RJ, Caudle MR, Torry DS (1997) Vascular endothelial growth factor, placenta growth factor and their receptors in isolated human trophoblast. Placenta. 18(8):657-665.

[64] Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E (1992) Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. Nature. 359(6398):843-5.

[65] Szentpéteri I, Rab A, Kornya L, Kovács P, Joó JG (2013) Gene expression patterns of vascular endothelial growth factor (VEGF-A) in human placenta from pregnancies with intrauterine growth restriction. J Matern Fetal Neonatal Med. 26(10):984-9.

[66] Tucci M, Hammerman SI, Furfaro S, Saukonnen JJ, Conca TJ, Farber HW (1997) Distinct effect of hypoxia on endothelial cell proliferation and cycling. Am J Physiol. 272:1700-1708.

[67] Tse JY, Lao TT, Chan CC, Chiu PM, Cheung AN (2001) Expression of vascular endothelial growth factor in third-trimester placentas is not increased in growth-restricted fetuses. J Soc Gynecol Investig. 8(2):77-82.

[68] Zachary I (1998)Vascular endothelial growth factor. Int J Biochem Cell Biol. 30(11):1169-1174.

[69] Zygmunt M, Herr F, Münstedt K, Lang U, Liang OD (2003) Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.

[70] Wang Y, Zhao S (2010) Vascular biology of the placenta, San Rafael, Morgan & Claypool life sciences.

[71] Warsof SL, Cooper DJ, Little D, Campbell S (1986) Routine ultrasound screening for antenatal detection of intrauterine growth retardation. Obstet Gynecol. 67(1):33-9.

[72] Wathén KA, Tuutti E, Stenman UH, Alfthan H, Halmesmäki E, Finne P, Ylikorkala O, Vuorela P (2006) Maternal serum-soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 in early pregnancy ending in preeclampsia or intrauterine growth retardation. J Clin Endocrinol Metab. 91(1):180-4.

## 12. Životopis

Rođena sam 18.02.1991. u Zagrebu.

Pohađala sam Osnovnu školu Tituša Brezovačkog u Zagrebu.

Od 2005. do 2009. pohađala sam matematički smjer Gimnazije Lucijana Vranjanina. Tijekom školovanja prolazila sam odličnim uspjehom i sudjelovala na natjecanjima iz biologije, matematike, fizike, latinskog i hrvatskog jezika.

Od 2009. do 2015. godine pohađam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
Od 2013. godine me stipendira Grad Zagreb.
Radila sam kao demonstrator predmeta histologija i embriologija te klinička propedeutika.

Tijekom studija bila sam aktivan član CroMSIC-a.

Završila sam edukaciju za Y-PEER edukatora i držala predavanja o spolno prenosivim bolestima u srednjim školama.

Napisala sam članak naziva 'Seksualna anamneza' za Medicinar.

Sudjelovala sam na trećem kongresu Hrvatskog društva fiziologa i sedmom kongresu Društva nastavnika opće/obiteljske medicine prezentacijom plakata.
Položila sam tečaj osnovnih postupaka oživljavanja uz korištenje automatskih vanjskih defibrilatora u organizaciji Hrvatskog društva za reanimatologiju.

Volontirala sam na Festivalu jednakih mogućnosti 2015. godine.

Aktivno se koristim engleskim jezikom, posjedujem certifikat A2-2 razine njemačkog jezika te učim hrvatski znakovni jezik.

-the end-