

¹Klinika za ženske bolesti i porode Kliničkog bolničkog centra u Zagrebu; ²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

ČIMBENICI ANGIOGENEZE U ZDRAVIH I DIJABETIČNIH TRUDNICA

¹Jozo Blajić i ^{1,2}Josip Đelmiš

Izvorni članak

Ključne riječi: trudnoća, dijabetes tipa 1, placenta, PIGF, VEGF, sVEGFR-1, IGF-II

SAŽETAK. Vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF), placentalni čimbenik rasta (PIGF), inzulinu sličan čimbenik rasta (IGF-II) i topljivi receptor VEGF-1 imaju neposredan utjecaj na rast i funkciju fetoplacentalnih krvnih žila. *Cilj istraživanja* je bio odrediti koncentraciju posteljinih čimbenika angiogeneze (VEGF, PIGF, IGF-II) i topljivog receptora VEGFR-1 ili sFlt-1 u zdravih trudnica i trudnica s dijabetesom tipa-1. *Sudionice i način istraživanja.* U istraživanje su uključene 42 trudnice s dijabetesom tipa-1 (DM-1) i 34 zdrave trudnice (kontrolna skupina). Iz uzoraka krvi tijekom trudnoće kao i pupčane vene neposredno nakon porođaja određivani su VEGF, PIGF, IGF-II i sVEGFR-1 (sFlt-1). *Rezultati.* Vrijednosti PIGF-a i sVEGFR-1 su tijekom trudnoće nešto više u trudnica s DM-1, ali nisu nađene značajne razlike. Omjeri sVEGFR-1/PIGF su niski tijekom trudnoće u obje istraživane skupine (kontrolna skupina 9,6 i DM-1 9,4 između 16–20 tjedna trudnoće, a između 32–36 tjedna trudnoće: kontrolna skupina 4,6 i DM-1 3,7). Razina PIGF-a u pupčanoj veni je niža (kontrolna skupina medijan 29,6, a DM-1 medijan 27,2) u odnosu na razinu PIGF seruma majke (kontrolna skupina medijan 122,3, a DM-1 medijan 141,5). *Zaključak.* Tijekom trudnoće dolazi do značajnog porasta PIGF-a i VEGFR-1 u obje istraživane skupine. Omjeri između sVEGFR-1/PIGF su u obje istraživane skupine tijekom trudnoće bili niski i nisu predskazivali razvoj preeklampsije i IUGR. Ni jedna trudnica nije razvila gestacijsku hipertenziju, a ni preeklampsiju.

Uvod

Krvožilni sustav je prvi organski sustav koji se razvija, a njegovo javljanje potiče razvoj drugih organa i povezano s time organotipsku diferencijaciju njihovih vlastitih vaskularnih osnova. Jednako tako kao što je diferencijacija organa tijekom embriogeneze potpomognuta fetalnom vaskularnom morfogenezom, tako su posteljini rast i diferencijacija potpomognuti uspostavom fetoplacentalnog krvožilnog sustava. Doista, tijekom cijelog gestacijskog razdoblja, povećane potrebe rastuće fetalne mase povezane su s trajnom prilagodbom strukture i funkcijskog kapaciteta placente i njene fetalne vaskularne osnove.

Dijabetes mellitus (DM) dokazano je povezan s ubrzanom mikroangiopatijom (u okviru dijabetičke retinopatije, nefropatije i neuropatije), a ovo pak može biti povezano s kapilarnom hipertenzijom i promjenama u permeabilnosti kapilara. Dijabetični *milieu* uključuje hipoksiju, hiperglikemiju, povišen vaskularni endotelni čimbenik rasta, slobodne radikale kisika, završne proizvode glikozilacije, citokine i medijatore upale. Za čimbenike angiogeneze se zna da oštećuju funkciju endotelne barijere ili da imaju izrazit angiogeni učinak. Pojačana angiogeneza uobičajeno je obilježje dijabetične vaskulopatije, posebice kod dijabetičnih komplikacija u okviru proliferativne retinopatije (1).

Vaskularna morfogeneza. Ovaj pojam obuhvaća niz procesa koji dovode do uspostave zrele vaskularne mreže. Ovi procesi uključuju:

- Vaskulogenezu, odnosno nastajanje krvnih žila iz hemangioblastičnih prekursorskih stanica

- Angiogenezu, nastajanje krvnih žila iz postojećih krvnih žila
- Stvaranje mreže krvnih žila
- Stvaranje zrele mreže krvnih žila koja sadrži arterije, kapilare i vene.

Čimbenici koji sudjeluju u razvoju krvnih žila placentalnih resica su:

a) Vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF) za čiju je sintezu potrebno aktiviranje gena na kromosomu 6. Mutacija gena odgovornih za stvaranje receptora za VEGF (VEGFR) uzrokuje izostanak vaskulogeneze i hematopoeze u mezodermu stijenke žumanjčane vreće. Vežanjem za receptor VEGF-a ima dvostruko djelovanje: stimulira mitozu stanice te aktivira enzim NOS-a i izlučivanje NO-a. U prvom tromjesečju trudnoće VEGF nastaje u korijalnim resicama (u sinciciotrofoblastu, u stanicama strome i u endotelu krvnih žila), u decidualnim stanicama i u izvanresičnom citotrofoblastu. U zreloj placenti sintetiziraju ga samo sinciciotrofoblast i izvanresični citotrofoblast.

b) Placentalni čimbenik rasta (PIGF) za čiju je sintezu potrebno aktiviranje gena na kromosomu 14. Tijekom trudnoće koncentracija ovog čimbenika povećava se u majčinoj krvi, a smanjuje u amniotskoj tekućini. PIGF nastaje u sinciciotrofoblastu i/ili u citotrofoblastu, u endotelu i u mediji krvnih žila resica te u decidualnim stanicama. Hipoksija uzrokuje porast koncentracije VEGF-a, a smanjeno izlučivanje PIGF-a.

Diferencijacija i razvitak fetoplacentalnih krvnih žila rezultat su vaskulogeneze i angiogeneze, dok je prilagodba spiralnih arterija posljedica angiogeneze (2).

Usklađivanje ovih razvojnih procesa pod nadzorom je obitelji lokalno djelujućih angiogenih čimbenika rasta kao što su placentarni (PlGF), vaskularni endotelijalni (VEGF), angiopoetin (An 1) i njihovi receptori. Ostali poticajni angiogeni čimbenici identificirani u posteljici su FGF i hepatocitni faktor rasta (HGF), PDGF, IGF, TGF α i $-\beta$, IL-8 (3).

Ang-1 i VEGF sinergistički stimuliraju angiogenezu. VEGF utječe na proliferaciju fetoplacentarnog krvožilja, a angiopoetini, dominantni u drugoj polovici trudnoće značajni su za organizaciju i stabilizaciju majčinskih endotelnih stanica i pericita. Nedostatak Ang-1 manifestira se kardiovaskularnim oštećenjem i umiranjem fetusa u drugoj polovici trudnoće. Primarna funkcija Ang-2 je vaskularna regresija. Najviše ga ima oko desetog tjedna trudnoće u majčinskim endotelnim stanicama (4).

Čimbenici rasta nakon vezanja za odgovarajuće receptore na staničnoj površini započinju staničnu fosforilacijsku kaskadu čiji rezultat je aktivacija mitogenih protein kinaza (5). Obitelj VEGF-a veže se za tri različita tirozin kinaza receptora: Flt-1 (VEGFR-1), KDR/Flk (VEGFR-2) i Flt-4 (VEGFR-3). Prva dva su slične građe: sedam petlji sličnih imunoglobulinu u izvanstaničnoj domeni, jedinstvena transmembranska hidrofobna domena i dugačka jedinstvena citoplazmatska katalitička domena koja je prekinuta nekatalitičkim, tzv. umetnutim kinaza regijama. Visoko su specifični za vaskularni endotel, ali su otkriveni i u posteljici te mišićju maternice (6).

Nakon vezanja s ligandom zbiva se dimerizacija receptora i transfosforilacija tirozinskih ostataka u citoplazmatskoj domeni. Vezanje na suprotne polove VEGF-a, ovisno o vrsti receptora, olakšava provođenje signala. VEGFR-1 (Flt-1) se veže za aminokiselinske ostatke negativnog, a KDR pozitivnog naboja (7).

VEGFR-1 ili Flt-1 (*fms-like-tyrosine kinase*) ima molekularnu težinu 180 kDa. Nalazi se u endotelu posteljice resice, izvanresičastom trofoblastu i Hofbauerovim stanicama (8). Najznačajniji utjecaj VEGFR-1 (Flt-1) je oblikovanje endotela u ranim fazama razvitka.

In vitro, hipoksija stimulira ekspresiju VEGFR-1 (Flt-1), ali ne i KDR receptora (9). Koncentracije VEGFR-1 (Flt-1) i VEGFR-2 (Flk-1/KDR) su kod habitualnih pobačaja snižene u decidualnom endotelu, no ne i u posteljici (10).

Topljivi VEGFR-1 (sFlt-1) je kraći, molekulske mase oko 110 kDa koji je izoliran iz endotelnih stanica umbilikalne vene. Sadrži samo izvanstanični dio molekule, bez sedme petlje slične imunoglobulinu (11).

Topljivi receptor uglavnom stvara inaktivne komplekse s VEGF-om i VEGFR-2, a samo 5–10% je detektabilno u formi slobodnog proteina. Zbog inhibicije mitogene i proliferativne aktivnosti endotelnih stanica fiziološki je regulator angiogeneze (12).

Osim endotelnih, sFlt-1 sintetiziraju trofoblastne i decidualne stanice, monociti i dendriti. Topljivi VEGFR-1 (sFlt-1) ima visok afinitet za heparin (12).

Inzulinu slični čimbenici rasta (*insulin-like growth factors* (IGFs)) imaju značajnu ulogu u kontroli rasta i sazrijevanja kako fetusa tako i placent. Snabdijevanje ploda putem placent osnovnim supstratima kao što su kisik i prehrambene tvari s jedne strane određuje, izravno i neizravno, maksimum do kojega fetus može rasti, a s druge strane održava već formirana tkiva. Ograničena prehrana majke također mijenja i strukturu placent. Ograničena prehrana majke smanjuje placentu, uslijed čega dolazi do zaostajanja u rastu ploda i smanjenog kapaciteta razmjene tvari. Osim toga, ograničenje prehrane majke prouzročit će i druge promjene u strukturi placent, što dodatno podupire pretpostavku o reduciranoj funkciji razmjene supstrata. Među tim promjenama zabilježene su i povećana debljina sinciotrofoblasta kao i smanjenje sveukupne površine za razmjenu tvari, kako u sredini tako i na kraju trudnoće.

Ograničena prehrana majke mijenja i razinu cirkulirajućih IGF-a. Točnije, IGF-I, IGF-II i IGFBP-3 u plazmi se smanjuje dok IGFBP-2 raste, kako u sredini trudnoće tako i u visokoj trudnoći (13). U skladu s poznatom ulogom IGF-II u olakšavanju prodiranja citotrofoblasta u deciduu i u njezine krvne žile u početnoj trudnoći (14), reducirani cirkulirajući IGF-II majke, u sredini trudnoće ali ne i u visokoj trudnoći, povezan je sa smanjenom težinom fetusa kao i sa smanjenom površinom sinciotrofoblasta te s povećanom debljinom sinciotrofoblasta u zamoraca (15). U visokoj trudnoći, međutim, smanjen omjer IGF-II, IGFBP-2, te eventualno reducirana raspoloživost IGF-II u krvi majke, povezani su sa smanjenom težinom placente odnosno fetusa, što upućuje na postojanje interakcije između čimbenika rasta i vezujućih proteina u razdoblju placentalnog razvoja. S druge strane, majčin cirkulirajući IGF-I povezan je s modulacijom placentalnog razvoja u kasnijoj trudnoći. Smanjene vrijednosti cirkulirajućeg IGF-I i njegova glavno prenositelja IGFBP-3, kao i redukcija IGFBP-1 u krvi majke, povezani su sa smanjenom količinom trofoblasta i smanjenom prokrvoljenosti placent, uslijed čega je pred kraj trudnoće difuzija dodatno otežana. Ovi nalazi u skladu su s pretpostavkom da sistemski IGF-II u majci pospješuje rast placent i diferencijaciju u prvoj polovici trudnoće kada trofoblast prodiere u deciduu, dok sistemski IGF-I i modulacija njegove raspoloživosti (zahvaljujući snabdijevanju putem IGFBP-1 i -3) mogu utjecati na razvoj placentalne strukture tijekom druge polovice trudnoće, osobito u slučajevima kada je prehrana ograničena.

S obzirom na to da je dijabetes majke prilično česta komplikacija trudnoće, promjene na posteljici već su odavno privukle pozornost. Posteljice iz trudnoća s loše nadziranim dijabetesom su povećane, debele i pletričnog izgleda uslijed fetalne hipervolemije i majčine hiperglikemije (16). U slučajevima blage intolerancije glukoze u trudnoći je utvrđeno da je težina posteljice također povećana (kao i fetoplacentarni težinski omjer), dok se u slučaju dobro nadzirane razine glikemije težina posteljice ne razlikuje od normale (17).

Ciljevi istraživanja su sljedeći: 1. Odrediti koncentraciju PIGF-a, VEGF-a, sVEGFR-1 (sFlt-1) i IGF-II tijekom trudnoće; 2. Odrediti razliku koncentracije PIGF-a, VEGF-a, sVEGFR-1 (sFlt-1) i IGF-2 u istraživanim skupinama; 3. Izračunati omjer između koncentracija sVEGFR-1 i PIGF-a u pojedinim tjednima trudnoće. 4. Usporediti koncentraciju čimbenika angiogeneze u serumu majke i serumu pupčane vene.

Sudionice i način istraživanja

Istraživanje je prospektivno. Istraživanu skupinu čine 42 trudnice s dijabetesom tipa-1 (DM-1) bez komplikacija dijabetesa (retinopatije, nefropatije neuropatije i hipertenzije), a kontrolnu skupinu čine 34 zdrave trudnice odgovarajuće dobi i pariteta, te urednog tijeka jednodne trudnoće. Tijekom trudnoća je praćen uobičajenim mjerama antenatalne skrbi (redoviti ginekološki pregledi, laboratorijske pretrage, UZV pregledi, CTG). Gestacijska dob se računala od prvog dana zadnje mjesečnice, uz korekciju prema ultrazvučnoj dobi – nalazu mjerenja transvaginalnim ultrazvukom (u okviru rutinske obrade trudnice). Tijekom čitave trudnoće prikupljali su se uzorci venske krvi trudnica, i to u razmacima od 4–7 tjedna, prilikom redovitih kontrolnih pregleda. U porođaju su od roditelja uzimani uzorci krvi za određivanje serumskih koncentracija VEGF-a, sVEGFR-1, PIGF-a i IGF-II. Neposredno po porođaju uzeo se uzorak krvi iz pupčane vene, a posteljica je izvagana. Iz krvi je uobičajenim laboratorijskim postupkom (centrifugiranje na 4000 okr./min. tijekom 10 minuta, prikupljan nadtalog pipetom) izdvojen serum. Uzorci krvi su uzimani u standardne epruvete, a nakon centrifugiranja serum se čuvao na -75°C do određivanja čimbenika angiogeneze. VEGF, PIGF, sVEGFR-1 i IGF-II su se određivali ELISA metodom.

Serumske koncentracije PIGF-a, VEGF-a i IGF-II određivane su u Institutu „Ruđer Bošković”.

Zabilježen je način dovršenja porođaja, spol djeteta, porođajna težina i dužina novorođenčadi.

Statistička obrada učinjena je računalnim programom SPSS ver. 21.0, na osobnom računalu.

Izmjerene numeričke varijable su opisane sljedećim parametrima:

- aritmetičkom sredinom
- standardnom devijacijom

Primijenjeni su i neparametrijski statistički testovi kod nenormalne distribucije.

- Za usporedbe grupa u kombinaciji parova primijenjen Wilcoxonov test s korekcijom, s obzirom na uvjete višestrukog testiranja

Za usporedbu koncentracija PIGF-a, sVEGFR-1 VEGF-a i IGF-II izmjerenih tijekom trudnoće po pojedinim skupinama primijenjen je Wilcoxon-ov test.

Za sve testove razina značajnosti bila je $P < 0,05$.

Koncentracije PIGF-a, VEGFR-1, VEGF-a i IGF-II tijekom trudnoće grafički su prikazane „box plot” prikazom i regresijom.

Rezultati

Prikazani opći maternalni i neonatalni podatci se nisu razlikovali između istraživanih skupina (Tablica 1).

Uspoređujući vrijednosti PIGF-a tijekom trudnoće u dvije istraživane skupine nije nađena statistički znakovita razlika. Vrijednosti PIGF-a progresivno rastu od početka trudnoće do 31. tjedna trudnoće, kada su nađene najviše vrijednosti – razina PIGF-a između 27–31 tjedna trudnoće: kontrolna skupina ($390,41 \pm 138,07$) : DM-1 ($440,77 \pm 173,03$). Uspoređujući vrijednosti PIGF-a između dviju istraživanih skupina nije nađena statistički znakovita razlika. Nakon 31. tjedna trudnoće (između 32.–36. tjedna trudnoće) dolazi do pada vrijednosti PIGF-a u obje istraživane skupine. Još niže vrijednosti su nađene nakon 37. tjedna trudnoće. PIGF između 37–40 tjedana trudnoće: kontrolna skupina ($217,6 \pm 133,2$) : DM-1 ($196,0 \pm 135,6$). Uspoređujući vrijednosti PIGF-a između dviju istraživanih skupina nije nađena statistički znakovita razlika. (Tablica 2)

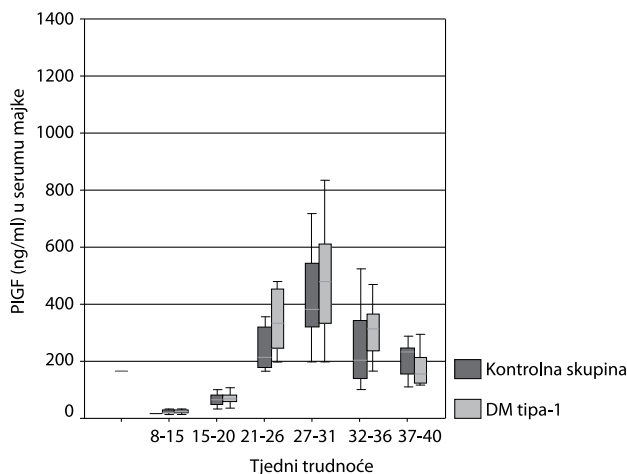
Tablica 1. Opći maternalni i neonatalni podatci

	Kontrolna skupina (n=38)	Trudnice s DM-1 (n=52)	P
Dob trudnice (godine)	29,0 \pm 4,6	29,6 \pm 4,8	n.s.
Trajanje trudnoće (tjedni)	39,8 \pm 1,4	39,2 \pm 1,2	n.s.
Težina novorođenčeta (g)	3373,0 \pm 53,8	3362,9 \pm 77,4	n.s.
Duljina novorođenčeta (cm)	50,1 \pm 2,0	49,3 \pm 4,3	n.s.
Apgar u 1. min.	9,6 \pm 0,9	9,2 \pm 1,7	n.s.
Apgar u 5. min.	9,9 \pm 0,3	9,7 \pm 1,4	n.s.
pH pupčane vene	7,25 \pm 0,06	0,24 \pm 0,09	n.s.
Spol novorođenčeta m/ž	19/19	24/28	n.s.

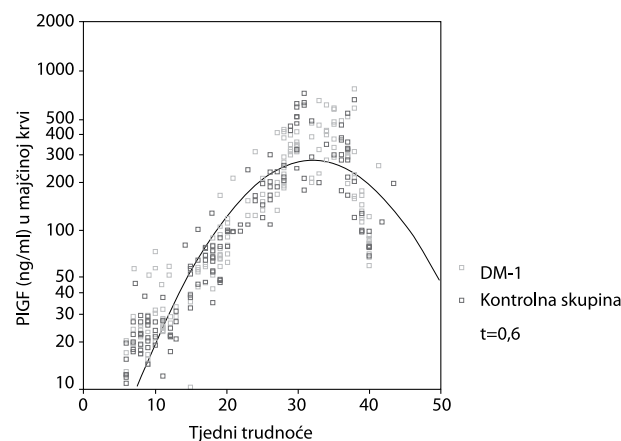
Tablica 2. Koncentracija PIGF tijekom trudnoće u istraživanim skupinama

	Kontrolna skupina (38)	Trudnice s DM-1 (52)	P
Koncentracija PIGF između 8–15 tjedana trudnoće (pg/mL)	21,7 \pm 4,9*	23,2 \pm 4,9*	n.s.
Koncentracija PIGF između 16–20 tjedana trudnoće (pg/mL)	62,9 \pm 17,7*	69,4 \pm 21,8*	n.s.
Koncentracija PIGF između 21–26 tjedana trudnoće (pg/mL)	212,9 \pm 153,8*	268,1 \pm 199,6*	n.s.
Koncentracija PIGF između 27–31 tjedana trudnoće (pg/mL)	390,4 \pm 138,1**	440,8 \pm 173,0**	<0,05
Koncentracija PIGF između 32–36 tjedana trudnoće	243,8 \pm 112,3**	312,4 \pm 181,4**	<0,05
Koncentracija PIGF između 37–40 tjedana trudnoće	217,6 \pm 133,2**	196,0 \pm 135,6**	n.s.

* $P < 0,001$, ** $P < 0,001$ Wilcoxon-ov test



Grafikon 1. Koncentracije PIGF-a u serumu DM-1 trudnica i trudnica kontrolne skupine tijekom trudnoće



Grafikon 2. Korelacija između koncentracija PIGF-a i tjedana trudnoće u dvije istraživane skupine trudnica ($r=0,6$; $P<0,001$)

Uspoređujući razinu PIGF-a između 8–15 tjedana trudnoće s razinom PIGF između 16–20 tjedana nađeno je značajno povećanje u obje skupine ($P<0,001$). Značajno povećanje razine PIGF-a nađeno je sve do 27–31 tjedana trudnoće, a između 27–31 tjedana i 32–36 tjedana trudnoće je nađeno značajno sniženje razine PIGF-a ($P<0,001$) u obje skupine. Značajno sniženje razine PIGF-a je nađeno između 32–36 tjedana i 37–40 tjedana trudnoće ($P<0,001$; Wilcoxon-ov test).

Grafikoni 1 i 2 prikazuju kretanje PIGF-a u dvije istraživane skupine tijekom trudnoće. Vrijednosti PIGF-a u trudnica s DM-1 su nešto više u odnosu na vrijednosti PIGF-a kontrolne skupine sve do 36. tjedna trudnoće, ali razlika nije statistički znakovita. Neposredno nakon porođaja dolazi do pada razine PIGF-a u obje skupine, nešto više u trudnica s DM-1, ali razlika nije statistički znakovita.

Vrijednosti u trudnica s dijabetesom su više nego u zdravih trudnica i u međusobnoj su korelaciji. Vrijednosti su povišene u trudnica s dijabetesom od 27. do 36. tjedna trudnoće u odnosu na vrijednosti kod zdravih trudnica.

Tablica 3. Koncentracija VEGF-a tijekom trudnoće i u porođaju u istraživanim skupinama

	Zdrave trudnice (n=34)	Trudnice s DM-1 (n=42)	P
Koncentracija VEGF-a između 8–15 tjedana trudnoće (pg/mL)	23,6±4,*	24,415±5,2989	n.s.
Koncentracija VEGF-a između 16–20 tjedana trudnoće (pg/mL)	19,1±3,5	20,2±4,8	n.s.
Koncentracija VEGF-a između 21–26 tjedana trudnoće (pg/mL)	19,74±3,9	20,4±4,1	n.s.
Koncentracija VEGF-a između 27–31 tjedana trudnoće (pg/mL)	16,9±2,*	20,7±5,0	<0,05
Razina VEGF-a između 32–36 tjedana trudnoće	21,2±6,5	23,1±5,4	n.s.
Koncentracija VEGF-a između 37–40 tjedana trudnoće	18,8±6,5*	24,1±5,41	n.s.
Koncentracija VEGF-a neposredno nakon porođaja	18,3±4,0	23,2±5,1	<0,05
Koncentracija VEGF-a u pupčanoj veni	755,8±482,5	924,2±648,6	n.s.

* $P<0,05$ Wilcoxon-ov test

Tablica 4. Koncentracija sVEGFR-1(Flt-1) tijekom trudnoće i u porođaju u istraživanim skupinama

	Kontrolna skupina (34)	Trudnice s DM-1 (42)	P
Koncentracija sVEGFR-1 između 8–15 tjedana trudnoće (pg/mL)	694,9±208,0	638,8±211,1	n.s.
Koncentracija sVEGFR-1 između 16–20 tjedana trudnoće (pg/mL)	606,9±153,5*#	649,8±300,0*#	n.s.
Koncentracija sVEGFR-1 između 21–26 tjedana trudnoće (pg/mL)	776,5±161,2	850,9±412,2	<0,05
Koncentracija sVEGFR-1 između 27–31 tjedana trudnoće (pg/mL)	690,7±170,9	712,1±266,4	n.s.
Koncentracija sVEGFR-1 između 32–36 tjedana trudnoće	1124,4±363,1*	1148,414±608,0*	n.s.
Koncentracija sVEGFR-1 između 37–40 tjedana trudnoće	1321,5±287,6#	1453,3±544,9#	n.s.
Koncentracija sVEGFR-1 neposredno nakon porođaja	1278,04±365,6	1543,84±608,0	n.s.

* $P<0,05$ # $P<0,01$ Wilcoxon-ov test

Uspoređujući pojedinačne vrijednosti razine PIGF-a u dvije istraživane skupine i tjedana trudnoće dobiven je statistički znakovit koeficijent korelacije ($r=0,6$; $P<0,001$).

Tablica 5. Omjer između VEGFR-1 i PIGF-a tijekom trudnoće

VEGFR-1/PIGF	Kontrolna skupina (34)	Trudnice s DM-1 (42)	P
8–15 tjedana trudnoće	32,2±4,1	27,5±2,1	n.s.
16–20 tjedana trudnoće	9,6±6,7	9,4±5,4	n.s.
21–26 tjedana trudnoće	3,6±0,7	1,9±0,3	<0,05
27–31 tjedana trudnoće	1,8±0,6	1,6±0,3	n.s.
32–36 tjedana trudnoće	4,6±1,2	3,7±1,3	n.s.
37–40 tjedana trudnoće	5,9±2,2	7,9±2,3	n.s.

Tablica 6. Koncentracija IGF-II tijekom trudnoće i u porođaju u istraživanim skupinama

	Kontrolna skupina (n=34)	Trudnice s DM-1 (n=42)	P
Koncentracija IGF-II između 8–15 tjedana trudnoće (pg/mL)	280,517±157,38	334,21±171,98	n.s.
Koncentracija IGF-II između 16–20 tjedana trudnoće (pg/mL)	342,620±184,96	385,0±227,56	n.s.
Koncentracija IGF-II između 21–26 tjedana trudnoće (pg/mL)	376,76±179,41	427,79±133,55	n.s.
Koncentracija IGF-II između 27–31 tjedana trudnoće (pg/mL)	421,750±217,15	476,03±173,88	n.s.
Koncentracija IGF-II između 32–36 tjedana trudnoće	487,275±224,13	531,143±179,81	n.s.
Koncentracija IGF-II između 37–40 tjedana trudnoće	504,25±205,97	556,09±199,61	n.s.

Tablica 3. prikazuju srednje vrijednosti VEGF-a majčine plazme u pojedinim tjednima trudnoće u dijabetičnih i zdravih trudnica. Najviše razine VEGF-a su nađene u prvih 15 tjedana trudnoće, trudnica s dijabetesom 24,415 pg/mL i zdravih trudnica 23,520 pg/mL. Nađene su više vrijednosti VEGF-a u dijabetičnih trudnica tijekom trudnoće, ali statistički znakovita razlika između istraživanih skupina je nađena samo između 27–31 tjedana trudnoće, trudnica s dijabetesom 20,744 i zdravih trudnica 16,871 pg/mL i neposredno nakon porođaja, trudnica s dijabetesom 23,183 i zdravih trudnica 18,383 pg/mL.

Uspoređujući razinu VEGF-a između 8–15 tjedana trudnoće s razinom PIGF-a između 28–32 tjedana nađeno je značajno sniženje u skupini zdravih trudnica ($P < 0,05$). Značajno sniženje razine VEGF-a nađeno je i između 8–15 tjedana trudnoće i između 37–40 tjedana ($P < 0,05$) u skupini zdravih trudnica. (Wilcoxon-ov test).

Tablica 4. prikazuju vrijednosti sVEGFR-1 tijekom pojedinih tjedana trudnoće u trudnica s dijabetesom i zdravih trudnica. Vrijednosti su više u trudnica s dijabetesom u odnosu na zdrave trudnice. Vrijednosti između 27–31 tjedana su više u DM-1 (712,1 pg/mL : kontrolna skupina 690,7 pg/mL) i rastu do porođaja (DM-1 1543,8 pg/mL : kontrolna skupina 1278,0 pg/mL) bez statistič-

Tablica 7. Koncentracije PIGF-a, sVEGFR-1, VEGF i IGF-II u majčinom serumu i serumu pupčane vene neposredno nakon porođaja. Vrijednosti pH, pO₂ i BE u krvi pupčane vene

	Kontrolna skupina (n=34)	Trudnice s DM-1 (n=42)	P
Koncentracija PIGF-a u majčinom serumu neposredno nakon porođaja (pg/ml)	122,3 (98,4–201,2)*	141,5 (95,7–203,8)*	n.s.
Koncentracija PIGF-a u serumu pupčane vene (pg/ml)	29,6 (28,4–30,0)*	27,2 (23,3–29,0)*	n.s.
Koncentracija VEGF-a majčinom serumu neposredno nakon porođaja	18,4±4,0**	23,2±5,1**	<0,05
Koncentracija VEGF-a u pupčanoj veni	736,9 (375,7–1003,4)**	753,0 (413,0–1365,9)**	n.s.
Koncentracija sVEGFR-1 u majčinom serumu neposredno nakon porođaja (pg/ml)	1230,9 (1044,4–1575,9)#	1399,4(1057,4–1760,4)#	n.s.
Koncentracija sVEGFR-1 u pupčanoj veni	65,4 (60,4–336,3)#	275,8 (193,7–362,3)#	n.s.
Koncentracija IGF-II neposredno nakon porođaja	537,17±249,03	598,04±163,24	n.s.
Koncentracija IGF-II u pupčanoj veni	168,200±133,36	199,355±48,24	n.s.
pH krvi umbilikalne arterije	7,3±0,0	7,2±0,1	n.s.
pO ₂ krvi umbilikalne arterije (kPa)	4,12±1,4	2,62±0,9	n.s.
Deficit baze u krvi umbilikalne arterije (mmol/L)	-7,3±1,6	-8,8±2,3	n.s.

* $P < 0,05$, ** $P < 0,001$, # $P < 0,05$ Wilcoxon-ov test

ke značajnosti, kao ni u koncentracijama sVEGFR-1 u umbilikalnoj veni.

Uspoređujući koncentraciju sVEGFR-1 između 16–20 tjedana s koncentracijom PIGF-a između 32–36 tjedana trudnoće nađeno je značajno povećanje u obje skupine ($P < 0,05$). Značajno povećanje razine sVEGFR-1 nađeno je kada se uspoređuju vrijednosti i između 16–20 tjedana i između 37–40 tjedana trudnoće ($P < 0,01$) u obje skupine. (Wilcoxon-ov test).

Značajno manji omjer između VEGFR-1 i PIGF-a je nađen u skupini DM-1 između 21–26 tjedana trudnoće ($P < 0,05$). Niski omjeri u obje istraživane skupine nisu predskazivali razvoj preeklampsije. (tablica 5).

Tablica 6. prikazuju koncentraciju IGF-II tijekom trudnoće u istraživanim skupinama. Vrijednosti su više u skupini trudnica s dijabetesom i povećavaju se tijekom trudnoće, ali nema statističke znakovitosti. Vrijednosti IGF-II u trudnica s dijabetesom kreću se od 334,213 do 598,04 pg/mL, a u zdravih trudnica od 280,517 do 537,17 pg/mL.

Koncentracija IGF-II u umbilikalnoj veni trudnica s dijabetesom je 199,35, a u zdravih trudnica 168,200 pg/mL i nema statističke znakovitosti.

Razina PIGF i sVEGFR-1 u pupčanoj veni su niže u odnosu na razinu PIGF i sVEGFR-1 seruma majke ($P < 0,05$) obje istraživane skupine. Razina VEGF je viša u pupčanoj veni u odnosu na razinu VEGF u serumu majke u obje istraživane skupine ($P < 0,001$).

Rasprava

Koncentracija PIGF-a u serumu zdravih i dijabetičnih trudnica se povećala oko četiri puta od prvog do početka trećeg tromjesečja (*tablica 2 i grafikon 1*). Ovo povećanje PIGF-a utječe na rast placente i održavanje adekvatne placentalne cirkulacije (18). Nakon 31. tjedna trudnoće u dijabetičnih i zdravih trudnica, dolazi do pada razine PIGF-a. U trudnica s preeklampsijom vrijednosti PIGF-a u serumu majke se neznatno mijenjaju od 20. tjedna trudnoće do porođaja. Te vrijednosti su niže od vrijednosti PIGF-a seruma zdravih trudnica. Ove razlike u razini PIGF-a mogu se objasniti razinom kisika u placenti. Dokazano je da je kisik glavni regulator ravnoteže VEGF-a i PIGF-a. Hipoksija povećava djelovanje VEGF, a hiperoksija smanjuje (19). Uspješna placentalacija dovodi do niskog otpora krvnih žila zbog transformacije spiralnih arterija.

Vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF) i placentalni čimbenik rasta (PIGF) su ključni čimbenici u angiogenezi placente (4). VEGF ispoljava svoje djelovanje preko svojih receptora (tirozin kinaze) VEGFR-1/Flt-1 i VEGFR2/KDR koji se nalaze u endotelnim stanicama. Dva receptora VEGFR-1/Flt-1 i VEGFR-2/KDR se smatraju da su specifični za endotel. U placenti endotelne i neendotelne stanice imaju VEGF receptore. VEGF se pokazao kao potentni stimulator endotelne stanične proliferacije i stvara PA (aktivator plazminogena) potreban za proteolitičko razaranje. Ovaj različit efekt se objašnjava činjenicom da se PIGF veže na VEGFR-1/Flt-1 ali ne i na VEGFR-2/KDR. Vezivanjem PIGF na VEGFR-1/Flt-1 nastaje ngranajuća angiogeneza. VEGF i VEGFR-2/KDR su visoki u ranoj trudnoći i njihova koncentracija se smanjuje trajanjem trudnoće, dok PIGF i Flt-1 se povećavaju trajanjem trudnoće (*tablice 2 i 3*). VEGF i VEGFR-2/KDR su uključeni u prva dva tromjesečja trudnoće u nastajanju bogate granajuće kapilarne mreže od mezenhimalne i nezrelih resica, dok PIGF i VEGFR-1/Flt-1 su uključeni u stvaranju dugih slabo granajućih terminalnih kapilara u trećem tromjesečju. VEGF stimulira ekstravazaciju tekućine i proteina, otpušta dušični oksid (NO).

Pravi protok krvi kroz intervilozni prostor se uspostavlja između 10.–12. tjedna trudnoće. Povećava se PO_2 i dolazi do invazije trofoblasta i do promjena spiralnih arterija, što dovodi do smanjenja otpora u placenti. Visoka razina kisika dovodi do usporenja angiogeneze.

U trudnica s preeklampsijom oksigenacija majke je uredna, ali zbog oštećenja uteroplacentalne cirkulacije placenta i fetus su hipoksični. U tim uvjetima se povećava VEGF, a smanjuje PIGF.

Ekspresija VEGF i VEGFR-2 najintenzivnija je ranoj u trudnoći, a pada kako trudnoća napreduje (20). Naše

istraživanje je pokazalo više vrijednosti VEGF između 27–31 tjedna trudnoće u dijabetičnih trudnica u odnosu na kontrolnu skupinu ($16,871 \pm 2,212$; $20,744 \pm 4,9631$; $P < 0,05$).

Suprotno tome, ekspresija PIGF-a i topljivog VEGFR-1 je veća prema terminu kako učestalost ngranajuće angiogeneze raste (*tablice 2 i 4*) što su dokazali i drugi autori (21,22). Za oba tipa granajuće angiogeneze čini se vjerojatnim da je regulacija pod utjecajem VEGF i njegovih receptora zajedno s Ang-1 i Ang-2 i njihovim receptorom Tie-2 (Tek). Uloga PIGF u granajućoj spram ngranajuće angiogeneze je nesigurna.

Sekrecija sFlt-1 (sVEGF-1) povećava se u trudnoći prateći masu posteljice. Plodova voda sadrži visoke koncentracije sFlt-1, nepoznatog izvora, koji u normalnim uvjetima neutralizira VEGF i/ili PIGF koji difundiraju iz posteljice (23). U kulturi posteljinih stanica, hipoksija potiče sekreciju sVEGFR-1 (sFlt-1), a hiperoksija djeluje inhibitory. Topljivi VEGFR-1 (sFlt-1) je povišen u trudnica koja će razviti preeklampsiju (24).

Razine VEGF su povišene u DM-1 trudnica (*tablica 3*). Ovo zapažanje pojačava ideju da povećane razine VEGF pridonose poremećajima opaženima u tipa 1 dijabetičnim placentalama. U GDM koji zahvaća kasniju polovicu trudnoće, poštediteljstvo tako razvojne faze vaskulogeneze i rane angiogeneze, slika je manje jasna budući da postoje funkcionalni poremećaji te dokazi i za i protiv pojačane angiogeneze (25). Istraživanja uz upotrebu trodimenzionalne tehnike vizualizacije izvještala je o pojačanom longitudinalnom rastu fetoplacentalnih krvnih žila i pojačanoj granajućoj angiogenezi u GDM. Intolerancija glukoze kod GDM obično je blaga, no ona ipak znači veću učestalost komplikacija tijekom trudnoće i povećan perinatalni mortalitet i morbiditet novorođene djece. Rana ispitivanja placentalni dijabetičnih majki otkrila su da je postojala značajno veća površina za izmjenu između majke i fetusa, s obzirom na površinu perifernih resica i kapilara, te veći volumen međuviloznog prostora (26). Ove strukturne promjene protumačene su kao uspješna prilagodba metaboličkim poremećajima majke. Status permeabilnosti ovih krvnih žila nije poznat.

Doplerska ispitivanja pokazala su da se fetalni vaskularni otpor smanjuje tijekom normalne trudnoće pri čemu kod kompliciranih trudnoća može doći do poremećaja (27). Budući da nema autonomne inervacije, protok krvi u krvnim žilama je reguliran lokalnim vazomotornim spojevima i kombinacijom fizioloških prilagodbi (perfuzijskog tlaka i vaskularnog otpora) i anatomske promjene (u lumenu krvnih žila).

Istraživanja na trudnicama s tipom 1 DM pokazala su da do povećane fetoplacentalne angiogeneze može doći i usprkos dobroj kontroli glikemije i razini glikoziliranih hemoglobina HbA_{1c} (28,29). DM je sindrom i, sukladno tome, čimbenici u pozadini hiperlikemije mogu utjecati na vaskularne promjene koje vidimo, uključujući inzulinsku terapiju. Kronična hipoksija može biti

djelomično odgovorna za povećanu angiogenezu i prevladavanje krvnih žila uzrokovano VEGF-om što je nađeno u našem istraživanju (*tablica 3*). Hipoksija je poznata kao jedan od uzroka lokalnog porasta VEGF-a, u DM-1 nalazimo dokaz fetalne hipoksije. Prilagodbe u placentarnom transportu kisika zahvaćaju prvenstveno fetalni kapilarni sustav. Osim toga, majčinski hematokrit je normalan, ali nalazimo povišene fetalne hematokrite, koncentracije hemoglobina i razine eritropoeze. Eritropoetin regulira eritropoezu tijekom fetalnog života, a smanjen tlak kisika neposredan je podražaj za njegovu produkciju. Sam eritropoetin posjeduje angiogena svojstva.

Postoji djelomična nesigurnost glede ekspresije angiogenih čimbenika rasta u DM-1 placenti. Janota i suradnici izvijestili su o izostanku razlika u razini ekspresije mRNA VEGF-a, Ang-1, Ang-2, FGF-2 ili njihovih receptora (30). Ipak, na razini proteina, pronađene su razlike u VEGF-a, VEGF-R1, FGF-2 i FGF-R2. U majčinskom serumu trudnica s DM-1, razine PlGF-a čine se normalne. Morfološki i molekularni nalazi sugeriraju da u dijabetičnih trudnica do povećane vaskulogeneze i angiogeneze može doći nakon hiperglikemijskih epizoda u ranim fazama trudnoće dok je tlak kisika nizak, a ekspresija VEGF-a povećana. Ovo bi bilo u skladu s povišenim razinama VEGF-a i VEGFR-1 koje nalazimo u vaskulogenezi. Nakon drugog tromjesečja trudnoće, učinak visoke glukoze mogao bi biti manji, budući da faza povišene razine kisika i PlGF-a, zajedno sa smanjenom ekspresijom VEGF, dovode do negranajuće angiogeneze.

Učinci dijabetesa vidljivi su na mnogim organskim sustavima i uključuju krvožilne abnormalnosti retine i bubrega, kao i fetusa i placentu. Ipak, preporuča se oprez prilikom ekstrapolacije događaja angiogeneze s jednog organskog sustava na drugi, budući da odgovor na dijabetes može varirati među pojedinim organima. Pojačana angiogeneza događa se u dijabetičnoj retinopatiji i nefropatiji, dok do smanjenja angiogeneze dolazi kod embrijske vaskulopatije, nedovoljnog razvoja kolateralnih koronarnih arterija i smanjenog kapaciteta za cijeljenje rana.

Inzulinu slični čimbenici rasta imaju značajnu ulogu u kontroli rasta i sazrijevanja kako fetusa tako i placentu. Snabdijevanje ploda putem placentu osnovnim supstratima kao što su kisik i prehrambene tvari s jedne strane određuje, izravno i neizravno, maksimum do kojega fetus može rasti, a s druge strane održava već formirana tkiva. Ograničena prehrana majke također mijenja i strukturu placentu. Ograničena prehrana majke smanjuje placentu, uslijed čega dolazi do zaostajanja u rastu ploda i smanjenog kapaciteta razmjene tvari. *Tablica 6.* prikazuju srednje vrijednosti IGF-2 tijekom trudnoće u istraživanim skupinama. Vrijednosti su više u skupini trudnica s dijabetesom i povećavaju se tijekom trudnoće, ali nema statističke značajnosti. Vrijednosti IGF-2 u trudnica s dijabetesom kreću se 334,213 do 598,04 pg/mL, a u zdravih trudnica od 280,517 do 537,17 pg/mL.

Razina IGF-2 u umbilikalnoj veni trudnica s dijabetesom je 199,35 pg/ml, a u zdravih trudnica 168,2 pg/mL i nema statističke značajnosti. Ovi nalazi u skladu su s pretpostavkom da sistemski IGF-II u majci pospješuje rast placentu i diferencijaciju u prvoj polovici trudnoće kada trofoblast prodire u deciduu. Julie Owens (31) istraživala je o različitim posljedicama placentarne restrikcije na razinu fetalnog IGF-a i na rast fetusa. Endokrini odgovor fetusa na obilje supstrata u njegovu okruženju djelomično odražava djelovanje snabdjevnosti supstratima na rast fetusa i njegov metabolizam. Među glavnim anaboličkim hormonima zaduženim za rast *in utero* su i inzulinu slični čimbenici rasta (IGF), inzulin i hormon tiroidne žlijezde, dok su glavni katabolički hormoni kateholamini i kortizol.

Zaključci

Koncentracije PlGF-a progresivno rastu od početka trudnoće do 31. tjedna trudnoće kada su nađene najviše vrijednosti, a nakon toga dolazi do značajnog pada.

Koncentracija PlGF-a u umbilikalnoj veni je značajno niža u odnosu na razinu PlGF-a seruma majke.

Koncentracije sVEGFR-1 rastu od 27–31 tjedana trudnoće do termina u obje skupine. Koncentracija sVEGFR-1 je viša u trudnica s dijabetesom u odnosu na zdrave trudnice ali nije nađena značajna razlika.

Koncentracije VEGF-a tijekom trudnoće su više u trudnica s dijabetesom u odnosu na zdrave trudnice. Statistički znakovita razlika između istraživanih skupina je nađena između 27–31 tjedana trudnoće i neposredno nakon porođaja.

Vrijednosti IGF-II su više u skupini trudnica s dijabetesom i povećavaju se tijekom trudnoće, ali nema statističke značajnosti. Vrijednosti IGF-II u trudnica s dijabetesom kreću se 334,21 pg/ml do 598,04 pg/mL, a u zdravih trudnica od 280,517 do 537,17 pg/mL.

Literatura

1. Sander B, Larsen M., Engler C, Lund-Andersen H, Parving HH. Early changes in diabetic retinopathy: capillary loss and blood-retina barrier permeability in relation to metabolic control. *Acta Ophthalmol.* 1994;72:553–559.
2. Altshuler G. Chorangiogenesis: an important placental sign of neonatal morbidity and mortality. *Arch Pathol Lab Med.* 1984; 108: 71–4.
3. Risau, W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1999;386: 671–674. Antiangiogena svojstva pokazuju Ang-2, angiostatin, endostatin, interferon α , β i γ i LIF (Ferrara N, Davis-Smith T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev.* 1997;18:4–25.
4. Reynolds LP, Redmer DA. Angiogenesis in the placenta. *Biol Reprod.* 2001;64(4):1033–1040.
5. Khaliq A, Foreman D, Ahmed A, Weich H, Gregor Z, McLeod D, Boulton M. Increased expression of placenta growth factor in proliferative diabetic retinopathy. *Lab Invest.* 1998;78 (1):109–16.

6. Vuorela P, Hatva E, Lymboussaki A, Kaipainen A, Joukov V, Persico MG, Alitalo K, Halmesmaki E. Expression of vascular endothelial growth factor and placenta growth factor in human placenta. *Biol Reprod.* 1997;56:489–494.
7. Ferrara N, Davis-Smith T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev.* 1997;18:4–25.
8. Shibuya M, Ito N, Claesson-Welsh L. Structure and function of vascular endothelial growth factor receptor-1 and-2. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1999;237:59–83.
9. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001;280:1358–1366.
10. Vuorela P, Carpen O, Tulppala M, Halmesmaki E. VEGF, its receptors and the Tie receptors in recurrent miscarriage. *Mol Hum Reprod.* 2000;6:276–282.
11. Banks R, Forbes M, Searles J. Evidence for the existence of a novel pregnancy associated soluble variant of the vascular endothelial growth factor receptor, Flt-1. *Mol Hum Reprod.* 1998;4:377–386.
12. Hornig C, Barleon B, Ahmad S, Vourela P, Ahmed A, Weich HA. Release and complex formation of soluble VEGFR-1 from endothelial cells and biological fluids. *Lab Invest.* 1996;80:443–54.
13. Sohlstrom A, Katsman A, Kind KL, Roberts CT, Owens PC, Robinson JS, Owens JA. Food restriction alters pregnancy-associated changes in IGF and IGFBP in the guinea pig. *Am J Physiol.* 1998;274:E410–E416.
14. Hamilton GS, Lysiak JJ, Han VK, Lala PK. Autocrine-paracrine regulation of human trophoblast invasiveness by insulin-like growth factor (IGF)-II and IGF-binding protein (IGFBP)-1. *Exp Cell Res.* 1998;244:147–156.
15. Roberts CT, Sohlstrom A, Kind KL, Grant PA, Earl RA, Robinson JS, Khong TY, Owens PC, Owens JA. Altered placental structure induced by maternal food restriction in guinea pigs: a role for circulating IGF-II and IGFBP-2 in the mother? *Placenta.* 2001;22:S77–S82.
16. Benirschke K, Kaufmann P. *Pethology of the human placenta.* 2. izd. New York-Heidelberg: Springer, 1990.
17. Clarson C, Tevaarwerk GJM, Harding PGR, Chance GW, Haust MD. Placental weight in diabetic pregnancies. *Placenta.* 1989;10: 275–81.
18. Wulff C, Wilson H, Dickson SE, Wiegand SJ, Fraser HM. Hemochorial placentation in the primate: expression of vascular endothelial growth factor, angiopoietins, and their receptors throughout pregnancy. *Biol Reprod.* 2002;66:802–12.
19. Ahmed A, Ahmad S, Khaliq A. Regulation of Placental Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Placenta Growth factor (PlGF) and soluble Flt-1 by Oxygen – A Review. *Placenta.* 2000;21 (suppl A);14:S16–S24.
20. Clark DE, Smith SK, Licence D, Evans AL, Charnock-Jones DS. Comparison of expression patterns for placenta growth factor, vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF-B and VEGF-C in the human placenta throughout gestation. *J Endocrinol.* 1998;159:459–467.
21. Kaufmann P, Mayhew TM, Charnock-Jones DS. Aspects of fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. II. Changes during normal pregnancy. *Placenta* 2004;25:114–126.
22. He Y, Smith SK, Day KA, Clark DE, Licence DR, Charnock-Jones DS. Alternative splicing of vascular endothelial growth factor (VEGFR-1) (Flt-1) pre-mRNA is important for the regulation of VEGF activity. *Mol Endocrinol.* 1999;13:537–545.
23. Hornig C, Barleon B, Ahmad S, Vourela P, Ahmed A, Weich HA. Release and complex formation of soluble VEGFR-1 from endothelial cells and biological fluids. *Lab Invest.* 1996;80:443–54.
24. McKeeman GC, Ardill JE, Caldwell CM, Hunter AJ, McClure N. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sFlt-1) is increased throughout gestation in patients who have preeclampsia develop. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191(4): 1240–1246.
25. Babawale MO, Lovat S, Mayhew TM, Lammiman MJ, James DK, Leach L. Effects of gestational diabetes on junctional adhesion molecules in human term placental vasculature. *Diabetologia.* 2000;3:1185–1196.
26. Teasdale F. Histomorphometry of the human placenta in class C diabetes mellitus. *Placenta.* 1985;6:69–82.
27. McParland P, Pearce JM. Doppler blood flow in pregnancy. *Placenta.* 1988;9:427–450.
28. Mayhew TM. Enhanced fetoplacental angiogenesis in pre-gestational diabetes mellitus: the extra growth is exclusively longitudinal and not accompanied by microvascular remodeling. *Diabetologia.* 2002;45:1434–1439.
29. Teasdale F. Histomorphometry of the human placenta in class B diabetes mellitus. *Placenta.* 1983;4:1–12.
30. Janota J, Pomyje J, Toth D, Sosna O, Zivny J, Kuzel D, Stranak Z, Necas E, Zivny JH. Expression of angiopoietic factors in normal and type-I diabetes human placenta: a pilot study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;111:153–156.
31. Owens JA, Kind KL, Carbone F, Robinson JS, Owens PC. Circulating insulin-like growth factors-1 and-2 and substrates in fetal sheep following restriction of placental growth. *J Endocrinol.* 1994;140:5–13.

Adresa autora: Dr.sc. Jozo Blajić, Ustanova za zdravstvenu skrb vaš pregled; *e-pošta:* jozoblajic@hotmail.com

¹Department of Obstetrics and Gynecology University Hospital Center Zagreb;²School of Medicine, University of Zagreb

ANGIOGENIC FACTORS IN HEALTHY AND IN TYPE 1 DIABETIC PREGNANT WOMEN

¹Jozo Blajić i ^{1,2}Josip Đelmiš*Original paper*

Key words: pregnancy, type 1 diabetes, placenta, PIGF, VEGF, sVEGFR.1, IGF-II

SUMMARY. Vascular endothelial growth factor (VEGF), placental growth factor (PIGF), insulin-like growth factor (IGF-II) and soluble VEGF-1 receptor all have direct effects on the growth and function of fetoplacental vessels. *The aim of the study* was to determine the concentration of placental angiogenesis factors (VEGF, PIGF, IGF-II) and the soluble VEGFR-1 or sFlt-1 receptor in healthy pregnant women and pregnant women with type-1 diabetes. *Participants and research method.* The study included 42 pregnant women with type-1 diabetes (DM-1) and 34 healthy pregnant women (control group). VEGF, PIGF, IGF-II and sVEGFR-1 (sFlt-1) were determined from maternal blood samples during pregnancy as well as umbilical vein immediately after delivery. *The results.* PIGF and sVEGFR-1 levels were slightly higher during pregnancy in DM-1 pregnant women, but no significant differences were found. The sVEGFR-1 / PIGF ratios were low during pregnancy in both study groups (control group 9.6 and DM-1 11.9.4 between 16–20 weeks of gestation and between 32–36 weeks of gestation: control group 4.6 and DM-1 11.3.7). The level of PIGF in the umbilical vein is lower (control group median 29.6 and DM-1 median 27.2) relative to maternal PIGF serum level (control group median 122.3 and DM-1 median 141.5). *Conclusion.* During pregnancy, there was a significant increase in PIGF and VEGFR-1 in both study groups. The ratios between sVEGFR-1 / PIGF in both study groups were low during pregnancy and did not predict the development of preeclampsia and IUGR. None of the pregnant women developed gestational hypertension or preeclampsia.