

# Ocena stężeń białka szoku termicznego Hsp60 u kobiet ciężarnych z nadciśnieniem tętniczym ciążowym w III trymestrze ciąży i po porodzie

## Assessment of concentrations of heat shock protein Hsp60 in pregnant women with gestational hypertension in the third trimester of pregnancy and after childbirth

© GinPolMedProject 3 (33) 2014

Artykuł oryginalny/Original article

PIOTR BODZEK, PIOTR STOŁTNY, IWONA JANOSZ-GAŁDYŚ, ANITA OLEJEK

Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej w Bytomiu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Anita Olejek

Adres do korespondencji/Address for correspondence:

Piotr Bodzek

Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej  
ul. Batorego 15, 41-902 Bytom

email: piotr.bodzek@sum.edu.pl

### Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count 1020/1227

Tabele/Tables 1

Ryciny/Figures 0

Piśmiennictwo/References 17

Received: 16.05.2014

Accepted: 20.07.2014

Published: 15.09.2014

### Streszczenie

*Wstęp.* Białka szoku termicznego (Hsp) w organizmie człowieka pełnią funkcję ochronną przed czynnikami stresu komórkowego oraz środowiskowego. Podstawowa ich rola polega na osłabianiu efektów działania czynników stresowych. W warunkach stresu komórkowego obserwowany jest szybki wzrost stężeń Hsp w cytoplazmie oraz ich transport m.in. do jądra komórkowego, gdzie chronią DNA, pre-mRNA, prerybosomy oraz białka jądrowe przed degradacją.  
*Cel pracy.* Ocena przydatności klinicznej oznaczania stężeń białek szoku ciepłego Hsp60 w grupach: zdrowych kobiet ciężarnych, ciężarnych z nadciśnieniem tętniczym ciążowym w III trymestrze ciąży i w okresie porodu oraz kobiet nieciężarnych.

*Material i metody.* Badaniem objęto 64 kobiety: 28 kobiet ciężarnych z ciążą powikłaną nadciśnieniem tętniczym ciążowym, 16 zdrowych kobiet ciężarnych oraz 20 zdrowych kobiet nie będących w ciąży. Oznaczenia stężeń białek szoku ciepłego o masie cząsteczkowej 60 kDa (Hsp60) dokonano metodą immunoenzymatyczną (ELISA).

*Wyniki.* Średnie stężenia białka Hsp60 różniło się statystycznie pomiędzy początkowym i końcowym punktem pobrania (III trymestr ciąży vs. po rozwiązaniu ciąży) zarówno w grupie kobiet ciężarnych zdrowych, jak i w grupie kobiet z nadciśnieniem tętniczym ciążowym. W obu grupach stężenie Hsp60 było statystycznie wyższe po rozwiązaniu ciąży. Ponadto wykazano wysoce znaczącą statystycznie różnicę w stężeniu Hsp60 pomiędzy grupą kobiet nieciężarnych a grupą ciężarnych zdrowych po rozwiązaniu ciąży, stężenie Hsp60 było statystycznie wyższe po rozwiązaniu ciąży.

*Wnioski.* Ciąża nie wpływa na stężenie białka szoku termicznego Hsp60. Rozwiązanie ciąży indukuje wzrost stężenia białek szoku termicznego zarówno w ciąży fizjologicznej, jak i powikłanej ciążowym nadciśnieniem tętniczym.

**Słowa kluczowe:** ciąża; białko szoku termicznego Hsp60; nadciśnienie tętnicze

### Summary

*Introduction.* Heat shock protein (Hsp) in the human body provides protection against cellular and environmental stress factors. Their primary role is to weaken the effects of stressors. In conditions of cellular stress we observe the rapid increase in concentrations of Hsp in the cytoplasm and their transport, among others, to the nucleus, where it protects DNA, pre-mRNA, pre-ribosomes and nuclear proteins from degradation.

*Aim of the study.* Evaluation of the clinical usefulness of the determination of the concentrations of heat shock protein Hsp60 in the following groups: healthy pregnant women, pregnant women with gestational hypertension in the third trimester of pregnancy and during labor and non-pregnant women.

*Material and methods.* The study included 64 women: 28 pregnant women with pregnancy complicated by gestational hypertension, 16 healthy pregnant women and 20 healthy women who are not pregnant. The designation of the concentrations of heat shock proteins having a molecular weight of 60 kDa (Hsp60) was performed with use of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

*Results.* Average concentrations of Hsp60 proteins were statistically significantly different between the start and end point of taking the sample for determination (III trimester of pregnancy vs. after delivery), both in the group of healthy pregnant women and in women with gestational hypertension. In both groups, the concentration of Hsp60 was significantly higher after delivery. In addition, a highly statistically significant difference in the concentration of Hsp60 between the group of non-pregnant women and healthy pregnant group after delivery was demonstrated, the concentration of Hsp60 was significantly higher after delivery.

*Conclusions.* Pregnancy does not affect the concentration of the heat shock protein Hsp60. Delivery induces increased concentrations of heat shock proteins both in normal pregnancy and pregnancy complicated by hypertension.

**Keywords:** pregnancy; heat shock protein Hsp60; hypertension

## WSTĘP

Białka szoku termicznego (Hsp) w organizmie człowieka pełnią funkcję ochronną przed czynnikami stresu komórkowego oraz środowiskowego. Podstawowa ich rola polega na osłabianiu efektów działania czynników stresowych [1]. W warunkach stresu komórkowego obserwowany jest szybki wzrost stężeń Hsp w cytoplazmie oraz ich transport m.in. do jądra komórkowego, gdzie chronią DNA, pre-mRNA, prerybosomy oraz białka jądrowe przed degradacją [2,3]. Białka te niezależnie od stanu czynnościowego komórek odpowiadają za prawidłowe funkcjonowanie wszystkich organelli oraz są ogniwem wielu szlaków metabolicznych i sygnalizacyjnych. Wewnątrzkomórkowe Hsp pełnią głównie rolę ochronną, natomiast zewnątrzkomórkowe i umiejscowione w błonie komórkowej – pośredniczą w mechanizmach immunologicznych oraz wpływają na reakcje zapalne, czego wynikiem jest synteza cytokin zapalnych [4].

Nadciśnienie tętnicze ciążowe wraz ze stanem przedrzucawkowym i rzucawką należą do najczęstszych i najpoważniejszych powikłań okresu ciąży, porodu i porodu, przyczyniając się do zwiększonego ryzyka chorobowości i śmiertelności okołoporodowej zarówno matek, jak i noworodków. Nadciśnienie tętnicze wykłama około 5-10% wszystkich ciąż. Zachorowalność związana z podwyższonym ciśnieniem tętniczym kobiet ciężarnych jest drugą po zatorowości płucnej najczęstszą przyczyną umieralności kobiet ciężarnych w USA stanowiąc odsetek ok. 15% zgonów. Nadciśnienie tętnicze ciążowe oraz nadciśnienie tętnicze przewlekłe istniejące przed ciążą stanowią dwie odrębne jednostki chorobowe, różniące się m.in. schematem postępowania oraz leczenia [5].

## INTRODUCTION

Heat shock protein (Hsp) in the human body provides protection against cellular and environmental stress factors. Their primary role is to weaken the effects of stress factors [1]. In cellular stress conditions we observe a rapid increase in Hsp concentrations within the cytoplasm and their transport, among others, to the nucleus, where it protects DNA, pre-mRNA, pre-ribosomes and nuclear proteins from degradation [2, 3]. These proteins, regardless of the functional state of the cells are responsible for the correct functioning of all cell organelles and are the link between many metabolic and signaling pathways. Intracellular Hsp fulfils primarily a protective role, while extracellular and positioned in the cell membrane – are involved in mediating in immunological mechanisms and affect inflammatory reactions, resulting in the synthesis of inflammatory cytokines [4].

Gestational hypertension and pregnancy with preeclampsia and eclampsia are the most common and most serious complications of pregnancy, childbirth and postpartum, contributing to an increased risk of perinatal morbidity and mortality of both mothers and newborns. Hypertension complicates approximately 5-10% of all pregnancies. Morbidity associated with increased blood pressure in pregnant women is the second after pulmonary embolism cause leading to mortality of pregnant women in the United States, accounting for approx. 15% of deaths. Pregnancy hypertension and chronic hypertension existing before pregnancy are two distinct disease entities, differing among others, in protocol and treatment regimen [5].

## CEL PRACY

Celem pracy była ocena przydatności klinicznej oznaczania stężeń białek szoku cieplnego Hsp60 w grupach zdrowych kobiet ciężarnych i ciężarnych z nadciśnieniem tętniczym ciążowym w III trymestrze ciąży i w okresie porodu oraz odniesienie uzyskanych wyników do grupy kobiet zdrowych nie będących w ciąży.

## MATERIAŁ I METODY

Do badań zakwalifikowano ogółem 64 kobiety. Badania prowadzono w okresie od 01.01.2012 do 31.05.2012r. Badane kobiety ciężarne podzielono na następujące grupy:

- grupa I - 28 kobiet ciężarnych z ciążą powikłaną nadciśnieniem tętniczym ciążowym, które były hospitalizowane w Katedrze i Oddziale Klinicznym Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej w Bytomiu ŚUM w Katowicach
- grupa II - 16 zdrowych kobiet ciężarnych, w tym samym średnim wieku rozrodczym, kontrolującymi przebieg ciąży zgodne z zaleceniami lekarskimi oraz wytycznymi PTG
- grupa kontrolna - 20 zdrowych kobiet nieciężarnych w porównywalnym wieku rozrodczym

Wszystkie kobiety, zarówno z grup badanych, jak i grupy kontrolnej negowały wszelkie używki (palenie papierosów, spożywanie alkoholu i używanie narkotyków). Rozpoznanie nadciśnienia tętniczego ciążowego postawiono na podstawie wytycznych Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego opublikowanych w roku 2011 [6]. Były one leczone preparatem metyldopa w doustnej dawce dziennej od 500 mg do 1500 mg w dawkach podzielonych.

Oznaczenia stężeń białek szoku cieplnego o masie cząsteczkowej 60 kDa (Hsp60) dokonano metodą immunoenzymatyczną (ELISA) z wykorzystaniem komercyjnie dostępnych zestawów firmy Uscn Life Science Inc. (Houston, USA oraz Wuhan, Chiny) w Katedrze i Zakładzie Chemii Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze ŚUM w Katowicach. Na badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (nr KNW/0022/KB1/19/09).

## WYNIKI

W tabeli 1. przedstawiono średnie stężenia białka Hsp60 w poszczególnych grupach kobiet ciężarnych oraz u kobiet nieciężarnych wraz z wynikami analizy statystycznej pomiędzy poszczególnymi grupami.

Średnie stężenia białka Hsp60 różniło się statystycznie pomiędzy początkowym i końcowym punktem pobrania (III trymestr ciąży vs. po rozwiązaniu ciąży) zarówno w grupie kobiet ciężarnych zdrowych ( $p < 0,001$ ), jak i w grupie kobiet z nadciśnieniem tętniczym ciążowym ( $p < 0,05$ ). W obu grupach stężenie Hsp60 było statystycznie wyższe po rozwiązaniu ciąży. Ponadto wykazano wysoce znaczącą statystycznie

## AIM OF STUDY

The aim of the study was to evaluate the clinical usefulness of the determination of the concentrations of heat shock protein Hsp60 in groups of healthy pregnant women and pregnant women with gestational hypertension in the third trimester of pregnancy and during childbirth, and reference of obtained results to a group of healthy women who are not pregnant.

## MATERIALS AND METHODS

The study included a total of 64 women. The study was conducted in the period from 01.01.2012 to 31.05.2012. Tested pregnant women were divided into the following groups:

- Group I - 28 pregnant women with pregnancies complicated by gestational hypertension who were hospitalized in the Chair and Clinical Department of Gynecology, Obstetrics and Oncological Gynecology in Bytom, Medical University of Silesia in Katowice
- Group II - 16 healthy pregnant women at the same mean age of childbearing, controlling pregnancy in accordance with medical recommendations and guidelines of Polish Gynecological Society.
- control group - 20 healthy non-pregnant women at comparable childbearing age

All women, both from treatment groups and control group negated any drugs (smoking, alcohol consumption and drug use). The diagnosis of gestational hypertension was based on the guidelines of the Polish Society of Hypertension published in 2011 [6]. They have been treated with methyldopa daily oral dose of 500 mg to 1500 mg in divided doses.

Determination of concentrations of the heat shock proteins having a molecular weight of 60 kDa (Hsp60) was carried out by enzyme immunoassay (ELISA) using a commercially available kit from Life Science Inc. USCN (Houston, USA and Wuhan, China) in the Chair and Chemistry Department of Faculty of Medicine with Medical-Dental Division in Zabrze, Medical University of Silesia in Katowice. The study was approved by the Bioethics Committee of Medical University of Silesia in Katowice (No CDF / 0022 / KB1 / 19/09).

## RESULTS

Table 1 shows the average concentration of Hsp60 protein in different groups of pregnant and non-pregnant women and the results of the statistical analysis between groups.

Average concentrations of Hsp60 protein were statistically significantly different between the start and end point of taking the sample for determination (III trimester of pregnancy vs. after delivery) in the group of healthy pregnant women ( $p < 0.001$ ) and in the group of women with gestational hypertension ( $p < 0.05$ ). In both groups, the concentration of Hsp60 was significantly higher after delivery. In addition, a highly sta-

różnicę ( $p=0,000007$ ) w stężeniu Hsp60 pomiędzy grupą kobiet nieciężarnych a grupą ciężarnych zdrowych po rozwiązaniu ciąży, stężenie Hsp60 było znacznie wyższe po rozwiązaniu ciąży. Nie wykazano natomiast znamienności pomiędzy stężeniami Hsp 60 pomiędzy grupą nieciężarnych a ciężarnych zdrowych w III trymestrze ciąży, ale można mówić o pewnej tendencji w kierunku wzrostu stężenia Hsp60 w III trymestrze ciąży w porównaniu z nieciężarnymi ( $p=0,059$ ). Nie wykazano znamienności statystycznej w grupach ciężarnych w III trymestrze ciąży oraz w okresie poporodowym pomiędzy grupami ciężarnych zdrowych oraz z nadciśnieniem tętniczym ciążyowym.

## DYSKUSJA

Nadciśnienie tętnicze ciążyowe, pomimo znacznego rozwoju medycyny perinatalnej, stanowi nadal poważne powikłanie ciąży [7]. Pojawia się zazwyczaj po 20. tygodniu ciąży, możliwe jest także pojawienie się w okresie porodu lub położu. Do głównych powikłań u matki należy przełom nadciśnieniowy, zaburzenia krzepnięcia, niewydolność nerek, krwawienia do ośrodkowego układu nerwowego, niewydolność krążenia, uszkodzenie wątroby [8]. Wśród powikłań płodowych możemy spodziewać się porodu przedwczesnego, niedotlenienia wewnątrzmacicznego, IUGR, przedwczesnego odklejenia łożyska, a nawet zgonu wewnątrzmacicznego [9]. Ciąża powikłana nadciśnieniem tętniczym ciążyowym jest ciążą podwyższonego ryzyka i dlatego kluczowe znaczenie odgrywa intensywny nadzór nad stanem matki i płodu, włączając nowoczesne metody diagnostyczne oparte na monitorowaniu przepływów dopplerowskich w tętnicach płodowych i pępowinowej [10]. Odpowiednio wczesne wychwycenie zagrożeń związanych z rozwojem nadciśnienia tętniczego ciążyowego przyczynia się do osiągnięcia sukcesu położniczego, jakim jest urodzenie zdrowego dziecka oraz brak negatywnych następstw zdrowotnych dla kobiet ciężarnych [11].

tistically significant difference ( $p = 0.000007$ ) at a concentration of Hsp60 between the group of non-pregnant women and healthy pregnant group after delivery, was shown, the concentration of Hsp60 was significantly higher after delivery. There were no significance between the concentrations of Hsp 60 between a group of healthy non-pregnant and pregnant women in the third trimester of pregnancy, but we can speak of a certain trend towards an increase in the concentration of Hsp60 in the third trimester of pregnancy compared with non-pregnant women ( $p = 0.059$ ). There was no statistical significance in the groups of pregnant women in the third trimester of pregnancy and in the postnatal period between the groups of healthy pregnant women and women with gestational hypertension.

## DISCUSSION

Gestational hypertension, despite the significant development of perinatal medicine, is still a serious complication of pregnancy [7]. Usually it occurs after the 20th week of pregnancy, it may also occur in childbirth or postpartum period. The major complications in mother include a hypertensive crisis, coagulation disorders, kidney failure, bleeding into the central nervous system, heart failure, liver damage [8]. Among the fetal complications we can expect premature birth, intrauterine hypoxia, IUGR, premature detachment of the placenta, or even intrauterine death. [9] Pregnancy complicated by gestational hypertension is high risk pregnancy and therefore the intensive surveillance of the mother and the fetus, including modern diagnostic methods based on monitoring of Doppler flows in fetal and umbilical arteries, plays a key role [10]. Timely detection of the risks associated with the development of gestational hypertension contributes to the success of maternity, which are the birth of a healthy child and the lack of negative health consequences for pregnant women [11].

**Tab. 1.** Stężenia białka Hsp60 (ng/ml) w badanych grupach kobiet: zdrowe kobiety nieciężarne (grupa kontrolna) oraz ciężarne z nadciśnieniem tętniczym ciążyowym (grupa I) w czasie III trymestru i po rozwiązaniu ciąży (średnia  $\pm$  SD)

	Grupa kontrolna (n-20)	Grupa II (n-16)	Grupa I (n-28)	Znamienność
III trymestr	15,3 $\pm$ 16,0	33,3 $\pm$ 55,5 <sup>a)</sup>	37,7 $\pm$ 23,7	NS
Po ukończeniu ciąży		79,8 $\pm$ 68,1 <sup>b)</sup>	47,0 $\pm$ 26,7	NS
Znamienność		p<0,001	p<0,05	

<sup>a)</sup>  $p=0,059$  w porównaniu z grupą kobiet nieciężarnych

<sup>b)</sup>  $p<0,001$  w porównaniu z grupą kobiet nieciężarnych

**Tab. 1.** Hsp60 protein concentrations (ng / ml) in tested groups of women: non-pregnant healthy women (control group) and healthy pregnant (group II) and pregnant women with gestational hypertension (group I) during the third trimester and after delivery (mean  $\pm$  SD)

	Control group (n-20)	Group II (n-16)	Group I (n-28)	Significance
III trimester	15,3 $\pm$ 16,0	33,3 $\pm$ 55,5 <sup>a)</sup>	37,7 $\pm$ 23,7	NS
After delivery		79,8 $\pm$ 68,1 <sup>b)</sup>	47,0 $\pm$ 26,7	NS
Significance		p<0,001	p<0,05	

<sup>a)</sup>  $p=0,059$  compared to the group of non-pregnant women

<sup>b)</sup>  $p<0,001$  compared to the group of non-pregnant women

W badaniach własnych zaobserwowano wysoce znamiennej statystycznie wzrost stężenia Hsp60 podczas ciąży fizjologicznej u zdrowych ciężarnych w III trymestrze ciąży i okresie okołoporodowym. W dostępnym piśmiennictwie brak odniesienia do tej zależności – nie badano zmiany stężeń Hsp60 podczas poszczególnych trymestrów ciąży i okołoporodowo. Jedynie Divers i wsp [12], opublikowali dane, z których wynika, iż ekspresja Hsp60, Hsp70 oraz Hsp90 jest niezmienna podczas III trymestru ciąży aż do rozwiązania, niezależnie od długości czasu trwania ciąży. W innych badaniach opublikowanych w roku 2009 autorzy uważają, iż zarówno stężenia przeciwciał anti-Hsp60, jak i anti-Hsp70 nie mają związku z nadciśnieniem tętniczym ciążowym oraz ze stanem przedrzucawkowym [13].

Inni badacze zauważyli, że Hsp60 ma wpływ na prawidłowe kształtowanie się poszczególnych struktur płodowych. Udowodniono, że białko to może powodować gorszy rozwój blastocysty, redukuje wytwarzanie komórek płodowych oraz wzmacnia apoptozę w komórkach blastocytów. W mechanizmach tych odgrywa rolę zapewne układ immunologiczny, jednak dokładny mechanizm nie został jeszcze poznany [14,15]. Wpływ białek szoku cieplnego, a szczególnie Hsp70 na prawidłowy rozwój płodu badali także Child i wsp [16] oraz Sljivic i wsp [17]. Wykazano, że już we wczesnej ciąży powstają przeciwciała przeciwko opisywanemu białku, mogące powodować różnego rodzaju defekty płodu.

Coraz liczniejsze doniesienia sygnalizujące próby stosowania białek szoku cieplnego jako immunointerwencji stosowanej w leczeniu chorób u ludzi pozwalają ustawić tę grupę związków chemicznych w jednym rzędzie z obiecującymi nowymi metodami leczenia w medycynie. Jednak białka szoku cieplnego, ich rola i znaczenie w etiopatogenezie wielu chorób wciąż pozostają nie do końca odkryte, szczególnie u kobiet ciężarnych.

## WNIOSKI

1. Ciąża nie wpływa na stężenie białka szoku termicznego Hsp60.
2. Rozwiązanie ciąży indukuje wzrost stężenia białek szoku termicznego zarówno w ciąży fizjologicznej, jak i powikłanej ciążowym nadciśnieniem tętniczym.

In our own study a highly statistically significant increase in the concentration of Hsp60 during normal pregnancy in healthy pregnant women in the third trimester of pregnancy and the perinatal period, was observed. In the available literature there is no reference to this relationship – the changes in concentrations of Hsp60 during the different trimesters of pregnancy and perinatally, were not tested. Only Divers et al [12] have published data, which show that the expression of Hsp60, Hsp70 and Hsp90 is constant during the third trimester of pregnancy until the delivery, regardless of the duration of pregnancy. In another study published in 2009, the authors believe that both the concentration of anti-Hsp60 and anti-Hsp70 have no connection with gestational hypertension and preeclampsia [13].

Other investigators have found that Hsp60 has an influence on the correct formation of the different fetal structures. It has been proven that this protein may result in worse blastocyst development, reduces the production of fetal cells, and promotes apoptosis in blastocyst cells. In these mechanisms a certain role is probably played by the immune system, but the exact mechanism is not yet understood [14, 15]. The effect of heat shock proteins, particularly Hsp70 on proper development of the fetus was also studied by Child et al [16] and Sljivic et al [17]. It has been shown that already in early pregnancy the antibodies are produced against described protein that can cause different types of defects in the fetus.

The growing number of reports signaling the attempts to use heat shock proteins as immuno-intervention used to treat human diseases allow setting this group of chemical compounds in a row with promising new treatment methods in medicine. However, heat shock proteins, their role and importance in etiopathogenesis of many diseases are still not fully discovered, especially in pregnant women.

## CONCLUSIONS

1. The pregnancy does not affect the concentration of the heat shock protein Hsp60.
2. Delivery induces increased concentrations of heat shock proteins both in normal pregnancy and in pregnancy complicated by hypertension.

## Piśmiennictwo / References:

1. **King AM, MacRae TH.** The Small Heat Shock Protein p26 Aids Development of Encysting *Artemia* Embryos, Prevents Spontaneous Diapause Termination and Protects against Stress. *PLoS ONE* 2012;7:1-10.
2. **Kiliańska ZM, Ptańska A.** Zmiany w jądrach komórkowych wywołane szokiem termicznym. *Acta Biochem Biophys* 1999;14:103-122.
3. **Lanneau D, Brunet M, Frisan E et al.** Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation. *J Cell Mol Med* 2008;12:743-761.
4. **Wu T, Tanguay RM.** Antibodies against heat shock proteins in environmental stresses and diseases: friend or foe? *Cell Stress Chaperones* 2006;11:1-12.
5. **Stoltny D, Mazur E, Król-Zybura A i wsp.** Kardiologia w położnictwie. Nadciśnienie tętnicze indukowane ciążą. *Ogólnopolski Przegl Med* 2012;3:27-30.
6. **Widecka K, Grodzicki T, Narkiewicz K i wsp.** Zasady postępowania w nadciśnieniu tętniczym — 2011 rok. Wytyczne Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. *Nadciśn Tętn* 2011;15:55-82.
7. **Xu P, Zhao Y, Liu M et al.** Variations of MicroRNAs in Human Placentas and Plasma From Preeclamptic Pregnancy. *Hypertension* 2014 Mar 24.
8. **Too GT, Hill JB.** Hypertensive crisis during pregnancy and postpartum period. *Semin Perinatol* 2013;37,4:280-7.
9. **Seely EW, Ecker J.** Chronic hypertension in pregnancy. *Circulation* 2014;129,11:1254-61.
10. **Borowski D, Czuba B.** Biochemiczne testy przesiewowe stosowane w diagnostyce prenatalnej I trymestru ciąży. W: *Położnictwo tom 4.* Red. Bręborowicz GH, Wielgoś M. Warszawa, PZWL, 2012.
11. **Barra S, Cachulo Mdo C, Providência R, Leitão-Marques A.** Hypertension in pregnancy: the current state of the art. *Rev Port Cardiol* 2012;31:425-32.
12. **Divers MJ, Bulmer JN, Miller D, Lilford RJ.** Placental heat shock proteins: no immunohistochemical evidence for a differential stress response in preterm labour. *Gynecol Obstet Invest* 1995;40:236-423.
13. **Molvarec A, Derzsy Z, Kocsis J et al.** Circulating anti-heat-shock-protein antibodies in normal pregnancy and preeclampsia. *Cell Stress Chaperones* 2009;14:491-8.
14. **Esfandiari N, Falcone T, Goldberg JM et al.** Heat-shock protein modulate the incidence of apoptosis and oxidative stress in preimplantation mouse embryos. *Fertil Steril* 2007;87:1214–1217.
15. **Rodríguez-Dennen F, Martínez-Ocaña J, Kawa-Karasik S et al.** Comparison of hemodynamic, biochemical and hematological parameters of healthy pregnant women in the third trimester of pregnancy and the active labor phase. *BMC Pregnancy Childbirth* 2011; May 6,11:33.
16. **Child DF, Hudson PR, Hunter-Lavin C et al.** Birth defects and anti-heat shock protein 70 antibodies in early pregnancy. *Cell Stress Chaperones* 2006;11:101–105.
17. **Sljivic S, Kamenov B, Maglajlic S et al.** Possible interactions of genetic and immune-neuro-endocrine regulatory mechanisms in pathogenesis of congenital anomalies. *Med Hypotheses* 2006;67:57-64.