

P R A C E O R Y G I N A L N E
położnictwo

Ocena łożyskowych czynników angiogennych (PlGF, VEGF, VEGF R1) oraz objętości łożyska w ciążach powikłanych opóźnieniem wzrastania wewnątrzmacicznego płodu (IUGR)

Maternal serum concentration of angiogenic factors: PlGF, VEGF and VEGFR-1 and placental volume in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction.

Semczuk-Sikora Anna¹, Krzyżanowski Arkadiusz¹, Stachowicz Norbert², Robak Jacek¹, Krackowski Janusz¹, Kwiatek Maciej¹, Semczuk Marian¹

¹ Klinika Położnictwa i Patologii Ciąży AM im F. Skubiszewskiego w Lublinie

² I Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii AM im F. Skubiszewskiego w Lublinie

Streszczenie

Wstęp: Patomechanizm opóźnienia wzrastania wewnątrzmacicznego płodu ma charakter złożony i w dalszym ciągu jest przedmiotem badań. Uważa się, że jedną z możliwych przyczyn stanowią mogą zaburzenia łożyskowej angiogenezy.

Cel pracy: Celem naszej pracy była ocena łożyskowych czynników angiogennych: łożyskowego czynnika wzrostu (PlGF), naczyniowego czynnika wzrostu (VEGF), ich receptora (VEGFR-1) oraz objętości łożyska w przebiegu IUGR.

Materiał i metody: Badaniem objęto 20 pacjentek z ciążą powikłaną IUGR oraz 18 pacjentek z ciążą o prawidłowym przebiegu. W surowicy krwi ciężarnych grupy badanej oraz kontrolnej metodą ELISA oznaczano stężenia: łożyskowego czynnika wzrostu (PlGF), naczyniowego czynnika wzrostu (VEGF), ich receptora naczyniowego (VEGFR-1) oraz ultrasonograficznie określono objętość łożyska.

Wyniki: Na podstawie wykonanych badań stwierdzono statystycznie istotnie niższe stężenie PlGF w III trymestrze ciąży w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej. Stężenie VEGF w większości przypadków było nieoznaczalne zarówno w II jak i III trymestrze. Stężenie receptora VEGFR-1 w surowicy krwi w II trymestrze ciąży było statystycznie wyższe w grupie badanej w porównaniu do kontrolnej, w III trymestrze wartości te również były wyższe w grupie badanej jednak bez istotności statystycznej.

Jakkolwiek średnia objętość łożyska dla grupy badanej była niższa w porównaniu z grupą kontrolną to nie wykazano różnic statystycznie istotnych między nimi.

Adres do korespondencji:

Anna Semczuk-Sikora
Katedra i Klinika Położnictwa i Patologii Ciąży AM w Lublinie
20-081 Lublin, ul. Staszica 16
e-mail: annsemcz@poczta.onet.pl

Otrzymano: 25.07.2007

Zaakceptowano do druku: 31.08.2007

Wnioski: Wykazane zaburzenia dotyczące badanych czynników angiogennych łożyska mogą wskazywać na ich udział w patogenezie wewnątrzmacicznego opóźnienia wzrastania płodu.

Wydaje się, że pomiar objętości łożyska w przypadku ciąży powikłanej IUGR z uwagi na trudności techniczne badania należy traktować jako badanie uzupełniające w diagnostyce ultrasonograficznej IUGR.

Słowa kluczowe: **czynniki angiogenne / objętość łożyska / ciąża / IUGR /**

Abstract

Introduction: Pathomechanism of intrauterine growth restriction is a complex issue, involving many different factors, and is still undergoing an investigation. Improper placental angiogenesis, resulting in placental pathology, is considered to be one of the most important causes of IUGR.

Placental vascular growth factors - placental growth factor (PlGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor (VEGFR-1), are involved in the mechanism of placental vascular development and maternal endothelial function during the pregnancy.

Aim: The aim of our study was to evaluate the maternal serum concentration of vascular growth factors (PlGF, VEGF) and their receptor (VEGFR-1), as well as the placental volume in pregnancies complicated by IUGR, and to compare the results with healthy control groups.

Material and methods: 20 patients with intrauterine growth restriction and 18 healthy pregnant women were recruited. Their blood serum samples were assayed for the placental growth factor (PlGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptor (VEGFR-1).

These placental factors were measured with the ELISA- method (R&D Systems Kits). In all cases the placental volume was assessed with an ultrasound (Voluson V730 GE) with VOCAL™ (Virtual Organ Komputer-aided AnaLysis).

Results: Our investigation revealed significantly lower maternal serum concentrations of PlGF in pregnancies with IUGR, comparing to the controls in the third trimester.

In most cases, VEGF concentrations were undetectable in the maternal serum both, in the second as well as in the third trimester. In the 2nd trimester VEGFR-1 concentrations were statistically higher in the investigated group. In the 3rd trimester the concentrations of VEGFR-1 were higher in the investigated group, but the difference has not achieved the level of statistical importance. The mean placental volume was lower in the investigated group but with not statistical significance.

Conclusions: Presented and documented dependencies may indicate the involvement of angiogenic factors in a pathomechanism of intrauterine growth restriction process. It seems that the measurement of placental volume may be useful in IUGR diagnosis. However, it should be a complementary examination only, due to technical limitations.

Key words: **angiogenic factors / placental volume / pregnancy / IUGR /**

Wstęp

Patomechanizm opóźnienia wzrastania wewnątrzmacicznego płodu ma charakter złożony i w dalszym ciągu jest przedmiotem badań. W przypadku tej patologii, wskutek działania uszkadzających czynników wewnątrzmacicznych dochodzi do niemożności wykorzystania genetycznego potencjału wzrastania płodu [1].

Jedną z prawdopodobnych przyczyn, podobnie jak w przypadku preeklampsji, może stanowić zaburzenie łożyskowej angiogenezy [2]. Dlatego też celem naszej pracy była ocena łożyskowych czynników angiogennych: łożyskowego czynnika wzrostu (PlGF), naczyniowego czynnika wzrostu (VEGF), ich receptora naczyniowego (VEGFR-1) oraz objętości łożyska w przebiegu IUGR.

Materiał i metody

Badaniami objęto 20 pacjentek z ciążą powikłaną IUGR (16 z opóźnieniem wzrastania wewnątrzmacicznego o nieustalonej przyczynie oraz 4 z towarzyszącym nadciśnieniem ciążowym) oraz 18 pacjentek z ciążą o prawidłowym przebiegu, które stanowiły grupę kontrolną.

Obie grupy były porównywalne pod względem wieku oraz rodności. Pacjentki kwalifikowano do badań w momencie ultrasonograficznego rozpoznania opóźnienia wzrastania wewnątrzmacicznego płodu. U 10 pacjentek z grupy badanej stężenia czynników angiogennych w surowicy krwi oznaczano pomiędzy 20 a 28 tygodniem ciąży, a u 17 pomiędzy 30 a 37 tygodniem ciąży. Pomiarów objętości łożyska dokonano u 4 pacjentek pomiędzy 20 a 25 tygodniem ciąży.

W grupie kontrolnej stężenia czynników angiogennych oznaczano dwukrotnie tj. pomiędzy 20-24 oraz 30-38 tygodniem trwania ciąży. Objętości łożyska w tej grupie oceniano pomiędzy 20 a 24 tygodniem ciąży.

Naczyniowe czynniki wzrostu oznaczano metodą ELISA przy zastosowaniu zestawów odczynników firmy R&D Systems.

Pomiary objętości łożyska wykonano ultrasonograficznie sondą przezbrzuszną (Voluson V730 GE) z zastosowaniem oprogramowania VOCAL™ (Virtual Organ Komputer-aided AnaLysis) [3].

Analizę różnic statystycznych pomiędzy grupami wykonano przy użyciu testu t-Studenta przyjmując wartość $p < 0,05$ za statystycznie istotną.

Wyniki

Stężenie PIGF, VEGF, VEGF R1 w grupie pacjentek z IUGR i u zdrowych ciężarnych w II i III trymestrze ciąży przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Stężenie PIGF, VEGF, VEGF R1 w grupie pacjentek z IUGR i u zdrowych ciężarnych w II i III trymestrze ciąży.

	PIGF pg/ml	VEGF pg/ml	VEGF R1 pg/ml
Grupa badana N=10 20-28 hbd	205,4±149,7	0,0	844,7±1281,4
Grupa kontrolna N=18 20-24 hbd	343,1±258,7	5,5±20,7	302,9±126,5
Grupa badana N=17 30-37 hbd	191,8±166,0	2,9±6,8	915,3±1105,3
Grupa kontrolna N=18 30-37 hbd	422,7±288,6	1,9±4,8	640,8±341,8

Stężenie PIGF oznaczane w III trymestrze ciąży było statystycznie istotnie niższe w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie wykazano różnic w stężeniu VEGF pomiędzy ocenianymi grupami, jednak u większości ciężarnych grupy badanej i kontrolnej poziomy tego parametru w surowicy krwi były nieoznaczalne. Stężenie receptora VEGFR1 w II trymestrze ciąży było statystycznie istotnie wyższe w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej. Tendencja ta była zauważalna również w III trymestrze, jednak nie wykazano różnic statystycznie istotnych.

Średnia objętość łożyska 4 pacjentek grupy badanej wynosiła $297,090 \pm 132,928 \text{ cm}^3$, a w grupie kontrolnej $327,817 \pm 106,215 \text{ cm}^3$ i wartości te nie różniły się istotnie statystycznie.

Omówienie wyników

Jednym z wiodących mechanizmów prowadzących do opóźnienia wzrastania wewnątrzmacicznego płodu jest obniżenie perfuzji łożyskowej [4]. Sugeruje się, że IUGR o nieznanym przyczynie, który pojawia się II trymestrze ciąży jest formą preeklampsji ograniczoną jedynie do mięśnia macicy, łożyska i płodu [2]. Proces ten ma potencjalny wpływ na zachowanie się naczyniowych czynników angiogennych. Wykazano bowiem, że ekspresja PIGF jest stymulowana przy wzrastającym ciśnieniu parcjale tlenku, a obniża się przy jego niskich wartościach [5].

Zależność taką potwierdzają pośrednio nasze badania, które wykazały, że stężenie PIGF w grupie pacjentek z IUGR było niższe w porównaniu do kobiet z grupy kontrolnej, szczególnie wyraźnie w III trymestrze ciąży. Jest to również zgodne z doniesieniami innych autorów [4, 6, 7]. W grupie badanej nie wykazaliśmy charakterystycznego dla ciąży prawidłowej wzrostu stężenia PIGF w II połowie ciąży [8].

Przyczyna stwierdzonego przez nas podwyższonego stężenia VEGF R1 w surowicy krwi ciężarnych z IUGR jest niejasna. Wydaje się, że może to mieć związek z obniżeniem stężenia PIGF, który ma naturalne powinowactwo do tego receptora. Interakcja pomiędzy PIGF a VEGFR-1 jest bowiem istotna dla prawidłowej angiogenezy łożyskowej [9].

Z drugiej strony podwyższone stężenie VEGFR-1 może prowadzić do uszkodzenia śródbłonna naczyń. Udowodniono, że podanie tego receptora indukowało nadciśnienie w ciąży u szczurów [10]. Istotnie podwyższone stężenie VEGFR-1 w drugim trymestrze ciąży wykazane u naszych pacjentek może potwierdzać obserwację, że IUGR stwierdzany przed 34 tygodniem ciąży wiąże się w większości przypadków z nieprawidłowościami naczyń łożyskowych [11].

W naszych badaniach potwierdziliśmy również sugestie innych autorów, że w prawidłowej ciąży stężenie receptora VEGFR-1 wzrasta w późnej ciąży [10]. Badania ultrasonograficzne łożyska oceniające jego wielkość zarówno w sposób klasyczny, jak i przy użyciu komputerowych technik rekonstrukcyjnych umożliwiających pomiar jego objętości, wykazywały zależność pomiędzy upośledzonym wzrastaniem płodu i małym łożyskiem [12]. Sugerowano również, że zatrzymanie wzrastania objętości łożyska wyprzedza o około 3 tygodnie zwolnienie wzrastania płodu [12, 13]. Objętość łożyska mierzona ultrasonograficznie może mieć znaczenie w prognozowaniu urodzeniowej masy ciała [12]. W przypadku IUGR do upośledzonego wzrastania łożyska dochodzi już przed 12 tygodniem trwania ciąży [14, 15, 16].

Badania nasze potwierdzają tendencję występowania mniejszych objętości łożyska w ciążach powikłanych przez IUGR. Na brak różnic istotnie statystycznych pomiędzy grupą badaną a kontrolną mogła wpłynąć niewielka liczba pomiarów objętości łożyska wykonanych w grupie badanej. Dodatkowo, jak podkreślają inni autorzy, pomiar objętości łożyska po 20 tygodniu ciąży jest obarczony dużymi trudnościami technicznymi [15, 16].

Zależność pomiędzy czynnikami angiogennymi a objętością łożyska została określona jedynie dla VEGF [9, 17]. Wykazano mianowicie, że stężenie VEGF w surowicy ciężarnej w pierwszym trymestrze ciąży dodatnio koreluje z objętością łożyska, a następnie ulega obniżeniu. Tłumaczy się to udziałem VEGF w angiogenezie łożyskowej, m.in. poprzez wpływ na syntezę tlenu azotu. Uzyskane przez nas wyniki stężenia VEGF w surowicy ciężarnych charakteryzowały się bardzo dużą zmiennością oraz w wielu przypadkach, podobnie jak w badaniach innych autorów utrzymywały się poniżej limitu detekcji metody [11], co uniemożliwiło dokonywanie porównań.

Wnioski

Wykazane zaburzenia dotyczące badanych czynników angiogennych łożyska mogą wskazywać na ich udział w patogenezie wewnątrzmacicznego zaburzenia wzrastania płodu.

Wydaje się, że pomiar objętości łożyska w przypadku ciąży powikłanej IUGR z uwagi na trudności techniczne oznaczania należy traktować jako badanie uzupełniające w diagnostyce ultrasonograficznej IUGR.

Praca finansowana ze środków Komitetu Badań Naukowych w latach 2004-2007, nr Grantu KBN: 2P05E 11827.

Praca zgłoszona na Konferencję Naukowo-Szkoleniową nt. „Immunoterapia w ginekologii i położnictwie” w Lublinie 12-13.10.2007

Piśmiennictwo

1. Ergaz Z, Avgil M, Ornoy A. Intrauterine growth restriction-etiology and consequences: What do we know about the human situation and experimental animal models? *Reprod Toxicol.* 2005, 20, 301-322.
2. Regnault T, Galan H, Parker T, [et al.]. Placenta development In normal and compromised pregnancies: a review. *Placenta.* 2002, 23, S119-S129.
3. Stachowicz N, Smoleń A, Czekierdowski A, [et al.]. Comparison of diagnostic usefulness of two-and three-dimensional transvaginal sonography in the evaluation of endometrial lesions *Polish J Environ Studies.* 2004, 13, Suppl. 2, 532-537.
4. Shibata E, Rajakumar A, Powers R, [et al.]. Soluble fms-like tyrosine kinase 1 is increased in preeclampsia but not in normotensive pregnancies with small-for-gestational-age neonates: relationship to circulating placental growth factor. *J Clin Endocrin Metab.* 2005, 90, 4895-4903.
5. Ahmed A, Dunk C, Ahmad S, [et al.]. Regulation of placental vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PlGF) and soluble Flt-1 by oxygen – a review. *Placenta.* 2000, 21, 16-24.
6. Taylor R, Grimwood J, Taylor R, [et al.]. Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: Evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;188, 177-182.
7. Helske S, Vuorela P, Carpen O, [et al.]. Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1,2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies *Mol Hum Reprod.* 2001, 7, 205-210.
8. Krauss T, Pauer H, Augustin H. Prospective analysis of Placenta Growth Factor (PlGF) concentrations in the placenta of women with normal pregnancy and pregnancies complicated by preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2004, 23, 101-111.
9. Kingdom J, Huppertz B, Seaward G, [et al.]. Development of the placental villous tree and its consequences for fetal growth *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2000, 92, 35-43.
10. Maynard S, Min J., Merchan J, [et al.]. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt 1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest Metab.* 2003, 111, 649-658.
11. Crispi F, Dominguez C, Llorba E, [et al.]. Placental angiogenic growth factors and uterine artery Doppler findings for characterization of different subsets in preeclampsia and in isolated intrauterine growth restriction. *Am J. Obstet Gynecol.* 2006;195, 201-207.
12. Wolf H, Oosting H, Treffers P. A longitudinal study of the relationship between placental and fetal growth as measured by ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol.* 1989, 161, 1140-1145.
13. Hoogland H, de Haan J, Martin C. Placental size during early pregnancy and fetal outcome: a preliminary report of a sequential ultrasonographic study. *Am J Obstet Gynecol.* 1980, 138, 441-443.
14. Hafner E, Metznerbauer M, Höfinger D, [et al.]. Placental growth from the first to the second trimester of pregnancy in SGA-foetuses and pre-eclamptic pregnancies compared to normal fetuses. *Placenta.* 2003, 24, 338-342.
15. Thame M, Osmond C, Wilks R, [et al.]. Second-trimester placental volume and infant size at birth. *Obstet Gynecol.* 2001, 98, 279-283.
16. Kinare A, Natekar A, Chinchwadkar M, [et al.]. Low midpregnancy placental volume in vural Indian women: A cause for low birth weight? *Am J Obstet Gynecol.* 2000, 182, 443-448.
17. Wheeler T, Evans P, Anthony F, [et al.]. Relationship between maternal serum vascular endothelial growth factor concentration in early pregnancy and fetal and placental growth. *Human Reprod.* 1999, 14, 1619-1623.

Mazurska Szkoła USG i Ginekologii



Kursy USG

organizowane przez
Mazurską Szkołę USG i Ginekologii

Pozostałe kursy w 2007

21-24.11 *USG w ginekologii i położnictwie dla zaawansowanych*

29.11-02.12 *Endokrynologia cz I.*

Planowane kursy w pierwszym półroczu 2008

09-12.01 *Echokardiografia*

12-15.03 *USG dla zaawansowanych*

30.03-04.04 *USG dla początkujących*

17-20.04 *Endokrynologia estetyczna*

24-27.04 *Patologie i choroby sutka*

04-09.05 *USG podstawowy*

15-18.05 *Doppler w ginekologii i położnictwie*

28-31.05 *Endokrynologia cz. II + elementy niepłodności*

12-15.06 *Patologia ciąży*

19-22.06 *Kolposkopia dla początkujących*

ZAPRASZAMY

Zapisy na kursy oraz szczegółowe informacje:

tel.: 0-504 075 804

www.usg.pisz.pl

e-mail: usg@usg.pisz.pl