Załącznik nr 2

AUTOREFERAT

Dr n. med. AGNIESZKA ZAWIEJSKA

Klinika Położnictwa i Chorób Kobiecych

Katedry Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2016

Załącznik nr 2

1. Imię i nazwisko: Agnieszka Jolanta Zawiejska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

Dyplom ukończenia Wydziału Lekarskiego I Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.	2000
Nagroda Rektora AM *Za osiągnięcia w nauce i pracy społecznej.*	
Dyplom doktora nauk medycznych w dziedzinie medycyna, na podstawie rozprawy doktorskiej: *Wybrane wykładniki śródbłonka w ciąży powikłanej cukrzycą przedciążową*;	2006
Promotor: prof. dr hab. Ewa Wender-Ożegowska	
Dyplom specjalisty w dziedzinie położnictwa i ginekologii	2009
Dyplom specjalisty w dziedzinie endokrynologii	2015

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych

Studia doktoranckie w Klinice Położnictwa i Chorób Kobiecych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu	2001-2005
Klinika Położnictwa i Chorób Kobiecych Uniwersytetu	2009-2010

Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu –
asystent

Klinika Położnictwa i Chorób Kobiecych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu – adiunkt — Od 01.10.2010

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a/ tytuł osiągnięcia naukowego/ artystycznego:

„Udział śródbłonka naczyniowego i tkanki tłuszczowej, jako narządów endokrynnych, w patogenezie powikłań w ciąży wysokiego ryzyka" – jednotematyczny cykl prac oryginalnych.

b/ autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy

[H.1] **Zawiejska A**, Wender-Ożegowska E, Brązert J, Sodowski K. Components of metabolic syndrome and their impact on fetal growth in women with gestational diabetes mellitus.

J Physiol Pharmacol 2008; suppl 4:5-18

Wkład habilitantki – 70%: opieka lekarska nad pacjentkami objętymi badaniem, gromadzenie danych i materiału od pacjentek w trakcie prowadzenia badania, analiza statystyczna zebranych danych, sformułowanie wniosków klinicznych, przygotowanie manuskryptu.

[H.2] Wender-Ożegowska E, **Zawiejska A,** Michałowska-Wender G, Iciek R, Wender M, Brązert J. Metabolic syndrome in type 1 diabetes mellitus. Does it have any impact on the course of pregnancy?

J Physiol Pharmacol 2011;62:567-73 (IF – 2,267; MNiSW 25,00**)**

Wkład hablitantki – 40%: gromadzenie danych położniczych od pacjentek w trakcie prowadzenia badania, analiza statystyczna zebranych danych, sformułowanie wniosków klinicznych, przygotowanie manuskryptu.

[H.3] Zawiejska A, Wender-Ożegowska E, Iciek R, Brązert J. Concentrations of endothelial nitric oxide synthase, angiotensin-converting enzyme, vascular endothelial growth factor and placental growth factor in maternal blood and maternal metabolic status in pregnancy complicated by hypertensive disorders.

J Hum Hypertens 2014;28:670-7 (IF – 2,70; MNiSW – 25,00)

Wkład habilitantki – 45%: udział w sformułowaniu problemu badawczego, analiza statystyczna zebranych danych, sformułowanie wniosków klinicznych, przygotowanie manuskryptu.

[H.4] Zawiejska A, Wender-Ożegowska E, Radzicka S, Brązert J. Maternal hyperglycemia according to IADPSG criteria as a predictor of perinatal complications in women with gestational diabetes: a retrospective observational study. J Matern Fetal Neonatal Med 2014;15:1526-30 (IF – 1,367; MNiSW 20,00)

Wkład habilitantki – 70%: opieka lekarska nad pacjentkami objętymi badaniem, gromadzenie danych od pacjentek w trakcie prowadzenia badania, analiza statystyczna zebranych danych, sformułowanie wniosków klinicznych, przygotowanie manuskryptu.

[H.5] Wender-Ożegowska E, **Zawiejska A,** Iciek R, Brązert J. Concentrations of eNOS, VEGF, ACE and PlGF in maternal blood as predictors of impaired fetal growth in pregnancy complicated by gestational hypertension/ preeclampsia. Hypertens Pregnancy 2015;34:17-23 (IF – 1,211; MNiSW 20,00)

Wkład hablitantki – 45%: gromadzenie danych położniczych od pacjentek w trakcie prowadzenia badania, analiza statystyczna zebranych danych, sformułowanie wniosków klinicznych, przygotowanie manuskryptu.

[H.6] Zawiejska A, Wender-Ożegowska E, Brązert J. Chronic and gestational metabolic disorders have a different impact on late pregnancy endothelial function in pregnant women.

Ginekol Pol 2016;87:283-7 (IF – 0,675; MNiSW – 15,00)

Wkład hablitantki – 70%: rekrutacja pacjentek do badania, gromadzenie danych i materiału od pacjentek w trakcie prowadzenia badania, wykonanie oznaczeń, analiza statystyczna zebranych danych, sformułowanie wniosków klinicznych, przygotowanie manuskryptu.

Wartość punktacji dla cyklu publikacji:

IF: 8,154

MNiSW: 100,00

c/ omówienie celu naukowego/ artystycznego ww. pracy/ prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

WPROWADZENIE

Prawidłowe funkcjonowanie śródbłonka naczyniowego matki ma podstawowe znaczenie dla rozrodu. Od najwcześniejszych etapów ciąży dobrostan płodu jest uzależniony od interakcji matczyno-płodowych, które warunkuje prawidłowy rozwój łożyska. Narząd ten, utworzony przez płodowy trofoblast i matczyną doczesną, morfologicznie stanowi sieć mikrokrążenia, w której dochodzi do bezpośredniego kontaktu struktur płodowych (mikrokosmki łożyska) z krążeniem matczynym. Dzięki temu wytwarza się rozległa powierzchnia kontaktu matka – płód, umożliwiająca transfer tlenu i substancji odżywczych oraz usuwanie produktów płodowej przemiany materii. Łożysko stanowi ponadto autonomiczny organ wydzielania wewnętrznego produkujący hormony białkowe i steroidowe, które sterują adaptacją organizmu matczynego do ciąży oraz zapewniają substraty steroidogenezy nadnerczowej dla płodu.

Badania naukowe ostatnich dwóch dekad doprowadziły do znaczącej zmiany postrzegania śródbłonka naczyniowego. Wcześniej definiowano tę tkankę jako bierną barierę oddzielającą krew od środowiska pozanaczyniowego, jednak wyniki współczesnych badań jednoznacznie potwierdziły charakter endotelium jako autonomicznego narządu odgrywającego ważną rolę w utrzymaniu homeostazy ustrojowej. Szczególnie istotne dla sformułowania tej koncepcji okazały się badania nad chorymi na cukrzycę typu 1 lub 2, które wykazały, że u podłoża odległych powikłań naczyniowych cukrzycy leży negatywny wpływ przewlekłej hiperglikemii na funkcję śródbłonka naczyniowego, tym samym wskazując na tę strukturę jako na narząd docelowy w cukrzycy. Badania tej populacji chorych wykazały, że przewlekła ekspozycja śródbłonka na niekorzystny czynnik skutkuje trwałą zmianą

fenotypu endotelium, zakłócając jego funkcję regulatorową. W piśmiennictwie zjawisko to jest opisywane jako dysfunkcja śródbłonka.

Jak powszechnie wiadomo, istnieje szereg matczynych chorób przewlekłych, mających negatywny wpływ na potencjał rozrodczy kobiety oraz na wynik położniczy u chorych, które zajdą w ciążę – istotny problem kliniczny stanowi cukrzyca typu 1. Nowe techniki insulinoterapii, intensyfikacja monitorowania wyrównania metabolicznego czy wreszcie – nowoczesne metody nadzoru nad ciężarną i płodem umożliwiły osiągnięcie spektakularnej poprawy w zakresie rokowania dla ciężarnej i jej dziecka. Nadal jednak ciąża u kobiety chorującej na to schorzenie stanowi ciążę wysokiego ryzyka. W ostatnich dekadach szczególne znaczenie, ze względu na coraz częstsze występowanie w populacji kobiet w wieku rozrodczym, odgrywają insulinooporność i jej konsekwencje: zespół metaboliczny, cukrzyca typu 2, cukrzyca ciążowa, otyłość i nadciśnienie tętnicze. Narastająca liczba danych wskazuje nie tylko na zmniejszoną płodność w tych populacjach i podwyższone ryzyko poważnych powikłań położniczych, ale także na związek między obecnością tych schorzeń w ciąży a odległymi wynikami zdrowotnymi u matek i ich potomstwa. Mimo mocnych dowodów klinicznych, przedmiotem badań pozostają nadal przede wszystkim patomechanizmy tych powikłań oraz możliwości ich predykcji, profilaktyki i terapii, jak również możliwość łagodzenia wpływu tych patologii na odległy wynik zdrowotny matki i jej potomstwa.

Piśmiennictwo do Wprowadzenia

[1] Alexander BT, Dasinger JH and Intapad S. Effect of Low Birth Weight on Women's Health. Clin Ther 2014;36:1913-23.

[2] Alexander BT, Dasinger JH and Intapad S. Fetal Programming and Cardiovascular Pathology. Compr Physiol 2015;5:997-1025.

[3] Andraweera PH, Dekker GA and Roberts TC. The vascular endothelial growth factor family in adverse pregnancy outcomes. Hum Reprod Update 2012;18:436-57.

[4] Bouret S, Levin BE and Ozanne SE. Gene-Environment Interactions Controlling Energy and Glucose Homeostasis and the Developmental Origins of Obesity. Physiol Rev 2015;95:47-82.

[5] Bruce KD and Hanson MA. The Developmental Origins, Mechanisms and Implications of Metabolic Syndrome. J Nutr 2010;140:648-52.

[6] Davel AP, Wenceslau CF, Akamine EH et al. Endothelial dysfunction in cardiovascular and endocrine-metabolic diseases: an update. Braz J Med Biol Res 2011;44:920-32.

[7] Gilbert JS and Nijland. Sex differences in the developmental origins of hypertension and cardiorenal disease. Am J Physiol Regul Integr Physiol 2008;295:R1941-R1952.

[8] Hanson MA, Gluckman PD. Early developmental conditioning of later health and disease: physiology or pathophysiology? Physiol Rev 2014:94;1027-76.

[9] Herraiz I, Simon E, Gomez-Arriaga PI et al. Angiogenesis-Related Biomarkers (sFlt-1/PLGF) in the Prediction and Diagnosis of Placental Dysfunction: An Approach for Clinical Integration. Int J Mol Sci 2015;16:19009-26.

[10] Kolka CM and Bergman RN. The Endothelium in Diabetes: its role in insulin access and diabetic complications. Rev Endocr Metab Disord 2013;14:13-9.

[11] Leiva A, Pardo F, Ramires MA et al. Fetoplacental Vascular Endothelial Dysfunction as an Early Phenomenon in the Programming of Human Adult Diseases in Subject Born from Gestational Diabetes Mellitus or Obesity in Pregnancy. Exp Diab Res 2011; Article ID 349286;doi:10.1155/2011/349286.

[12] Macaulay EC, Donovan EL, Leask MP et al. The importance of early life in childhood obesity and related diseases: a report from the 2014 Gravida Strategic Summit. J Dev Orig Health Dis 2014;5:398-407.

[13] Muniyappa R and Sowers JR. Role of Insulin Resistance in Endothelial Dysfunction. Rev Endocr Metab Disord 2013;14:5-12.

[14] Onat D, Brillon D, Colombo PC et al. Human Vascular Endothelial Cells: A Model System for Studying Vascular Inflammation in Diabetes and Atherosclerosis. Curr Diab Rep 2011;11:193-202.

[15] Paneni F, Constantino S and Cosentino F. Role of oxidative stress in endothelial insulin resistance. World J Diabetes 2015;6:326-32.

[16] Sena CM, Pereira AM and Seica R. Endothelial dysfunction – A major mediator of diabetic vascular disease. Biochim Biophys Acta 2013;1832:2216-31.

[17] Tousoulis D, Papageorgiou N, Androulakis E et al. Diabetes Mellitus-Associated Vascular Impairment. Novel Circulating Biomarkers and Therapeutic Approaches. J Am Coll Cardiol 2013;62:667-76.

[18] Vykoukal D and Davies MG. Vascular biology of metabolic syndrome. J Vasc Surg 2011;54:819-31.

OMÓWIENIE CYKLU PRAC ORYGINALNYCH

Śródbłonek naczyniowy jest obecnie powszechnie uznawany za narząd docelowy w szeregu chorób cywilizacyjnych. Jego uszkodzenie stanowi patomechanizm przewlekłych powikłań naczyniowych o charakterze mikroangiopatii. Niewiele jednak jest dostępnych danych dotyczących funkcji i patologii śródbłonka w przebiegu ciąży wysokiego ryzyka, powikłanej schorzeniami matczynymi. Dlatego też jako podstawowy model kliniczny dla moich badań nad związkiem funkcji śródbłonka naczyniowego z niekorzystnym wynikiem położniczym wybrałam ciążę powikłaną cukrzycą typu 1 u matki. Celem uzyskania szerszej perspektywy badawczej i stworzenia warunków do analizy porównawczej, uzupełniłam prowadzone badania o dane uzyskane dzięki analizie analogicznej problematyki w populacji ciężarnych chorujących na przewlekłe nadciśnienie tętnicze. Dla tego modelu chorobowego rola śródbłonka naczyniowego w patogenezie powikłań naczyniowych w populacji dorosłych jest dobrze udokumentowana.

[H.6] Jak już wspominano, takim schorzeniem jest również nadciśnienie tętnicze u ciężarnej, dlatego też część prowadzonych przeze mnie badań dotyczyła także tego modelu klinicznego. W badaniach tych porównywałam ewentualną odmienność wpływu na śródbłonek hiperglikemii przewlekłej lub ciążowej, jak również przewlekłego lub ciążowego (indukowanego ciążą) nadciśnienia tętniczego. Taki cel

miało prospektywne badanie przekrojowe (ang. *cross-sectional)* zrealizowane w niewielkiej kohorcie ciężarnych w pojedynczej ciąży powikłanej cukrzycą ciążową i/lub nadciśnieniem indukowanym ciążą oraz cukrzycą przedciążową z współistniejącym przewlekłym nadciśnieniem tętniczym lub bez niego. W grupie badanej porównałam stężenie sE-Selektyny i sVCAM-1 w III trymestrze ciąży pomiędzy podgrupami grupy badanej oraz grupą kontrolną zrekrutowaną spośród zdrowych ciężarnych w III trymestrze niepowikłanej pojedynczej ciąży. To badanie potwierdziło, że zarówno nadciśnienie, jak i hiperglikemia modelują parametry funkcji śródbłonka w zaawansowanej ciąży. Co więcej, profil stężeń badanych molekuł adhezyjnych w większym stopniu był uwarunkowany przewlekłym lub indukowanym ciążą charakterem schorzenia, niż jego rodzajem. Porównanie stężeń sE-Selektyny względem grupy kontrolnej wykazało, że każda patologia ciąży wiązała się z tendencją do niskich stężeń tej molekuły, przy czym najniższe wartości obserwowano u pacjentek z powikłaniami o charakterze przewlekłym – niezależnie od tego, czy była to izolowana cukrzyca typu 1, czy też współistniejąca z przewlekłym nadciśnieniem tętniczym. Również nadciśnienie indukowane ciążą – zarówno izolowane, jak i współistniejące z cukrzycą ciążową – wiązało się z porównywalną redukcją stężeń sE-Selektyny. Przedstawiając obliczone dane jako MoM względem grupy kontrolnej (ang. *multiple of median* – wielokrotność mediany) uzyskano, odpowiednio, następujące wartości: 0,54; 0,51; 0,70; 0,73.

Porównując natomiast stężenia sVCAM-1 w poszczególnych podgrupach względem grupy kontrolnej, zaobserwowałam, że dysfunkcja śródbłonka w ciąży wysokiego ryzyka może manifestować się zarówno jako zredukowane, jak i zwiększone stężenie tej molekuły. W ciążach powikłanych schorzeniami o charakterze przewlekłym obserwowałam najniższe stężenie sVCAM-1, przy czym nie odnotowałam różnicy między pacjentkami z cukrzycą typu 1 a cukrzycą typu 1 współistniejącą z przewlekłym nadciśnieniem tętniczym. Czynnikiem matczynym,

który najsilniej wpływał na wzrost stężenia sVCAM-1 w badanej grupie, było nadciśnienie indukowane ciążą. Analogicznie, przedstawiając obliczone dane dla tej molekuły jako MoM względem grupy kontrolnej (ang. *multiple of median* – wielokrotność mediany), uzyskałam, odpowiednio, następujące wartości: 0,62; 0,70; 1,86. Ten zróżnicowany wzorzec reakcji śródbłonka na patologie, dla których sieć drobnych naczyń jest narządem docelowym potwierdza tezę, że – pomimo zbieżnych objawów klinicznych i tożsamego narządu docelowego – choroby te różnią się swoim patomechanizmem. Zaobserwowany przeze mnie schemat zmian pozwala przypuszczać, że w przypadku schorzeń przewlekłych decyduje uszkodzenie śródbłonka w obrębie łożyska, które objawia się mniejszą wydolnością (być może – wskutek mniejszej masy) komponenty naczyniowej wytwarzanej przez ten narząd, podczas gdy procesy krótkotrwałe, indukowane ciążą, cechuje raczej wzmożona aktywność śródbłonka naczyniowego.

[H.3] Przedmiotem moich zainteresowań badawczych jest również rola i funkcja mikrokrążenia w ciąży powikłanej chorobą nadciśnieniową. W badaniu, którym objęliśmy 46 ciężarnych z nadciśnieniem indukowanym ciążą i/ lub stanem przedrzucawkowym, analizowałam wraz zespołem współpracowników profil molekuł związanych z naczyniotworzeniem, w aspekcie charakterystyki metabolicznej ciężarnych oraz nasilenia objawów klinicznych badanej choroby. Istotną cechą grupy badanej był wysoki odsetek pacjentek (90%), u których rozpoznano tzw. wczesny stan przedrzucawkowy (współistnienie nadciśnienia i białkomoczu w ciąży stwierdzone przed 34 tygodniem ciąży), który stanowi poważny niekorzystny czynnik rokowniczy dla matki i płodu. Dzięki takiemu doborowi grupy badanej mogliśmy obserwować wykładniki angiogenezy u pacjentek z nasilonym i niekorzystnie rokującym procesem chorobowym, jak również porównać ten proces z grupą ciężarnych, u których stwierdzono łagodniejszą postać choroby. Porównując stężenia badanych białek (PlGF –

łożyskowy czynnik wzrostu, ang. *Placental Growth Factor,* VEGF – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, ang. *Vascular Endothelial Growth Factor,* eNOS – śródbłonkowa syntaza tlenku azotu, ang. *Endothelial Nitric Oxide Synthase,* ACE – konwertaza angiotensyny, ang. *Angiotensin-converting Enzyme*) wykazałam wraz z zespołem przede wszystkim duże zróżnicowanie stężeń w grupie badanej (współczynniki zmienności badanych cech wynosiły od 50,9% dla ACE do 88,4% dla eNOS). Taka zmienność badanych parametrów biochemicznych jest zjawiskiem powszechnie stwierdzanym w populacji ciężarnych i stanowi czynnik poważnie utrudniający prowadzenie badań w tej populacji kobiet, zwłaszcza jeżeli przedmiotem badania jest ciąża z powikłaniami. Temu też przypisuję fakt, że uzyskane przeze mnie obserwacje, aczkolwiek odnotowały trendy mające znaczenie dla klinicznych aspektów badanej patologii matczyno-płodowej, nie wykazały różnic znamiennych statystycznie. Ogólny wzorzec profilu wykładników angiogenezy dostępnych badaniu w surowicy matczynej cechowało obniżone stężenie eNOS, ACE i PlGF w grupie pacjentek ze stanem przedrzucawkowym, w porównaniu z grupą pacjentek z nadciśnieniem bez białkomoczu. Przeciwstawną tendencję odnotowałam dla stężeń VEGF: ciężka postać choroby nadciśnieniowej w ciąży, jaką stanowi preeklampsja, wiązała się z podwyższonym stężeniem tego biomarkera angiogenezy. Natomiast porównując stężenia badanych molekuł między grupą badaną a podgrupą z łagodnym i ciężkim nadciśnieniem tętniczym, bez uwzględniania funkcji nerek, zaobserwowałam związek między rozpoznaniem ciężkiego nadciśnienia a redukcją PlGF oraz eNOS. U pacjentek z nadciśnieniem łagodnym stężenia tych markerów angiogenezy były tylko nieznacznie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną. Nasze obserwacje potwierdzają hipotezę, że procesy patologiczne o podobnej manifestacji klinicznej są indukowane przez zróżnicowane reakcje w obrębie śródbłonka naczyniowego. Zważywszy na dobrze udokumentowany związek między nadciśnieniem tętniczym w ciąży a

nieprawidłową adaptacją tętnic matczynych (tzw. remodeling tętnic macicznych ciężarnej jest zjawiskiem koniecznym dla prawidłowego rozwoju ciąży), zaburzoną placentacją i podwyższonym oporem naczyniowym w krążeniu matczyno-płodowym, sformułowałam na podstawie tych obserwacji hipotezę, że w przypadku łagodnych postaci nadciśnienia tętniczego u ciężarnej występuje kompensacyjna aktywacja mechanizmów angiogenezy, podczas gdy w przypadku ciężkiego nadciśnienia mechanizmy te nie funkcjonują lub ulegają wyczerpaniu. Chciałabym przy tym również zwrócić uwagę na fakt, że PlGF jest związkiem o charakterze immunomodulującym, a powszechnie znana jest również koncepcja nadciśnienia w ciąży i stanu przedrzucawkowego jako zaburzeń adaptacji immunologicznej matki do immunologicznie obcego organizmu, jakim jest płód. Niskie stężenia PlGF w ciężkich postaciach choroby nadciśnieniowej w ciąży interpretujemy w świetle naszych badań jako niedobór czynnika regulującego immunologiczne interakcje matczyno-płodowe, potwierdzający koncepcję udziału defektu immunologicznego w etiopatogenezie stanu przedrzucawkowego. Interesujące jest odmienne zachowanie się stężeń VEGF w poszczególnych podgrupach badanej populacji – porównując grupę kontrolną z podgrupą z łagodnym nadciśnieniem tętniczym oraz ciężkim nadciśnieniem tętniczym wykazaliśmy tendencję do coraz wyższych stężeń tego biomarkera w miarę progresji schorzenia. Porównując podgrupę pacjentek z izolowanym nadciśnieniem i ciężarnych, u których stwierdzono stan przedrzucawkowy także stwierdziliśmy wyższe stężenia tej molekuły u pacjentek z białkomoczem. Podkreślić jednak należy, że dla VEGF zaobserwowaliśmy związek między stężeniem tego białka a zawartością tkanki tłuszczowej w organizmie ciężarnej – wskaźnik BMI badanych pacjentek był jedynym znamiennym statystycznie predyktorem stężenia VEGF. Również porównanie stężenia tej molekuły między pacjentkami o prawidłowej

masie ciała, z nadwagą oraz otyłością wykazało nieznamienny statystycznie trend do zwiększania się stężeń VEGF w miarę zwiększania się wskaźnika BMI.

[H.5] W prospektywnym badaniu obserwacyjnym grupy 46 ciężarnych z różnymi formami choroby nadciśnieniowej w ciąży badałam również wraz z zespołem ewentualną przydatność markerów angiogenezy oznaczanych w trzecim trymestrze ciąży w predykcji zaburzeń wzrastania u płodu, przy czym szczególnie skoncentrowaliśmy się na wewnątrzmacicznym ograniczeniu wzrastania płodu, które stanowi objaw charakterystyczny dla dysfunkcji łożyska w ciąży powikłanej nadciśnieniem tętniczym. W badanej populacji u 30% noworodków rozpoznano masę urodzeniową zbyt małą do wieku ciążowego. Analizując stężenia molekuł związanych z naczyniotworzeniem zaobserwowaliśmy nieznamienne trendy do zwiększonego ryzyka SGA (badając stężenia eNOS) lub nieznamiennie ochronny wpływ stężeń ACE i VEGF (nieznaczne zmniejszenie ryzyka wystąpienia SGA), aczkolwiek zależności te traciły znamienność po korekcie względem matczynej masy ciała sprzed ciąży, obecności preeklampsji i tygodnia ciąży, w którym rozpoznano nadciśnienie w ciąży. Analiza krzywych ROC wykazała jednak, że niskie stężenia ACE wiążą się z ponad dwukrotnie wyższym prawdopodobieństwem wystąpienia SGA, aczkolwiek parametr ten cechowała umiarkowana czułość i swoistość (odpowiednio: 64,3% i 72%).

Dane uzyskane dzięki realizowanym przeze mnie programom badawczym wskazują na związek między aktywnością biologiczną tkanki tłuszczowej a powikłaniami charakterystycznymi dla ciąży wysokiego ryzyka. Ostatnie dekady przyniosły znaczącą zmianę w postrzeganiu tkanki tłuszczowej – rośnie liczba danych jednoznacznie wskazujących na wielokierunkową i autonomiczną aktywność auto-, para- i endokrynną adipocytów, co pozwala na zdefiniowanie tkanki tłuszczowej jako narządu o zróżnicowanej funkcji i znacznej autonomii. Tkanka ta jest również przedmiotem intensywnych badań jako narząd docelowy i jednocześnie

warunkujący obecność i nasilenie powikłań charakterystycznych dla zespołu metabolicznego. Ta złożona anomalia nie jest obecnie definiowana jako choroba, ale jako poważny czynnik ryzyka znamiennie powiązany z zachorowalnością na klaster chorób cywilizacyjnych stanowiących główną przyczynę zgonu, niepełnosprawności oraz pogorszenia jakości życia w Europie.

Do chorób tych zalicza się obecnie otyłość, choroby układu krążenia, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę typu 2 oraz niektóre nowotwory. Ze względu na coraz częstsze występowanie zespołu metabolicznego w populacji ogólnej, w tym u coraz młodszych osób, przedmiotem moich zainteresowań badawczych stała się również funkcja tkanki tłuszczowej i udział nasilonej insulinooporności w patomechanizmie powikłań ciąży. Badania te mają nowatorski charakter, ponieważ dotyczą ciąży – procesu biologicznego, który dla swego prawidłowego przebiegu wymaga czasowej adaptacji hormonalnej ciężarnej prowadzącej do tymczasowej fizjologicznej insulinooporności – w ten sposób zapewniony zostaje preferencyjny dostęp płodu do substratów energetycznych pozyskiwanych z organizmu matki. Badania epidemiologiczne ostatnich dekad wskazują jednak na rosnący odsetek kobiet w wieku rozrodczym, u których obecne są czynniki ryzyka insulinooporności lub wczesne, nieme klinicznie, stadia zespołu metabolicznego. Wreszcie, coraz częściej w populacji ciężarnych odnotowujemy pacjentki, u których nie stwierdzono klinicznych wykładników zespołu metabolicznego z powodu braku odpowiednio wczesnej diagnostyki w tym kierunku. W tej populacji nałożenie się naturalnych zjawisk towarzyszących adaptacji do ciąży na wrodzoną (uwarunkowania rozwoju prenatalnego) lub nabytą (interakcje genetyczno-środowiskowe w późniejszym życiu) predyspozycję do insulinooporności bądź nierozpoznany wcześniej zespół metaboliczny skutkuje w ciąży nasiloną insulinoopornością, manifestującą się klinicznie przede wszystkim jako cukrzyca ciążowa. Jest to fenotyp ciężkiego zespołu metabolicznego w ciąży najlepiej obecnie poznany i leczony. Mimo

sukcesów terapeutycznych w optymalizacji wyrównania metabolicznego w ciąży, nadal nierozwiązanym problemem klinicznym pozostaje jednak wysoki odsetek makrosomii płodu w tej populacji ciężarnych oraz wpływ przebycia cukrzycy ciążowej na odległe rokowanie zdrowotne dla matki i potomstwa. Coraz więcej uwagi poświęca się obecnie otyłości i dyslipidemii współistniejącej z ciążą, które pozostają czynnikami ryzyka powikłań matczyno-płodowych, nawet kiedy tym zaburzeniom metabolicznym nie towarzyszy hiperglikemia lub jest ona skutecznie leczona. Przedmiotem zainteresowania badaczy jest także stosunkowo nowe zjawisko, jakim jest współistnienie cukrzycy typu 1 z zespołem metabolicznym, otyłością i insulinoopornością.

[H.2] W jednym z nielicznych dostępnych w literaturze światowej doniesień na ten temat, którego jestem współautorką, analizowałam wraz z zespołem profil metaboliczny i wykładniki stresu oksydacyjnego w grupie 98 pacjentek chorujących na cukrzycę typu 1, sklasyfikowanych pod względem obecności lub braku wykładników zespołu metabolicznego. Z punktu widzenia klinicysty interesujący był fakt, że w tej grupie u 24 pacjentek stwierdziliśmy laboratoryjne wykładniki zespołu metabolicznego, co więcej, były to pacjentki o porównywalnej długości wywiadu chorobowego i wieku w momencie zachorowania. W tej podgrupie już w pierwszym trymestrze ciąży zaobserwowaliśmy statystycznie istotne różnice w profilu lipidowym – znamiennie wyższe stężenie trójglicerydów oraz niższe stężenie cholesterolu HDL. Mimo porównywalnej długości wywiadu cukrzycowego, w grupie pacjentek z współistniejącym zespołem metabolicznym odnotowaliśmy znamiennie wyższy odsetek pacjentek z współistniejącym nadciśnieniem tętniczym i powikłaniami naczyniowymi, aczkolwiek w tej podgrupie zaobserwowaliśmy tendencję do lepszego wyrównania metabolicznego (nieznamiennie niższy odsetek HbA_{1c} w momencie objęcia opieką ośrodka referencyjnego). Wynik położniczy osiągnięty w obydwu podgrupach był porównywalny, chociaż w grupie z

współistniejącym zespołem metabolicznym opisaliśmy tendencję do częstszego występowania nieprawidłowej masy urodzeniowej noworodka – zarówno o typie SGA, jak i LGA. Ogółem, w grupie pacjentek z biochemicznymi wykładnikami zespołu metabolicznego tylko ok. 42% z nich urodziło noworodka o masie odpowiedniej do wieku ciążowego – o jedną piątą mniej w porównaniu z pacjentkami z cukrzycą typu 1 bez towarzyszących zaburzeń metabolicznych (52,7% noworodków o masie prawidłowej dla wieku ciążowego i płci noworodka). Podkreślić należy, że mimo braku znamienności statystycznej różnica ta ma znaczenie kliniczne, tym bardziej że pacjentki z cukrzycą typu 1 współistniejącą z zespołem metabolicznym częściej rodziły zarówno dzieci z LGA (41,7% vs. 36,5% w grupie bez towarzyszącego zespołu metabolicznego), jak i noworodki SGA (odpowiednio: 16,6% vs. 10,8%). W tej grupie pacjentek badaliśmy również wykładniki stresu oksydacyjnego w postaci oksydowanych LDL oraz całkowitej puli nadtlenków lipidów w surowicy krwi. Wykazaliśmy jednak, że jedyną składową zespołu metabolicznego, która modulowała stężenie oksydowanych i peroksydowanych frakcji lipidowych w surowicy, było przewlekłe nadciśnienie tętnicze.

[H.1] Przedmiotem prowadzonych przeze mnie badań są również złożone mechanizmy sterujące wzrastaniem płodu. W retrospektywnym badaniu obserwacyjnym, analizującym dane z dużej kohorty ciężarnych z cukrzycą ciążową, potwierdziłam wieloczynnikowe uwarunkowanie wzrastania wewnątrzmacicznego płodu w ciąży powikłanej cukrzycą ciążową. Retrospektywne badanie obserwacyjne kohorty 357 ciężarnych wykazało, że złożone zaburzenia metaboliczne, manifestujące się jako dyslipidemia (zwłaszcza suprafizjologiczne stężenia trójglicerydów) i otyłość, również stanowią niezależne czynniki ryzyka dla nadmiernego wzrastania płodu. Co więcej, jednoczesne występowanie kilku wykładników biochemicznych zespołu metabolicznego w badanej przeze mnie

grupie znamiennie zwiększało prawdopodobieństwo urodzenia noworodka o nadmiernej urodzeniowej masie ciała: o ile w podgrupie ciężarnych, u których stwierdzaliśmy pojedyncze zaburzenia metaboliczne (najczęściej hiperglikemia w teście doustnego obciążenia glukozą) odsetek noworodków o nadmiernej urodzeniowej masie ciała był zbliżony do populacyjnego (około 10%), o tyle w podgrupach ciężarnych, u których zaburzenia tolerancji węglowodanów współistniały z wysokimi stężeniami trójglicerydów czy też otyłością, odsetek noworodków o nadmiernej urodzeniowej masie ciała przekraczał 80%. Moje obserwacje dość jednoznacznie wskazują na rolę tkanki tłuszczowej i jej metabolizmu dla rozwoju płodu. Wyniki tego badania mają również istotne znaczenie dla praktyki klinicznej, jako że potwierdzają konieczność modyfikacji postępowania klinicznego wobec tej populacji – celowe wydaje się postępowanie wielokierunkowe, nastawione nie tylko na korektę glikemii, ale również na stabilizację profilu lipidowego oraz masy ciała ciężarnej. Publikacja ta – zamieszczona w suplemencie renomowanego czasopisma, którego praktyka redakcyjna zakłada poddawanie manuskryptów przewidzianych do publikacji w suplementach i numerach regularnych takim samym procedurom recenzyjnym – pozostaje jednym z nielicznych doniesień w piśmiennictwie światowym, które zidentyfikowało udział czynników innych niż matczyna glikemia, w szczególności stężenia matczynych trójglicerydów i matczynego BMI, w procesie nadmiernego wzrastania płodu w ciąży powikłanej cukrzycą ciążową u matki. Znaczenie przeprowadzonego badania potwierdzają również liczne cytowania przez innych autorów.

[H.4] Znaczenia nasilenia zaburzeń tolerancji węglowodanów w ciąży i znaczenia wczesnej diagnostyki w kierunku cukrzycy ciążowej dotyczy przeprowadzone przeze mnie retrospektywne badanie obserwacyjne populacji objętej opieką położniczą w naszym Ośrodku z powodu cukrzycy ciążowej, rozpoznanej według

uprzednio obowiązujących kryteriów. To badanie, jako pierwsze w populacji polskiej, potwierdziło celowość wprowadzenia zmodyfikowanych progów diagnostycznych wykazując wysoce znamienny związek między hiperglikemią matczyną na czczo, rozpoznawaną według nowych kryteriów, a niekorzystnym wynikiem położniczym. Ponadto, u pacjentek spełniających kryterium hiperglikemii na czczo, znamiennie częściej odnotowywaliśmy istnienie czynników ryzyka cukrzycy typu 2, obciążony wywiad położniczy w kierunku przebytej cukrzycy ciążowej lub jej powikłań, jak również pacjentki te znamiennie częściej przejawiały nasilone zaburzenia tolerancji węglowodanów w momencie rozpoznania cukrzycy ciążowej. W badaniu tym wykazałam również znaczenie odpowiednio wczesnej diagnostyki w kierunku cukrzycy ciążowej w populacji wysokiego ryzyka, jak również znaczenie wczesnego badania glikemii na czczo, której podwyższone wartości należy – w świetle przedstawionych przeze mnie wyników – interpretować jako wczesny objaw zaburzeń tolerancji węglowodanów, wymagający pogłębionej diagnostyki i sprawnego postawienia rozpoznania. Mianowicie, u 19,9% pacjentek, u których stwierdzaliśmy hiperglikemię na czczo w momencie wykonywania badania diagnostycznego w kierunku cukrzycy ciążowej w okresie ciąży rekomendowanym dla populacji ogólnej, badanie odsetka Hb_{A1c} wykazało wartość 6,5% – diagnostyczną dla pełnoobjawowej cukrzycy. Oznaczało to, że u tych pacjentek celowe byłoby przeprowadzenie diagnostyki w kierunku cukrzycy ciążowej w I trymestrze ciąży – postępowanie takie jest obecnie rekomendowane przez Polskie Towarzystwo Ginekologiczne u pacjentek z grupy wysokiego ryzyka wystąpienia cukrzycy ciążowej.

Prowadzone przeze mnie dotychczas badania dostarczają pionierskich obserwacji potwierdzających bezpośredni związek między zaburzeniami na poziomie molekularnym funkcji śródbłonka naczyniowego i tkanki tłuszczowej a problemami klinicznymi stanowiącymi wyzwanie dla specjalistów zaangażowanych w

nowoczesną opiekę perinatalną nad ciężarną z cukrzycą, otyłością lub nadciśnieniem tętniczym. Przedstawione przeze mnie dane uzasadniają celowość projektowania i realizacji szeroko zakrojonych, interdyscyplinarnych programów badawczych poszukujących związku między aktywnością hormonalną i metaboliczną tkanki tłuszczowej a niekorzystnymi wynikami położniczymi u matek i ich potomstwa, charakterystycznymi dla ciąż powikłanych chorobami cywilizacyjnymi. W takie też programy badawcze jestem obecnie zaangażowana.

Nowatorskie aspekty prowadzonych przeze mnie badań wskazują przede wszystkim na:

1/ związek między klinicznymi wykładnikami dysfunkcji śródbłonka naczyniowego u ciężarnej a zaburzeniami wzrastania płodu w ciąży powikłanej chorobami przewlekłymi u matki;

2/ wieloczynnikowy charakter mechanizmów regulujących wzrastanie płodu w ciąży powikłanej cukrzycą ciążową, ze szczególnym uwzględnieniem związku między stężeniem trójglicerydów a masą urodzeniową noworodka;

3/ odmienność reakcji molekularnej na poziomie śródbłonka naczyniowego powodowanej przez przewlekłe lub indukowane ciążą nadciśnienie tętnicze, jak również przez przewlekłą lub ciążową hiperglikemię.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych/ artystycznych

WPROWADZENIE

Moje zainteresowania badawcze koncentrują się również wokół klinicznych aspektów opieki perinatalnej nad matką i płodem w ciąży powikłanej cukrzycą, otyłością czy też nadciśnieniem tętniczym. Schorzenia te komplikują coraz poważniejszy odsetek ciąż w populacji ogólnej i wywierają znaczący wpływ na zdrowotność matek i potomstwa, zarówno w perspektywie krótkoterminowego bezpieczeństwa położniczego, jak i odległych perspektyw zdrowotnych obydwu pokoleń. Dlatego też coraz większe znaczenie przypisuje się wielokierunkowej, wyspecjalizowanej opiece położniczej nad tą populacją, podkreśla się zarazem nie tylko wagę diagnostyki i terapii ale także profilaktyki powikłań odległych u matki i dziecka, w ciąży powikłanej wymienionymi schorzeniami.

CUKRZYCA CIĄŻOWA, OTYŁOŚĆ I ZESPÓŁ METABOLICZNY JAKO CZYNNIKI ROKOWNICZE POWIKŁAŃ MATCZYNYCH I PŁODOWYCH

Doniesienia epidemiologiczne ostatnich dwóch dekad jednoznacznie wskazują na lawinowy wzrost częstości występowania cukrzycy ciążowej (GDM) w populacji kobiet ciężarnych. Po części można to zjawisko przypisać zmienionym kryteriom rozpoznania tej choroby – autorzy wieloośrodkowego badania obserwacyjnego HAPO (ang. *Hyperglycemia and Adverse Perinatal Outcome*) zaproponowali zmodyfikowane kryteria diagnostyczne GDM, odzwierciedlające zwiększone ryzyko powikłań położniczych wskutek hiperglikemii matczynej w drugiej połowie ciąży. Kryteria te stopniowo zostały zaakceptowane przez

specjalistyczne gremia krajowe i międzynarodowe. Szczególnie istotne dla ich upowszechnienia jest stanowisko WHO z 2013 r., przedstawione w wytycznych *Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycaemia First Detected in Pregnancy*. Jednocześnie jednak badania epidemiologiczne jednoznacznie wskazują na narastanie odsetka kobiet otyłych w populacji kobiet w wieku rozrodczym, co oznacza, że w ciągu ostatnich kilkunastu lat w populacji kobiet uważanych dotąd za zdrowe rozprzestrzenił się istotny czynnik ryzyka wystąpienia cukrzycy ciążowej. Dodatkowym zjawiskiem wpływającym na bezpieczeństwo matczyno-płodowe i wynik położniczy w populacji ogólnej jest coraz częstsze występowanie zespołu metabolicznego, którego fenotypem jest zarówno otyłość, jak i cukrzyca ciążowa. Dlatego też Ośrodek poznański jest zaangażowany w działania naukowe na poziomie międzynarodowym, mające na celu identyfikację czynników ryzyka cukrzycy ciążowej, jej szeroko pojętego wpływu na ciążę oraz poszukiwanie skutecznych interwencji terapeutycznych zapobiegających GDM w populacji wysokiego ryzyka. Jako członek międzynarodowego konsorcjum badawczego DALI, nasz zespół badawczy jest zaangażowany w badanie skuteczności modyfikacji stylu życia w zapobieganiu wystąpienia cukrzycy ciążowej w populacji otyłych ciężarnych. W jednym z pierwszych doniesień, opublikowanych w ramach prezentacji wyników uzyskanych przez Konsorcjum, potwierdziliśmy w międzynarodowej kohorcie ponad 3300 pacjentek znamienny związek między matczynym BMI a zachorowalnością na GDM. Wykazano też, że zarówno cukrzyca ciążowa, jak i nadmierna masa ciała ciężarnej stanowią niezależne czynniki ryzyka powikłań płodowych. Zależności te jeszcze do niedawna były przedmiotem kontrowersji i wielu klinicystów kwestionowało zagrożenie, jakie te matczyne patologie niosą dla płodu, uważając je za nieudowodnione. Także retrospektywna analiza ponad 400 ciężarnych objętych opieką naszego ośrodka wykazała, że matczyna otyłość i nadmierny przyrost masy ciała w ciąży znamiennie koreluje z

ryzykiem urodzenia noworodka o zbyt dużej masie ciała, nadciśnienia indukowanego ciążą oraz porodu drogą cięcia cesarskiego.

Do niedawna przedmiotem kontrowersji był również związek między przebyciem cukrzycy ciążowej a odległym rokowaniem dla matki. W badaniu typu „follow-up" zrealizowanym w naszym Ośrodku w latach 2004-2006 w kohorcie 153 kobiet wykazaliśmy, że kilka lat po przebyciu ciąży powikłanej GDM już 47,7% kobiet było już leczonych z powodu cukrzycy typu 2. Uzupełnienie diagnostyki w kierunku cukrzycy u pozostałych uczestniczek badania wykazało, że jedynie u 29 z nich osiągnięto prawidłowy wynik. Ogółem, u 81% kobiet po przebytej cukrzycy ciążowej obserwowaliśmy różnego stopnia zaburzenia tolerancji węglowodanów, najczęściej w postaci pełnoobjawowej cukrzycy typu 2. Również w tej grupie badanej potwierdziliśmy znamiennie częstsze występowanie zespołu metabolicznego u kobiet, które przebyły cukrzycę ciążową, w porównaniu z grupą kontrolną (pacjentki po ciąży niepowikłanej GDM) – najczęściej rozpoznawanymi składowymi zespołu metabolicznego w tej populacji była hiperglikemia na czczo (79,1% vs. 1,9%) i nieprawidłowy wskaźnik talia-biodro (57,5% vs. 36,7%). Nadciśnienie tętnicze rozpoznaliśmy u 18,9% pacjentek po przebytej GDM w porównaniu do 1,9% w grupie kontrolnej, a nieprawidłowe stężenia trójglicerydów u 21,6% w porównaniu do 2,6% pacjentek z grupy kontrolnej. Szczególnie istotna z klinicznego punktu widzenia wydaje się jednak również obserwacja poczyniona w grupie kontrolnej, gdzie u ponad jednej trzeciej uczestniczek badania z grupy kontrolnej już stwierdziliśmy wykładnik insulinooporności w postaci nadmiernego odkładania się brzusznej tkanki tłuszczowej. Obserwacje te mają duże znaczenie dla praktyki klinicznej, jednoznacznie wskazując na celowość wczesnej i intensywnej diagnostyki w kierunku cukrzycy typu 2 u młodych kobiet z GDM w wywiadzie.

Zawiejska A, Wender-Ożegowska E, Grewling-Szmit K, Brazert M, Brązert J. Short-term antidiabetic treatment with insulin or metformin has a similar impact on the components of metabolic syndrome in women with gestational diabetes mellitus requiring antidiabetic agents: results of a prospective, randomized study. J Physiol Pharmacol 206;67:227-33. (MNiSW 30)

Vellinga A, **Zawiejska A**, Harreiter J, Buckley B, Di Cianni G, Lapolla A et al. Associations of Body Mass Index (Maternal BMI) and Gestational Diabetes Mellitus with Neonatal and Maternal Pregnancy Outcomes in a Multicentre European Database (Diabetes and Pregnancy Vitamin D and Lifestyle Intervention for Gestational Diabetes Mellitus Prevention). ISRN Obes. 2012 Jun 12;2012:424010. doi: 10.5402/2012/424010. eCollection 2012. (nie indeksowane w wykazie MNiSW).

Wender-Ożegowska E, Sporna M, **Zawiejska A,** Sporna A, Brązert J. Components of metabolic syndrome in women after gestational diabetes. Pol Arch Med Wewn 2007:117;457-62 (MNiSW 9).

Wender-Ożegowska E, Sporna M, **Zawiejska A,** Sporna A, Brązert J. [Carbohydrate disturbances among women after gestational diabetes mellitus].Ginekol Pol 2007;78:223-8 (MNiSW 9).

Gutaj P, Wender-Ożegowska E, Mantaj U, **Zawiejska A,** Brązert J. [Maternal body mass index and gestational weight gain and their association with perinatal outcome in women with gestational diabetes].Ginekol Pol 2011;82:827-33 (MNiSW 9).

CUKRZYCA TYPU 1 ORAZ NADCIŚNIENIE TĘTNICZE U CIĘŻARNEJ JAKO KLINICZNE MODELE PATOLOGII MATCZYNYCH

MODULUJĄCYCH FUNKCJĘ ŚRODBŁONKA NACZYNIOWEGO I ŁOŻYSKA

Nieprawidłowe wzrastanie płodu nie tylko jest powikłaniem rozpowszechnionym w badanych przeze mnie modelach chorób matczynych, jest także złożonym procesem, względem którego nowoczesna medycyna matczyno-płodowa ma nadal ograniczone możliwości diagnostyczne i terapeutyczne. Dla moich badań szczególne znaczenie ma mikroangiopatia cukrzycowa i nadciśnienie tętnicze z powikłaniami narządowymi, coraz więcej doniesień wskazuje również na uszkadzający mikrokrążenie łożyskowe wpływ nasilonej insulinooporności, która może indukować mikrozakrzepicę w kosmkach łożyska. W moich badaniach dotyczących związku między ograniczonego (SGA) lub nadmiernego (LGA) wzrastania płodu a objawami dysfunkcji śródbłonka naczyniowego zaobserwowałam znamienny statystycznie związek między profilem biomarkerów funkcji śródbłonka a masą urodzeniową noworodka. Prospektywne badanie obserwacyjne przeprowadziłam w grupie 97 kobiet ciężarnych z cukrzycą przedciążową, które urodziły po ukończonym 37 tygodniu ciąży (ciąża donoszona). W tej populacji, u 33% noworodków stwierdzono masę urodzeniową powyżej 90 percentyla dla płci i wieku ciążowego (noworodki LGA), podczas gdy u 7,2% noworodków zaobserwowano masę urodzeniową poniżej 10 percentyla dla płci i wieku ciążowego (noworodki SGA). Analizując stężenie molekuł adhezyjnych w I trymestrze ciąży wykazałam, że stężenie sE-Selektyny dodatnio korelowało z ryzykiem nadmiernej urodzeniowej masy ciała, a wartość sE-Selektyny powyżej 42,0 ng/ml charakteryzowała się 38,7% czułością i 60,7% swoistością w predykcji LGA. Również przyrost stężenia sVCAM-1 w czasie ciąży dodatnio korelował z ryzykiem wystąpienia tego powikłania: dla różnicy stężeń sVCAM-1 między pomiarem w ciąży donoszonej a pomiarem dokonanym w pierwszym trymestrze ciąży (w momencie objęcia opieką w ośrodku referencyjnym) przekraczającej 384

ng/ml odnotowano 34,4% czułość i 85,5% swoistość. Co interesujące, retrospektywna analiza wykazała, że w niewielkiej grupie badanych ciężarnych, które urodziły noworodka o masie zbyt małej do wieku ciążowego i płci wyjściowe stężenia sVCAM-1 były znamiennie wyższe niż w podgrupach ciężarnych, które urodziły noworodki o masie ciała prawidłowej lub nadmiernej względem wieku ciążowego. Wysokie stężenie wyjściowe sVCAM-1 było również znamiennym statystycznie predyktorem SGA o czułości 31% i swoistości 65%. W retrospektywnej analizie tej podgrupy pacjentek wykazałam również, że dla ciężarnych, które urodziły noworodki o masie ciała zbyt małej do wieku ciążowego charakterystyczne były wysokie wyjściowe stężenia sVCAM-1 oraz niewielki przyrost stężenia tej molekuły adhezyjnej w czasie ciąży. Taki profil biomarkerów dysfunkcji śródbłonka identyfikowałby zatem populację pacjentek, którą cechuje przedciążowa dysfunkcja śródbłonka charakterystyczna dla długotrwałej cukrzycy z mikroangiopatią (wysokie stężenia sVCAM-1 we wczesnej ciąży pozwalają wnioskować o stanie śródbłonka w okresie okołokoncepcyjnym) oraz upośledzona funkcja łożyska (brak wzrostu stężenia sVCAM-1, który obserwuje się w prawidłowej ciąży, a którego przyczyną jest pula sVCAM-1 uwalniana do krążenia matczynego przez śródbłonek mikrokrążenia łożyska). Jednocześnie, ta zaobserwowana przeze mnie odmienność profilu wykładników dysfunkcji śródbłonka pozwala odpowiedzieć na pytanie: dlaczego, nawet w populacji ciężarnych z długotrwałą cukrzycą, wewnątrzmaciczna hipotrofia jest stwierdzana rzadziej niż nadmierne wzrastanie płodu. Wnioskując z zebranych przeze mnie danych mogę postawić hipotezę, że przy podobnym, suboptymalnym wyrównaniu glikemii u ciężarnej, masa urodzeniowa noworodka jest wypadkową przeciwstawnych procesów (nadmiar substancji energetycznych dostępnych dla płodu vs. efektywność transferu łożyskowego), a decydującą rolę będzie odgrywać zachowana (lub nie) zdolność łożyska do transferu substratów energetycznych do

płodu. Łożysko jest narządem współtworzonym przez organizm matki (doczesna) i płodu (trofoblast), który cechuje duża autonomia czynnościowa i konieczne są dalsze badania nad czynnikami ochronnymi lub predysponującymi do tzw. „niedokrwiennej choroby łożyska" (ang. „placental ischaemic disease") na poziomie ogólnoustrojowym i swoistym narządowo. W tym samym badaniu zaobserwowałam jednak również, że masa płodu jest regulowana przez wiele czynników, a stężenia badanych molekuł adhezyjnych, aczkolwiek wykazują znamienną statystycznie zależność z zaburzeniami wzrastania płodu, wyjaśniają jedynie niewielki procent zmienności tego parametru. Niewątpliwie jednak badania nad biomarkerami funkcji śródbłonka naczyniowego prowadzone w większych populacjach pacjentek mogą dostarczyć dalszych informacji na temat procesów warunkujących wzrastanie i dobrostan płodu w ciążach powikłanych przewlekłymi chorobami matczynymi, w których śródbłonek naczyniowy jest narządem docelowym.

W pracy analizującej profil osoczowych markerów dysfunkcji śródbłonka w populacji badanych ciężarnych w zależności od obecności lub braku powikłań naczyniowych o charakterze mikroangiopatii cukrzycowej zaobserwowałam z kolei odmienny wzorzec zmian stężeń poszczególnych badanych molekuł w czasie trwania ciąży. Porównując te wartości z grupą kontrolną wykazałam, że sE-Selektyna zarówno w grupie ciężarnych z powikłaniami naczyniowymi, jak i w grupie ciąż bez tych powikłań wykazywała tendencję do wartości niższych w porównaniu ze stężeniem sE-selektyny u zdrowych ciężarnych. Ponadto, podczas gdy u zdrowych ciężarnych obserwowałam nieznaczny wzrost stężenia tego biomarkera w przebiegu ciąży, u ciężarnych z cukrzycą przedciążową (zarówno z powikłaniami naczyniowymi jak i bez nich) stężenie sE-selektyny pozostawało w ciąży niezmienione, a nawet wykazywało tendencję spadkową.

Z kolei stężenie sVCAM-1 we wczesnej ciąży, zarówno w grupie pacjentek z powikłaniami naczyniowymi, jak i bez tej patologii, było porównywalne z grupą kontrolną – z tendencją do wyższych stężeń tej molekuły w grupie z mikroangiopatią cukrzycową, zwłaszcza u pacjentek ze współistniejącą retinopatią i nefropatią cukrzycową. U pacjentek z cukrzycą nie odnotowano jednak ciążowego przyrostu stężenia sVCAM-1, odnotowanego u zdrowych ciężarnych. Jako wyjaśnienie moich obserwacji zaproponowałam następującą hipotezę: względnie wysokie stężenie sVCAM-1 we wczesnej ciąży można traktować jako wykładnik uszkodzenia śródbłonka naczyniowego charakterystycznego dla długotrwałej cukrzycy z przewlekłymi powikłaniami naczyniowymi. Natomiast brak przyrostu stężenia tej molekuły w ciąży w grupie badanej należałoby traktować jako objaw gorszej funkcji łożyska – skutek mikroangiopatii naczyń tego narządu, charakterystycznej dla cukrzycy z uszkodzeniem drobnych naczyń. W ramach takiej koncepcji stałe stężenie sVCAM-1 w przebiegu ciąży należałoby interpretować jako niekorzystny objaw wskazujący na zmniejszone uwalnianie rozpuszczalnych form łożyskowego VCAM-1 do krążenia matczynego. Hipotezę tę potwierdzają inne obserwacje uzyskane w prowadzonym przeze mnie badaniu: wykazało ono również wyższe stężenie sVCAM-1 w trzecim trymestrze prawidłowej ciąży. Oznaczałoby to, że wzrost stężenia tej molekuły w surowicy matczynej jest zjawiskiem fizjologicznym i świadczy o naturalnej aktywności śródbłonka mikrokrążenia łożyskowego. Moja publikacja jest jedną z nielicznych dostępnych w piśmiennictwie światowym doniesień badających zmiany stężeń molekuł adhezyjnych w przebiegu ciąży powikłanej cukrzycą typu 1. Nowatorski charakter przedstawionych obserwacji dotyczy przede wszystkim wykazania związku między funkcją śródbłonka jako narządu regulującego homeostazę ustroju a powikłaniami położniczymi stanowiącymi istotny problem praktyczny w klinicznej opiece nad tą populacją chorych.

W ostatnich latach przedmiotem intensywnych badań staje się również dysfunkcja łożyska wskutek zaburzeń czynności mikronaczyń tworzących jego strukturę, w piśmiennictwie określana jako „niedokrwienna choroba łożyska" (ang. *placental ischaemic disease*). Patologię naczyniową łożyska wskazuje się obecnie jako wspólną przyczynę zaburzenia wzrastania płodu o charakterze IUGR, stanu przedrzucawkowego, przedwczesnego oddzielenia łożyska oraz nagłego zagrożenia życia płodu – tetralogii powikłań położniczych stwierdzanych w około 50% jatrogennych porodów przedwczesnych i stanowiących odległy niekorzystny czynnik prognostyczny dla zdrowia matki i potomstwa. Powikłania te są obecnie uważane za problem zdrowotny o dużym znaczeniu populacyjnym ze względu na ich związek z wystąpieniem chorób cywilizacyjnych u matek (choroby układu krążenia) i ich potomstwa (insulinooporność). Programy badawcze, w których brałam udział, włączają się w ten nurt nowatorskich badań zmierzających do ustalenia biochemicznych wykładników funkcji mikrostruktury naczyniowej łożyska, możliwych do badania w kompartmencie matczynym (surowica), i ich związku z uznanymi czynnikami ryzyka położniczego (metaboliczny profil matczyny), jak również niezależnego wpływu na powikłania położnicze charakterystyczne dla dysfunkcji łożyska. Badania prowadziłam wraz z zespołem w populacjach pacjentek z cukrzycą typu 1 o liczebności co najmniej kilkadziesięciu par pacjentek i noworodków; podkreślić należy, że są to populacje o znaczącej liczebności, zważywszy, że rozpowszechnienie cukrzycy typu 1 w populacji ciężarnych nie przekracza 0,5%. W pracach tych również analizowaliśmy genetyczne i epigenetyczne uwarunkowania wzrastania płodu w ciąży powikłanej cukrzycą typu 1, a także nadciśnieniem tętniczym. Przedmiotem naszych badań była ekspresja w obrębie łożyska leptyny i jej receptora, jako regulatora rozwoju płodowej tkanki tłuszczowej, jak również jednego z podstawowych regulatorów angiogenezy – VEGF. W badaniach tych wykazaliśmy związek między matczyną glikemią i

ekspresją VEGF w łożysku. Taką samą zależność zaobserwowaliśmy dla parametrów długotrwałego wyrównania metabolicznego, potwierdzając zależność między ekspresją VEGF a odsetkiem $HbA1_{1c}$. W tej populacji ciężarnych wykazaliśmy również związek między nadmierną urodzeniową masą płodu a łożyskową ekspresją leptyny i jej receptora. Badania polimorfizmów genu dla leptyny i dla jej receptora u ciężarnych chorujących na cukrzycę typu 1, realizowane przez nasz zespół badawczy, potwierdziły również wpływ matczynego stężenia leptyny w surowicy krwi we wczesnej ciąży na masę urodzeniową noworodka u pacjentek z homozygotycznym genotypem LEP -2548 G/A oraz LEPR 668 A/G. Z kolei nasze badania polimorfizmów w obrębie genu dla śródbłonkowej syntazy tlenku azotu pozwoliły stwierdzić odmienność profilu metabolicznego u nosicielek homozygotycznego genotypu eNOS TT: u tych pacjentek zaobserwowaliśmy najwyższą w grupie badanej masę ciała oraz niekorzystny w porównaniu do innych genotypów profil lipidowy, a zatem – kumulację niekorzystnych czynników prognostycznych nieprawidłowego wzrastania płodu. Nasze doniesienia zyskują przydatność kliniczną szczególnie w aspekcie rozwoju farmakogenomiki – dyscypliny nauk medycznych, która bada związki między mikrostrukturą genomu ludzkiego a skutecznością określonych interwencji terapeutycznych. Z jej osiągnięciami wiąże się nadzieje na terapię spersonalizowaną, dobraną do uwarunkowań genetycznych i epigenetycznych danego pacjenta.

Prowadzone przez nasz zespół badania dotyczą też biomarkerów angiogenezy w populacji chorującej na cukrzycę typu 1. Również w tej populacji potwierdziliśmy zbadany przeze mnie w grupie ciężarnych z nadciśnieniem i stanem przedrzucawkowym związek między powikłaniami ciąży a niskim stężeniem PlGF. W kohorcie ciężarnych chorujących na cukrzycę typu 1 wykazaliśmy mianowicie zależność między niską masą urodzeniową płodu (SGA) a niskim stężeniem tego białka w połowie ciąży i brakiem przyrostu stężenia tego biomarkera w

zaawansowanej ciąży. Uzyskane przez nasz zespół wyniki pozwalają mi na postawienie hipotezy, że tej populacji stężenia PlGF w ciąży mogłyby być traktowane jako wskaźnik prawidłowej funkcji łożyska, a brak przyrostu stężeń tego biomarkera w drugiej połowie ciąży należałoby zaliczyć do klinicznych objawów gorszej wydolności tego narządu, charakterystycznej dla ciąży z powikłaniami naczyniowymi. Wykorzystanie tego białka jako modelowego wykładnika funkcji łożyska ma tę dodatkową zaletę, że jest to molekuła produkowana wyłącznie przez łożysko, nie ma zatem problemu z identyfikacją puli matczynej i płodowej, jak ma to miejsce w przypadku sVCAM-1 czy sE-Selektyny, co podkreślałam w publikacjach dotyczących dysfunkcji śródbłonka naczyniowego w ciąży powikłanej cukrzycą.

Zawiejska A, Wender-Ożegowska E, Brązert J. Microvascular complications are associated with low levels of maternal sE-Selectin and sVCAM-1 in pregnancy complicated with pregestational diabetes mellitus. (MNiSW – 25,00)

Diabetes Res Clin Pract 2010;88:164-70 (MNiSW – 25,00)

Zawiejska A, Wender-Ożegowska E, Pietryga M, Brązert J. Maternal endothelial dysfunction and its association with abnormal fetal growth in diabetic pregnancy. Diabet Med. 2011;28:692-8 (MNiSW – 30,00)

Wender-Ożegowska E, **Zawiejska A,** Iciek R, Brązert J. Concentrations of eNOS, VEGF, ACE and PlGF in maternal blood as predictors of impaired fetal growth in pregnancy complicated by gestational hypertension/ preeclampsia. Hypertens Pregnancy 2015;34:17-23 (MNiSW 20)

Iciek R, Wender-Ożegowska E, **Zawiejska A,** Seremak-Mrozikiewicz A, Drews K, Brązert J. The influence of metabolic parameters on fetal development weight in

women with type 1 diabetes and homozygotic variant in -2548 G/A of leptin gene and its 668 A/G/ receptor polymorphism]. Ginekol Pol 2010;18:571-7 (MNiSW 9).

Iciek R, Wender-Ożegowska E, **Zawiejska A**, Mikołajczak P, Mrozikiewicz PM, Pietryga M, Brązert J. Placental leptin and ist receptor genes expression in pregnancies complicated by type 1 diabetes. J Physiol Pharmacol 2013;64:579-85 (MNiSW 20).

Wender-Ożegowska E, Michałowska-Wender G, **Zawiejska A,** Pietryga M, Brązert J. Wender M. Concentrations of chemokins in peripheral blood in first trimester of diabetic pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand 2008;87:14-9 (MNiSW 27).

Gutaj P, Wender-Ożegowska E, Iciek R, **Zawiejska A,** Pietryga M, Brązert J. Maternal serum placental growth factor and fetal SGA in pregnancy complicated by type 1 diabetes mellitus. J Perinat Med 2014;42:629-33 (MNiSW 25).

Iciek R, Wender-Ożegowska E, Mikołajczak P, Seremak-Mrozikiewicz A, **Zawiejska A,** Pietryga M, Brązert J. Placental vascular endothelial growth factor expression in pregnancies complicated by type 1 diabetes mellitus. J Physiol Pharmacol 2014;65:577-83. (MNISW 20)

MODELE NOWOCZESNEGO NADZORU POŁOŻNICZEGO W CIĄŻY POWIKŁANEJ CUKRZYCĄ TYPU 1 I ICH WPŁYW NA WYNIK POŁOŻNICZY W MONITOROWANEJ POPULACJI

Horyzonty i nadzieje nowoczesnej diabetologii położniczej wyznaczyła Deklaracja St. Vincent przyjęta w 1989 roku przez przedstawicieli *International Diabetes Federation*. Sygnatariusze Deklaracji sformułowali, jako jeden z celów pięcioletnich, „osiągnięcie u kobiet chorujących na cukrzycę wyniku położniczego

zbliżonego do populacji zdrowej". Mimo uzyskania znacznej poprawy rokowania położniczego w populacji kobiet chorujących na cukrzycę, choroba ta jednak nadal stanowi poważny czynnik rokowniczy niepowodzeń rozrodu i powikłań położniczych. Dotyczy to w szczególności niemożności zajścia w ciążę, wad wrodzonych, poronień, zaburzeń wzrastania płodu, obumarć wewnątrzmacicznych, stanu przedrzucawkowego czy wreszcie wyższej zachorowalności i umieralności noworodków spowodowanej jatrogennym wcześniactwem. Coraz więcej danych klinicznych i pozyskanych z modeli zwierzęcych wskazuje także na silny związek rozwoju płodu w niesprzyjającym środowisku wewnątrzmacicznym z późniejszym zachorowaniem na choroby cywilizacyjne w dorosłym życiu. Dlatego też przedmiotem badań pozostają różne modele opieki perinatalnej nad ciężarną i płodem, nastawione na optymalizację wyrównania glikemii u ciężarnej, tak aby osiągnąć wartości bezpieczne dla matki i płodu. Jest to zagadnienie kliniczne nadal dalekie od ostatecznego rozwiązania, ponieważ gospodarka węglowodanowa u zdrowej ciężarnej podlega niezwykle precyzyjnej regulacji, utrzymując glikemie matczyne na poziomie około 20% niższym niż u kobiety niebędącej w ciąży. Oznacza to konieczność stosowania bardziej restrykcyjnych kryteriów wyrównania metabolicznego i intensyfikacji leczenia przeciwcukrzycowego w ciąży. Hiperglikemia matczyna pozostaje jednocześnie niekwestionowanym czynnikiem zagrażającym rozwojowi płodu – wykazano liniową zależność między ryzykiem powikłań płodowych a stężeniami glukozy w surowicy krwi. Ponadto, wszystkie wartości diagnostyczne oraz docelowe w terapii są ustalane arbitralnie, na podstawie dużych, wieloośrodkowych badań epidemiologicznych, ponieważ nie stwierdzono wartości progowych, powyżej których ryzyko powikłań jednoznacznie wzrastałoby powyżej populacyjnego. Z drugiej strony, uznanie za docelowe wartości charakterystycznych dla profilu glikemii zdrowej ciężarnej oznaczałoby niezwykle restrykcyjną terapię o dużym ryzyku poważnych niedocukrzeń i progresji

zmian naczyniowych na dnie oka. Dlatego też za optymalną uznaje się obecnie terapię będącą formą kompromisu między bezpieczeństwem ciężarnej a minimalizowaniem ryzyka dla płodu. Tak postawione cele terapeutyczne w populacji ciężarnych chorujących na cukrzycę typu 1 można osiągnąć tylko dzięki intensywnej czynnościowej insulinoterapii, a szczególne nadzieje wiąże się z insulinoterapią prowadzoną za pomocą osobistej pompy insulinowej w formie ciągłego podskórnego wlewu insuliny (CSII – ang. *continuous subcutaneous insulinę infusion*). Zespół naszego Ośrodka referencyjnego zrealizował badanie obserwacyjne, porównujące profil metaboliczny we wczesnej ciąży ciężarnych leczonych przed zajściem w ciążę za pomocą pompy insulinowej z profilem metabolicznym pacjentek, które przed zajściem w ciążę prowadziły intensywną czynnościową insulinoterapię za pomocą metody wielokrotnych wstrzyknięć. W badaniu tym zaobserwowaliśmy korzystniejszy profil lipidowy, znacznie mniejsze zapotrzebowanie na insulinę oraz znacznie niższą insulinooporność mierzoną za pomocą markera pośredniego – eGDR (ang. *estimated glusoce disposal rate,* szacowane zużycie glukozy) w grupie stosującej CSII. Co istotne klinicznie, w tej grupie pacjentek odnotowaliśmy również częstsze planowanie ciąży, co uważane jest za jeden z podstawowych czynników umożliwiający redukcję ryzyka położniczego w tej populacji. Przebiegu całej ciąży i wyniku położniczego w analogicznych podgrupach pacjentek dotyczyło natomiast zrealizowane przeze mnie w raz z zespołem retrospektywne badanie obserwacyjne typu „case-control" porównujące 64 pacjentki z cukrzycą typu 1, u których w momencie objęcia opieką ośrodka referencyjnego rozpoczęliśmy leczenie za pomocą pompy insulinowej, do 64 pacjentek, u których kontynuowaliśmy w ciąży intensywną czynnościową insulinoterapię za pomocą wielokrotnych wstrzyknięć. W tym badaniu potwierdziliśmy mniejsze zapotrzebowanie na insulinę przy porównywalnym wyrównaniu metabolicznym w grupie CSII. Nie odnotowaliśmy znamiennych

różnic w badanych punktach końcowych w kwestii wyniku położniczego, aczkolwiek w grupie pacjentek stosujących osobiste pompy insulinowe. Zwracał natomiast uwagę nieznamienny trend w kierunku mniejszego odsetka noworodków o zbyt dużej urodzeniowej masie ciała (20,3% vs. 26,8%) przy porównywalnym odsetku noworodków o zbyt małej urodzeniowej masie ciała (8,5% vs. 7,1%). Założenia metodologiczne naszego badania uniemożliwiały prześledzenie wpływu zastosowanej metody leczenia na powikłania wczesnej ciąży (poronienia, obumarcia wewnątrzmaciczne czy też wady wrodzone). Taka analiza wymaga bowiem zrekrutowania do grupy badanej pacjentek, które zastosowały leczenie za pomocą pompy insulinowej w okresie okołokoncepcyjnym. Tego rodzaju wieloośrodkowe badanie, w którym uczestniczy również nasz Ośrodek, jest obecnie w toku.

Obserwacje kliniczne, zbierane przez dekady prowadzenia specjalistycznej opieki nad ciężarnymi z cukrzycą typu 1 w Ośrodku poznańskim, wskazują jednak na rosnący udział czynników ryzyka innych niż nieprawidłowe wyrównanie glikemii. Również w populacji kobiet chorujących na cukrzycę odzwierciedla się tendencja społeczna do zachodzenia w ciążę w bardziej zaawansowanym wieku rozrodczym. W retrospektywnym badaniu obserwacyjnym, analizującym czynniki ryzyka wczesnej utraty ciąży w dużej kohorcie 151 kobiet chorujących na cukrzycę, w tym 60 pacjentek, które doświadczyły wczesnej utraty ciąży, wykazałam wraz z zespołem znamiennie istotne zwiększenie ryzyka utraty ciąży u pacjentek z suboptymalnym wyrównaniem glikemii (HbA_{1c} >6,7%) oraz w wieku powyżej 27 lat. Nieznamienne statystycznie, aczkolwiek istotne klinicznie czynniki ryzyka wczesnej utraty ciąży, które zidentyfikowaliśmy w tej kohorcie, to nadciśnienie tętnicze, nadwaga lub otyłość, długi wywiad chorobowy, obecność powikłań naczyniowych oraz brak planowania ciąży.

Wender-Ozegowska E, **Zawiejska A**, Pietryga M, Zozulińska D, Wierusz-Wysocka B, Chmaj K, Biczysko R. Effect of pregnancy on diabetic vascular complications. Ginekol Pol. 2004 May;75(5):342-51. (w 2004 nie indeksowane na liście MNiSW).

Dydowicz PT, Pietryga M, **Zawiejska A,** Szczeszek K, Wilczak M, Brązert J. Self-directed learning in high-quality antenatal screening. Ginekol Pol. 2015 Jul;86(7):514-9 (MNiSW 15).

Wender-Ożegowska E, **Zawiejska A,** Ożegowska K, Wróblewska-Seniuk K, Iciek R, Mantaj U et al. Multiple daily injections of insulin versus continuous subcutaneous insulin infusion for pregnant women with type 1 diabetes. Aust NZ J Obstet Gynecol 2013;53:130-5 (MNiSW 20).

Gutaj P, **Zawiejska A,** Wender-Ożegowska E, Brązert J. Maternal factors predictive of first-trimester pregnancy loss in women with pregestational diabetes mellitus. Pol Arch Med Wewn 2013;123:21-8 (MNiSW 30).

Gutaj P, **Zawiejska A,** Brązert J, Wender-Ożegowska E. Association between preconceptional treatment with insulin pumps and improved metabolic status in early pregnancy in women with type 1 diabetes. Pol Arch Med Wewn 2015;125:329-36 (MNiSW 30)