

Ocena stężeń białka HE4 u zdrowych kobiet ciężarnych oraz ciężarnych ze stanem przedrzucawkowym – badania pilotażowe

Iwona Janosz (ABEF), Piotr Bodzek (EF), Mikołaj Baliś (F), Aleksandra Barbachowska (F), Anita Olejek (E)

Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej w Bytomiu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

WKŁAD AUTORÓW: (A) Projekt badania · (B) Zbieranie Danych · (C) Analiza Statystyczna · (D) Interpretacja Danych · (E) Przygotowanie Rękopisu · (F) Gromadzenie Piśmiennictwa · (G) Gromadzenie Funduszy

STRESZCZENIE

Cel. Celem głównym pracy była ocena stężeń białka HE4 u zdrowych kobiet ciężarnych w III trymestrze ciąży oraz bezpośrednio po porodzie, a także u ciężarnych i rodzących ze stanem przedrzucawkowym (PE) w analogicznym wieku ciążowym oraz odniesienie uzyskanych wyników do kobiet nie będących w ciąży.

Materiał i metody. Prospektywne badanie obejmowało ogółem 102. kobiety ciężarne z ciążą pojedynczą oraz 50. kobiet nieciężarnych. Pacjentki ciężarne podzielono na dwie grupy – 50 kobiet z PE oraz 52 ciężarne zdrowe. U ciężarnych pobrano krew w III trymestrze oraz bezpośrednio po porodzie, a u nieciężarnych jednorazowo i oznaczano stężenia białka HE4 przy użyciu zestawów Human HE4 PicoKine™ ELISA Kit. **Wyniki.** Stężenia HE4 w III trymestrze ciąży były wyższe niż u kobiet nieciężarnych u kobiet z PE ($p < 0,0001$) oraz u zdrowych ciężarnych ($p < 0,0001$). Taka sama zależność dotyczyła okresu bezpośrednio po porodzie (odpowiednio $p = 0,0007$ i $p < 0,0001$). Stężenie HE4 było niższe u kobiet z PE po porodzie niż u zdrowych ciężarnych ($p < 0,0001$). Stężenia HE4 były wyższe po porodzie niż w III trymestrze ciąży, zarówno u zdrowych ciężarnych ($p < 0,0001$), jak i u kobiet z PE ($p = 0,0003$). U kobiet z PE stężenie HE4 w III trymestrze ciąży wykazuje istotną ujemną korelację z masą ciała noworodka ($R = -0,4439$) i punktacją Apgar w 1 minucie ($R = -0,3911$), a po porodzie z punktacją Apgar w 1 minucie ($R = -0,7134$).

Wnioski. Poród jest silnym bodźcem indukującym syntezę białka HE4. PE nie jest wystarczającym czynnikiem by zaistniała dodatkowa synteza białka HE4. O potencjalnym znaczeniu białka HE4 u ciężarnych i rodzących z PE może świadczyć ujemny wpływ na urodzeniową masę ciała oraz punktację Apgar noworodków matek z PE w pierwszej minucie życia.

Słowa kluczowe: nadciśnienie ciążowe; stan przedrzucawkowy; białko HE4

Adres do korespondencji: Piotr Bodzek
Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej, ul. Batorego 15, 41-902 Bytom
email: piotr.bodzek@sum.edu.pl

Liczba słów: 2157 **Tabele:** 1 **Ryciny:** 4 **Piśmiennictwo:** 30

Received: 12.04.2019

Accepted: 24.05.2019

Published: 28.06.2019

WSTĘP

Stan przedrzucawkowy (PE) występuje u około 1-2% kobiet ciężarnych, w USA 2,5% i mimo znacznego rozwoju medycyny perinatalnej stanowi jedną z groźniejszych powikłań III trymestru ciąży i okresu okołoporodowego, zarówno dla matki, jak i płodu [1-5]. Zachorowalność w tej grupie jest po krwotokach okołoporodowych drugą przyczyną umieralności ciężarnych stanowiąc odsetek około 14% zgonów [6]. Częstość występowania tej patologii wzrasta wraz z wiekiem ciężarnej, do zachorowania predysponuje ciąża mnoga, powszechne stosowanie doustnej antykoncepcji, nadwaga i otyłość. Wystąpienie PE wiąże się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju nadciśnienia i chorób układu sercowo-naczyniowego w przyszłości [7]. Ryzyko najgroźniejszych powikłań, takich jak HELLP i rzucawka, występują zarówno u matki, jak i płodu. U ciężarnej stan ten charakteryzuje się skurczem naczyń, aktywacją układu krzepnięcia oraz zaburzeniami wielu układów humoralnych oraz parakrynnych związanych z regulacją objętości i ciśnienia krwi, co może doprowadzić do napadów drgawek, krwawienia do ośrodkowego układu nerwowego, przedwczesnego odklejenia łożyska z zespołem wykrzepiania śródnaczyniowego, obrzęku płuc, niewydolności nerek i uszkodzenia wątroby oraz zgonu. Ważną rolę w patogenezie PE mogą również odgrywać stres oksydacyjny i reakcje zapalne. Zmiany patologiczne w przebiegu tego zespołu mają głównie charakter niedokrwienny i występują w łożysku, nerkach, wątrobie i mózgu [8]. Wymienione zmiany mogą doprowadzić u płodu do niedotlenienia wewnątrzmacicznego oraz porodu przedwczesnego, występuje także większe ryzyko zahamowania wewnątrzmacicznego wzrastania płodu oraz ponienienia, kwasicy oraz zgonu wewnątrzmacicznego. Wczesne rozpoznanie oraz leczenie PE może zapobiec wystąpieniu ciężkiej postaci nadciśnienia, groźnych dla życia powikłań oraz

mechanizmów u matki i płodu opisanych powyżej.

Białko HE4 (*human epididymis protein 4*) jest małą, rozpuszczalną, termostabilną, sekrecyjną glikoproteiną, która bierze udział w fizjologicznych i patologicznych procesach ludzkiego organizmu. Ekspresję tego białka wykryto również w wielu patologicznych liniach komórkowych, m.in. nowotworach jajnika, śluzówki macicy, płuc, okrężnicy, piersi, nerek, żołądka, trzustki, pierwotnym raku wątroby, jednak wszyscy autorzy są zgodni, że największa ekspresja występuje w nabłonkowych rakach jajnika [9,10]. Od lat prowadzone są badania w celu znalezienia specyficznego biochemicznego markera predykcji PE. Do chwili obecnej opisano wiele różnych markerów mogących spełniać to kryterium, jednak żaden z nich nie wszedł na stałe do praktyki klinicznej [11]. W piśmiennictwie brak doniesień na temat ewentualnej roli białka HE4 w etiopatogenezie, predykcji i ustaleniu rokowania u kobiet z PE.

CEL PRACY

Celem głównym pracy była ocena stężeń białka HE4 u zdrowych kobiet ciężarnych w III trymestrze ciąży oraz bezpośrednio po porodzie, a także u ciężarnych i rodzących z PE w analogicznym wieku ciążowym oraz odniesienie uzyskanych wyników do kobiet nie będących w ciąży.

Aby zrealizować cel główny pracy wyznaczono cele cząstkowe, zmierzające do uzyskania odpowiedzi na przedstawione poniżej pytania:

1. Czy poród fizjologiczny indukuje zmiany stężenia HE4 u zdrowych ciężarnych?
2. Czy wystąpienie PE wpływa na stężenia białka HE4 u ciężarnych i rodzących?
3. Czy poród u ciężarnej z PE indukuje zmiany stężenia HE4?
4. Czy stężenia HE4 korelują ze sobą u nieciężarnych, ciężarnych i rodzących zdrowych oraz ciężarnych i rodzących z PE?
5. Czy stężenia HE4 w ciąży fizjologicznej i powikłanej PE korelują z wynikami perinatalicznymi?

MATERIAŁ I METODA

Prospektywne badanie obejmowało ogółem 102. kobiety ciężarne oraz 50. kobiet nieciężarnych. Wszystkie kobiety były w wieku powyżej 18. roku życia. Grupę I stanowiło 50. ciężarnych z ciążą powikłaną stanem przedrzucawkowym, które były hospitalizowane w Ośrodku

3 Stopnia Referencyjności - Klinice Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej w Bytomiu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego. Do badania zostały włączone kobiety, u których stwierdzono nadciśnienie *de novo* (ciśnienie krwi skurczowe ≥ 140 mmHg lub rozkurczowe ≥ 90 mmHg co najmniej dwukrotnie w odstępie 6 godzin) pojawiające się po 20 tygodniu ciąży, któremu towarzyszył białkomocz ($> 0,3$ g/24h). Do grupy II włączono 52. zdrowe ciężarne, w tym samym wieku ciążowym, uczęszczających na regularne wizyty ginekologiczne. Grupę odniesienia stanowiło 50. zdrowych kobiet nieciężarnych w porównywalnym wieku. Z badań wyłączono ciężarne z ciążą powikłaną innymi stanami patologii ciąży lub ciężarne chore na jakiegokolwiek przewlekłe choroby i/lub łagodne schorzenia ginekologiczne lub nie-ginekologiczne, stosujące przed ciążą doustną antykoncepcję lub inne leki, palące papierosy, spożywające alkohol. Warunkiem włączenia do badań były prawidłowe stężenia kreatyniny. Wyłączono z badań kobiety podające przed ciążą nieregularne i nieprawidłowe miesiączki oraz kobiety, u których ciążę uzyskano po stymulacji hormonalnej jajników. Kryterium wyłączenia z badań było także przedciążowe BMI poniżej $18,5$ kg/m² lub powyżej 28 kg/m².

U ciężarnych z PE oraz zdrowych pobrano krew w III trymestrze między 30. a 34. tygodniem ciąży oraz bezpośrednio po porodzie, a u nieciężarnych jednorazowo. Pobieranie krwi do badań (ok. 5 ml objętości) przeprowadzono każdorazowo rano, na czczo, z zgięcia łokciowego. Krew po wytworzeniu się skrzepu odwirowywano, a uzyskaną surowicę przechowywano w temperaturze -70°C do chwili przeprowadzenia oznaczeń. Stężenie białka HE4 oznaczano metodą ELISA przy użyciu zestawów Human HE4 PicoKine™ ELISA Kit. Na wykonanie badań uzyskano zgodę Terenowej Komisji Bioetycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (KNW/0022/KB1/134/I/14). Wszystkie pacjentki zostały wyczerpująco poinformowane o celu badań i wyraziły pisemną zgodę na uczestnictwo.

Uzyskane wyniki przedstawiono wykorzystując podstawowe parametry statystyki opisowej. Zgodność rozkładu zmiennych z rozkładem normalnym sprawdzano testem Szapiro-Wilka. Do porównań pomiędzy grupami używano nieparametrycznych testów Kołmogorowa-Smirnowa i U Manna – Whitney'a. Do badania zmienności w obrębie grupy stosowano test ANOVA rang Kruskala-Wallisa. Za statystycz-

nie znamienne przyjęto poziom istotności $p < 0,05$. Do analizy statystycznej wykorzystano program Statistica 13.1 (Dell Inc. 2016, Dell Statistica, data analysis software system, version 13. software.dell.com).

WYNIKI

Wyniki przedstawiono w tabeli 1 oraz na rycinach 1–4. Średni wiek badanych kobiet ciężarnych z ciążą fizjologiczną ($29,5 \pm 6,5$ lat) był porównywalny do wieku kobiet ze PE ($30,9 \pm 5,4$ lat) oraz kobiet włączonych do grupy kontrolnej ($28,8 \pm 6,1$ lat). W tabeli 1 przedstawiono średnie stężenia białka HE4 w badanych grupach. Stwierdzono wyraźnie niższe stężenie HE4 bezpośrednio po rozwiązaniu ciąży w grupie kobiet ze PE w porównaniu do zdrowych ciężarnych w tym samym okresie (średnio $55,7$ pmol/l vs $91,3$ pmol/l) ($p < 0,0001$). Opisana zależność nie występuje w III trymestrze ciąży. U kobiet z PE zarówno w III trymestrze ciąży, jak i bezpośrednio po porodzie stężenie HE4

było istotnie wyższe niż u kobiet nieciążarnych (odpowiednio $43,8$ i $55,7$ w porównaniu do $23,1$ [pmol/l], $p < 0,0001$ i $p = 0,0007$). Taka sama zależność istnieje dla kobiet zdrowych ($51,3$ i $91,3$ w porównaniu do $23,1$ [pmol/l]; w obu przypadkach $p < 0,0001$). W obrębie obu grup kobiet ciężarnych stwierdzono znamienne wyższe stężenie białka HE4 w okresie poporodowym w porównaniu do III trymestru ciąży ($p < 0,0001$ dla zdrowych ciężarnych oraz $p = 0,0003$ dla kobiet z PE).

W grupach kobiet ciężarnych przeanalizowano czas trwania ciąży, masę urodzeniową noworodka, stan noworodka oceniany w skali Apgar w 1 i 5 minucie po urodzeniu. Stwierdzono liniową korelację ujemną pomiędzy stężeniem białka HE4 w III trymestrze ciąży powikłanej PE a masą urodzeniową noworodka ($R = -0,4439$, $p = 0,0012$; rycina 1). Podobną korelację (także dla grupy PE) stwierdzono dla punktacji Apgar w 1 minucie życia noworodka – im wyższe stężenie białka HE4 zarówno w III trymestrze ciąży, jak i bezpośrednio po porodzie – tym

Tab. 1. Stężenia białka HE4 [pmol/l] (średnia \pm odchylenie standardowe) w badanych grupach kobiet w czasie III trymestru ciąży oraz po rozwiązaniu ciąży

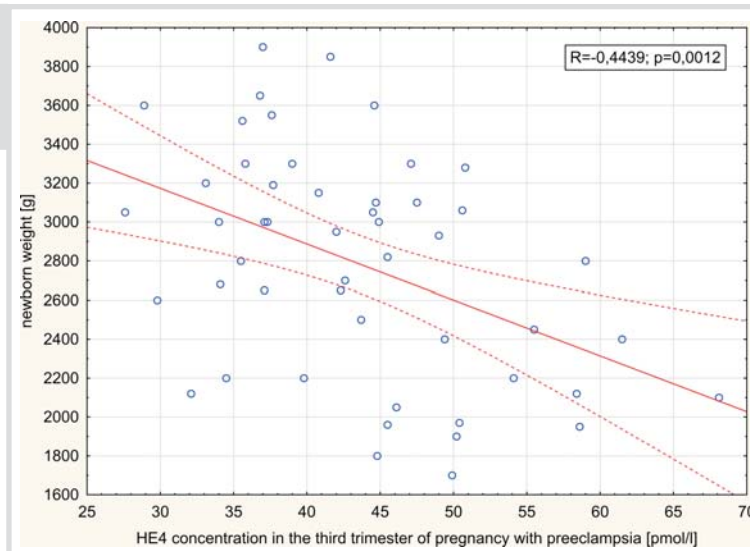
	Nieciążarne (n=50)	Zdrowe ciężarne (n=52)	Ciężarne z PE (n=50)	Znamiennosc
III trymestr	$23,07 \pm 5,16$	$51,31 \pm 20,86$ ^{a)}	$43,83 \pm 8,25$ ^{b)}	NS
Po rozwiązaniu ciąży	$23,07 \pm 5,16$	$91,31 \pm 14,31$ ^{b)}	$55,67 \pm 15,18$ ^{c)}	$p < 0,0001$
Znamiennosc	$23,07 \pm 5,16$	$p < 0,0001$	$p = 0,0003$	

a) $p < 0,0001$ w porównaniu z grupą kobiet nieciążarnych

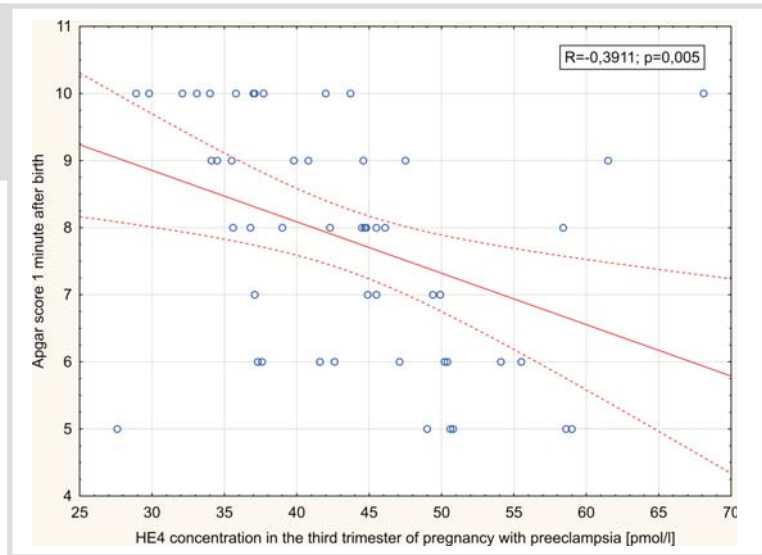
b) $p < 0,0001$ w porównaniu z grupą kobiet nieciążarnych

c) $p = 0,0007$ w porównaniu z grupą kobiet nieciążarnych

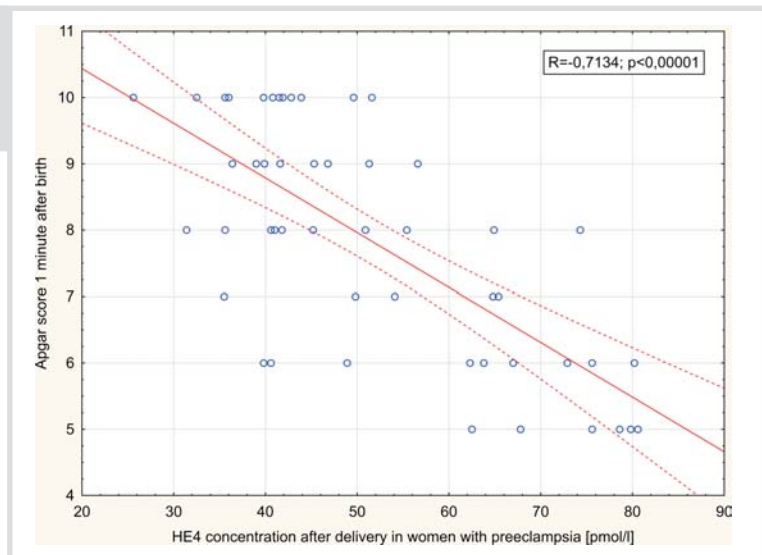
Ryc. 1. Ujemna korelacja liniowa pomiędzy stężeniem białka HE4 w III trymestrze ciąży u kobiet ze stanem przedrzucawkowym a masą urodzeniową noworodka



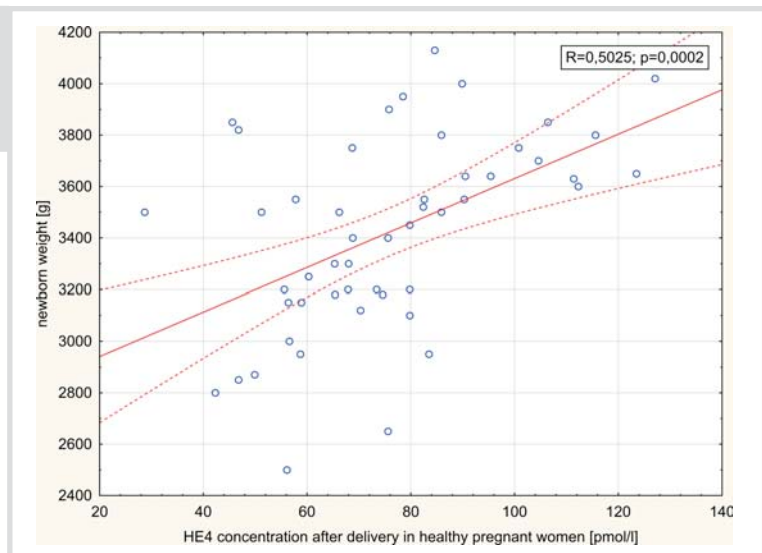
Ryc. 2. Ujemna korelacja liniowa pomiędzy stężeniem białka HE4 w III trymestrze ciąży u kobiet ze stanem przedzucawkowym a punktacją Apgar noworodka w 1 minucie życia



Ryc. 3. Ujemna korelacja liniowa pomiędzy stężeniem białka HE4 po porodzie u kobiet ze stanem przedzucawkowym a punktacją Apgar noworodka w 1 minucie życia



Ryc. 4. Dodatnia korelacja liniowa pomiędzy stężeniem białka HE4 po porodzie u ciężarnych kobiet zdrowych a masą urodzeniową noworodka



niższa punktacja Apgar w 1 minucie życia ($R = -0,3911$; $p = 0,005$; rycina 2 oraz $R = -0,7134$; $p < 0,00001$; rycina 3). Stwierdzono dodatnią korelację u zdrowych ciężarnych pomiędzy stężeniem HE4 bezpośrednio po porodzie a masą urodzeniową noworodka ($R = 0,5025$; $p = 0,0002$; rycina 4). Nie odnotowano różnic stężenia HE4 w zależności od sposobu rozwiązania ciąży zarówno u ciężarnych zdrowych, jak i ciężarnych z PE.

DYSKUSJA

W badaniach własnych przeprowadziliśmy analizę stężeń białka HE4 u kobiet ciężarnych z PE w III trymestrze oraz bezpośrednio po rozwiązaniu ciąży. Trudno odnieść nasze wyniki do prac innych autorów, bowiem do tej pory brak doniesień poruszających analizę stężeń tego markera w tej grupie chorych. Ograniczeniem naszych badań są niezbyt liczne grupy badane, ale doniesienie to traktować należy jako wstępne i jako zachętę do dalszych badań nad tym problemem. W nielicznych pracach poruszających problem zmian stężeń białka HE4 u osób z nadciśnieniem nie znaleziono różnicy ekspresji białka HE4 w tej grupie chorych [12, 13]. Jest to zgodne z naszymi wynikami, bowiem udowodniliśmy, iż PE nie jest wystarczającym czynnikiem by zaistniała dodatkowa synteza białka HE4. Innego zdania jest Piek i wsp. [14], którzy stwierdzili, że nadciśnienie występowało częściej u chorych z wysokim stężeniem HE4 [14]. Cytowane prace nie dotyczyły jednak kobiet ciężarnych.

Markerem HE4 i jego stężeniami w populacji kobiet ciężarnych zainteresował się w 2012 r. jako pierwszy Richard G. Moore. Jego praca wskazuje, że stężenia tego białka u kobiet ciężarnych są istotnie niższe niż w populacji kobiet nieciężarnych przed menopauzą [15]. Kolejne prace, badające wpływ ciąży na zmiany markera HE4, wykazywały określoną zależność, mianowicie, że jego stężenia w trzecim trymestrze ciąży są znacznie wyższe niż w pierwszym i drugim [16, 17]. Jednocześnie dalsze badania udowadniają, że białko HE4 w populacji ciężarnych jest istotnie statystycznie wyższe, niż w grupach kontrolnych, co jest zgodne z naszymi wynikami, ale zaprzecza tezie postawionej przez Moore'a w 2012 r. [17].

Dotychczas nie udało się znaleźć użytecznych klinicznie markerów molekularnych służących predykcji i wczesnemu rozpoznawaniu takich jednostek chorobowych, jak PE i rzucawka. Ukazały się liczne badania, które mogą wskazywać na potencjalną użyteczność niektórych

białek w wykrywaniu tych stanów chorobowych, jednak oznaczanie żadnego z nich nie weszło na stałe do praktyki klinicznej. Już w roku 2010 Wortelboer i wsp. udowodnili, że obniżenie stężeń łożyskowego czynnika wzrostu (PIGF) oraz białka łożyska 13 (PP13) w pierwszym trymestrze ciąży mogą być obiecującymi wskaźnikami w ocenie ryzyka w przypadku wystąpienia wczesnego stanu przedrzucawkowego i zespołu HELLP w późniejszych tygodniach ciąży [5]. Podobnego zdania jest Poon i wsp. [18], którzy udowodnili, iż już w 11-13 tygodniu ciąży oznaczanie stężeń w surowicy matki białka PAPP-A i łożyskowego czynnika wzrostu i skorelowanie wyników z badaniem dopplerowskim tętnic macicznych i średnim ciśnieniem tętniczym pozwala wyodrębnić grupę wysokiego ryzyka rozwoju PE w dalszym przebiegu ciąży [18]. Inne badania wskazują, że dezintegryna oraz metaloproteaza 12 (ADAM12) jest białkiem wskazującym na możliwość rozwoju tej patologii ciąży [19] oraz że stosunek rozpuszczalnego receptora dla czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego typu 1 do łożyskowego czynnika wzrostu (PIGF) również istotnie wzrasta u kobiet z PE [20]. Ponadto klastery genów mikroRNA specyficzne dla naczelnych jest wykrywany u kobiet zagrożonych preeklampsją, co pokazano w badaniach z 2013 i 2014 roku [21,22]. Praca chińskich badaczy, sprawdzająca użyteczność wielu białek w jednej populacji kobiet udowodniła, że białka, takie jak: sFlt-1, VEGF, sEndoglin, sEGFR, PIGF, NGAL, COX-2 bezpośrednio korelują z występowaniem PE, z kolei stężenia VEGF, sEndoglin, PIGF, sEGFR są niezależnymi czynnikami ryzyka tego powikłania [23].

Ukazały się prace, wskazujące na wpływ ciąży na zmiany stężeń markerów nowotworowych. Podwyższone poziomy Ca-125 stwierdzano w całym przebiegu ciąży, jednak najwyższe wartości odnotowano w 1 trymestrze, nie stwierdzono zmian stężeń inhibiny B, AMH i LDH w przebiegu ciąży prawidłowej [24]. Wiadomo, że ekspresja białka HE4 jest zwiększona u pacjentów z rakiem jajnika i endometrium [25,26], nie ulega jednak nadmiernej ekspresji w przypadkach endometriozy [27]. Bardzo niewiele jest doniesień oceniających stężenia białka HE4 u kobiet ciężarnych, jednak nieliczne prace wykazują ciekawe zależności. Wydaje się, że omawiane białko może być potencjalnie użyteczne w predykcji porodu przedwczesnego u kobiet po IVF lub mieć znaczenie w diagnostyce ciąży pozamacicznej [28]. Z kolei Orfanelli i wsp. [29] sprawdzili

retrospektywnie stężenia białka HE4 w 24. i 28. dniu po zapłodnieniu oraz przeprowadzili analizę czasu i sposobu zakończenia ciąży. Wyniki potwierdziły tezę, iż w prawidłowej ciąży stężenie HE4 rośnie już w pierwszych dniach ciąży, a brak jego wzrostu może być predyktorem poronienia, porodu przedwczesnego lub ciąży pozamacicznej. W innych grupach kobiet niż w ciąży fizjologicznej, stężenia HE4 były istotnie obniżone [29].

Ciekawe wydają się przedstawione w pracy korelacje liniowe pomiędzy punktacją Apgar w 1 minucie po urodzeniu noworodka w grupie ciężarnych z PE a stężeniem białka HE4 zarówno w III trymestrze, jak i bezpośrednio po porodzie u tych kobiet, a także pomiędzy urodzeniową masą noworodka a stężeniem białka HE4 w III trymestrze ciąży z PE oraz stężeniem białka HE4 po porodzie u zdrowych ciężarnych. Jest to szczególnie istotne w III trymestrze ciąży, bowiem białko HE4 mogłoby być używane jako marker predykcji stanu urodzeniowego i masy ciała noworodka u ciężarnych z PE. W pracy, która ukazała się w roku 2018 udowodniono, iż stężenia magnezu i kreatyniny mają wpływ na przewidywanie stanu urodzeniowego noworodka i jego masy urodzeniowej u kobiet z PE [30], brak jednak doniesień, które analizowały by związek punktacji Apgar noworodków lub ich masy urodzeniowej ze stężeniem białka HE4.

Przydatność białka HE4 podczas ciąży jako czynnika mogącego przewidzieć wystąpienie stanu przedrzucawkowego wymaga dalszych badań. Opracowanie skutecznych algorytmów predykcyjnych stanowiłoby ważny krok w kierunku wczesnej identyfikacji kobiet cierpiących na to powikłanie ciąży.

WNIOSKI

1. Okres porodu jest bardzo silnym bodźcem indukującym syntezę białka HE4 – w okresie bezpośrednio po porodzie stężenia HE4 były zdecydowanie najwyższe. Tym samym HE4 ujawnia się jako białko stresowe.
2. Stan przedrzucawkowy nie jest wystarczającym czynnikiem by zaistniała dodatkowa synteza białka HE4.
3. Poród u ciężarnej z PE powoduje dodatkową syntezę białka HE4, jednak mniej wyraźny niż w ciąży fizjologicznej.
4. Stężenia HE4 są wyższe u kobiet ciężarnych, zarówno w ciąży fizjologicznej, jak i u kobiet z PE, jednak synteza u kobiet z PE jest mniej nasiloną niż w ciąży fizjologicznej. Te

same zależności dotyczą stężeń HE4 bezpośrednio po porodzie.

5. O potencjalnym znaczeniu białka HE4 u ciężarnych i rodzących z PE może świadczyć ujemny wpływ na urodzeniową masę ciała oraz punktacją Apgar noworodków matek z PE w pierwszej minucie życia. Mimo, że u ciężarnych z PE do rozwiązania dochodzi istotnie szybciej w porównaniu do ciąży fizjologicznej, to jednak nie wpływa to ujemnie na wyniki perinatologiczne.

1. **Leffert LR.** What's new in obstetric anesthesia? Focus on preeclampsia, *Int. J. Obstet. Anesth.* 2015;24:264–271. doi:10.1016/j.ijoa.2015.03.008.
2. **Kintiraki E, Papakatsika S, Kotronis G et al.** Pregnancy-Induced hypertension, *Horm.* 2015;14:211–223. doi:10.14310/horm.2002.1582.
3. **Savitz DA, Engel SM, Hill C.** Descriptive Epidemiology of Chronic Hypertension, Gestational Hypertension, and Preeclampsia in New York State, 1995–2004, *Matern Child Heal.* 2015;18:829–838. doi:10.1007/s10995-013-1307-9. Descriptive.
4. **Paré E, S. Parry S, T.F. McElrath TF et al.** Clinical risk factors for Preeclampsia in the 21st century, *Obstet. Gynecol.* 2014;124:763–770. doi:10.1097/AOG.0000000000000451.
5. **Wortelboer EJ, M.P.H. Koster MPH, H.S. Cuckle HS et al.** First-trimester placental protein 13 and placental growth factor: Markers for identification of women destined to develop early-onset pre-eclampsia, *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* 2010;117:1384–1389. doi:10.1111/j.1471-0528.2010.02690.
6. **Say L, Chou D, Gemmill A et al.** Global causes of maternal death: A WHO systematic analysis, *Lancet Glob. Heal.* 2 (2014) 323–333. doi:10.1016/S2214-109X(14)70227-X.
7. **Vest AR, Cho LS.** Hypertension in pregnancy, *Curr. Atheroscler. Rep.* 2014;16. doi:10.1007/s11883-013-0395-8.
8. **Rocella RJ.** Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000; 183; 1–22. doi:10.1067/mob.2000.107928.
9. **Gislefoss RE, Langseth H, Bolstad N et al.** HE4 as an Early Detection Biomarker of Epithelial Ovarian Cancer: Investigations in Prediagnostic Specimens from the Janus Serumbank, *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2015;25:1608–1615. doi:10.1097/IGC.0000000000000532.
10. **Jiang J, Bo D, Chang X, et al.** Discrepant clinicopathologic characteristics and HE4 performance in type I and type II epithelial ovarian cancer, *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015;8:21303–21310.
11. **Allen RE, Rogozinska E, Cleverly K et al.** Abnormal blood biomarkers in early pregnancy are associated with preeclampsia: A meta-analysis, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2014; 182:194–201. doi:10.1016/j.ejogrb.2014.09.027.
12. **Abdalla N, Piorkowski R, Slomka A, Kania M.** Analysis of serum level of HE4 and CA125 considering selected risk factors among patients with endometrioid endometrial cancer. 2015.
13. **Liu L, Ning X, Bai M et al.** Prognostic and diagnostic value of HE4 expression in patients with chronic kidney diseases. 2016:9.7930–7940.
14. **Piek AA, Meijers WC, Schrotten NF et al.** HE4 serum levels are associated with heart failure severity in patients with chronic heart failure, *J. Card. Fail.* doi:10.1016/j.cardfail.2016.05.002.
15. **Moore RG, Miller MC, Eklund EE et al.** Serum levels of the ovarian cancer biomarker HE4 are decreased in pre-

- gnancy and increase with age, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016;206: 1–7. doi:10.1016/j.ajog.2011.12.028.
16. **Lu J, Zheng Z, Zhang Q et al.** Measurement of HE4 and CA125 and establishment of reference intervals for the ROMA index in the sera of pregnant women, *J. Clin. Lab. Anal.* 2017;125:1–7. doi:10.1002/jcla.22368.
 17. [No authors listed], 16th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society, *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2016; 26 Suppl 3:165. doi: 10.1097/01.IGC.0000503327.50238.5c.
 18. **Poon LC, Nicolaides KH.** Early Prediction of Preeclampsia, 2014 doi:10.1155/2014/297397.
 19. **Kuc S, Koster MPH, Franx A et al.** Visser, Maternal Characteristics, Mean Arterial Pressure and Serum Markers in Early Prediction of Preeclampsia, *PLoS One.* 2013;8:1–8. doi:10.1371/journal.pone.0063546.
 20. **Zeisler H, Llorba E, F. Chantraine F et al.** Verlohren, Predictive Value of the sFlt-1:PLGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia, *Obstet. Gynecol. Surv.* 2016; 71:273–274. doi:10.1097/01.ogx.0000482523.79556.f6.
 21. **Hromadnikova I, Kotlabova K, M. Ondrackova M et al.** Circulating C19MC MicroRNAs in preeclampsia, gestational hypertension, and fetal growth restriction, *Mediators Inflamm.* 2013; doi:10.1155/2013/186041.
 22. **Hromadnikova K, Kotlabova L, Hympanova J et al.** First trimester screening of circulating C19MC microRNAs can predict subsequent onset of gestational hypertension, *PLoS One.* 2014; 9: 1–18. doi:10.1371/journal.pone.0113735.
 23. **Cui L, Shu C, Liu Z et al.** Serum protein marker panel for predicting preeclampsia, *Pregnancy Hypertens.* 2018; 0–1. doi:10.1016/j.preghy.2018.01.009.
 24. **Han SN, Lotgerink A, Gziri MM et al.** Physiologic variations of serum tumor markers in gynecological malignancies during pregnancy: a systematic review, *BMC Med.* 2012;10:86. doi:10.1186/1741-7015-10-86.
 25. **Fan C, Xiao G, Xue G et al.** The clinical value of tumor markers HE4, CA125, CA199, CA153 and AFP in the early diagnosis of ovarian cancer, *Int. J. Lab. Med.* 2017;38:2718–2719,2722.
 26. **Capriglione S, Plotti F, Miranda A et al.** Utility of tumor marker HE4 as prognostic factor in endometrial cancer: a single-center controlled study, *Tumor Biol.* 2015;36: 4151–4156. doi:10.1007/s13277-015-3049-3.
 27. **Huhtinen K, Suvitie P, Hiissa J et al.** Poutanen, A. Perheentupa, Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts. *Br. J. Cancer.* 2009;100:1315–1319. doi:10.1038/sj.bjc.6605011.
 28. **Kanninen TT, Sisti G, Ramer I et al.** Predictive biomarkers of preterm delivery in women with ongoing IVF pregnancies, *J. Reprod. Immunol.* 2015;112:58–62. doi:10.1016/j.jri.2015.05.004.
 29. **Orfanelli T, Doulaveris G, B.P. Shulman BP et al.** Human epididymis protein 4 (HE4) and secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) are two novel biomarkers predictive of IVF outcome, *Fertil. Steril.* 2013;100:112. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.07.1668.
 30. **Cabarkapa V, Bogavac M, Jakovljević A et al.** Mirjana, Serum magnesium level in the first trimester of pregnancy as a predictor of pre-eclampsia—a pilot study, *Hypertens. Pregnancy.* 2018; 37:144–153. doi:10.1080/10641955.2018.1494189.