

Płodowa aktywina A w porodzie powikłanym obecnością smółki w płynie owodniowym

Fetal activin A in labor complicated by meconium-stained amniotic fluid

Redzko Sławomir¹, Przepieść Jerzy¹, Żelazowska Beata²,
Żak Janusz², Wysocka Jolanta², Urban Jan¹

¹ Klinika Perinatologii Akademii Medycznej w Białymstoku

² Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatricznej Akademii Medycznej w Białymstoku

Streszczenie

W ciąży podstawowym źródłem krążącej aktywiny są: łożysko oraz błony płodowe. Wzrost stężenia aktywiny w surowicy krwi matki obserwowano w przypadkach ciąży powikłanych stanem przedrzucawkowym, cukrzycą bądź wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrostu płodu. Obecność smółki naraża noworodka na zwiększone ryzyko powikłań oddechowych, np. zespołu aspiracji smółki czy uszkodzenia OUN.

Cel pracy: Celem pracy była ocena stężenia aktywiny A w przypadku obecności smółki w płynie owodniowym.

Materiał i metody: Badaną grupę stanowiło 65 noworodków, urodzonych z ciąży pojedynczej, donoszonej. W każdym przypadku przeprowadzono oznaczenia parametrów hematologicznych krwi pępowinowej oraz aktywiny A (ELISA - Oxford Bio-Innovation Activin A Assay Kit).

Wyniki: W 27 porodach obserwowano obecność smółki w płynie owodniowym. Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniach płodowej aktywiny A w grupie z czystym oraz zielonym płynem owodniowym ($0,6 \pm 0,42$ i $0,47 \pm 0,32$ ng/ml). Zaobserwowano wyższą liczbę leukocytów, jądrzastych erytrocytów oraz wyższy odsetek retikulocytów w przypadku pasażu smółki do płynu owodniowego. Średnie stężenie aktywiny A płodów urodzonych drogą pochwową wynosiło $0,58 \pm 0,38$ ng/ml, drogą cięcia cesarskiego w trakcie porodu $0,44 \pm 0,32$ ng/ml, zaś drogą elektrywnego cięcia cesarskiego $0,62 \pm 0,47$ ng/ml. Różnice nie były istotne statystycznie. Nie obserwowano również istotnych zależności pomiędzy stężeniami aktywiny A a parametrami równowagi kwasowo-zasadowej i gazometrii krwi pępowinowej, a także elementami morfotycznymi krwi pępowinowej.

Wnioski: Płodowa aktywina A ma ograniczone znaczenie w diagnostyce ewentualnego niedotlenienia płodu w przypadku pasażu smółki do płynu owodniowego. Parametry równowagi kwasowo-zasadowej i gazometrii krwi pępowinowej nie mają istotnego związku ze stężeniem płodowej aktywiny A. Stężenie płodowej aktywiny nie zmienia się w zależności od drogi porodu. Obecność smółki w płynie owodniowym wiąże się z istotnymi zmianami w obrazie obwodowej krwi pępowinowej.

Słowa kluczowe: **niedotlenienie płodu – diagnostyka / niedotlenienie płodu – krew /
aktywnina A – krew /**

Adres do korespondencji:

Sławomir Redzko
Klinika Perinatologii AM w Białymstoku
15-276 Białystok, ul. M.C. Skłodowskiej 24 a
e-mail: redzkosl@amb.edu.pl

Otrzymano: 27.01.2007
Zaakceptowano do druku: 30.05.2007

Abstract

Objective: During pregnancy the placenta and the fetal membranes are the main sources of activin A. An increased level of activin A has been found in the serum of women with preeclampsia, diabetes mellitus and intrauterine growth restriction. Meconium is the predictor for adverse perinatal outcome, such as meconium aspiration syndrome or brain damage. The aim of our study was to evaluate the levels of fetal activin A in labors complicated by meconium-stained amniotic fluid.

Material and methods: Cord blood samples were collected from 65 full-term neonates from single pregnancies. In each case, the hematological parameters of cord blood and activin A (ELISA – Oxford Bio-Innovation Activin A Assay Kit) were assessed.

Results: There were no significant differences in the concentration of activin A in cord blood between the group with and the group without meconium-stained amniotic fluid. The mean count of nucleated erythrocytes and white blood cells as well as the percentage of reticulocytes was significantly higher in the meconium group. There were no significant differences between concentration of fetal activin A in a vaginal delivery ($0,58 \pm 0,38 \text{ ng/ml}$) and cesarean section after labor ($0,44 \pm 0,32 \text{ ng/ml}$) or elective cesarean section ($0,62 \pm 0,47 \text{ ng/ml}$) groups. There were also no correlations between the levels of activin A and the parameters of fetal acid base status or cord blood hematological values.

Conclusions: Fetal activin A has a limited significance for diagnosing fetal hypoxia in labors complicated by meconium-stained amniotic fluid. There were no correlations between the parameters of fetal acid base status and fetal activin A. The levels of fetal activin A do not depend on the mode of the delivery. Meconium-stained amniotic fluid resulted in significant changes of the hematological variables in cord blood.

Key words: **activins – blood / fetal hypoxia – metabolism / infant premature – blood / obstetric labor complications – blood / biological markers – blood /**

Wstęp

Aktywiny, proteinowe dimery, należą do dużej grupy czynników wzrostu i odpowiadają m.in. za wzrost i różnicowanie komórek, wczesny rozwój zarodkowy, jak również za erytropozę [1]. Po raz pierwszy zostały wyizolowane w latach 80-tych XX wieku z płynu pęcherzykowego [2].

W ciąży podstawowym źródłem krążącej aktywiny są: łożysko i błony płodowe [3]. W miarę zaawansowania ciąży, wraz z rozwojem łożyska, wzrasta stężenie aktywiny A, zaś wcześniejszy nadmierny wzrost uważany był za bardzo charakterystyczny endokrynologiczny marker wystąpienia stanu przedrzucawkowego [4], jednakże kolejne doniesienia nie potwierdziły już takiej zależności [5, 6]. Pasaż smółki do płynu owodniowego jest obserwowany w 7% do 22% ciąż, głównie donoszonych, a zwłaszcza po terminie porodu [7]. Klasyczne położnictwo traktuje oddanie smółki jako typowy objaw niedotlenienia płodu, chociaż przyczyny oddania smółki przez płód nie są do końca poznane. Wykazano, iż pasaż smółki do płynu owodniowego jest niezależnym czynnikiem ryzyka nieprawidłowego wyniku okołoporodowego dotyczącego, zarówno matki jak i noworodka. Obecność smółki naraża noworodka na zwiększone ryzyko powikłań oddechowych, przede wszystkim zespołu aspiracji smółki oraz uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego [8, 9]. Zaobserwowano wzajemne relacje między stężeniami aktywiny A a pH krwi w tętnicy pępowinowej oraz liczbą jądrzastych erytrocytów [10], jednak nowsze doniesienia nie wskazują na takie zależności [11].

Biorąc pod uwagę to, iż zarówno obecność smółki w płynie owodniowym jak również podwyższone stężenie aktywiny A mogą być niezależnymi wykładnikami ewentualnego wewnątrzmacicznego niedotlenienia płodu celem pracy była ocena stężenia aktywiny A, zachowania się parametrów hematologicznych krwi pępowinowej oraz parametrów równowagi kwasowo-zasadowej i gazometrii krwi pępowinowej w przypadku braku bądź obecności smółki w płynie owodniowym.

Materiał i metody

Badaną grupę stanowiło 65 noworodków, urodzonych z ciąży pojedynczej, donoszonej. Szczegółowe dane przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Charakterystyka badanej grupy.

Zmienna (n=65)	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Wiek matki (lata)	28,4	6,1	17	42
Wiek ciążowy (tygodnie)	40,3	1,3	38	42
Masa urodzeniowa (g)	3413,5	661	1600	5300

W każdym przypadku w trakcie porodu pobierano krew pępowinową i wykonywano badania morfologii obwodowej krwi pępowinowej z wykorzystaniem analizatora hematologicznego (Culter-MAXM) oraz metodą mikroskopową.

Rozmazy krwi pełnej pępowinowej (każdej próbki po 2 preparaty) były barwione metodą May'a, Grunwalda, Giemsy (MGG), następnie były oceniane w mikroskopie świetlnym, licząc po 200 komórek w dwóch preparatach, w sumie do 400 komórek z jednej próbki krwi.

Dokonano następujących oznaczeń: liczby krwinek białych – WBC, liczby krwinek czerwonych – RBC, stężenia hemoglobiny – HGB, hematokrytu – HCT, średniej objętości krwinki czerwonej – MCV, średniej masy hemoglobiny w krwince czerwonej – MCH, średniego stężenia hemoglobiny w krwince czerwonej – MCHC, rozpiętości rozkładu objętości krwinki czerwonej (miara zróżnicowania wielkości erytrocytów) – RDW, liczby płytek krwi PLT, średniej objętości płytki krwi – MPV, płytkokrytu – PCT, rozpiętości rozkładu objętości płytki krwi (miara zróżnicowania wielkości płytek krwi) – PDW oraz liczby jądrzastych erytrocytów (NRBC).

Płodowa aktywność A w porodzie powikłanym obecnością smółki...

Liczba erytroblastów podawana była w stosunku do 100 leukocytów, w każdym przypadku stwierdzenia jądrzastych erytrocytów liczba leukocytów była korygowana według odpowiedniego wzoru.

Oznaczano bezwzględną liczbę retikulocytów (RETC), odsetek retikulocytów – (% RETC), frakcję młodych retikulocytów (HFR – *high fluorescence reticulocyte*), frakcję średnio dojrzałych retikulocytów (MFR – *medium reticulocyte fraction*), frakcję dojrzałych retikulocytów (LFR – *low reticulocyte fraction*), frakcję niedojrzałych retikulocytów (IRF – *immature reticulocyte fraction*) – stosunek frakcji HFR wraz z MFR do frakcji wszystkich retikulocytów.

Bezwzględną liczbę retikulocytów obliczano ze wzoru – odsetek retikulocytów (%) x ilość erytrocytów (w mln/ml) x 10. Oznaczenia retikulocytów i ich frakcji wykonywano z wykorzystaniem metodyki barwienia oranżem tiazolowym. Uzyskane po odwirowaniu (2000 x g przez 10min w temp. 20-25°C) próbki surowicy krwi pępowinowej przechowywane były w temp. -70°C, do chwili wykonania oznaczeń. Aktywność A była oznaczana metodą ELISA (Oxford Bio-Innovation Activin A Assay Kit).

Do analizy statystycznej wykorzystano elementy statystyki opisowej, analizę wariancji oraz test Mann'a-Whitney'a, za poziom istotności uznano $p < 0,05$.

Na wykonanie pracy uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Białymstoku.

Wyniki

Obecność smółki w płynie owodniowym obserwowano w 27 porodach. Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu płodowej aktywności A w grupie z czystym oraz zielonym płynem owodniowym (odpowiednio $0,6 \pm 0,42$ i $0,47 \pm 0,32$ ng/ml).

Spośród wszystkich analizowanych parametrów hematologicznych krwi pępowinowej stwierdziliśmy jedynie wyższą liczbę leukocytów, jądrzastych erytrocytów oraz wyższy odsetek retikulocytów w przypadku pasażu smółki do płynu owodniowego. Dane przedstawia tabela II.

Drogą pochwową odbyło się 37 (56,9%) porodów, zaś drogą cięcia cesarskiego 28 (43,1%). Zabiegi elektywne wykonano w 17 (26,2%) przypadkach. Średnie stężenie aktywności A płodów urodzonych drogą pochwową wynosiło $0,58 \pm 0,38$ ng/ml, drogą cięcia cesarskiego w trakcie porodu $0,44 \pm 0,32$ ng/ml, zaś drogą elektywnego cięcia cesarskiego $0,62 \pm 0,47$ ng/ml. Mimo niższych wartości aktywności A w surowicy krwi płodów urodzonych drogą cięcia cesarskiego w trakcie porodu obserwowane różnice nie były istotne statystycznie. Nie stwierdzono również istotnych zależności pomiędzy stężeniami aktywności A a parametrami równowagi kwasowo-zasadowej i gazometrii krwi pępowinowej, liczbą jądrzastych erytrocytów, a także pozostałymi elementami morfotycznymi krwi pępowinowej ($p > 0,05$).

Dyskusja

Obecność smółki jest uznawana za potencjalny wykładnik niedotlenienia płodu. W naszych badaniach nie obserwowaliśmy jednak istotnych różnic w stężeniach aktywności A w przypadku czystego bądź zielonego płynu owodniowego. W eksperymentalnych modelach zwierzęcych przewlekłe niedotlenienie spowodowane zamknięciem jednej z tętnic pępowinowych

Tabela II. Stężenie płodowej aktywności A oraz wartości parametrów hematologicznych krwi pępowinowej w przypadku braku lub obecności smółki w płynie owodniowym.

Zmienne	Czysty płyn owodniowy (n=38) M±SD	Zielony płyn owodniowy (n=27) M±SD	P
Aktywność A (ng/ml)	0,6±0,42	0,47±0,32	ns
WBC (10 ⁹ /l)	12,9±3,7	15,6±5,2	<0,05
NRBC (100 WBC)	7,01±6,2	11,1±7,1	<0,05
% RETC	6,1±1,1	7,1±7,7	<0,05
HGB (g/dl)	16,0±1,5	15,6±1,8	ns
HT (%)	46,9±5,2	46,9±5,5	ns
MCV (fl)	109,6±4,3	111,5±4,4	ns
MCH (pg)	37,2±1,9	37,2±1,8	ns
MCHC (g/dl)	34,0±1,2	33,5±1,1	ns
RDW (%)	16,9±1,8	17,2±1,9	ns
PLT (10 ⁹ /l)	261±59	275±58	ns
PCT (%)	0,19±0,03	0,20±0,03	ns
MPV (fl)	7,3±0,7	7,2±0,5	ns
PDW (fl)	16,3±0,6	16,1±0,3	ns
Liczba retikulocytów (10 ⁹ /l)	251±54	239±55	ns
HFR (%)	11,95,1	11,4±6,0	ns
MFR (%)	20,6±5,4	21,6±6,3	ns
LFR (%)	67,5±8,9	67±10,3	ns
IFR (%)	32,5±8,9	33±10,3	ns

prowadziło do zahamowania wzrastania płodu oraz powodowało jednocześnie wzrost stężenia płodowej i matczynej aktywności A [12]. Z kolei Jenkin i wsp. wykazali, iż wzrost aktywności A oraz prostaglandyny E2 spowodowany hipokseміą może być mechanizmem regulującym płodowo-łożyskowy przepływ krwi w odpowiedzi na niedotlenienie wewnątrzmaciczne [13]. U noworodków urodzonych przedwcześnie z cechami hipoksji obserwowano istotnie wyższe stężenia aktywności A [10]. Trudno jednoznacznie ocenić skalę ewentualnego niedotlenienia płodu w naszej badanej grupie, ponieważ śródporodową kwasicoę płodu (pH<7,16 oznaczane w tętnicy pępowinowej) stwierdziliśmy jedynie w 3 porodach, wszystkie w grupie z zielonym zabarwieniem płynu owodniowego. Być może ten brak różnicy w stężeniu aktywności A wynika z dość niskiego odsetka (4,6%) płodów urodzonych z kwasicoą w grupie porodów powikłanych obecnością smółki. Taki rezultat badania może również oznaczać, iż zjawiska które są związane z pasażem smółki do płynu owodniowego nie powodują istotnego wzrostu stężenia aktywności A w surowicy krwi płodu.

Przedstawione wyżej wyniki badań innych autorów zakładają raczej trwałe, przewlekłe niedotlenienie płodu spowodowane bardzo różnorodnymi czynnikami, zaś obecność smółki w płynie owodniowym może być wynikiem ostrego, krótkotrwałego, ale przejściowego niedotlenienia wewnątrzmacicznego, które może nie dawać zakładanego wzrostu wyzwalania aktywności A [12, 14].

Ponadto należy zauważyć, iż badania objęły grupę noworodków donoszonych, u których w zasadzie jedynym powikłaniem była obecność smółki w płynie owodniowym.

Florio i wsp. obserwując ciążę powikłaną stanem przedrzucawkowym stwierdzili ścisłą zależność pomiędzy parametrami równowagi kwasowo-zasadowej i gazometrii krwi pępowinowej a stężeniami aktywiny A [15]. Podobną zależność obserwowano w grupach ciąż fizjologicznych, z cukrzycą i porodem przedwczesnym. Autorzy sugerują, iż produkcja płodowej aktywiny A może być w fizjologicznych warunkach pośrednio regulowana poprzez wzrost oporu w tętnicy pępowinowej w wyniku oddziaływania naczyniowoczynnych peptydów. Utrzymuje to napięcie naczyniowe i powoduje wyzwolenie aktywiny A z różnych, przypuszczalnych źródeł m.in. z łożyska, w odpowiedzi na stymulację endoteliny-1 [16].

W naszych badaniach nie zaobserwowaliśmy istotnej zależności pomiędzy stężeniami płodowej aktywiny A a parametrami gazometrii i równowagi kwasowo-zasadowej krwi pępowinowej. Wydaje się to być zgodne z fizjologicznym mechanizmem uwalniania tej aktywiny, jednakże stoi to w sprzeczności z obserwacjami wymienionych wyżej autorów [15, 16].

Nasze obserwacje zbliżone są jednak do badań przedstawionych przez Tong i wsp., gdzie również nie stwierdzono zależności pomiędzy pH tętnicy pępowinowej a stężeniami aktywiny A, jak również nie obserwowano istotnego wzrostu stężenia tej aktywiny u płodów, u których doszło do poważnego niedotlenienia śródporodowego. Autorzy ci wskazują, że płodowa aktywina A nie jest czułym markerem zarówno płodowego utleniania, jak też ryzyka encefalopatii związanej z niedotlenieniem płodu [11].

Wyniki naszych badań, jak również cytowanych wyżej autorów, mogą wskazywać, że to prawdopodobnie przewlekłe niedotlenienie wiązało się z podwyższonymi stężeniami aktywiny A, przez co obserwowane zależności pomiędzy płodową aktywiną A a parametrami równowagi kwasowo-zasadowej są tak bardzo rozbieżne [11, 15, 16].

Nasze badania dotyczące ciąż donoszonych, bez powikłań (takich jak cukrzyca czy stan przedrzucawkowy) wskazują że płodowa aktywina A nie jest czułym wykładnikiem ewentualnego niedotlenienia płodu w przypadku pasażu smółki do płynu owodniowego, co prawdopodobnie przekładało się na brak jakichkolwiek zależności pomiędzy parametrami równowagi kwasowo-zasadowej i gazometrii krwi pępowinowej a stężeniami płodowej aktywiny A.

Dostępne dane dotyczące uwalniania aktywiny A w trakcie porodu są niejednoznaczne. Wykazano w surowicy krwi matki wyższe stężenia tej aktywiny w przypadku porodu drogami natury, w porównaniu do porodu zakończonego drogą elektrycznego cięcia cesarskiego, jednocześnie nie obserwując takich zależności we krwi płodowej. Autorzy ci sugerują, iż w przypadku aktywnego porodu łożysko uwalnia aktywinę A, a brak różnic w surowicy krwi płodu może być związany z zupełnie innymi mechanizmami uwalniania oraz metabolizmu aktywin we krwi płodu [17].

W kolejnych badaniach stwierdzono, że stężenie matczynej, ale nie płodowej aktywiny A, jest znamienne wyższe u kobiet, które urodziły drogą cięcia cesarskiego wykonanego w trakcie rozpoczętego porodu, w porównaniu do kobiet które urodziły drogami natury lub u których wykonano elektryczne cięcie cesarskie. Autorzy stwierdzają jednak, że przyczyny takich zależności są bardzo trudne do uzasadnienia [18].

Kolejne obserwacje wykazały znacznie niższe stężenia

płodowej aktywiny A w przypadkach nagłego cięcia cesarskiego, wykonanego z powodu powikłań pierwszego okresu porodu, w porównaniu do porodu drogami natury [11]. Nasze wyniki wskazują, że obserwowane różnice stężeń aktywiny A w zależności od drogi porodu nie są istotne statystycznie. Wyniki cytowanych wcześniej prac, jak również naszych badań, są całkowicie rozbieżne [11, 17, 18].

Wydaje się, że należy przychylić się do stwierdzenia, iż droga porodu nie ma wpływu na zachowanie się płodowej aktywiny A. Mechanizmy uwalniania aktywiny A w trakcie porodu nadal nie są do końca poznane, a ewentualne określenie zależności pomiędzy drogą porodu a stężeniami płodowej aktywiny wymagać będzie kolejnych badań.

Układ krwiotwórczy płodu jest strukturą wrażliwą na takie procesy patologiczne jak niedotlenienie, czy infekcje, reagując zmianą parametrów hematologicznych poprzez np. wzrost wartości hematokrytu, liczby leukocytów czy jądrzastych erytrocytów [19-22].

Spśród wielu analizowanych parametrów stwierdziliśmy jedynie większą liczbę leukocytów, jądrzastych erytrocytów oraz wyższy odsetek retikulocytów w przypadku pasażu smółki do płynu owodniowego. Wyniki te są zbliżone do przedstawianych przez nas wcześniej badań i mogą sugerować zarówno podłoże związane z niedotlenieniem jak również z infekcją wewnątrzmaciczną [19-22].

Wydaje się nam, że lepszym wykładnikiem hipoksji płodu jest podwyższona liczba jądrzastych erytrocytów czy krwinek białych niż stężenie płodowej aktywiny A.

Podsumowując, płodowa aktywina A może się być użytecznym markerem przewlekłego niedotlenienia płodu [5, 6, 14], jednakże wyniki naszych badań wskazują, że w przypadku porodu powikłanego obecnością smółki w płynie owodniowym, stężenie płodowej aktywiny A ma ograniczone znaczenie w ocenie niedotlenienia płodu.

Wnioski

1. Płodowa aktywina A ma ograniczone znaczenie w diagnostyce niedotlenienia płodu w przypadku pasażu smółki do płynu owodniowego.
2. Parametry równowagi kwasowo-zasadowej i gazometrii krwi pępowinowej nie mają istotnego związku ze stężeniem płodowej aktywiny A.
3. Stężenie płodowej aktywiny nie zmienia się w zależności od drogi porodu.
4. Obecność smółki w płynie owodniowym wiąże się z istotnymi zmianami w obrazie obwodowej krwi pępowinowej.

Piśmiennictwo

1. Ling N, Ying S, Ueno N, [et al.]. Pituitary FSH is released by a heterodimer of the - b subunits from the two forms of inhibin. *Nature*. 1986, 321, 779-782.
2. Vale W, Rivier J, Vaughan J, [et al.]. Purification and characterization of an FSH releasing protein from porcine ovarian follicular fluid. *Nature*. 1986, 321, 776-779.
3. Petraglia F, Florio P, Nappi C, [et al.]. Peptide signaling in human placenta and membranes: autocrine, paracrine, and endocrine mechanisms. *Endocr Rev*. 1996, 17, 156-186.
4. Muttukrishna S, Knight P, Groome N, [et al.]. Activin A and inhibin A as possible endocrine markers for pre-eclampsia. *Lancet*. 1997, 349, 1285-1288.
5. Blackburn C, Keelan J, Taylor R, [et al.]. Maternal serum activin A is not elevated before preeclampsia in women who are at high risk. *Am J Obstet Gynecol*. 2003, 188, 807-811.

Płodowa aktywina A w porodzie powikłanym obecnością smółki...

6. Grobman W, Wang E. Serum levels of activin A and inhibin A and the subsequent development of preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2000, 96, 390-394.
7. Katz V, Bowes W. Meconium aspiration syndrome: Reflections on a murky subject. *Am J Obstet Gynecol.* 1992, 166, 171-183.
8. Mazor M, Hershkovitz R, Bashiri A, [et al.]. Meconium stained amniotic fluid in preterm delivery is an independent risk factor for perinatal complications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1998, 81, 9-13.
9. Maymon E, Chaim W, Furman B, [et al.]. Meconium stained amniotic fluid in very low risk pregnancies at term gestation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1998, 80, 169-173.
10. Florio P, Perrone S, Luisi S, [et al.]. Activin A Plasma Levels at Birth: An Index of Fetal Hypoxia in Preterm Newborn. *Pediatr Res.* 2003, 54:696-700.
11. Tong S, Egan V, Wallace E. Fetal activin A: associations with labour, umbilical artery pH and neonatal outcome. *BJOG.* 2004, 111, 326-330.
12. Supramaniam V, Jenkin G, Loose J, [et al.]. Chronic fetal hypoxia increases activin A concentrations in the late-pregnant sheep. *BJOG.* 2006, 113, 102-109.
13. Jenkin G, Ward J, Hooper S, [et al.]. Feto-placental hypoxemia regulates the release of fetal activin A and prostaglandin E(2). *Endocrinology.* 2001, 142, 963-966.
14. Wallace E, Schneider-Kolsky M, Edwards A, [et al.]. Maternal serum activin A levels in association with intrauterine fetal growth restriction. *BJOG.* 2003, 110, 306-310.
15. Florio P, Reis F, Severi F, [et al.]. Umbilical cord serum activin A levels are increased in pre-eclampsia with impaired blood flow in the uteroplacental and fetal circulation. *Placenta.* 2006, 27, 432-437.
16. Reis F, Luisi S, Florio P, [et al.]. Corticotropin-releasing factor, urocortin and endothelin-1 stimulate activin A release from cultured human placental cells. *Placenta.* 2002, 23, 522-525.
17. Florio P, Benedetto C, Luisi S, [et al.]. Activin A, inhibin A, inhibin B and parturition: Changes of maternal and cord serum levels according to the mode of delivery. *Br J Obstet Gynaecol.* 1999, 106, 1061-1065.
18. Schneider-Kolsky M, Tong S, Wallace E. Maternal and foetal activin A levels: Associations with normal and abnormal labour. *Placenta.* 2002, 23, 570-574.
19. Redzko S, Przepieć J, Żak J, [i wsp.]. Parametry hematologiczne krwi pępowinowej w ciąży powikłanej obecnością smółki w płynie owodniowym. *Ginekol Pol.* 2000, 71, 931-935.
20. Green D, Hendon B, Mimouni F. Nucleated erythrocytes and intraventricular hemorrhage in preterm neonates. *Pediatrics.* 1995, 96, 475-478.
21. Hanlon-Lundberg K, Kirby R. Nucleated red blood cells as a marker of acidemia in term neonates. *Am J Obstet Gynecol.* 1999, 181, 196-201.
22. Hanlon-Lundberg K, Kirby R. Umbilical vein white blood cell count as a marker of acidemia in term neonates. *J Matern-Fetal Med.* 2000, 9, 327-329.