

# Prenatalne zmiany w rozwoju płodu i łożyska indukowane paleniem tytoniu

## Prenatal changes of the fetus and the placenta development induced by tobacco smoking

© GinPolMedProject 1 (35) 2015

Artykuł poglądowy/Review article

MAŁGORZATA WACHULSKA, ANETA SKONIECKA, AGATA TYMIŃSKA,  
MIROŚŁAWA CICHOREK

Zakład Embriologii w Katedrze Anatomii, Gdański Uniwersytet Medyczny  
Kierownik Zakładu: dr hab. Mirosława Cichorek

Adres do korespondencji/Address for correspondence:

Małgorzata Wachulska

Zakład Embriologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

ul. Dębinki 1, 80-210 Gdańsk

Tel./fax +48 58 349 1495, e-mail: mzar@gumed.edu.pl

### Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count 2302/3012

Tabele/Tables 0

Ryciny/Figures 1

Piśmiennictwo/References 61

Received: 10.09.2014

Accepted: 09.12.2014

Published: 20.03.2015

### Streszczenie

Powszechność palenia tytoniu a tym samym narażanie płodu na wpływ składników dymu tytoniowego powinny zmuszać do poszukiwania parametrów pozwalających w sposób jednoznaczny oceniać to zagrożenie. W pracy przedstawiono możliwości oceny wpływu dymu tytoniowego na rozwój zarodka/płodu oraz łożyska podczas ciąży. Zarówno czynne, jak i bierne palenie tytoniu przez kobiety ciężarne ogranicza wewnątrzmaciczny wzrost płodu, przejawiający się wolniejszym wzrostem niektórych kości kończyn i czaszki, a także zmniejszoną wielkością niektórych narządów np. mózgu, nerek, co dokumentują pomiary antropometryczne wykonywane w badaniu ultrasonograficznym lub w analizie obrazów z rezonansu magnetycznego. Zmniejszenie przepływu krwi w unaczynieniu macicznym i w tętnicy popowinowej oraz zwiększenie przepływu krwi w tętnicy mózgowej w porównaniu z grupą niepalącą może być adaptacją chroniącą mózg przed niedotlenieniem.

Dym tytoniowy w znaczący sposób wpływa także na zmiany strukturalne i czynnościowe łożyska, które są już wyraźnie zaznaczone od końca I trymestru, a dotyczą pogrubienia śródbłonna kosmków, wzrostu zawartości kolagenu w zrębie kosmków, zmniejszenia unaczynienia. Kosmki łożyska kobiety palącej mają mniej mikrokosmków, syncytiotrofoblast ulega miejscowej nekrozie, obniża się aktywność pinocytarna syncytium, redukcji ulega obwodowa część drzewa kosmkowego. Zmiany strukturalne w łożysku prowadzą do obniżenia jego masy, zmniejszają efektywność wymiany substancji między matką a płodem, zwiększają ryzyko jego odklejenia, które u kobiet palących znacząco wzrasta w porównaniu z ciężarnymi niepalącymi. Analiza zawartości składników dymu tytoniowego (np. kotyniny, metali ciężkich: ołowiu, kadmu) w smółce i krwi popowinowej pozwala na ocenę wpływu cytotoksycznych czynników na płód i łożysko.

**Słowa kluczowe:** płód; palenie tytoniu; łożysko; badania prenatalne

### Summary

Tobacco smoking is so widespread that the most of the developing fetuses are under influence of the factors presented in the smoke but there are no well defined markers estimating this danger. Thus the aim of this study is to point possibilities of the tobacco smoking influence measurements concerning the fetus and the placenta changes during the prenatal period. The ultrasonographic and magnetic resonance imaging studies documented that active and passive smoking of the pregnant women retards the fetal growth. This intrauterine growth retardation is the result of the slower growth rate of the limbs bones and the skull and also the lower volume of some organs e.g. brain, kidneys. Observed the higher blood flow in the fetal middle cerebral artery and lower in the uterine and umbilical arteries could reflect the brain protection.

The tobacco smoke-induced structural changes of the placenta as increase of the villous endothelium thickness, increase of the collagen content in the stroma of the villi and lower number of blood vessels are recognizable at the end of the first trimester. The villi of the smoker's placenta have less microvilli, local necrosis of the syncytiotrophoblast appears, pinocytosis decreases, the villi are less branched. These placental structural changes decrease the weight of placenta, influence the effectiveness of the substrates exchange through the placental barrier, increase the risk of the placental abruption that among smokers is much higher than among nonsmoking women. The analysis of the tobacco smoke elements (e.g. cotinine, heavy metals: cadmium, lead) in the meconium and in the umbilical blood give us possibility to estimate the content of the cytotoxic factors influencing the fetus and the placenta.

**Key words:** fetus; tobacco smoking; placenta; prenatal examinations

## WPROWADZENIE

Pomimo antynikotynowych kampanii prozdrowotnych problem wpływu palenia tytoniu na rozwój płodu pozostaje aktualny, ponieważ 30% kobiet ciężarnych kontynuuje palenie, a prawie 70% przebywa w środowisku z zawartością dymu tytoniowego [1]. Dym tytoniowy zawiera ponad 4.tys. substancji toksycznych, w tym około 40. ma udowodnione działanie nowotworowe [2]. Nikotyna i tlenek węgla (CO) są wykrywane we krwi płodu, płynie owodniowym oraz mleku palących matek - stężenie nikotyny we krwi płodu jest o 15% wyższe niż we krwi matki, a o 88% wyższe w płynie owodniowym niż w osoczu matki [3-5]. Nikotyna wpływa na wzrost komórek, obkurczenie naczyń maciczo-łożyskowych, co obniża przepływ krwi i transport łożyskowy prowadząc do ograniczenia wzrostu płodu [4,5]. Natomiast CO łącząc się z hemoglobina płodową zwiększa poziom karboksyhemoglobiny ograniczając dostępność tlenu [3-5]. Zawarte w dymie tytoniowym metale ciężkie np. ołów przenikają przez barierę łożyskową stanowiąc istotne zagrożenie dla rozwoju płodu [6,7]. Dodatkowym źródłem ołowiu są również kości kobiet palących tytoń, gdzie metal ten podlega kumulacji, a okres półtrwania ołowiu zgromadzonego w kościach wynosi nawet do 27. lat [6,7].

Blisko 60. lat temu Simpson wykazał, iż palenie papierosów zmniejsza masę urodzeniową noworodka [8]. Obecnie palenie uważane jest za główny czynnik hipotrofii płodu (*intrauterine growth restriction/retardation, IUGR*). Palenie tytoniu zwiększa, także ryzyko zespołu nagłej śmierci niemowląt, podwyższa wskaźnik zachorowalności na choroby układu krążenia, układu oddechowego, zapalenie ucha środkowego i choroby alergiczne, zwiększa ryzyko wystąpienia rozszczepów twarzoczaszki i podniebienia, zaburza rozwój psychiczny, obniża zdolności poznawcze, powoduje zaburzenia behawioralne i emocjonalne u dzieci oraz zwiększa ryzyko rozpoczęcia palenia [1,4,9-15].

Wraz z obserwowaną liczbą niekorzystnych zmian u dzieci matek palących wprowadzono pojęcie Płodowego Zespołu Tytoniowego (*fetal tobacco syndrome, FTS*) [16,17]. O ile dość dobrze opisano skutki palenia tytoniu na rozwój dziecka w okresie postnatalnym, to

## INTRODUCTION

In spite of the anti-nicotine health promotion campaigns the problem of influence of tobacco smoking on the development of fetus remains still present, as 30% of pregnant women continue smoking and 70% of them spending time in environments containing tobacco smoke [1]. Tobacco smoke contains over 4 thousands of toxic substances, including approximately 40 proven carcinogens [2]. Nicotine and carbon monoxide (CO) are detectable in fetus blood, the amniotic fluid and the milk of smoking mothers – nicotine concentration in fetus blood is 15% higher than in mother's blood and 88% higher in the amniotic fluid than in mother's blood plasma [3-5]. Nicotine influences tissue growth, the narrowing of the uterus-placenta blood vessels that lowers the volumes of flowing blood and hinders the transport through placenta, leading to limitation of fetus growth [4,5]. And the CO binds with fetal hemoglobin, increasing the levels of carboxyhemoglobin and lowering the availability of oxygen [3-5]. The heavy metals contained in tobacco smoke- such as lead- are transmitted through the placenta barrier forming significant threat for the fetal development [6,7]. Additional source of lead are also the bones of the smoking women, where this metal is cumulated and the half-life of lead deposited in bones is as long as even 27 years [6,7].

Almost 60 years ago Simpson proved that cigarette smoking lowers the birth mass of the newborns [8]. Currently tobacco smoking is regarded as the main factor for intrauterine growth restriction/retardation, IUGR. Smoking also increases the risk of sudden infant death, increases the incidence rate of the circulatory and respiratory system diseases as well as otitis media and allergic disorders, increases the risk of facial and palate cleft defects, disturbs the psychological development, lowers the cognitive skills and causes behavioral and emotional problems of children, also increasing the risk of the child starting smoking in future [1,4,9-15].

Together with the observed number of detrimental changes observed in case of children of smoking mothers the notion of Fetal Tobacco Syndrome, or FTS was introduced [16,17]. Were the consequences of tobacco smoking for the children in postnatal stage well de-

wpływ tego nałogu na rozwój płodu jest ciągle słabo udokumentowany, a zróżnicowanie badanych prenatalnie parametrów, stosowanie różnych technik obrazowania zmian strukturalnych, małe liczebności badanych grup nie pozwalają na jednoznaczne wyjaśnienie mechanizmów prowadzących do obserwowanych zmian w rozwoju prenatalnym.

## PRENATALNE (IN UTERO) ZMIANY W ROZWOJU PŁODÓW MATEK PALĄCYCH TYTOŃ

W latach 80. i 90. dane o efektach wpływu składników dymu tytoniowego na płód dotyczyły głównie pomiarów akcji serca płodu (KTG lub EKG), oceny ruchów wyczuwanych przez matkę lub ruchów oddechowych (USG, Doppler), natomiast w mniejszym stopniu analizowano parametry morfometryczne płodu [18-23]. Badania te prowadzono w małych grupach liczących od 10. do 20. kobiet palących. Stwierdzono, że czynne palenie pod koniec ciąży sprzyja obniżeniu liczby ruchów płodu wyczuwanych przez matkę i wpływa na akcję serca płodu i ruchy oddechowe płodu, spowalnia wzrost wymiaru dwuciemiowego głowy dziecka od 21. tygodnia ciąży [18-23]. Newnham i wsp. ponadto stwierdzili, że zmniejszeniu wymiaru dwuciemiowego głowy towarzyszyło zmniejszenie objętości łożyska bez znaczących różnic w przepływach naczyniowych [23]. Obserwowane zmiany były szczególnie wyraźne w 24. tygodniu ciąży u płodów płci męskiej [23]. Poza zmianami w obrębie głowy, stwierdzono wpływ matczyne go palenia na wzrost ciała (długość kości udowej, ramiennej, piszczelowej, kości łokciowej, obwód uda, obwód ramienia) i wzrost trzewi (obwód brzucha, średnica i objętość serca, średnica i objętość nerek) [22].

W latach późniejszych pojawia się coraz więcej danych o zmianach cech biometrycznych płodów matek palących tytoniu [24-27]. Zaren i wsp. wykazali zmniejszoną pod wpływem matczyne go palenia średnicę brzucha (MAD - *mean abdominal diameter*) w drugiej połowie ciąży niezależnie od płci oraz zmieniony obwód główki z mniejszą średnicą ciemieniową (BPD - *biparietal diameter*) już od 18. tygodnia ciąży, co było wyraźnie zaznaczone u płodów płci męskiej [25]. Autorzy tej pracy uważają, że mniejszy wymiar dwuciemiowy (BPD) w grupie palących może wynikać zarówno z ograniczenia liczby neuronów pod wpływem toksycznych składników dymu tytoniowego, jak i z zaburzeń w rozwoju wypustek nerwowych, połączeń synaptycznych i mielinizacji w drugiej połowie ciąży związanych ze zmniejszeniem transportu niezbędnych substancji przez mniej wydolne łożysko [25]. Natomiast większą wrażliwość płodów płci męskiej na niekorzystne oddziaływanie matczyne go palenia badacze wiążą z szybszym tempem wzrostu płodów płci męskiej oraz ze zróżnicowaną wrażliwością dojrzewających narządów na działanie hormonów, w tym hormonów płciowych [25].

Według innej grupy badaczy, oceniających przyrost tłuszczowej i beztłuszczowej masy ciała płodu, nega-

scribed, the influence of that habit on the development of the fetus remains poorly documented and the differentiation of the prenatal parameters tested, use of different techniques for imaging the structural changes, and small sizes of researched groups do not allow for an unambiguous explanation of the mechanisms underlying the observed changes of the postnatal development.

## PRENATAL (IN UTERO) CHANGES IN THE DEVELOPMENT OF FETUSES OF TOBACCO SMOKING MOTHERS

In the 1980s and 1990s the data on effects of tobacco smoke components on fetus concerned mostly the measurements of heart rhythm of the fetus (ECG or CTG), the evaluations of movements felt by the mother or the respiratory movements (USG, Doppler), and to lesser extent the morphometrical parameters of the fetus were examined [18-23]. These research efforts were conducted in small groups of just 10 to 20 smoking women. It was proven that active smoking at the end of pregnancy contributes to the decrease in number of fetal movements felt by the mother and influences the heartbeat and respiratory movements of the fetus, slowing the growth of the biparietal diameter after 21<sup>st</sup> week of pregnancy [18-23]. Newnham et al. also ascertained that the lowered biparietal diameter was accompanied by the lowering of placenta volume without significant changes in vascular flow volumes [23]. These changes were particularly visible in 24<sup>th</sup> week of pregnancy in case of male fetuses [23]. Apart from head region changes there were also influences of mother's smoking found on the body growth (length of femur, humerus, tibia, ulna, thigh and arm circumferences) and the intestinal growth (abdomen circumference, heart and kidney diameters and volumes) [22].

Later years saw the appearance of ever growing number of data regarding the biometric changes of fetuses of tobacco smoking mothers [24-27]. Zaren et al. proved the lowered mean abdominal diameter (MAD) under the influence of mother's smoking – regardless of the fetus's sex, and the lower biparietal diameter (BPD) starting with 18<sup>th</sup> week of pregnancy, which was more visible in case of male fetuses [25]. The authors of that work also think that the lower biparietal diameter in the group of smokers can be a result of both the lowered number of neurons, due to the toxic components of tobacco smoke, and of the development disturbances of the nerve nodes, synaptic connections and the myelinogenesis in the second half of the pregnancy, connected with the lowered transport volumes of the required substances, due to the less efficient placenta [25]. The higher sensitivity of the male fetuses to the detrimental effects of mother's smoking was connected with the faster growing pace of male fetuses and the differentiated vulnerability of the growing organs to hormonal influence, including sex typical hormones [25].

tywne działanie matczyngo palenia jest raczej wynikiem toksycznego działania składników dymu tytoniowego na płód, niż efektem ogólnego ograniczenia dostępności składników odżywczych [24].

Analiza pomiarów antropometrycznych u 400. płodów wykazała zwiększenie średnicy brzucha od 23. tygodnia, a także preferencyjny wzrost wymiaru potyliczno-czołowego głowy, co zmniejszało stosunek średnicy ciemieniowej do średnicy potyliczno-czołowej (BP/OCF – *biparietal/occipital-frontal diameter*) powodując zmianę (wydłużenie) kształtu głowy w 32. tygodniu ciąży [26]. W tym samym czasie kończyny górne były dłuższe, a w kończynach dolnych kość piszczelowa była krótsza [26]. Autorzy postulują, że wydłużony kształt czaszki oraz zredukowany wzrost kości piszczelowej można traktować, jako wskaźniki zmiany środowiska macicy będące wynikiem niedoboru substancji odżywczych i tlenu [26]. Stawiają hipotezę, iż zmiany w dostępności tlenu powodowane matczynym paleniem wpływają na wykształcenie modelu wzrostu płodu, w którym faworyzowany jest wzrost górnych partii ciała, a ograniczany wzrost części dystalnych kończyn dolnych [26]. To zróżnicowanie wzrostu części ciała według Lampl i wsp. byłoby adaptacją płodu do ograniczonej dostępności niezbędnych do rozwoju substancji z zachowaniem ochrony energetycznej metabolizmu mózgu (działanie neuroprotektoryjne) [26]. Natomiast wzrost średnicy brzucha widoczny już od 23. tygodnia może świadczyć o zwiększonej hematopoezie wątrobowej, co mogą potwierdzać obserwacje o wzroście poziomu erytropoetyny (EPO) oraz hemoglobiny we krwi pępowinowej noworodków matek palących w ciąży [12,26].

Wśród prac z analizą biometryczną płodów narażonych na wpływ dymu tytoniowego na uwagę zasługują badania Jaddoe i wsp., którzy przebadali 7098. kobiet (5289. nie palących w ogóle, 591. palących do momentu rozpoczęcia ciąży, 1218. kontynuujących palenie podczas ciąży) we wczesnej (ok. 13. tydzień), środkowej (ok. 20. tydzień) i późnej (ok. 30. tydzień) ciąży [27]. Wyniki tych badań wskazują, że palenie podczas ciąży powoduje zmniejszenie wzrostu płodu przejawiające się wolniejszym wzrostem kości udowej w II trymestrze ciąży oraz obwodu główki i brzucha w III trymestrze, co może sugerować, iż palenie podczas ciąży wpływa w pierwszej kolejności na struktury obwodowe, a potem centralne [27]. Obniżenie masy urodzeniowej dziecka w największym stopniu było wynikiem palenia tytoniu przez matkę w czasie III trymestru [27], co jest zgodne z wcześniejszymi doniesieniami [28]. Nie stwierdzono istotnych różnic badanych parametrów między płodami kobiet niepalących w ogóle, a płodami kobiet palących, które po stwierdzeniu ciąży przerywały nałóg [27]. Zaobserwowane zmiany wybranych parametrów wzrostu płodu odzwierciedlają zmiany w procesie rozwoju danych narządów, co może mieć zdrowotne konsekwencje w dzieciństwie lub wieku dojrzałym.

According to other group of scientists, evaluating the growth of fat and fatless mass of the fetal body, the negative action of the mother's smoking is rather the result of toxic effect of components of the tobacco smoke on the fetus, than the effect of the general limitation of availability of nutrients [24].

The analysis of anthropometric measurements of 400 fetuses has proven the increase of abdominal diameter starting with 23<sup>rd</sup> pregnancy week, and the preference in the growth of the occipital-frontal dimension, which lowered the (biparietal/occipital-frontal diameter) BC/OCF ratio causing the change (elongation) of the shape of the head in the 32<sup>nd</sup> pregnancy week [26]. At the same time the upper limbs were longer, and the lower limbs characterized by shorter tibias [26]. The authors propose, that the elongated shape of the head and the reduced tibia growth can be treated as indicators of changes in the uterus environment that are results of nutrient and oxygen shortages [26]. They also form a hypothesis saying, that the changes in oxygen availability caused by mother's smoking habit influence a fetal growth pattern that favors the growth of the upper parts of the body and limits the growth of distal parts of lower limbs [26]. This differentiation of body growth is, according to Lampl et al., an adaptation of the fetus to the limited availability of some substances that protects the energy needs of brain metabolisms (neuro-protective actions) [26]. The increase of abdominal diameter, seen from 23<sup>rd</sup> week onwards, may prove the increased liver hematopoiesis, which may be proven by observations of elevated levels of erythropoietin (EPO) and hemoglobin in placental blood of the newborns delivered by mothers who smoked during their pregnancies [12,26].

Among the works containing biometrical analysis of fetuses exposed to influence of tobacco smoke the work of Jaddoe et al. deserves our special attention as it concerns the tests of 7098 women (5289 that did not smoke at all, 591 who were smoking till they got pregnant and 1218 that carried on smoking in their pregnancy) in early (13<sup>th</sup> week approx.), mid (20<sup>th</sup> week approx.) and late (30<sup>th</sup> week approx.) pregnancy [27]. The results of this research suggest that smoking while pregnant causes the retardation of fetus growth that becomes apparent in the slower growth of femur in the second trimester of pregnancy and the head and abdomen diameters in the third trimester, which may suggest that smoking during pregnancy influences the peripheral structures at first, only to come to the central ones next [27]. The lowering of the child's birth mass was most significantly influenced by mother's smoking during the third trimester [27] which is concurrent with earlier reports [28]. There were no significant differences between the fetal parameters of the women who did not smoke at all and those who quit smoking after learning about their pregnancy [27]. The changes of the chosen parameters of fetal growth observed in the research reflect the changes in develop-

W ostatnich latach do oceny wpływu matczynego palenia na rozwój płodu wykorzystuje się technikę rezonansu magnetycznego (MRI – *magnetic resonance imaging*), która pozwala na ocenę zmian wielkości i struktury narządów płodu czy łożyska [5,29-31]. Z zastosowaniem MRI określano objętość dużych narządów, takich jak: mózg, nerki, płuca, wątroba oraz ogólny wymiar płodu i objętość łożyska w grupie palących i niepalących kobiet [5]. Analiza uzyskanych obrazów wskazuje na wyraźnie mniejszą objętość mózgu, nerek, płuc i łożyska oraz zredukowany całkowity wymiar płodu u kobiet palących [5]. Według autorów ograniczenie wzrostu mózgu może być wynikiem apoptozy komórek progenitorowych neuronów lub neuronów we wczesnych stadiach różnicowania pod wpływem składników dymu tytoniowego [5]. Natomiast zredukowana wielkość nerek płodu to efekt zaburzeń w procesie powstawania nefronów związanych z nieprawidłową interakcją pomiędzy pączkiem moczowodowym i mezoderma nerkotwórczą [5]. O wpływie palenia na tworzenie nefronów może świadczyć obecność licznych niedojrzałych ciałek nerkowych obserwowanych w nerkach płodów eksponowanych na dym tytoniowy [32]. Obniżanie objętości płuc może być związane z opisywanym we wcześniejszych badaniach wykorzystaniem modelu zwierzęcego, zmniejszeniem powierzchni wymiany gazowej [33]. Ocena zmian strukturalnych i biochemicznych przy pomocy MRI nie wykazała różnic w rozwijających się płucach płodów matek palących w porównaniu z matkami niepalącymi [29]. Jednakże nawet dyskretne, trudne do zobrazowania w analizie MRI, zmiany w płucach mogą zwiększać podatność na choroby układu oddechowego w okresie postnatalnym [30]. Zmniejszenie objętości łożyska u kobiet palących to efekt zachodzących zmian strukturalnych.

Interesujących danych o wpływie palenia na układ naczyniowy płodu dostarczają wyniki ultrasonograficznego kolorowego badania Dopplera, które wskazują na zmniejszenie przepływu krwi w unaczynieniu macicznym i w tętnicy pępowinowej oraz zwiększenie przepływu krwi w tętnicy mózgowej w porównaniu z grupą niepalącą [34-36]. Jest to prawdopodobnie adaptacyjna zmiana pozwalająca na ochronę mózgu przed niedotlenieniem [36].

Na szczególne podkreślenie zasługuje to, iż skutki biernego i czynnego palenia na jednostkę płodowo-łożyskowo-matczyną są porównywalne [36,37]. Badania Quinton i wsp. oceniające funkcjonowanie śródbłonna na podstawie ultradźwiękowego pomiaru rozszerzalności tętnicy ramiennej pod wpływem zwiększonego przepływu (*flow-mediated dilatation* – FDM) wykazały jego dysfunkcję u płodów matek palących oraz jej związek z wystąpieniem IUGR [38].

Według niektórych badaczy palenie tytoniu obniża o ok. 30% ryzyko stanu przedrzucawkowego (związanego m. in. z uszkodzeniem śródbłonna) u palących ciężarnych, a zwiększenie tego ryzyka wzrasta wraz ze

ment processes of respective organs, which may have health implications in childhood and in adult age.

In recent years magnetic resonance imaging (MRI) has been used to evaluate the influence of mother's smoking habit on the fetal development and it allows for evaluation of changes in size and structure of fetal organs or placenta [5,29-31]. The volume of the large organs, such as: brain, kidneys, lungs, liver and the general size of the fetus and placenta can be evaluated, with use of MRI, in groups of smoking and non-smoking women [5]. The analysis of the obtained images indicates the significantly lower volume of: brain, kidneys, lungs and placenta, as well as the reduced total fetus size were found in case of smoking women [5]. According to the authors the limitation of brain growth can be the result of neuron cell or neuron progenitor cell apoptosis in their early stage of differentiation under the influence of tobacco smoke components [5]. The reduced size of fetus kidneys is a result of disturbance of nephron creation, connected with improper interactions between the urinary germ and the kidney-creating mesoderm [5]. The influence of smoking on nephron creation process can be further proven by the presence of numerous undeveloped kidney cells observed in kidneys of fetuses exposed to tobacco smoke [32]. The lowering of lung volume may be connected with the lowering of gas exchange area, as described in previous, animal model studies. The evaluation of structural and biochemical changes with use of MRI did not show differences in the developing lungs of fetuses of smoking mothers, when compared to those of non-smoking mothers [29]. But even discreet changes that are hard to image with use of MRI can increase the vulnerability to respiratory diseases in the postnatal period [30]. The lowering of the placenta volume in case of smoking mother is an effect of the ongoing structural changes.

The color Doppler USG examinations provide interesting data about the changes in the vascular system of fetuses that are induced by smoking, indicating the lowered blood flow volumes in the uterus vessels and in the umbilical arteries and the increased flow in brain artery, when compared with the non-smoking group [34-36]. This is probably an adaptive change that allows to protect the brain from anoxemia [36].

What is particularly worth stressing is that the results of both passive and active smoking on the fetus-placenta-mother unit are comparable [36,37]. Research of Quinton et al. evaluating the functioning of the endothelium on the basis of the ultrasound measurement of the dilatability of the brachial artery under the influence of increased flow (the flow-mediated dilatation – FDM) has proved its dysfunction in fetuses of smoking mother and their connection with the occurrence of IUGR [38].

According to some of the researchers the tobacco smoking reduces, by approximately 30% the risk of the preeclampsia (connected, inter alia, with the endothelium damage) in case of smoking pregnant women, and

zwiększeniem dziennej liczby wypalanych papierosów [39,40]. Poznanie mechanizmu prowadzącego do protekcyjnego działania dymu papierosowego na śródbłonek wydaje się być istotne dla opracowania metod przyczynowego leczenia stanu przedrzucawkowego [41].

Należy także dodać, że ocena zawartości pochodnych nikotyny takich jak, kotynina (COT) czy trans-3- $\alpha$ -hydroksykotynina (OHCOT) w smółce płodu może stanowić sposób weryfikacji deklaracji ciężarnej o liczbie wypalanych papierosów. Smółka powstaje od 13. tygodnia życia płodowego, a zawartość składników dymu tytoniowego w niej wzrasta wraz z liczbą wypalanych papierosów [42]. Badania przeprowadzone przez Himes i wsp. sugerują, że masa noworodka, jego długość i obwód główki istotnie korelują z obecnością, co najmniej jednej z pochodnych nikotyny [42]. Podobne wnioski wysuwają Sherif i wsp., którzy ponadto wykazali pozytywną korelację pomiędzy poziomem COT w smółce a jej zawartością w ślinie i moczu ciężarnej [43]. Należy stwierdzić, że czynne i bierne palenie ciężarnych ogranicza wewnątrzmaciczny rozwój płodu, co znajduje odzwierciedlenie w zmianie parametrów morfometrycznych kończyn, głowy oraz niektórych narządów wewnętrznych wyraźnie zauważalne od ok. 20. tygodnia ciąży.

#### ZMIANY STRUKTURALNE I FUNKCJONALNE ŁOŻYSKA JAKO EFEKT PALENIA TYTONIU

Większość składników dymu tytoniowego ma niską masę cząsteczkową i wysoką rozpuszczalność w wodzie, co ułatwia im przechodzenie przez barierę łożyskową. W związku z tym stężenia np. nikotyny i kotyniny są wyższe u płodu niż w organizmie matki. Pomimo obecności w łożysku enzymów metabolizujących ksenobiotyki, składniki dymu tytoniowego zaburzają proliferację i różnicowanie cytotrofoblastu kosmków [44-46]. Wpływa to niekorzystnie na budowę łożyska i w efekcie prowadzi do obniżenia jego masy proporcjonalnie do liczby wypalanych papierosów w ciągu całej ciąży [45,47]. Zmiany strukturalne w łożysku zwiększają ryzyko jego odklejenia, które u kobiet palących wzrasta o 90% w porównaniu z ciężarnymi niepalącymi [46,48].

Zmiany w obrębie łożyska są już wyraźnie zaznaczone od końca I trymestru i dotyczą pogrubienia śródbłonna kosmków, wzrostu zawartości kolagenu w zrębie kosmków, zmniejszenia unaczynienia (ryc.1.) [45,49]. Zmiana grubości śródbłonna kosmka zmniejsza efektywność przepływu substancji do płodu, co prowadzi do zahamowania wzrostu płodu. Kosmki łożyska kobiet palących wykazują także atrofię mikrokosmków, ogniskową nekrozę syncytiotrofoblastu, zmniejszenie aktywności pinocytarnej syncytium i degenerację organelli cytoplazmatycznych (ryc.1.) [44,45].

Analiza unaczynienia łożyska przeprowadzona za pomocą 3D USG Dopplerowskiego w I i II trymestrze

the decrease of this risk rises with the growing number of cigarettes per day [39,40]. Learning the mechanism behind this protective action of tobacco smoke seems to be significant for the development of methods for treatment of preeclampsia underlying causes [41].

It is worth adding that the evaluation of the content of nicotine metabolites, such as the cotinine (COT) or the tran-3 hydroxycotinine in the fetal meconium can be a way for verification of the number of cigarettes declared a day by the pregnant woman. The meconium is produced starting with the 13<sup>th</sup> week of pregnancy and the content of the components of tobacco smoke rises in it together with the rising number of cigarettes smoked [42]. The research conducted by Himes et al. suggest that the mass of the newborn, its length and head circumference show a significant correlation with the presence of at least one nicotine metabolite [42]. Similar conclusions are made by Sherif et al. who also prove the positive correlation between the COT levels in the meconium and its concentrations in the urine and saliva of the pregnant woman [43]. It is thus ascertained that the active and passive smoking of pregnant women limits the development of the fetus in the womb, which finds its reflection in the change of morphometrical parameters of limbs, head and some of the internal organs, that is clearly visible from the 20<sup>th</sup> week of pregnancy onwards.

#### THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES OF PLACENTA AS A RESULT OF TOBACCO SMOKING

The majority of components of tobacco smoke have low particle mass and high water solubility, which makes their passage through placenta barrier easier. This makes the fetus reach higher nicotine and cotinine concentrations than the body of mother. Although there are enzymes present in the placenta that metabolize xenobiotic substances, the components of tobacco smoke disturb the proliferation and differentiation of cytotrophoblasts of chorionic villi [44-46]. This has a detrimental effect on the structure of the placenta and in effect leads to the lowering of its mass that is proportional to the number of cigarettes smoked throughout the whole pregnancy [45,47]. The structural changes in placenta increase the risk of its abruption the risk of which increases by 90% in case of smoking women, when compared to the non-smokers [46,48].

The changes in the vicinity of placenta are already clearly manifested at the end of the first trimester and concern the thickening of the villi endothelium, increase of collagen concentration in the villi bases, the lower number of blood vessels (fig.1)[45,49]. The change of thickness of the villi endothelium lowers the flow efficiency of nutrients to the fetus which leads to the slowing of the fetal growth. The villi of the placenta of smoking women also show signs of atrophy of microvilli, focal necrosis of syncytiotrophoblast, the lower-

ciężcy u kobiet palących i niepalących wykazała, że w grupie kobiet palących 10. i więcej papierosów dziennie wartości wskaźników unaczynienia i przepływu krwi (VI-vascularization index, FI - flow index, VFI-vascularization flow index) były znamienne niższe i skorelowane z niższą masą urodzeniową dzieci [50]. Poza tym w grupie ciężarnych palących, co najmniej 10. papierosów dziennie, zdarzały się porody przedwczesne, czego nie stwierdzono u kobiet palących mniej lub niepalących [50]. Analiza histomorfometryczna łożysk kobiet palących wykazała zmniejszenie przestrzeni międzykosmkowej, redukcję obwodowej części drzewa kosmkowego oraz zmniejszenie objętości i powierzchni naczyń łożyska (ryc. 1.) [50]. U kobiet palących oraz tych, które przestały palić po stwierdzeniu ciąży wykazano zmniejszoną objętość, powierzchnię i długość naczyń krwionośnych kosmków w porównaniu z niepalącymi [45,51].

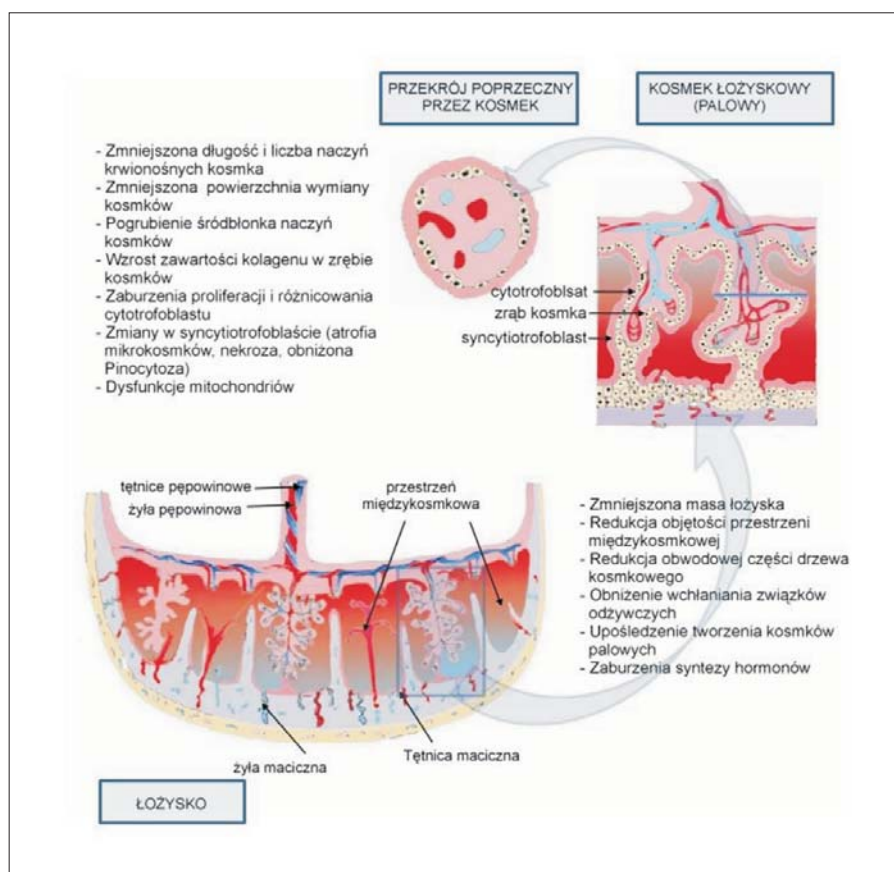
Nikotyna wiążąc się z receptorem nAChRs (*acetylcholinergiczny receptor nikotynowy*) na komórkach trofoblastu, śródbłonna naczyń, mięśniach gładkich łożyska wpływa na obniżenie wchłaniania substancji odżywczych oraz zmniejszenie objętości płynów i krwi w naczyniach łożyskowych [52]. Zaobserwowano in vitro, iż nikotyna ogranicza różnicowanie cytotrofoblastu w syncytium, a także poprzez obniżenie syntezy i aktywności kolagenazy IV hamuje rozrost trofoblastu, co zaburza równowagę pomiędzy proliferacją cytotro-

ing of pinocytosis activity of syncytium and the degeneration of cytoplasmatic organelle (fig.1) [44,45].

The analysis of placenta vascularization performed with use of Doppler 3D USG in first and second trimester of pregnancy of both smoking and non-smoking women has shown, that in the group of women who smoked 10 and more cigarettes a day the values of vascularization index and blood flow (VI-vascularization index, FI - flow index, VFI-vascularization flow index) were significantly lower and correlated with the lower birth mass of the children [50]. Apart from that the group of pregnant women smoking at least 10 cigarettes a day premature births were observed, which did not happen in case of the women who smoked less or did not smoke at all [50]. The histomorphometric analysis of the placentas of smoking women has shown the decrease of inter-villi area, the reduction of the circumference of the villus stem and the lowered volume and area of placenta vessels (fig. 1) [50]. The smoking women and also those who ceased smoking after their pregnancy was detected have shown the lowered volume, area and length of villus blood vessels, when compared to that of non-smokers [45,51].

Nicotine by binding with nAChRs (*nicotinic acetylcholine receptor*) on the trophoblast cells, vascular endothelium and the smooth muscle tissue of placenta influences the lowering of nutrient intake and the lowering of volume of fluids and blood in the placenta

**Ryc. 1.** Zmiany strukturalne i funkcjonalne łożyska w wyniku palenia tytoniu



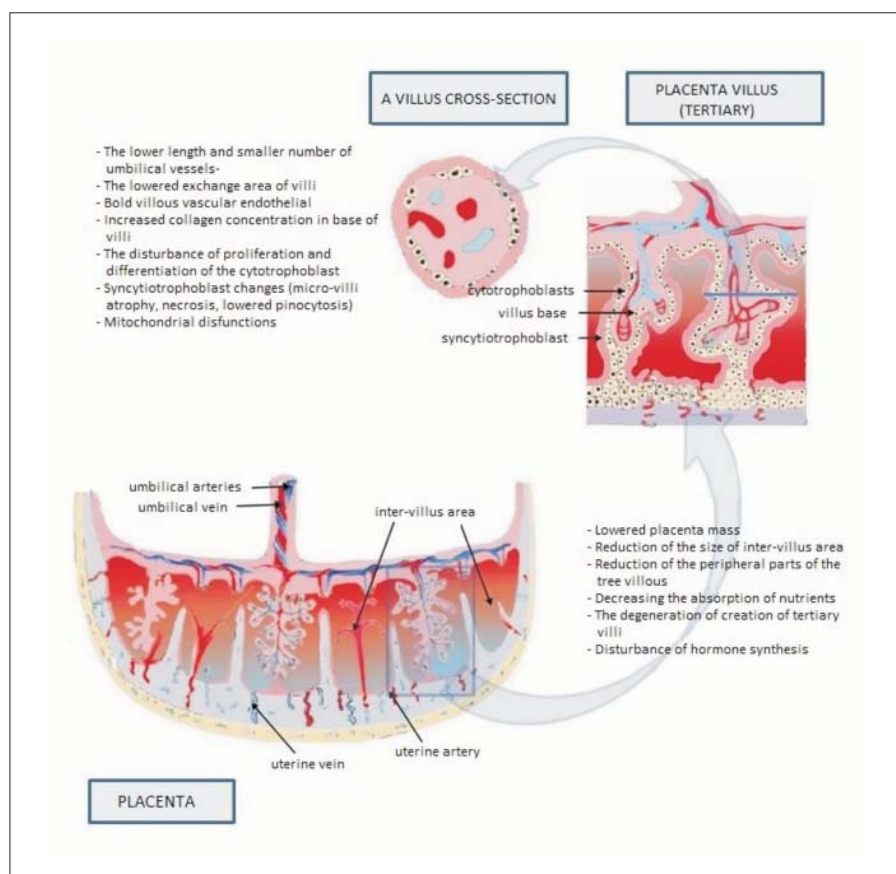
foblastu i jego różnicowaniem w syncytiotrofoblast [53]. U kobiet biernie narażonych na działanie dymu tytoniowego wykazano ponadto obniżoną ekspresję cząsteczki adhezyjnej I-selektyny oraz nieprawidłowości w tworzeniu kosmków palowych, które odpowiedzialne są za przytwierdzenie części płodowej łożyska do doczesnej [54]. Poszukiwania molekularnych mechanizmów zaburzeń rozwoju trofoblastu w wyniku palenia wskazują na zmiany sekrecji wielu czynników istotnych dla jego rozwoju m. in. czynników wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF, *vascular endothelial growth factors*), czynników indukowanych niedotlenieniem HIFs (*hypoxia-inducible transcription factors*), białka pVHL (*von Hippel-Lindau tumor suppression protein*) [55].

Poza nikotyną składnikami dymu tytoniowego są metale ciężkie np. kadm, ołów, które oddziałują nie tylko na płód, ale i na łożysko. Kadm obniża ekspresję mRNA i białka oraz aktywność dehydroksygenazy 11-beta hydroksysteroidu (11-β-HSD2), zapewniającej odpowiednie warunki tlenowe konieczne do przekształcania cytotrofoblastu w syncytiotrofoblast podczas implantacji i rozwoju łożyska [45,46, 56]. Zahamowanie aktywności 11-β-HSD2 wiąże się także z obniżeniem wewnątrzmacicznego wzrostu płodu [46]. Poza kadmem również niedotlenienie obniża zawartość i aktywność enzymu 11-β-HSD2, co prowadzi do zahamowania różnicowania cytotrofoblastu w syncytiotro-

vessels [52]. It was observed in vitro, that the nicotine limited differentiation of cytotrophoblast in syncytium, and also – through lowering of synthesis rates and activity of collagenase IV – hinders the development of the trophoblast which disturbs the balance between the proliferation of cytotrophoblast and its differentiation into syncytiotrophoblast [53]. The exposed to passive smoking have additionally shown the lowered expression of the adhesive I-selectin and improper villus base creation, which are responsible for the attachment of the fetal part of the placenta to the wall [54]. Search for the molecular mechanisms behind the distortions of trophoblast development due to smoking indicates the changes in secretion of many factors that are essential for its development, among others the: vascular endothelial growth factors (VEGFs), hypoxia-inducible transcription factors (HIFs), von Hippel-Lindau tumor suppression protein (pVHL) [55].

Apart from the nicotine the tobacco smoke also contains heavy metals such as cadmium and lead that affect not only the fetus but also the placenta. Cadmium lowers the mRNA and protein expression, as well as the activity of the dehydrogenase, the 11-beta hydroxysteroid hydrogenase (11-β-HSD2), that guarantees proper oxygen conditions for the transformation of the cytotrophoblast into the syncytiotrophoblast during the implementation and development processes of the placenta [45,46,56]. The halting of the 11-β-HSD2 activ-

**Fig. 1.** Structural and functional changes of the placenta induced by tobacco smoking





foblast [56]. Ołów poprzez powodowanie stresu oksydacyjnego wywołuje zmiany w metabolizmie łożyska przyczyniając się do zwiększonego ryzyka samoistnych poronień [6, 57].

Łožyska palących ciężarnych zawierają zwiększoną zawartość metalotionein, które wiążąc jony metali m.in. ołowiu, kadmu chronią trofoblast przed apoptozą indukowaną metalami ciężkimi i stresem oksydacyjnym oraz ograniczają wnikanie metali ciężkich do płodu [45,58].

Palenie tytoniu zmienia funkcje oddechowe mitochondriów obniżając o 30% enzymatyczną aktywność kompleksu III [59]. Mitochondrialna dysfunkcja łożyska wzrasta proporcjonalnie do liczby wypalanych papierosów i prowadzi do ograniczenia wzrostu płodu [59]. Składniki dymu tytoniowego mogą także zaburzać syntezę hormonów w łożysku [60]. W surowicy u palących matek stwierdzono niższy poziom wolnej podjednostki  $\beta$  ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (f $\beta$ hCG) i pappalizyny-1 (PPAP-A), a wyższy inhibiny A [61]. Substancje te podczas ciąży są syntetyzowane głównie przez syncytiotrofoblast kosmków łożyskowych. Obniżenie poziomu hCG oraz białka PPAP-A badacze wiążą ze wspomnianymi zmianami w syncytiotrofoblastie indukowanymi paleniem [44,45,61]. Natomiast wzrost poziomu inhibiny A może być efektem bezpośredniego oddziaływania składników dymu tytoniowego na jej syntezę przez trofoblast lub może wynikać z udziału tego czynnika wzrostu w odtwarzaniu struktur trofoblastycznych w uszkodzonym dymem tytoniowym łożysku [61]. Przedstawione obserwacje o zmianach strukturalnych łożysk kobiet palących tytoń są głównie wynikiem badań przeprowadzonych postnatalnie, ponieważ zmiany zachodzące w łożysku na skutek ekspozycji na dym tytoniowy są trudne do zobrazowania i monitorowania w trakcie trwania ciąży. Jednakże 3D USG Dopplerowskie umożliwia analizę zmian unaczynienia jeszcze w trakcie ciąży.

ity is also connected with the lowered growth rate of the fetus in the uterus [46]. Apart from cadmium also the oxygen deprivation leads to the lowered content and activity of the 11- $\beta$ -HSD2 enzyme, which leads to halting the differentiation of the cytotrophoblast into the syncytiotrophoblast [56]. Lead, through the resulting oxidation stress, causes changes in the placenta metabolism, that contribute to the increased risk of spontaneous miscarriage [5, 57].

The placentas of smoking pregnant women contain increased levels of metallothionein, that by binding metal ions (i.a. lead and cadmium) protect the trophoblast from heavy metal induced apoptosis, as well as oxidation stress and limit the inclusion of heavy metals into fetus [45, 58].

Tobacco smoking changes the respiratory functions of mitochondria, lowering by 30% the enzymatic activity of the complex III [59]. The mitochondrial dysfunction of placenta increases with the growing number of cigarettes smoked and leads to limitation of fetal growth [59]. The components of tobacco smoke can also disturb the hormone synthesis in the placenta [60]. The blood serum of smoking mothers contained lower levels of Free  $\beta$  subunit of human chorionic gonadotropin (f $\beta$ hCG) and pappalysin 1 (PPAP-A), and higher levels of inhibin A [61]. These substances are synthesized during pregnancy mainly by the syncytiotrophoblast of the placental villi. The scientist associate the lowering of the hCG and PPAP-A protein levels with the aforesaid changes in syncytiotrophoblast induced by smoking [44,45,61]. And the rise of the inhibin A levels may be the effect of direct action of the components of tobacco smoke on its synthesis in the trophoblast or a result of participation of this growth factor in the recreation of trophoblast structures within the tobacco smoke-damaged placenta [61]. The presented observations of structural changes of placentas of women smoking tobacco are results of postnatal research, as the changes occurring in placenta due to the exposition to tobacco smoke are hard to image and monitor during pregnancy. Still the Doppler 3D USG allows for an analysis of changes in vascularization during the course of pregnancy.

## Piśmiennictwo / References:

1. Szycha W, Skoczylas M, Laudański T. Spożywanie alkoholu i palenie tytoniu przez kobiety w ciąży – przegląd badań. *Perinat Neonat Ginekol* 2008;1:309-313.
2. Klejewski A, Urbaniak T, Pisarska-Krawczyk M et al. Wpływ palenia tytoniu na przebieg i rozwój ciąży. *Przegl Lek* 2012;69:929-933.
3. Andres RL, Day MC. Perinatal complication associated with maternal tobacco use. *Semin Neonato*. 2000; 5:231-241.
4. Shea A, Steiner M. Cigarette smoking during pregnancy. *Nicotine Tob Res* 2008;10:267-278.
5. Anblagan D, Jones N, Costigan C et al. Maternal smoking during pregnancy and fetal organ growth a magnetic resonance imaging study. *PLOS One* 2013; 8:6:e67223, doi:10.1371/journal.pone.0067223.
6. Chelchowska M, Gajewska J, Ambroszkiewicz J et al. Wpływ ołowiu na stężenie osoczowego białka ciążyowego A (PAPP-A) u kobiet ciężarnych palących tytoń – badania wstępne. *Przegl Lek* 2008;65:470-473.
7. Krzywy I, Krzywy E, Pastuszek-Gabirowska M et al. Ołów- czy jest się czego obawiać? *Ann Acad Med Stetin* 2010;56:118-28.
8. Simpson W. A preliminary report on cigarette smoking and the incidence of prematurity. *Am J Obstet Gynecol* 1957;73:807-815.
9. Gajewska E, Mojs E. Wpływ palenia papierosów podczas ciąży na rozwój psychoruchowy dziecka. *Przegl Lek* 2008;65:712-714.
10. Guzikowski W, Pirogowicz I. Wpływ palenia tytoniu przez kobiety ciężarne na masę urodzeniową noworodka – analiza danych z porodów w 2007 w Szpitalu Ginekologiczno-Położniczym i Noworodków im dr S. Mossora w Opolu. *Przegl Lek* 2008;65:424-426.
11. Hozyasz K, Dudkiewicz Z, Offert B et al. Palenie tytoniu przez matkę przed zajściem w ciążę i występowanie innych czynników ryzyka urodzenia dziecka z rozszczerem twarzoczaszki. *Przegl Lek* 2009;66:558-560.
12. Król M, Florek E, Kornacka M et al. Stan kliniczny noworodka a stopień narażenia na dym tytoniowy w życiu płodowym. *Przegl Lek* 2009;66:548-553.
13. Polańska K, Hanke W, Sobala W, Ligocka D. Prenatalna i postnatalna ekspozycja dzieci na środowiskowy dym tytoniowy. *Przegl Lek* 2009;66:554-557.
14. Sochaczewska D, Czeszyńska M, Konefał H et al. Palenie czynne lub bierne w okresie ciąży a wybrane parametry morfologiczne i powikłania okresu noworodkowego. *Ginekol Pol* 2010;81:687-692.
15. Waszak M, Cieślak K, Wielgus K et al. Palenie papierosów przez ciężarną jako czynnik zagrożenia rozwoju płodu. *Przegl Lek* 2011;68:667-673.
16. Nieburg P, Marks JS, McLaren NM. The fetal tobacco syndrome. *JAMA* 1985;253:2998-2999.
17. Tye JB. Fetal tobacco syndrome. *JAMA* 1986;256:862-863.
18. Murphy J, Drummond J, Mulcahy R et al. The effect of maternal cigarette smoking on fetal birth weight and on growth of the fetal biparietal diameter. *Br J Obstet Gynaecol* 1980;87:462-466.
19. Thaler I, Goodman J, Dawes G. Effects of maternal cigarette smoking on fetal breathing and fetal movements. *Am J Obstet Gynecol* 1980;138:282-287.
20. Kelly J, Mathews K, O'Connor M. Smoking in pregnancy: effects on mother and fetus. *Br J Obstet Gynaecol* 1984;91:111-117.
21. Sindberg EP, Gennser G, Lindvall R et al. Acute effects of maternal smoking on fetal heart beat intervals. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984;63:385-390.
22. Jeanty P, Cousaert E, de Maertelaer V et al. Sonographic detection of smoking related decreased fetal growth. *J Ultrasound Med* 1987;6:13-28.
23. Newnham J, Patterson L, James I et al. Effects of maternal cigarette smoking on ultrasonic measurements of fetal growth and on Doppler flow velocity waveforms. *Early Hum Dev* 1990;24:23-26.
24. Berstein I, Plocienik K, Stahle S et al. Impact of maternal cigarette smoking on fetal growth and body composition. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:883-886.
25. Zaren B, Lindmark G, Bakketeig L. Maternal smoking affects fetal growth more in the male fetus. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2000;14:118-126.
26. Lampl M, Kuzawa C, Jeanty P. Prenatal smoke exposure alters growth in limb proportions and head shape in the midgestation human fetus. *Am J Hum Biol* 2003; 15:533-546.
27. Jaddoe V, Verburg B, de Ridder M et al. Maternal smoking and fetal growth characteristics in different periods of pregnancy. *Am J Epidemiol* 2007;165:1207-1215.
28. Lieberman E, Gremy I, Lang J et al. Low birth weight at term and the timing of fetal exposure to maternal smoking. *Am J Public Health* 1994;84:1127-1131.
29. Schmid M, Kasprian G, Marschalek J et al. Maternal smoking and fetal lung volume – an in utero MRI investigation. *Prenat Diagn* 2011;31:491-495.
30. Schmid M, Marschalek J, Springer S et al. Maternal smoking and fetal lung signals – an in utero MRI investigation. *Prenat Diagn* 2012;32:272-276.
31. Bekiesińska-Figatowska M, Herman-Sucharska I, Duczkowska A et al. Prenatalne badanie MR jako metoda kontroli patologii płodu. *Ginekol Pol* 2013; 84:436-443.
32. Nelson E, Goubert-Wiemers C, Guo Y et al. Maternal passive smoking during pregnancy and foetal developmental toxicity. Part 2: histological changes. *Hum Exp Toxicol* 1999;18:257-264.
33. Bassi JA, Rosso P, Moessinger AC et al. Fetal growth retardation due to maternal tobacco smoke exposure in the rat. *Pediatr Res* 1984;18:127-130.
34. Kho EM, North RA, Chan E et al. Changes in Doppler flow velocity waveforms and fetal size at 220 weeks gestation among cigarette smokers. *BJOG* 2009; 116:1300-1306.
35. Machado J, Filho PVM, Petersen G et al. Quantitative effects of tobacco smoking exposure on the maternal-fetal circulation. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2011;11:24-29.
36. Yildiz S, Sezer S, Hakan B et al. Impact of passive smoking on uterine, umbilical, and fetal middle cerebral artery blood flows. *Jpn J Radiol* 2011;29:718-724.
37. Kalinka J, Hanke W, Sobala W. Impact of prenatal tobacco smoke exposure, as measured by midgestation serum cotinine levels, on fetal biometry and umbilical flow velocity waveforms. *Am J Perinatol* 2005;22:41-47.
38. Quinton A, Cook C, Peek M. The relationship between cigarette smoking endothelial function and intrauterine growth restriction in human pregnancy. *BJOG* 2008;115:780-784.

39. **Conde-Agudelo A, Althabe F, Belizan J et al.** Cigarette smoking during pregnancy and risk of preeclampsia: a systematic review. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:1026-1035.
40. **Oleszczuk J, Leszczyńska-Gorzela B, Poniedziałek-Czajkowska E.** Nadciśnienie tętnicze. W: Bręborowicz GH (red) Położnictwo i ginekologia. *Wydawnictwo lekarskie PZWL* Warszawa; 2010:75-80.
41. **Karumanchi SA, Levine RJ.** How does smoking reduce the risk of preeclampsia? *Hypertension* 2010;55:1100-1101.
42. **Himes S, Stroud L, Scheidweiler K et al.** Prenatal tobacco exposure, biomarkers for tobacco in meconium, and neonatal growth outcomes. *J Pediatr* 2013;162:970-975.
43. **Sherif N, Kamel S, Al-Ashkar O et al.** Detection of cotinine in neonate meconium as a marker for nicotine exposure in utero. *East Mediterr Health J* 2004;10:96-105.
44. **Demir R, Demir AY, Yinanc M.** Structural changes in placental barrier of smoking mother. A quantitative and ultrastructural study. *Pathol Res Pract* 1994;190:656-667.
45. **Jauniaux E, Burton G.** Morphological and biological effects of maternal exposure to tobacco smoke on the fetoplacental unit. *Early Hum Dev* 2007;83:699-706.
46. **Rogers J.** Tobacco and pregnancy. *Reprod Toxicol* 2009;28:152-160.
47. **Teasdale F, Ghislaine JJ.** Morphological changes in the placentas of smoking mothers: a histomorphometric study. *Biol Neonate* 1989;5:251-259.
48. **Ananth C, Smulian J, Vintzileos A.** Incidence of placental abruption in relation to cigarette smoking and hypertensive disorders during pregnancy: a meta-analysis of observational studies. *Obstet Gynecol* 1999;93: 622-828.
49. **Asmussen I.** Ultrastructural of the villi and fetal capillaries of the placenta delivered by non-smoking diabetic women. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand A* 1982;90:95-101.
50. **Rizzo G, Capponi A, Pietrolucci M, Arduini D.** Effects of maternal cigarette smoking on placental volume and vascularization measured by 3-dimensional power Doppler ultrasonography AT 11+0 to 13+6 weeks of gestation. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:415-415.
51. **Burton GJ, Palmer ME, Dalton KJ.** Morphometric differences between the placenta vasculature of non-smokers, smokers and ex-smokers. *Br J Obstet Gynaecol* 1989;96:907-915.
52. **Lips KS, Bruggmann D, Pfeil U et al.** Nicotinic acetylcholine receptors in rat and human placenta. *Placenta* 2005;26:735-746.
53. **Genbacev O, Bass KE, Joslin RJ et al.** Maternal smoking inhibitors early human cytotrophoblast differentiation. *Reprod Toxicol* 1995;9:245-255.
54. **Zdravkovic T, Genbacev O, Prakobphol A et al.** Nicotine downregulation the l-selectin system that mediates cytotrophoblast emigration from cell columns and attachment to the uterine wall. *Reprod Toxicol* 2006; 22:69-76.
55. **Genbacev O, McMaster MT, Zdravkovic T et al.** Disruption of oxygen-regulated responses underlies pathological changes in the placentas of women who smoke or who are passively exposed to smoke during pregnancy. *Reprod Toxicol* 2003;17:509-518.
56. **Hardy D, Yang K.** The expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 is induced during trophoblast differentiation: effects of hypoxia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:3696-3701.
57. **Suprewicz K, Kozikowska I, Chrobaczyńska-Dyła M.** Wpływ palenia papierosów na parametry noworodka oraz na kumulację kadmu i ołowiu w łożysku kobiet z Górnego Śląska. *Ginekol Pol* 2013;84:776-780.
58. **McAleer MF, Tuan RS.** Cytotoxicant-induced trophoblast dysfunction and abnormal pregnancy outcomes: role of zinc and metallothionein. *Birth Defects Research* 2004;72:361-370.
59. **Bouhours-Nouet N, May-Panloup P, Countant R et al.** Maternal smoking is associated with mitochondrial DNA depletion and respiratory chain complex III deficiency in placenta. *Am J Physiol Endocrinol Matab* 2005;288:171-177.
60. **Piasek M, Blanusa M, Kostial K et al.** Placental cadmium and progesterone concentrations in cigarette smokers. *Reprod Toxicol* 2001;15:673-81.
61. **Jauniaux E, Suri S, Muttukrishna S.** Evaluation of the impact of maternal smoking on ultrasound and endocrinological markers of first trimester placentation. *Early Hum Dev* 2013;89:777-780.