



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА  
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

Александра Димитријевић

**ИНФЛАМАЦИОНО-ОКСИДАЦИОНИ СТАТУС  
ТРУДНИЦА КОЈЕ БОЛУЈУ ОД ТРОМБОФИЛИЈЕ**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2024.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC

FACULTY OF MEDICINE  
UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC

Aleksandra Dimitrijević

**INFLAMMATORY-OXIDATIVE STATUS OF  
PREGNANT WOMEN SUFFERING FROM  
THROMBOPHILIA**

Doctoral Disertation

Kragujevac, 2024.

<b>Аутор</b>
Име и презиме: Александра Димитријевић
Датум и место рођења: 27.10.1984. Туприја
Садашње запослење: Дипломирани биолог, Институт за јавно здравље Крагујевац
<b>Докторска дисертација</b>
Наслов: Инфламационо-оксидациони статус трудница које болују од тромбофилије
Број страница: 65
Број слика: 10
Број библиографских података: 156
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
Научна област (УДК): Медицина - Хумана репродукција и развој
<b>Ментор:</b> проф. др Јанко Ђурић, редовни професор, Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
<b>Оцена и одбрана</b>
Датум пријаве теме: 16.11.2023.
Број одлуке и датум прихватања теме докторске/уметничке дисертације: IV-03-380/8 од 20.05.2024.

<b>Autor</b>
Ime i prezime: Aleksandra Dimitrijević
Datum i mesto rođenja: 27.10.1984. Čuprija
Sadašnje zaposlenje: Diplomirani biolog, Institut za javno zdravlje Kragujevac
<b>Doktorska disertacija</b>
Naslov: Inflamaciono-oksidacioni status trudnica koje boluju od trombofilije
Broj stranica: 65
Broj slika: 10
Broj bibliografskih podataka: 156
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu
Naučna oblast (UDK): Medicina - Humana reprodukcija i razvoj
<b>Mentor: prof. dr Janko Đurić, redovni profesor, Fakultet medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu</b>
<b>Ocena i odbrana</b>
Datum prijave teme: 16.11.2023.
Broj odluke i datum prihvatanja teme doktorske/umetničke disertacije: IV-03-380/8 od 20.05.2024.

<b>Author</b>
Name and surname: Aleksandra Dimitrijević
Date and place of birth: 27.10.1984. Čuprija
Current employment: Diplomirani biolog, Institut za javno zdravlje Kragujevac
<b>Doctoral Dissertation</b>
Title: Inflammatory-oxidative status of pregnant women suffering from thrombophilia
No. of pages: 65
No. of images: 10
No. of bibliographic data: 156
Institution and place of work: Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac
Scientific area (UDK): Medicine - Human reproduction and development
<b>Mentor: prof. Dr. Janko Đurić, full professor, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac</b>
<b>Ocena i odbrana</b>
Topic Application Date: 16.11.2023.
Decision number and date of acceptance of the doctoral dissertation topic: IV-03-380/8 from 20.05.2024.

## Сажетак

Имајући у виду да улога оксидационог стреса и инфламације у патогенези тромбофилије у трудноћи није у потпуности разјашњена, циљ ове студије био је да се процени редокс и цитокински статус трудница са тромбофилијом у сва три триместра трудноће. Студија је обухватила 120 трудница које су биле подељене у две групе: група са тромбофилијом и група са здравом трудноћом. Група трудница са тромбофилијом састојала се од 60 трудница са потврђеном тромбофилијом, док је група са здравом трудноћом укључила 60 трудница са физиолошком трудноћом, без тромбофилије. На крају првог, другог и трећег триместра трудноће, узорци крви су сакупљени за биохемијске анализе. У крви су одређивани нивои супероксид анјон радикала, водоник пероксида, нитрита, индекс липидне пероксидације, ниво редукованог глутатиона, активности супероксид дисмутазе и каталазе, као и вредности интерлеукина-6 и фактора некрозе тумора алфа. Током периода гестације забележена је различита динамика ослобађања прооксиданаса, антиоксиданаса, као и проинфламаторних цитокина и у групи са тромбофилијом и код здраве трудноће. Више вредности прооксиданаса и ниже вредности параметара антиоксидационог система заштите забележене су у групи жена са тромбофилијом у поређењу са здравим трудницама током првог и другог триместра. С друге стране, током трећег триместра није било значајних разлика у мереним параметрима између групе са тромбофилијом и здраве трудноће. Генерално посматрано, тромбофилија је била повезана са погоршањем антиоксидационог капацитета, који се различито мењао од првог до трећег триместра, кроз различите параметре. Ова студија може бити полазна основа за будућа истраживања која би разјаснила улогу тромбофилије у модулацији редокс хомеостазе.

Кључне речи: антиоксиданси; трудноћа; прооксиданси; цитокини; тромбофилија

## **Abstract**

Given that the role of oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of thrombophilia in pregnancy is not fully elucidated, the aim of this study was to evaluate the redox and cytokine status of pregnant women with thrombophilia in all three trimesters of pregnancy. The study included 120 pregnant women who were divided into two groups: a group with thrombophilia and a healthy pregnancy group. The group of pregnant women with thrombophilia consisted of 60 women with confirmed thrombophilia, while the healthy pregnancy group included 60 women with physiological pregnancy, without thrombophilia. At the end of the first, second and third trimesters of pregnancy, blood samples were collected for biochemical analyses. In the blood, the levels of superoxide anion radical, hydrogen peroxide, nitrites, lipid peroxidation index, reduced glutathione level, superoxide dismutase and catalase activities, as well as the values of interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha, were determined. During the gestational period, different dynamics of pro-oxidant, antioxidant, as well as proinflammatory cytokine release were recorded in both the group with thrombophilia and the healthy pregnancy group. Higher values of pro-oxidants and lower values of antioxidant system protection parameters were recorded in the group of women with thrombophilia compared to healthy pregnant women during the first and second trimesters. On the other hand, during the third trimester, there were no significant differences in the measured parameters between the group with thrombophilia and healthy pregnancy. Overall, thrombophilia was associated with a deterioration of the antioxidant capacity, which changed differently from the first to the third trimester, through different parameters. This study may be a starting point for future research that would clarify the role of thrombophilia in the modulation of redox homeostasis.

Key words: antioxidants; pregnancy; pro-oxidants; cytokines; thrombophilia

# Садржај

1. Увод.....	1
1.1. Тромбофилија – дефиниција, епидемиологија, актуелна патофизиолошка разматрања, клиничке манифестације и лечење тромбофилије .....	1
1.2. Етиологија тромбофилије: наслеђени и стечени фактори.....	2
1.3. Тромбофилија у вези са трудноћом .....	3
1.4. Стање хиперкоагулабилности у нормалној трудноћи .....	4
1.5. Биохемијски маркери промене хемостазе и механизма коагулације у трудноћи ...	5
1.6. Тромбофилија у трудноћи .....	6
1.7. Оксидативни стрес – патофизиолошка разматрања.....	7
1.8. Специфичности промена редокс статуса које се односе на пол .....	8
1.9. Оксидативни стрес код различитих компликација у трудноћи .....	8
1.9.1. Трудноћа и оксидативни стрес .....	8
1.9.2. Оксидативни стрес и процес коагулације.....	9
1.9.3. Оксидативни стрес у контексту тромбофилије.....	10
1.9.4. Ендотелна дисфункција и измењена доступност NO.....	11
1.9.5. Активација тромбоцита.....	12
1.9.6. Инфламација.....	13
1.9.7. Смањена антикоагулантна својства .....	14
1.9.8. Повећана експресија адхезивних молекула.....	15
1.9.9. Поремећај фибринолизе .....	15
1.9.10. Смањен капацитет антиоксидантне заштите у организму.....	16
1.10. Специфични антиоксидативни ензими и њихова веза са механизмима тромбозе .....	18
1.10.1. Каталаза.....	18
1.10.2. Супероксид дисмутаза.....	18
1.10.3. Глутатион.....	19
2. Материјал и метод.....	21
2.1. Врста студије.....	21
2.2. Популација која се истражује.....	21



2.3. Варијабле које су мерене у студији .....	21
2.4. Узорковање.....	22
2.4.1. Индекс липидне пероксидације (TBARS) .....	22
2.4.2. Концентрација нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ).....	23
2.4.3. Супероксид анјон радикал ( $\text{O}_2^-$ ).....	23
2.4.4. Водоник пероксид ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).....	23
2.4.5. Супероксид дизмутаза (SOD) .....	23
2.4.6. Каталаза (CAT).....	24
2.4.7. Редуковани глутатион (GSH).....	24
2.4.8. Концентрација проинфламаторних цитокини – интерлеукина 6 (IL-6) и фактора некрозе тумора алфа (TNF- $\alpha$ ).....	24
2.5. Снага студије и величина узорка .....	24
2.6. Статистичка обрада података .....	25
3. Резултати.....	26
3.1. Опште карактеристике испитаница и рођених беба .....	26
3.1.1. Просечна старост испитаница .....	26
3.1.2. Паритет испитаница.....	26
3.1.3. Просечна тежина рођених беба .....	27
3.1.4. Просечна дужина рођених беба.....	27
3.1.5. Пол рођених беба .....	27
3.1.6. Број претходних спонтаних побачаја код испитаница.....	28
3.1.7. Процентуална заступљеност конзумирања цигарета међу испитаницама.....	28
3.1.8. Процентуална заступљеност употребе утроегестана међу испитаницама.....	29
3.2. Карактеристике трудница са тромбофилијом.....	29
3.2.1. Тип тромбофилије.....	29
3.2.2. Терапија трудница са тромбофилијом .....	30
3.3. Вредности параметара оксидационог стреса у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије.....	31
3.3.1. Концентрација супероксид анјон радикала ( $\text{O}_2^-$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије .....	31
3.3.2. Концентрација нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије.....	32
3.3.3. Концентрација водоник пероксида ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије .....	33
3.3.4. Индекс липидне пероксидације изражен као TBARS у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије .....	34

3.3.5. Активност супероксид дисмутазе (SOD) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије .....	35
3.3.6. Активност каталазе (CAT) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије.....	36
3.3.7. Концентрација редукованог глутатиона (GSH) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије .....	37
3.4. Вредности параметара оксидационог стреса у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије.....	38
3.4.1. Концентрација интерлеукина-6 (IL-6) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије.....	38
3.4.2. Концентрација фактора некрозе тумора (TNF- $\alpha$ ) алфа у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије .....	39
4. Дискусија.....	40
4.1. Повезаност тромбофилије у трудноћи и параметара оксидационог стреса.....	44
4.2. Повезаност тромбофилије у трудноћи и цитокина (IL-6 и TNF- $\alpha$ ) .....	47
5. Закључци .....	50
Референце.....	52

## Листа слика

---

Слика 1. Главни патофизиолошки механизми између тромбофилије и оксидативног стреса.....	<b>1Error! Bookmark not defined.</b>
Слика 2. Концентрација супероксид анјон радикала ( $O_2^-$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.....	31
Слика 3. Концентрација нитрита ( $NO_2^-$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.....	32
Слика 4. Концентрација водоник пероксида ( $H_2O_2$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.....	33
Слика 5. Индекс липидне пероксидације изражен као TBARS у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.....	34
Слика 6. Активност супероксид дисмутазе (SOD) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.....	35
Слика 7. Активност каталазе (CAT) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.....	36
Слика 8. Концентрација редукованог глутатиона (GSH) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.....	37
Слика 9. Концентрација интерлеукина-6 у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.....	38
Слика 10. Концентрација фактора некрозе тумора алфа ( $TNF-\alpha$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.....	39

## Листа табела

---

Табела 1. Просечна старост испитаница које су биле укључене у истраживање .....	26
Табела 2. Паритет испитаница које су биле укључене у истраживање .....	26
Табела 3. Просечна тежина рођених беба трудница без тромбофилије и трудница са тромбофилијом .....	27
Табела 4. Просечна тежина рођених беба трудница без тромбофилије и трудница са тромбофилијом .....	27
Табела 5. Процентуална заступљеност полова међу рођеним бебама трудница без тромбофилије и трудница са тромбофилијом .....	28
Табела 6. Број претходних спонтаних побачаја код трудница без тромбофилије и трудница са тромбофилијом.....	28
Табела 7. Процентуална заступљеност конзумирања цигарета међу трудницама без тромбофилије и трудницама са тромбофилијом .....	29
Табела 8. Процентуална заступљеност употребе утроегестана међу трудницама без тромбофилије и трудницама са тромбофилијом .....	29
Табела 9. Тип тромбофилије код трудница .....	30
Табела 10. Врста терапије нискомолекулским хепаринима међу трудницама са тромбофилијом .....	30
Табела 11. Концентрација O <sub>2</sub> - у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.....	31
Табела 12. Концентрација NO <sub>2</sub> - у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.....	32
Табела 13. Концентрација H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.....	33
Табела 14. Концентрација TBARS у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.....	34
Табела 15. Активност SOD у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.....	35
Табела 16. Активност CAT у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.....	36
Табела 17. Концентрација GSH у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.....	37
Табела 18. Концентрација IL-6 у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.....	38
Табела 19. Концентрација TNF- $\alpha$ у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.....	39

# 1. Увод

Тромбофилија је медицинско стање које карактерише повећана склоност стварању крвних угрушака који могу довести до настанка тромбозе. Различити генетски и стечени фактори могу утицати на механизме згрушавања крви. Током развоја трудноће постоји стање повећане склоности ка згрушавању крви, хиперкоагулабилности, које се сматра физиолошким. Међутим, тромбофилија у трудноћи представља оптерећујуће патофизиолошко стање које озбиљно утиче на исход трудноће. Жене са тромбофилијом имају већи ризик од развоја крвних угрушака, што може довести до дубоке венске тромбозе или плућне емболије. Тромбофилија може бити наследна (генетска) или стечена и веома је важно идентификовати и третирати ово стање пре и током трудноће како би се смањило ризик од компликација. У новијој литератури описана је комплексна повезаност између тромбофилије и оксидативног стреса (1, 2, 3, 4), што свакако представља изазов када је реч о истраживању етиопатогенетских чинилаца који доприносе развоју и одржавању овог стања, као и потцијалном развоју нових терапијских приступа.

## 1.1. Тромбофилија – дефиниција, епидемиологија, актуелна патофизиолошка разматрања, клиничке манифестације и лечење тромбофилије

Тромбофилија обухвата спектар поремећаја које карактерише повећана склоност крви да формира угрушке (5). Поремећај у коагулационом или фибринолитичком систему изазива хиперкоагулабилно стање, значајно повећавајући вероватноћу тромбозе. Ова могућност се може манифестовати као интраваскуларно формирање тромба у артеријском или венском систему. Тромбофилија је уско повезана са ризиком од развоја дубоке венске тромбозе и/или венске тромбоемболије (6).

Склоност развоју таквог крвног угрушка може бити наследна или стечена. Преваленција венске тромбозе износи мање од 1 случаја на 1000 особа, са чак нижом инциденцом од приближно 1 на 100.000 међу децом. Међутим, са старењем, учесталост ових појава значајно се повећава (7).

Садашње разумевање тромбофилије укључује вишеструко разматрање њене патофизиологије, клиничких манифестација и стратегија лечења. Тромбофилија означава предиспозицију за прекомерно стварање крвних угрушака, као резултат низа генетских или стечених фактора. Ови фактори ремете деликатну равнотежу коагулационог система у телу, што доводи до повећаног ризика од тромбозе, као што су дубока венска тромбоза или плућна емболија. Постоји све већа забринутост научне заједнице у вези са тромбофилијом у трудноћи јер је повезана са повећаним ризиком не само од венске тромбоемболије, већ и других компликација, укључујући тешку

пreekлампсију/еклампсију, абрупцију плаценте, хемолизу, повишене нивое ензима јетре и низак ниво тромбоцита (HELLP синдром), интраутерини застој у расту плода и поновљени побачаји (8, 9).

Клинички, тромбофилија се може манифестовати на различите начине, у распону од асимптоматских особа које случајно открију своје стање до оних са рекурентним и тешким тромботичким догађајима (10). Компликације везане за трудноћу и повећан ризик од венске тромбоемболије представљају значајну забринутост за оболеле особе. Штавише, интеракција између тромбофилије и оксидативног стреса привукла је пажњу у недавним истраживањима, наглашавајући потенцијалне путеве за терапијске интервенције (11, 12).

Стратегије лечења тромбофилије укључују прилагођени приступ заснован на индивидуалним факторима ризика, историји болести и присуству било каквих истовремених стања. Антикоагулантне терапије, краткорочне и дугорочне, играју централну улогу у лечењу и контроли тромботичних догађаја и спречавању њиховог поновног појављивања. Поред тога, модификације начина живота и генетско саветовање могу се препоручити да би се умањили ризици повезани са овим стањем (13, 14, 15).

## 1.2. Етиологија тромбофилије: наслеђени и стечени фактори

Тромбофилија може бити наследна или стечена. Фактор V Leiden, мутација гена протромбина, недостатак протеина C или S и недостатак антитромбина III (AT III) су примери добро утврђених генетских фактора повезаних са тромбофилијом, док су неуобичајени генетски дефекти као што су хиперхомоцистеинемиа и дисфибриногенемиа нешто ређи узрок тромбофилије. Повишене активности фактора VIII, IX и XI такође могу бити повезане са овим стањем. Иако клиничка манифестација наследне тромбофилије варира, тромбоза се некада може јавити на ретким локацијама као што су спланхничке вене, церебралне вене и вене ретине. Иако могу боловати од тромбофилије, неки пацијенти никада не добију тромбозу, неки можда неће показивати симптоме док не постану одрасли, а неки развију рекурентну тромбоемболију чак и пре 30. године (5, 16). Што се тиче генетских мутација, постоји много случајева тромбофилије повезаних са наследним мутацијама у генима као што су фактор V Leiden и протромбин G20210A (17). Ове мутације могу изазвати прекомерну активност система коагулације. Фактор V Leiden је најчешћи наследни облик тромбофилије. Ово стање укључује мутацију гена одговорног за производњу фактора V, протеина који игра улогу у процесу згрушавања крви. Мутација доводи до прекомерно активног облика фактора V, доводећи до повећања склоности ка згрушавању крви. Протромбин G20210A мутација је још један уобичајени наследни облик тромбофилије. Укључује мутацију гена за протромбин, што доводи до повишених нивоа протромбина, који је фактор коагулације. Ово повећава ризик од прекомерног стварања крвних угрушака. С друге стране, недостаци антикоагулантног протеина могу бити одговорни за појаву тромбофилије, када постоји недостатак природних антикоагулантних протеина попут протеина C, протеина S или антитромбина. Ови антикоагулантни протеини играју улогу у регулацији процеса коагулације, док њихов недостатак може довести до прекомерног стварања крвних угрушака.

Антифосфолипидни синдром је аутоимуно стање у коме тело производи антитела која циљају одређене компоненте ћелијских мембрана. Ово може довести до повећаног ризика од крвних угрушака због ометања нормалног процеса згрушавања. Штавише, стања попут различитих карцинома, хормонске неравнотеже или аутоimunих поремећаја могу створити стање хиперкоагулабилности, чинећи крв склонијом стварању угрушака. Према Вирховљевој тријади, када се унутрашњи зид крвних судова, ендотел, оштети или не функционише због фактора попут упале, то може изазвати абнормално формирање угрушака. Развој крвних угрушака може бити присутан када је нормалан проток крви поремећен, у смислу застоја или турбуленције. Што се тиче стечене тромбофилије, неки фактори као што су продужена имобилизација, операција, различити лекови (хормонска терапија) и пушење могу да играју главну улогу. Трауме, операције, трудноћа и употреба одређених лекова, као што су орални контрацептиви, лупус антикоагуланс и антикардиолипидна антитела, су стечени узроци тромбофилије (18, 19).

### 1.3. Тромбофилија у вези са трудноћом

Као што је горе поменуто, тромбофилија повезана са трудноћом представља озбиљан ризик за исход трудноће. Сама трудноћа је стање са повећаном коагулабилношћу, што је физиолошки регулисано, у смислу спречавања прекомерног крварења током порођаја. Неке жене могу имати поремећаје који доводе до повећаног ризика од развоја крвних угрушака током трудноће. Разумевање поменутих основних механизма је кључно за дијагностиковање и лечење тромбофилије (20). Лечење тромбофилије обично укључује комбинацију антикоагуланса, модификације животног стила, а понекад и хируршке интервенције у тешким случајевима. У многим случајевима, женама са тромбофилијом које су трудне или планирају да затрудне могу се преписати антикоагулантни лекови. Ови лекови помажу у спречавању стварања крвних угрушака. Тип и доза антикоагуланса се одређује специфичном врстом тромбофилије и другим појединачним факторима (21). Труднице са тромбофилијом захтевају пажљиво праћење укључујући редовне ултразвучне прегледе за процену раста фетуса, као и процену фактора згрушавања крви мајке. Тип тромбофилије, лична и породична анамнеза о постојању тромбоза узимају се у обзир приликом одређивања најбољег начина лечења. У неким случајевима, важно је откривање и лечење тромбофилије и пре планирања зачећа. Лечење тромбофилије у трудноћи често захтева тимски приступ, који укључује акушере, хематологе и друге здравствене раднике са искуством у трудноћама високог ризика. За труднице са тромбофилијом је кључно да се развије персонализовани план лечења, који укључује њихове специфичне потребе и своди на минимум ризике за мајку и бебу. Рано откривање, редовно праћење и благовремена интервенција могу значајно побољшати исходе за мајку и бебу (22).

## 1.4. Стање хиперкоагулабилности у нормалној трудноћи

Крварење, као и тромбоемболијски проблеми чешће се јављају током трудноће. Организам доживљава значајне хемодинамске и хемостатске промене које потенцирају настанак прокоагулантног стања током трудноће. Утврђено је да труднице имају различите концентрације фактора коагулације и фибринолизе од жена које нису трудне, а трудноћа је повезана са повећаном инциденцом тромбоемболијских догађаја. Доказано је да трудноћа изазива „хиперкоагулабилно стање“, које, у одсуству повећања фибринолитичке активности, може повећати ризик од тромбозе и утицати на порођај (23). Тело прелази у стање хиперкоагулације као одговор на повећан ризик од крварења током трудноће, посебно током порођаја и раног пуерперијума. Нивои прокоагулантних фактора у плазми као што су фактори коагулације VII, VIII, IX, фибриноген и Von Willebrand фактор су повећани, а антикоагулантна активност се смањује са резултујућим физиолошким недостатком инхибитора (смањени нивои протеина S и стечена резистенција на активирани протеин S). Током трудноће и порођаја, природна појава хиперкоагулабилности, венске стазе и васкуларног оштећења је у складу са Вирховљевој класичној тријади за настанак венске тромбоемболије (24). Повећан ризик од тромбозе првенствено произилази из неравнотеже између тромбосана B2 и простаглицина (25), заједно са нижим нивоима протеина S. Штавише, хипотеза поставља да смањена активност протеина S (25) током пуерперијума може допринети овом повећању ризика. Док су се различите студије бавиле специфичним критеријумима, неке су се концентрисале само на трећи триместар. Овакав разнолик фокус наглашава вишеструку природу овог феномена.

Штавише, смањење активности ткивног активатора плазминогена и пораст инхибитора активатора плазминогена заједно смањују ефикасност фибринолитичког система (27). Хемодинамске промене, укључујући вазодилаторне ефекте изазване прогестероном, механички притисак увећане гравидне материце на доњу шупљу вену и илијачне вене, као и фактори везани за порођај, синергистички повећавају осетљивост за настанак венске тромбоемболије. Ова сложена интеракција физиолошких промена наглашава сложеност тромботичког ризика током трудноће и порођаја (28). Промене у функцији тромбоцита, сложена каскада коагулације крви и фибринолитички процес су критичне физиолошке промене које се дешавају током трудноће. Ове динамичке промене, заједно са варијацијама у биохемијским маркерима који указују на активност тромбоцита, коагулације и фибринолитичке активности, колективно оркестрирају деликатну равнотежу унутар хемостатског система, као што је горе поменуто.

Ова сложена интеракција је кључна у осигуравању неометаног напредовања трудноће. Међутим, када ови физиолошки механизми значајно одступају од норме, они потенцијално могу довести до тешких компликација, које имају дубок утицај на исход трудноће. Стога је свеобухватно разумевање ових динамичких трансформација и њихових потенцијалних импликација императив за ефикасну пренаталну негу и оптимизацију добробити мајке и фетуса.



## 1.5. Биохемијски маркери промене хемостазе и механизма коагулације у трудноћи

Биохемијски маркери измењених механизма хемостазе и коагулације у трудноћи представљају динамично и замршено поље проучавања. Ови маркери обухватају низ молекуларних индикатора који служе као прозори у сложену интеракцију између система коагулације и физиолошких промена повезаних са трудноћом. Д-димер, производ разградње фибрина, је широко проучаван маркер, чији повишени нивои могу указивати на повећану фибринолизу и повезани су са стањима као што су прееклампсија, гестацијска хипертензија и венска тромбоемболија. Фибриноген, као кључни фактор коагулације, игра централну улогу у формирању крвних угрушака. Повишени нивои фибриногена током трудноће сматрају се нормалним, што одражава повећане захтеве система коагулације (29). Број тромбоцита, поред проучавања функције тромбоцита, суштински је индикатор хемостатског процеса. Абнормалности у броју или функцији тромбоцита могу довести до стања попут гестацијске тромбоцитопеније или прееклампсије. Број тромбоцита показује константан пад током трудноће код свих субјеката, почевши од првог тромесечја. Када број тромбоцита код жене падне испод 100.000 по кубном милиметру, неопходно је истражити потенцијалне узроке изван трудноће или сродних компликација (30). Повећана потрошња тромбоцита у утеро-плацентарној јединици доводи до бенигне гестацијске тромбоцитопеније са смањењем броја тромбоцита, повремено  $< 150 \times 10^9/l$ , али прелази  $80 \times 10^9/l$ , посебно током трећег триместра (31).

Протеини S и C играју кључну улогу у регулисању процеса коагулације. Смањење нивоа ових антикоагулантних протеина може довести до хиперкоагулабилног стања, потенцијално повећавајући ризик за настанак тромбозе. Активирана резистенција на протеин S, која се често процењује путем мутације Фактора V Leiden, повезана је са повећаним ризиком од венске тромбоемболије. Антитромбин је природни инхибитор стварања крвних угрушака. Смањени нивои активности могу довести до стања хиперкоагулације. Антитромбин остаје стабилан, а нивои протеина C су или непромењени или мало виши током типичне трудноће. Нивои инхибитора протеина C опадају, нивои слободног протеина C нагло опадају, а нивои укупног протеина C опадају током трудноће, али у мањој мери (32). Могуће је открити низак ниво протеина C до најмање 8 недеља након порођаја. Током типичне трудноће, инхибитор пута ткивног фактора се значајно повећава док хепарин кофактор II остаје углавном непромењен. Активација протеина C тромбином је узрокована тромбомодулином, а концентрација солубилног тромбомодулина расте током типичне трудноће. Прецена овог маркера пружа вредан увид у профил ризика од тромбозе током трудноће. Тестови стварања тромбина мере потенцијал за формирање тромбина, пружајући свеобухватан поглед на процес коагулације. Фибринолитички систем се активира да побољша или обнови циркулацију у блокираним судовима, што смањује производњу фибрина. Током типичне трудноће долази до повећања неактивног проензима плазминогена због смањене потрошње и повећане синтезе. Нивои активатора плазминогена ткивног типа у плазми расту током трудноће (33). Током типичне трудноће, активатор плазминогена, урокиназа, је такође повишен. Повишени нивои инхибитора активатора плазминогена (PAI-1), инхибитора фибринолизе, повезани су са стањима као што су прееклампсија и гестацијски дијабетес. Праћење нивоа фактора коагулације (II, VII, IX, X) даје важне информације о интегритету каскаде коагулације. Концентрација фактора коагулације

крви варира током трудноће, у виду њиховог повећања или смањења. Због хормоналних промена, посебно повећаног нивоа естрогена како трудноћа напредује, фактори коагулације крви XIII, XII, X, VIII, Von Willebrand фактор, кофактор ристоцетина, фактор VIII и фибриноген значајно повећавају своју концентрацију у крви током нормалне трудноће (34, 35). Ове промене су најизраженије у трећем триместру трудноће. Повишени нивои Von Willebrand фактора, кључног играча у адхезији тромбоцита, повезани су са стањима попут прееклампсије и могу допринети ризику од тромбозе. Формирање фибрина се дешава лакше током трудноће, било да је без компликација или компликована, у односу на стања без трудноће. Стања као што су трудноћа и употреба оралних контрацептива, као и код пацијената са активираним резистенцијом на протеин S могу се јавити повећани или непромењени капацитети за производњу тромбина (36). АПТТ је обично нормалан током трудноће, али има тенденцију благог смањења у касној трудноћи и ПТ је значајно скраћено; ИНР је обично  $< 0.9$  током трећег триместра. Времена крварења, мерена шаблонским методама, остају непромењена током нормалне трудноће (37).

## 1.6. Тромбофилија у трудноћи

Утеро-плацентарна јединица захтева сложену координацију за преживљавање фетуса у развоју. Ова јединствена мрежа захтева успостављање специјализоване циркулације током трудноће, омогућавајући виталну размену хранљивих материја, кисеоника и угљен-диоксида између циркулације мајке и фетуса. Ова фино подешена граница је најважнија за одржавање здравља мајке и фетуса. Међутим, успостављање ове деликатне утеро-плаценталне циркулације може бити компромитовано различитим чиниоцима. Склоност ка крварењу и настанку тромбозе прети да поремети ову критичну функцију. Дакле, безброј физиолошких система се заједно ангажује како би заштитили овај витални процес.

У контексту трудноће, тромбофилија представља важан патофизиолошки аспект. Ово стање означава повећану склоност абнормалном формирању крвних угрушака код труднице, угрожавајући добробит и мајке, али и фетуса у развоју. Важно је напоменути да трудноћа, сама по себи, изазива стање хиперкоагулабилности, повећавајући предиспозицију за згрушавање крви. У комбинацији са тромбофилијом, овај ризик се додатно повећава (38). Последице таквог сценарија могу бити опасне по мајку и бебу. Труднице са тромбофилијом суочавају се са повећаним ризицима, који потенцијално кулминирају драматичним последицама. Могу се појавити стања као што су дубока венска тромбоза, плућна тромбоемболија, па чак и мождани удар, што захтева хитну медицинску интервенцију. Поред тога, присуство крвних угрушака може ометати проток крви у плаценту, изазивајући потенцијалне компликације за фетус.

Тромботски догађаји дијагностиковани током трудноће и постнаталног периода могу се приписати и наследној и стеченој тромбофилији. Период око рођења и постнатална фаза могу довести до проблема са хемостатом, што представља значајне компликације у погледу морбидитета и морталитета и мајке и фетуса (39). С обзиром да су трудноћа и постнатални период широко препознати као фактори ризика за тромбозу,

установљено је да око 50% трудница може доживети венску тромбоемболију. Ризик од венске тромбоемболије погађа отприлике 1 од 1600 порођаја (40).

Оваква ситуација може довести до озбиљних исхода, укључујући интраутерино застој у расту плода, мртворођење или превремени порођај, а све то има дубок утицај на укупан исход трудноће. Ови изазови наглашавају критичну важност медицинске неге фетуса и мајке, где праћење и правовремена интервенција играју кључну улогу у очувању здравља и благостања и мајке и фетуса у развоју.

## 1.7. Оксидативни стрес – патофизиолошка разматрања

Оксидативни стрес је фундаментална ћелијска неравнотежа коју карактерише вишак реактивних кисеоничних радикала (РОС) и недостатак антиоксиданата, што доводи до потенцијалног оштећења ћелијских компоненти. РОС, укључујући слободне радикале и нерадикалне деривате кисеоника, производе се као природни нуспроизводи ћелијског метаболизма. Они играју кључну улогу у сигнализацији и физиолошким процесима. Међутим, када нивои РОС превазиђу капацитет антиоксидативних одбрамбених система, долази до оксидативног стреса, који потенцијално доводи до ћелијске дисфункције, оштећења ткива и иницијације или погоршања различитих патолошких стања (41).

Патофизиологија оксидативног стреса обухвата сложену интеракцију ћелијских и молекуларних догађаја. РОС, генерисани у митохондријима, пероксизомима, и кроз ензимске процесе, ступају у интеракцију са биомолекулима као што су липиди, протеини и нуклеинске киселине. Пероксидација липида, истакнута последица оксидативног стреса, доводи до стварања реактивних алдехида и других токсичних метаболита, што даље продужава ћелијско оштећење (42).

Протеини, посебно ензими и структурни протеини, могу бити подвргнути оксидативној модификацији, нарушавајући њихову функционалност и ометајући виталне ћелијске процесе. Поред тога, оксидативни стрес индукује оштећење ДНК, укључујући модификације базе, једно- и дволанчане прекиде и умрежавање ДНК-протеина, што потенцијално доводи до мутагенезе и геномске нестабилности (43, 44).

Антиоксидативни одбрамбени механизми, укључујући ензимске (нпр. супероксид дисмутаза, каталаза, глутатион пероксидаза) и неензимске (нпр. глутатион, витамини С и Е) системе, делују на противтежу производњи РОС и ублажавају оксидативна оштећења. Међутим, поремећаји у овим одбрамбеним механизмима, заједно са повећаном генерисањем РОС, могу преплавити ћелијски антиоксидативни капацитет (45).

## 1.8. Специфичности промена редокс статуса које се односе на пол

Све више се препознају полно специфични диспаритети у одговорима на оксидативни стрес и подложност оксидативном оштећењу (46). Биолошке разлике у хормонским профилима, ензимским активностима и ћелијским сигналним путевима доприносе родним варијацијама у патологијама оксидативног стреса.

Код жена, хормонске флукуације, посебно оне повезане са менструацијом, трудноћом и менопаузом, модулирају реакције на оксидативни стрес. Естроген, на пример, испољава антиоксидативна својства и утиче на експресију антиоксидативних ензима, обезбеђујући одређени степен заштите од оксидативног оштећења. Супротно томе, хормонске промене током менопаузе могу допринети повећању осетљивости на стања повезана са оксидативним стресом (47, 48).

Код мушкараца, фактори као што су виши базални метаболизам, повећана мишићна маса и разлике у хормонским профилима утичу на осетљивост на оксидативни стрес. Тестостерон је, на пример, укључен у про- и антиоксидативне ефекте, са својим утицајем на путеве одговора на оксидативни стрес који показује исходе зависне од контекста (49, 50).

Специфичне родно повезане патологије оксидативног стреса обухватају стања као што су кардиоваскуларне болести, неуродегенеративни поремећаји и одређене врсте карцинома. Разумевање сложене интеракције између фактора везаних за пол и одговора на оксидативни стрес је кључно за развој циљаних терапијских стратегија и оптимизацију здравствених интервенција прилагођених и мушкарцима и женама.

## 1.9. Оксидативни стрес код различитих компликација у трудноћи

### 1.9.1. Трудноћа и оксидативни стрес

Трудноћа је физиолошко стање које укључује значајне промене у телу жене како би се подржао раст и развој фетуса. Ове промене могу довести до повећања оксидативног стреса, што је неравнотежа између производње РОС и способности тела да их неутралише антиоксидансима. Трудноћа и оксидативни стрес су повезани на више нивоа, а овде се говори о овом интересантном односу у физиолошким и патофизиолошким стањима.

Током трудноће долази до повећања стопе метаболизма како би се задовољиле потребе фетуса који расте. Ово стање повећане метаболичке активности може довести до веће производње РОС као производа нормалног ћелијског метаболизма (51). Поред тога, хормонске промене, посебно повећање нивоа естрогена, могу допринети оксидативном стресу. Показало се да естроген утиче на производњу РОС и антиоксидативну одбрану. Поред тога, плацента, која је кључна за размену хранљивих материја и кисеоника између мајке и фетуса, је место повећаног оксидативног стреса. То је због високе метаболичке активности и изложености кисеонику у овом ткиву. Трудноћа

је повезана са контролисаним инфламаторним одговорима, посебно током процеса као што су имплантација и порођај. Упала је повезана са оксидативним стресом и такође може довести до повећане производње РОС. Трудноћа доводи до повећања запремине крви као и и минутног волумена срца за снабдевање фетуса у развоју. Ово може створити услове који промовишу оксидативни стрес, посебно у систему циркулације. Да би се супротставио оксидативном стресу, тело има природне антиоксидативне одбрамбене механизме. Међутим, током трудноће, потражња за антиоксидансима може да се повећа, што потенцијално доводи до стања релативног недостатка (52, 53).

Прекомерни оксидативни стрес током трудноће повезан је са различитим компликацијама, укључујући прееклампсију, гестацијски дијабетес, превремени порођај и интраутерино ограничење раста. Сматра се да су ова стања, барем делимично, повезана са оксидативним оштећењем ткива. Док је одређени ниво оксидативног стреса неопходан за нормалан развој фетуса и процесе сигнализације, прекомерни оксидативни стрес може бити штетан по здравље фетуса (54). Уравнотежена исхрана богата антиоксидансима (као што су витамини С и Е, и друге фитохемикалије) може помоћи у ублажавању оксидативног стреса током трудноће (55, 56). Важно је напоменути да иако оксидативни стрес може имати негативне ефекте, он такође игра битну улогу у нормалним физиолошким процесима. Успостављање равнотеже између стварања РОС и антиоксидативне заштите је кључно. Током трудноће је важно одржавати оксидативни и антиоксидативни баланс током како би се избегле потенцијалне компликације у вези са овим стањем.

### 1.9.2. Оксидативни стрес и процес коагулације

Оксидативни стрес је неравнотежа између производње слободних радикала (РОС) и антиоксидативне одбране у организму. Истраживања показују да слободни радикали играју важну улогу и у физиолошким стањима (која се односе на нормалне телесне функције) и у патолошким стањима (узрокованим или повезаним са болешћу). Ниске или умерене концентрације РОС имају позитивне ефекте на здравље и укључени су у имунолошку функцију и одбрану од патогених микроорганизама. Међутим, веће количине могу изазвати оксидативни стрес и потенцијално оштећење. Високи нивои РОС, такође, имају кључну улогу у активацији тромбоцита и укључени су у настанак неких обољења као што су рак и кардиоваскуларне болести. Недавна истраживања су открила да је оксидативни стрес, који је повезан са функцијом тромбоцита и ендотелних ћелија, уско повезан са тромбозом која доводи до možданог удара (57). Оксидативни стрес не само да промовише примарно формирање тромба уништавањем ендотелних ћелија и тромбоцита, већ додатно утиче на сазревање тромба. Како тело стари, повећава се ризик од тромбозе, а истраживања су показала да је старење повезано и са неравнотежом формирања РОС и антиоксидативног статуса. Прекомерна производња РОС како старимо може изазвати различите физиолошке промене које су укључене у све процесе повезане са развојем тромбозе (58). Поред старења, други унутрашњи или ендогени узроци производње слободних радикала укључују инфламацију, исхемију, инфекцију, рак, прекомерно вежбање и ментални стрес. Егзогени (спољни) фактори ризика укључују пушење цигарета, кување (димљено месо, коришћено уље и маст), одређене лекове, тешке метале и загађиваче животне средине (59). Због повишених нивоа

РОС у крвотоку, стање прокоагулације може бити додатно олакшано оксидативном модификацијом протеина повезаних са коагулацијом. Међу механизмима које користи РОС, значајни примери укључују њихову директну инактивацију кључних антикоагулансних протеина попут протеина С и његовог прекурсора тромбомодулина (60). Поред тога, РОС игра и протромботичку улогу оксидацијом фибриногена, убрзавајући његову конверзију у фибрин (61). Такође, они ометају везивање тромбина са антикоагулансима, посебно комплексом антитромбин III–хепарин и тромбомодулином (62). Штавише, РОС смањују способност антитромбина да се веже за хепарин (62). РОС директно функционише као хемотактички агенс за неутрофиле (63).

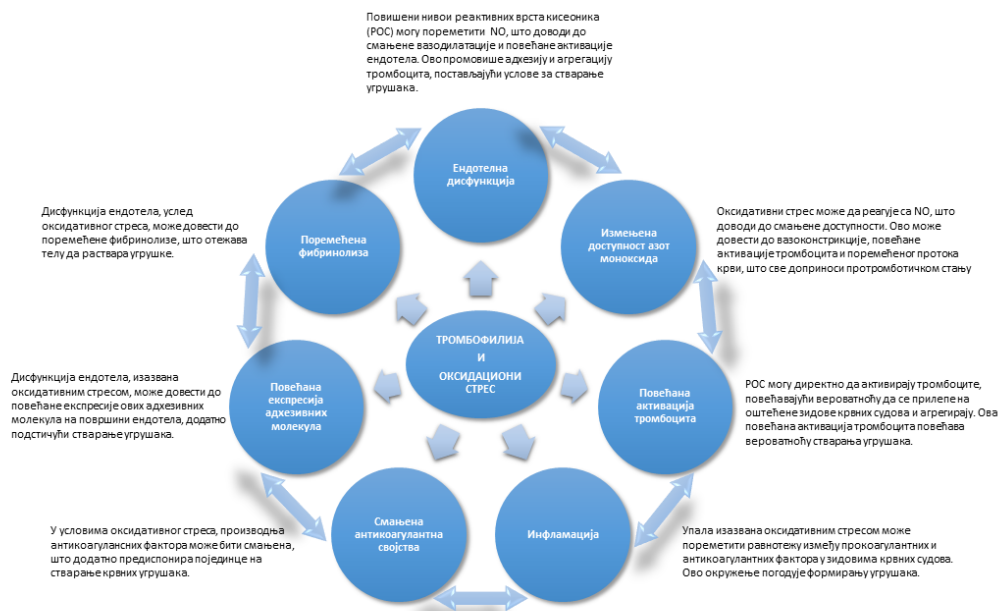
Укратко, оксидативни стрес нарушава механичка својства и деформабилност црвених крвних зрнаца, чиме утиче на реологију крви и циркулацију. Ово, заједно са компромитованом фагоцитозом еритроцита која излаже фосфатидилсерин, хемолизом и генетским варијацијама, може подстаћи протромботичке догађаје у венама (64). Познато је да еритроцити који показују смањену деформабилност и повећану агрегабилност имају протромботичку тенденцију (65). Сходно томе, ово посебно предиспонира старије одрасле особе на венску тромбозу или емболију, а вероватно и на друга кардиоваскуларна стања у ширем смислу.

Оксидативни стрес је умешан у све главне процесе који леже у основи венске тромбозе. Показало се да еритроцити играју кључну улогу и у хемостази и у тромбози. Они значајно утичу на коагулацију крви не само кроз промену реологије и интеракције са различитим ћелијама, укључујући тромбоците, ендотелне ћелије, леукоците и факторе коагулације, већ и кроз стварање микропартикула добијених из црвених крвних зрнаца и њихову комуникацију са системом комплемента (66). Оксидативни стрес унутар еритроцита значајно појачава њихов про-коагулантни потенцијал на различите начине. РОС модификују механичка својства еритроцита, повећавајући њихову ригидност и интеракцију са другим ћелијама и факторима коагулације, истовремено стимулишући стварање микропартикула и излагање фосфатидилсерину (67). Стицање свеобухватнијег разумевања прецизних механизма преко којих РОС у еритроцитима утичу на каскаду коагулације могло би да понуди потенцијалне циљеве за развој иновативних стратегија за спречавање или ублажавање ризика и појаве дубоке венске тромбозе или плућног тромбоемболизма, посебно код особа средњих и старијих година, и потенцијално код других поремећаја које карактерише прекомерни оксидативни стрес.

### 1.9.3. Оксидативни стрес у контексту тромбофилије

Формирање крвних угрушака (тромбоза) и оксидативни стрес су међусобно повезани процеси у телу. Иако је згрушавање крви кључни механизам за спречавање прекомерног крварења након повреде, прекомерно или неодговарајуће стварање угрушака може довести до озбиљних здравствених проблема. У контексту тромбофилије, оксидативни стрес може допринети развоју крвних угрушака кроз неколико механизма. Бројни радови су доказали да повећана производња прооксиданата може бити присутна током нормалне трудноће због високих енергетских захтева многих телесних функција (53, 68, 69). Утврђена је веза између оксидативног стреса и неповољног исхода трудноће и компликација трудноће као што су прееклампсија и дијабетес (70). Подаци из литературе указују да високо оксидативно

стање мајке одговара високом оксидативном стању новорођенчета, што указује на важност заштите фетуса пре порођаја (71). Надаље, предложено је да тромбофилија током трудноће изазива хемостатски одговор и формирање микротромба, што доводи до стварања прооксиданата. Ти догађаји изазивају даљу прокоагулацију и последично даље стварање прооксиданса, што резултира многим штетним ефектима на плаценту и плацентну циркулацију (72, 73). Главни патофизиолошки механизми тромбофилије у вези са оксидативним стресом приказани су на слици 1.



Слика 1. Главни патофизиолошки механизми између тромбофилије и оксидативног стреса.

#### 1.9.4. Ендотелна дисфункција и измењена доступност NO

Оксидациони стрес може оштетити ендотел, што доводи до поремењене вазодилатације, повећања инфламације и измењеног протока крви, што све доприноси протромботичком стању (74). Посебан нагласак је стављен на смањење доступности NO узроковано повећањем РОС, као и на инфламацију и митохондријалну дисфункцију изазвану накупљањем РОС. Оксидациони стрес може довести до разградње NO и смањити његову доступност. Ово нарушава способност ендотела да одржи нормалну функцију крвних судова. Ендотелна дисфункција је стање у којем ендотел, унутрашњи слој крвних судова, не функционише исправно. Ендотелне ћелије производе NO, молекула који помаже у опуштању и ширењу крвних судова, промовишући нормалан проток крви. Код ендотелне дисфункције долази до смањене производње NO. То може довести до вазоконстрикције (сужавања крвних судова) и поремењеног протока крви, што може допринети стварању крвних угрушак. То може довести до различитих кардиоваскуларних проблема, укључујући повећан ризик од стварања крвних угрушак, што је посебно важно у контексту тромбофилије. NO има неколико важних улога у

функцији ендотела: помаже у спречавању адхезије и агрегације тромбоцита, инхибира пролиферацију ћелија глатких мишића и смањује упалу у зидовима крвних судова. Важни антиоксидативни ензими кључни за неутрализацију реактивних врста кисеоника, који имају потенцијал да деактивирају NO, обухватају супероксид дисмутазу, глутатион пероксидазу, каталазу и глукоза-6-фосфат дехидрогеназу. Недостатак ових ензима повећава оксидативни стрес и деактивацију NO. Сходно томе, такви недостаци могу допринети ендотелној дисфункцији или бити основни узрок ендотелне дисфункције повезане са специфичним фактором ризика од атеротромбозе (75). Ендотелна дисфункција је често повезана са повећаном упалом и оксидативним стресом у зидовима крвних судова. Ово окружење може пореметити равнотежу између про-коагулантних и антикоагулантних фактора, фаворизујући стварање угрушака. Постоји значајна интеракција између система инфламације и коагулације. У овом динамичном односу, инфламација, која се често назива "тихи убица", покреће активацију коагулације, иницирајући тромбозу. Насупрот томе, тромбоза значајно појачава инфламацију. Ова интеракција се манифестује у процесима као што су активација тромбоцита, формирање фибрина и функционисање природних антикоагулантних путева (76). Здраве ендотелне ћелије производе факторе који инхибирају згрушавање крви, као што су простаглицин и ткивни активатор плазминогена (tPA). Код ендотелне дисфункције, производња ових антикоагулантних фактора може бити смањена, што додатно предиспонира појединце на стварање крвних угрушака (77). Поред тога, ендотелна дисфункција може довести до повећане експресије молекула адхезије на површини ендотела. Ови молекули олакшавају везивање тромбоцита и других компоненти крви, подстицање стварања угрушака. Поред тога, дисфункција ендотела може довести до поремећене фибринолизе, што отежава телу да раствара угрушке (78). Здрав ендотел има антиагрегацијски ефекат, спречавајући да се тромбоцити држе заједно и формирају угрушке. Код ендотелне дисфункције, ова равнотежа је поремећена, што доводи до повећане активације и агрегације тромбоцита (79). Код особа са тромбофилијом, где већ постоји повећана склоност стварању крвних угрушака услед генетских или стечених фактора, ендотелна дисфункција може да погорша овај ризик. Комбинација тромбофилије и ендотелне дисфункције може довести до значајно повећаног ризика од тромбозе.

Лечење тромбофилије у присуству ендотелне дисфункције може укључивати циљане интервенције за побољшање здравља ендотела. Ово може укључивати модификације начина живота (као што су редовно вежбање и уравнотежена исхрана), лекове за решавање специфичних узрока и пажљиво праћење од стране здравствених радника. Уопштено, разумевање односа између ендотелне дисфункције и тромбофилије је кључно за развој ефикасних стратегија лечења и превенције за појединце са ризиком од стварања крвних угрушака.

### 1.9.5. Активација тромбоцита

Када се тромбоцити активирају, они стварају РОС као део свог механизма активације. Ово је нормалан део процеса згрушавања крви који помаже у јачању активације и агрегације тромбоцита. Оксидативни стрес може стимулисати тромбоците, крвне ћелије одговорне за иницирање стварања угрушака. Повишени нивои РОС могу стимулисати тромбоците чак и у одсуству непосредне повреде, што потенцијално доводи



до прекомерног згрушавања крви. Активирани тромбоцити ће се вероватније прилепити на оштећене зидове крвних судова и агрегирати, што доводи до стварања крвних угрушака. Активација тромбоцита игра кључну улогу у стварању крвних угрушака, а код особа са тромбофилијом овај процес може бити појачан (80). Код тромбофилије могу постојати генетски или стечени фактори због којих тромбоцити више реагују на сигнале активације. На пример, одређене генетске мутације као што је фактор V Leiden могу довести до повећане активације тромбоцита. Поред тога, тромбоцити се обично лепе за место повреде и лепе се заједно да формирају тромбоцитни чеп. Код тромбофилије, тромбоцити се могу лакше агрегирати, што доводи до стварања већих и стабилнијих угрушака (81). Ендотел нормално ослобађа супстанце које спречавају лепљење тромбоцита за зидове крвних судова. Међутим, код тромбофилије, ова равнотежа може бити поремећена, што доводи до повећане адхезије тромбоцита на ендотел. Штавише, повећано лучење фактора који активирају тромбоците додатно потенцира процес згрушавања крви. Код тромбофилије, тромбоцити могу лакше да ослобађају ове супстанце, што доводи до фаворизације стварања угрушака (82). Неуравнотежени про-коагулантни и антикоагулантни фактори додатно погоршавају активацију тромбоцита. Тромбофилија често укључује поремећаје у равнотежи између про-коагулантних (која подстичу згрушавање) и антикоагулантних (инхибирајућих) фактора. Ова неравнотежа може довести до протромботичког стања, где се фаворизује активација тромбоцита. Штавише, тромбоцити су у блиској интеракцији са факторима коагулације у крви, као што су фактор VIII и фактор IX. Код тромбофилије, ове интеракције могу бити измењене, што доводи до повећане тенденције за стварање угрушака (83). Тромбофилија је посебно повезана са повећаним ризиком од дубоке венске тромбозе. Активација тромбоцита је критичан корак у формирању венских угрушака. Штавише, ризик од артеријске тромбозе је такође повећан: у неким случајевима тромбофилије, може постојати и повећан ризик од артеријске тромбозе, где се у артеријама формирају угрушци. То може довести до стања попут срчаног или можданог удара (84).

Разумевање начина на који активација тромбоцита утиче на тромбофилију је кључно за третман овог стања. За појединце са тромбофилијом, здравствени радници могу прописати лекове који циљају на активацију и агрегацију тромбоцита, заједно са другим интервенцијама за смањење ризика од крвних угрушака. Поред тога, модификације начина живота, уравнотежена исхрана и физичка активност као и редовно праћење често су део свеобухватног плана лечења за особе са тромбофилијом.

### 1.9.6. Инфламација

Оксидативни стрес је уско повезан са инфламацијом. Инфламаторни процеси могу пореметити деликатну равнотежу између про-коагулантних и антикоагулантних фактора у крви, фаворизујући стварање угрушака. Инфламација је уско повезана са тромбофилијом и може значајно утицати на ризик од стварања крвних угрушака. Инфламација може изазвати активацију ендотелних ћелија које облажу крвне судове. Када се активирају, ове ћелије могу да ослободе супстанце које подстичу адхезију и агрегацију тромбоцита, доприносећи стварању крвних угрушака (85). Инфламаторни процеси могу нарушити нормалну функцију ендотелних ћелија. Ово може довести до смањене производње вазодилататора као што је NO, који су важни за одржавање здравог

крвотока. Штавише, инфламацијски процес доводи до повећане експресије молекула адхезије на површини ендотелних ћелија. Ови молекули олакшавају везивање тромбоцита и белих крвних зрнаца, промовишући стварање угрушака (86). На поремећај про-коагулантног и антикоагулантног баланса могу утицати инфламаторни одговори који мењају равнотежу између про-коагулантних (која подстичу згрушавање) и антикоагулантних (инхибирајући угрушак) фактора и ка процесу стварања угрушака. Поред тога, на активацију путева коагулације може утицати инфламација, активирање система коагулације и доводећи до повећања нивоа фактора згрушавања, што све резултира промоцијом протромботичког стања (87). Инфламаторни процеси могу довести до ослобађања цитокина и других медијатора који даље подстичу стварање крвних угрушака (88). Нека стања повезана са инфламацијом, као што су аутоимуни поремећаји (нпр. системски еритематозни лупус), васкулитис и инфламаторна болест црева, такође су повезана са повећаним ризиком од тромбофилије (88). Хронична инфламација, као што се види код одређених хроничних болести, може довести до трајног стања повећаног ризика од згрушавања. Ово може допринети развоју тромбофилије. Важно је напоменути да је однос између инфламације и тромбофилије сложен и може варирати у зависности од специфичног основног узрока тромбофилије, као и од појединачних фактора.

### 1.9.7. Смањена антикоагулантна својства

Смањена антикоагулантна својства, посебно у контексту оксидативног стреса, могу значајно допринети повећаном ризику од стварања крвних угрушака. Антикоагуланси су супстанце у телу које инхибирају стварање крвних угрушака. Они су противтежа деловању прокоагулантних фактора, обезбеђујући да проток крви остане неометан и непрекидан. Здраве ендотелне ћелије које облажу крвне судове играју кључну улогу у регулисању коагулације. Они производе антикоагулантне супстанце које помажу у спречавању прекомерног згрушавања крви, као што су простациклин и ткивни активатор плазминогена (tPA). Оксидативни стрес укључује неравнотежу између производње РОС и способности тела да их неутралише. Повећање РОС може изазвати оштећење ендотелних ћелија што доводи до ендотелне дисфункције. Једна од последица поремећене функције ендотела је смањење производње антикоагулантних фактора (89, 90). Простациклин је важан антикоагулант који производе ендотелне ћелије, који инхибира агрегацију тромбоцита и подстиче вазодилатацију. Оксидативни стрес може довести до смањене доступности азотног оксида, који је неопходан за производњу простациклина. Ово може умањити антикоагулантна својства ендотела. tPA је ензим који производе ендотелне ћелије и игра кључну улогу у разградњи крвних угрушака (фибринолиза). Конвертује плазминоген у плазмин, који може да раствори фибринску мрежу угрушка. У условима ендотелне дисфункције изазване оксидативним стресом, може доћи до смањења производње tPA. Ово може ометати фибринолитички процес, што отежава растварање угрушака. РОС може директно да интерагује и инхибира активност одређених антикоагулантних фактора. Ова сметња може додатно да преокрене равнотежу ка про-коагулантном стању. Када су својства антикоагуланса угрожена због ендотелне дисфункције изазване оксидативним стресом, ризик од стварања крвних угрушака је повећан. Угрушци се могу лакше формирати и дуже трајати, повећавајући ризик од тромбозе.

Уопштено, ендотелна дисфункција изазвана оксидативним стресом може довести до смањених антикоагуланских својстава на неколико начина. Ово укључује смањену производњу фактора антикоагуланса као што су простациклин и tPA, као и смањену доступност NO. Ове промене стварају окружење које фаворизује стварање крвних угрушака, доприносећи протромботичном стању.

### 1.9.8. Повећана експресија адхезивних молекула

Адхезивни молекули су протеини на површини ендотелних ћелија који олакшавају везивање тромбоцита и других компоненти крви. Оксидативни стрес оштећује ендотелне ћелије, што доводи до њихове дисфункције. Као одговор на такво оштећење, ендотел појачава експресију молекула адхезије. Ова повећана експресија промовише адхезију тромбоцита и леукоцита, иницирајући стварање крвних угрушака. Као што је горе наведено, инфламација је повезана са оксидативним стресом и игра значајну улогу у тромбози. Инфламаторни медијатори, изазвани оксидативним стресом, стимулишу ендотел да повећа експресију молекула адхезије. Ово ствара проинфламаторно и протромботичко окружење, додатно подстичући стварање крвних угрушака (91). РОС може активирати специфичне сигналне путеве унутар ендотелних ћелија који доводе до повећане експресије молекула адхезије. Ова сигнална каскада је директна последица оксидативног стреса и доприноси дисфункцији ендотела. Оксидативни стрес, реагујући са NO, смањује његову доступност, док његово смањење доприноси дисфункцији ендотела и појачава експресију молекула адхезије, додатно подстичући стварање угрушака. Постоји потенцирајућа спрега између оксидативног стреса, инфламације, ендотелне дисфункције и експресије молекула адхезије. Оксидативни стрес изазива упалу, која погоршава ендотелну дисфункцију. Овај дисфункционални ендотел, заузврат, појачава експресију молекула адхезије, стварајући повратну петљу која одржава протромботично стање. Разумевање замршене везе између повећане експресије молекула адхезије и оксидативног стреса пружа увид у механизме који леже у основи тромбофилије.

### 1.9.9. Поремећај фибринолизе

Након што је крвни суд повређен, дешава се низ догађаја последично доводе до стварања крвног угрушка. Ово укључује претварање фибриногена у нерастворљива фибринска влакна. Фибрин формира структуру налик мрежици која хвата крвне ћелије како би створила стабилан угрушак. Фибринолиза је процес којим тело раствара ове угрушке када се повреда санира. Овај процес спречава стварање непотребних или прекомерних угрушака. Плазмин је природни ензим који игра централну улогу у фибринолизи. Плазмин делује тако што цепа фибринску мрежу, разбијајући је на мање фрагменте који се лако уклањају из циркулације.

Оксидативни стрес, који карактерише вишак РОС, може оштетити ендотелне ћелије које облажу крвне судове. tPA је ензим који производе ендотелне ћелије. Он игра

кључну улогу у фибринолизи тако што претвара плазминоген у активни плазмин. Међутим, када је ендотел нефункционалан због оксидативног стреса, може произвести мање tPA. Инхибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1) је молекул који производе ендотелне ћелије. PAI-1 инхибира активност tPA. У условима ендотелне дисфункције, може доћи до повећане производње PAI-1, што даље ограничава конверзију плазминогена у плазмин. Нормална равнотежа између tPA и PAI-1 је кључна за ефикасну фибринолизу. Оксидативни стрес може пореметити ову равнотежу, нагињући је ка смањеној активности tPA и повећаној инхибицији PAI-1. Са смањеном активношћу tPA и повећаним нивоима PAI-1, конверзија плазминогена у плазмин је отежана. То значи да је доступно мање плазмина за разбијање фибринске мреже у крвном угрушкы. Због поремећене фибринолизе, угрушци могу да трају дуже него што је потребно, повећавајући ризик од компликација повезаних са крвним угрушцима, као што су дубока венска тромбоза или плућна емболија. Ендотелна дисфункција изазвана оксидативним стресом ремети нормалан фибринолитички процес смањујући производњу и активност tPA, док повећава нивое PAI-1. Ова измењена равнотежа отежава стварање плазмина, што отежава телу да раствара крвне угрушке, што потенцијално доводи до тромбозе (92). Разумевање ових механизма је кључно за развој интервенција за ублажавање ризика повезаних са тромбофилијом. У неким случајевима тромбофилије, може доћи до промена у производњи или активности кључних компоненти укључених у фибринолизу, као што су tPA и инхибитор активатора плазминогена-1. Неки облици тромбофилије могу бити повезани са смањеном активношћу tPA, који је одговоран за претварање плазминогена у плазмин, ензим који разграђује фибринске угрушке. Ово смањење активности tPA може нарушити способност тела да ефикасно раствара крвне угрушке. Тромбофилија понекад може довести до повишених нивоа инхибитора активатора плазминогена-1, молекула који инхибира активност tPA. Високи нивои PAI-1 могу даље да ометају конверзију плазминогена у плазмин, доприносећи поремећеној фибринолизи. Тромбофилија може пореметити нормалну равнотежу између tPA и PAI-1, померајући је ка смањеној активности tPA и повећаној инхибицији PAI-1. Ова промена може ометати стварање плазмина и учинити да тело отежава растварање крвних угрушака.

#### 1.9.10. Смањен капацитет антиоксидантне заштите у организму

У условима оксидативног стреса, антиоксидативна одбрана тела може бити преоптерећена. Ово може додатно погоршати штету коју изазива РОС и допринети настанку стања склоности ка тромбози. Оштећена антиоксидативна одбрана код тромбофилије се односи на стање у којем је способност тела да неутралише штетне молекуле као РОС угрожена. Ово може допринети оксидативном стресу, стању у коме постоји неравнотежа између производње РОС и способности тела да их уклони. У контексту тромбофилије, поремећена антиоксидативна одбрана може повећати ризик од стварања крвних угрушака кроз неколико механизма. Оштећена антиоксидативна одбрана омогућава да се РОС акумулира у телу. Ови молекули могу оштетити ћелије, укључујући ендотелне ћелије које облажу крвне судове. Ово оштећење може допринети ендотелној дисфункцији, стању које промовише стварање крвних угрушака. РОС може да реагује са NO, снажним вазодилаторним агенсом за који се показало да инхибира адхезију, агрегацију тромбоцита и стимулише дезагрегацију претходно формираних агрегата тромбоцита. У условима повећаног оксидативног стреса, доступност NO може

бити смањена, што доводи до оштећења функције крвних судова и протромботичког стања (93). РОС може директно да активира тромбоците, повећавајући вероватноћу да се прилепе на оштећене крвне судове и агрегирају, што су кључни кораци у формирању крвних угрушака. Као што је горе наведено, оксидативни стрес може изазвати упалу, која је уско повезана са тромбозом. Инфламаторни процеси могу пореметити равнотежу између про-коагулантних и антикоагулантних фактора у крви; РОС може утицати на активност различитих фактора коагулације, пореметити фибринолизу и променити функцију ендотела, потенцијално промовишући окружење за згрушавање. Решавање поремећене антиоксидативне одбране код тромбофилије може укључивати стратегије за побољшање способности тела да неутралише РОС (94, 95, 96). Антиоксиданси, који неутралишу РОС, могу потенцијално модулирати активацију тромбоцита. Студије су показале да антиоксиданси могу имати заштитни ефекат против прекомерне активације тромбоцита (97). Ово може укључивати модификације животног стила (као што је исхрана богата антиоксидансима), редовно вежбање, а у неким случајевима и додатке односно суплементацију антиоксидансима. Поред тога, важно је управљати свим основним условима који доприносе смањеној антиоксидативној одбрани. Оксидативни стрес може да утиче на активност различитих фактора коагулације, потенцијално промовишући окружење за згрушавање. Док је оксидативни стрес фактор који доприноси тромбофилији, важно је напоменути да је тромбофилија сложено стање са вишеструким основним узроцима, укључујући генетске мутације и стечене факторе. Интеракција између оксидативног стреса и ових других фактора може варирати у зависности од варијација међу појединцима. Важно је напоменути да је однос између оксидативног стреса, поремећене антиоксидативне одбране,

У контексту тромбофилије, стања које карактерише повећана тенденција абнормалног стварања крвних угрушака, антиоксиданси могу имати терапеутски потенцијал. Они могу помоћи у ублажавању повећаног ризика од тромбозе повезане са тромбофилним стањима. Међутим, важно је напоменути да иако антиоксиданси обећавају у модулирању ризика за настанак тромбозе, њихова клиничка примена захтева пажљиво разматрање. Дозирање, специфични антиоксиданси и индивидуалне карактеристике пацијента утичу на њихову потенцијалну ефикасност. Лечење тромбофилије често укључује решавање и основних узрока и повезаних фактора ризика, што може укључивати стратегије за ублажавање оксидативног стреса. Ово може укључивати модификације животног стила (као што је уравнотежена исхрана богата антиоксидансима), редовно вежбање, а у неким случајевима и суплементацију антиоксидансима. Међутим, сваки посебан план лечења треба да се развије у консултацији са лекаром.

Стања повезана са високим нивоом оксидативног стреса, као што су дијабетес, хипертензија и пушење, такође су фактори ризика за настанак тромбозе. Разумевање везе између стварања крвних угрушака и оксидативног стреса је кључно у контексту различитих медицинских стања, укључујући кардиоваскуларне болести, дубоку венску тромбозу и плућну емболију. Смањење оксидативног стреса кроз модификације начина живота (као што су уравнотежена исхрана, редовна вежба и избегавање пушења) и, у неким случајевима, медицинске интервенције, могу бити важна компонента спречавања прекомерног стварања крвних угрушака.

У закључку, интеракција између антиоксидативне активности и настанка тромбозе наглашава значај оксидативног стреса у динамици коагулације. Разумевање комплексних механизма помоћу којих антиоксиданси утичу на процесе у настанку

тромба пружа обећавајући пут за развој циљаних терапијских стратегија које имају за циљ превенцију или ублажавање тромботичких догађаја. Даља истраживања у овој области имају потенцијал да унапреде наше знање о превенцији и лечењу тромбозе.

## 1.10. Специфични антиоксидативни ензими и њихова веза са механизмима тромбозе

### 1.10.1. Каталаза

Каталаза је ензим који се налази у ћелијама, посебно у пероксизомима еукариотских ћелија. Он игра кључну улогу у заштити ћелија од оштећења изазваних РОС, који су високо реактивни молекули који садрже кисеоник. Каталаза је једна од примарних одбрана тела од оксидативног стреса. Каталаза помаже у претварању штетног водоник-пероксида ( $H_2O_2$ ) у воду и кисеоник, смањујући оксидативни стрес. Овај процес помаже у спречавању акумулације водоник пероксида, што може довести до оштећења ћелија и допринети оксидативном стресу (98). Међутим, каталаза би могла да интерагује у неколико кључних механизма повезаних са тромбозом. Ендотелне ћелије које облажу крвне судове су посебно осетљиве на оксидативно оштећење. Каталаза, смањујући нивое водоник-пероксида, помаже у заштити ових ћелија од оксидативног стреса, чиме подржава здраву функцију ендотела. Док каталаза првенствено делује у ћелијама, она индиректно утиче на функцију тромбоцита. Тромбоцити могу да генеришу РОС као део њиховог процеса активације. Смањењем оксидативног стреса у околини, каталаза може помоћи у модулацији активности тромбоцита. Каталаза је део веће антиоксидативне одбрамбене мреже тела, која укључује друге ензиме као што су супероксид дисмутаза и глутатион пероксидаза. Заједно, ови ензими раде на неутрализацији РОС и ублажавању оксидативног стреса. Смањењем оксидативног стреса и заштитом ендотелних ћелија, каталаза може допринети повољнијем окружењу за проток крви и смањити ризик од абнормалног формирања угрушака. Док каталаза игра кључну улогу у ћелијској одбрани од оксидативног стреса, важно је напоменути да је однос између каталазе и тромбофилије сложен и на њега могу утицати различити фактори. Штавише, тромбофилија је комплексно стање, као што је раније наведено, а решавање оксидативног стреса је само један аспект лечења овог стања.

### 1.10.2. Супероксид дисмутаза

Супероксид дисмутаза је важан антиоксидативни ензим који игра кључну улогу у заштити ћелија од оштећења изазваних РОС. У контексту тромбофилије, која укључује повећану тенденцију стварања крвних угрушака, улога супероксид дисмутазе се односи на њену способност да ублажи оксидативни стрес. Супероксид дисмутаза је критични антиоксидативни ензим који помаже у заштити ћелија од оштећења изазваних супероксидним радикалима, врстом РОС. То постиже претварањем супероксидних

радикала у мање штетне молекуле, попут водоник-пероксида и кисеоника. Ендотелне ћелије које облажу крвне судове су посебно подложне оксидативном оштећењу. Супероксид дисмутаза помаже у заштити ових ћелија смањењем супероксидних радикала, који могу допринети ендотелној дисфункцији. Поред тога, смањењем супероксидних радикала, супероксид дисмутаза може помоћи у модулацији активности тромбоцита. Способност супероксид дисмутазе да смањи оксидативни стрес има позитиван утицај на васкуларну функцију. Очувањем функције крвних судова, супероксид дисмутаза може допринети здравијем васкуларном систему и смањити ризик од абнормалног формирања угрушака. Као каталаза, супероксид дисмутаза је део веће антиоксидативне одбрамбене мреже у организму, која укључује друге ензиме као што је глутатион пероксидаза. Заједно, ови ензими раде заједно како би неутралисали РОС и ублажили оксидативни стрес. Смањењем оксидативног стреса и заштитом ендотелних ћелија, супероксид дисмутаза може помоћи у стварању окружења које је мање погодно за прекомерно стварање угрушака. Неке студије су истраживале потенцијалне терапеутске предности егзогене супероксид дисмутазе или стратегије за повећање активности ендogene супероксид дисмутазе у условима повезаним са оксидативним стресом, укључујући кардиоваскуларне поремећаје и поремећаје као што је тромбофилија (99). Важно је напоменути да иако је супероксид дисмутаза критична компонента одбране организма од оксидативног стреса, то је само један аспект комплексне интеракције између антиоксиданата, РОС-а и тромбофилије.

### 1.10.3. Глутатион

Глутатион је кључни антиоксидативни молекул који се налази у ћелијама у целом телу. Он игра кључну улогу у заштити ћелија од оштећења изазваних РОС и другим штетним молекулима. У контексту тромбофилије, која укључује повећану тенденцију стварања крвних угрушака, улога глутатиона је повезана са његовом способношћу да ублажи оксидативни стрес. Глутатион је моћан антиоксиданс који постоји у редукованом (ГСХ) и оксидованом (ГССГ) облику. Његова примарна функција је да заштити ћелије од оштећења неутрализацијом РОС и других штетних молекула (100). Ендотелне ћелије које облажу крвне судове су посебно осетљиве на оксидативно оштећење. Глутатион помаже у заштити ових ћелија од оксидативног стреса, утичући на хомеостатски миље ендотела. Глутатион је централни играч у антиоксидативној одбрамбеној каскади у организму. Делује заједно са другим антиоксидансима као што су супероксид дисмутаза, каталаза и различити витамини (као што су витамин С и витамин Е) да неутралише РОС и ублажи оксидативни стрес. Глутатион игра кључну улогу у детоксикацији штетних једињења, укључујући токсине из животне средине, тешке метале и лекове. Овај процес детоксикације помаже у спречавању оштећења ћелија и ткива. Неке студије сугеришу да глутатион може имати модулаторни ефекат на активност тромбоцита. Смањењем оксидативног стреса, глутатион може помоћи у регулисању функције тромбоцита и спречити прекомерно стварање угрушака. Смањењем оксидативног стреса и заштитом ендотелних ћелија, глутатион може смањити ризик од абнормалног формирања угрушака. Стратегије за повећање нивоа глутатиона, било путем дијететских интервенција или суплементације, истражене су у различитим медицинским стањима повезаним са оксидативним стресом, укључујући тромбозу (101).

Сложена интеракција између тромбофилије, оксидативног стреса и измењених фактора коагулације открива вишеструки пејзаж ризика за стварање крвних угрушака. Ендотелна дисфункција, погоршана оксидативним стресом, појављује се као кључни играч у патофизиологији тромбофилије. Ова дисфункција поставља основу за повећану активацију тромбоцита, измењена својства антикоагуланса и поремећене интеракције ендотела и тромбоцита, што кулминира у повећаном протромботичком стању. Штавише, инфламација, блиско повезана са оксидационим стресом, додатно повећава ризик од тромбозе тако што нарушава равнотежу између про- и антикоагулантних фактора. Хронична инфламаторна стања додају ноту сложености, одржавајући повећану склоност стварању угрушака. Ослабљена антиоксидативна одбрана погоршава оксидативни стрес, одржавајући протромботично окружење у организму. Разумевање ових комплексних односа чини камен темељац ефикасног разумевања али и лечења тромбофилије. Прилагођени планови лечења, који укључују антикоагулантне лекове, модификације животног стила и циљане интервенције за побољшање здравља ендотела, су императив. Заједнички приступ здравственој заштити, који обухвата акушере, хематологе и специјалисте за трудноћу високог ризика, је од суштинског значаја за оптимизацију исхода и за мајку и за бебу. Рано откривање, будно праћење и благовремена интервенција су кључни у ублажавању ризика повезаних са тромбофилијом. Свеобухватно разумевање не само да разоткрива сложену мрежу механизма повезаних са тромбофилијом, већ и утире пут за циљане интервенције које обећавају значајно побољшање исхода и побољшање квалитета живота за појединце који се суочавају са овим изазовним здравственим стањем.

Циљ овог истраживања је био да се анализирају параметри оксидационог стреса и инфламације у различитим периодима трудноће код трудница са тромбофилијом.



## 2. Материјал и метод

### 2.1. Врста студије

Истраживање је спроведено у Клиници за гинекологију и акушерство Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу, лабораторији Клинике за хематологију Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу, Центру за претклиничка и функционална истраживања Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу. Студија је клиничка, експериментална, контролисана, на материјалу хуманог порекла.

### 2.2. Популација која се истражује

Студија је обухватила 120 испитаница, подељених у две једнаке групе. Контролну групу су чиниле хематолошки здраве труднице (без дијагнозе тромбофилије), док су експерименталну групу чиниле труднице које болују од тромбофилије.

Труднице из обе групе су писаном сагласношћу, добровољно прихватиле учешће у студији. Наведено испитивање је одобрено од стране Етичког одбора Клиничког центра (број 01/2862), од 02.03.2016. године.

#### 1. Укључујући критеријуми:

- Труднице са доказаном тромбофилијом и труднице без тромбофилије

#### 2. Искључујући критеријуми:

- Труднице које су трудноћу, по укључивању у студију, завршиле као missed abortion (одсуство срчане акције пре 12. недеље гестације)
- Труднице које су трудноћу, по укључивању у студију, завршиле спонтаним побачајем (утерино крварење пре 12. недеље гестације)

### 2.3. Варијабле које су мерене у студији

Код испитаница су се одређивали следећи параметри:

- Акушерска анамнеза (број претходних трудноћа са тромбофилијом, број претходних побачаја)
- Године живота
- Паритет
- Врста тромбофилије
- Телесна маса, дужина и пол новорођенчета на рођењу
- Конзумирање цигарета

- Примена нискомолекуларних хепарина код доказане тромбофилије

## 2.4. Узорковање

Узорци крви потребни за одређивање параметара оксидационог стрес и инфламације су се скупљали у различитим временским интервалима трудноће.

Код хематолошки здравих трудница узорци су се узимали у првом триместру (11-14 недеље гестације приликом узимања крви за Double test), другом триместру (21-24 недеље гестације приликом узимања крви током оралног теста оптерећења глукозом) и трећем триместру (31-34 недеља гестације приликом узимања крви за редовну контролу комплетне крвне слике и ултразвука). Узорковање крви вршено је у гинеколошкој амбуланти Клинике за гинекологију и акушерство Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу.

Код трудница које болују од тромбофилије узорци крви су узимани у истим временским интервалима, у лабораторији Клинике за хематологију Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу.

За одређивање маркера оксидационог стреса и инфламације, крв је прикупљена у епрувете ради добијања плазме и серума, центрифугирање је извршено на 3000 обртаја током 10 минута, а узорковани плазме и серума, као и лизати еритроцита складиштени на -20 °C до тренутка анализирања.

Из плазме и лизата еритроцита одређиване су вредности параметара антиоксидационог система заштите, као и про-оксиданаса: индекс липидне пероксидације изражен као TBARS, азот моноксид у облику нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ), супероксид анјон радикал ( $\text{O}_2^-$ ), водоник пероксид ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Изолвани еритроцити испрани су три пута леденим 0,9 mmol/l NaCl, а хемолизати су садржали око 50 gHb/l (102). У активност каталазе (CAT), активност супероксид дисмутазе (SOD) и концентрација редукованог глутатиона (GSH).

Из серума је одређивана концентрација проинфламаторних цитокини – интерлеукина 6 (IL-6) и фактора некрозе тумора алфа (TNF- $\alpha$ ).

### 2.4.1. Индекс липидне пероксидације (TBARS)

Степен пероксидације липида у плазми процењен је мерењем продуката липидне пероксидације тиобарбитурном киселином (TBARS) користећи 0,4 ml 1% раствора тиобарбитурне киселине (TBA) у 0,05 M NaOH, помешане са 0,8 ml плазме, инкубиране на 100 °C током 15 минута и мерене на таласној дужини од 530 nm. Дестилована вода коришћена је као референтна супстанца. Екстракт TBA добијен је комбиновањем 0,8 ml

плазме и 0,4 ml трихлорсирћетне киселине (ТСА). Након тога, узорци су стављани на лед током 10 минута, центрифугирани 15 минута при 6000 rpm (103).

#### 2.4.2. Концентрација нитрита ( $\text{NO}_2^-$ )

Азот-моноксид ( $\text{NO}$ ) брзо се разлаже формирајући стабилне метаболите нитрита/нитрата. Метода за детекцију нивоа нитрита у плазми базира се на Griess-овој реакцији. Нитрити су одређивани као показатељ производње  $\text{NO}$  помоћу Griess реагенса (формира се љубичасти диазокомплекс) (104). Концентрација азот моноксида ( $\text{NO}$ ) ће се одређивати на основу количине ослобођених нитрита. На 0,1 ml 3 N PCA (перхлорна киселина), 0,4 ml 20 mM EDTA (етиледиаминтетраацетат) и 0,2 ml плазме стављено је на лед током 15 минута, затим центрифугирано 15 минута при 6000 rpm. Након уклањања супернатанта, додато је 220  $\mu\text{l}$   $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Дестилована вода коришћена је као референтна супстанца. Мерење је вршено на таласној дужини  $\lambda=550\text{nm}$ .

#### 2.4.3. Супероксид анион радикал ( $\text{O}_2^-$ )

Одређивање концентрације супероксид анион радикала се заснивала на реакцији  $\text{O}_2^-$  са нитро тетразолијум плавим (Nitro Blue Tetrazolium - NBT) до нитроформаза плавог. Мерење је вршено на таласној дужини  $\lambda=550\text{nm}$  (105).

#### 2.4.4. Водоник пероксид ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

Детерминација количине водоник пероксида ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) се заснива на оксидацији фенол црвеног помоћу водоник пероксид реакције која је катализована ензимом пероксидазом из рена (Horse Radish PerOxidase - HRPO). Ова реакција резултује формирањем једињења чији је максимум апсорпције  $\lambda_{\text{max}}=610\text{nm}$  (106).

#### 2.4.5. Супероксид дизмутаза (SOD)

Одређивање активности SOD спроведено је адреналинском методом. Ова метода припада групи метода "негативног" типа, јер се прати смањење брзине аутооксидације адреналина у алкалној средини, која је зависна од  $\text{O}_2$ . Присутна SOD уклања  $\text{O}_2$  и при томе инхибира реакцију аутооксидације адреналина. Брзина аутооксидације адреналина праћена је спектрофотометријски преко промене апсорбанце на 480 nm (107).

#### 2.4.6. Каталаза (CAT)

Активност каталазе је одређивана по методи Beutler-а (108). Метода се састоји у спектрофотометријском праћењу брзине разградње водоник-пероксида у присуству каталазе на 230 nm. На тој таласној дужини водоник пероксид апсорбује светлост.

#### 2.4.7. Редуковани глутатион (GSH)

Активност редукованог глутатиона (GSH) одређиваће се спектрофотометријски по методи Beutler-а, а заснива се на оксидацији глутатиона GSH помоћу 5,5–дитио-бис-6,2-нитробензевом киселином (DTNB) (109).

Мерење концентрација наведених параметара је спроведено на UV/VIS спектрофотометру.

#### 2.4.8. Концентрација проинфламаторних цитокини – интерлеукина 6 (IL-6) и фактора некрозе тумора алфа (TNF- $\alpha$ )

Концентрација цитокина (IL-6) и (TNF- $\alpha$ ) одређиваће се комерцијалним ELISA китовима специфичним за хумане цитокине (Human IL-6 DuoSet ELISA Development kit, R&D Systems, USA; human TNF- $\alpha$  /TNFSF1A DuoSet ELISA Development kit, R&D Systems, USA).

### 2.5. Снага студије и величина узорка

Прорачун величине узрока је извршен на основу резултата претходно објављене студије у којој је праћен ензими антиоксидативне одбране у плаценти код наследне тромбофилије (110). За прорачун је коришћен Т-тест за независне узорке, двоструко, уз претпоставку алфа грешке од 0.05 и снаге студије 0.8 (бета грешка 0.2) и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма (*G\*Power*). Узимањем у обзир резултате наведене студије, укупан студијски узорак је прорачунат на 60 по групи.

## 2.6. Статистичка обрада података

Подаци о основним карактеристикама пацијената су обрађени и приказани методама дескриптивне статистике. За континуалне варијабле користиће се средња вредност  $\pm$  стандардна девијација, минимум и максимум уколико подаци прате нормалну расподелу, односно медијана и перцентили уколико подаци не прате нормалну расподелу, док ће за категоријске варијабле бити приказана учесталост (проценти). Након провере нормалности расподеле података за континуалне варијабле, за процену утицаја независних варијабли на посматрани коришћени су одговарајући параметарски или непараметарски тестови (ANOVA или Kruskal Valis тест, уз одговарајућу пост-хок анализу). За процену значајности разлике у учесталости код категоријских варијабли коришћен је Хи-квадрат тест, док је у случају мале учесталости појединих категорија коришћен Фишеров тест. Вредност  $p < 0.05$  ће се сматрала статистички значајном, а интервал поверења за све тестове је био 95%. За одређивање јачине повезаности варијабли коришћен је одговарајући коефицијент корелације (Пирсонов или Спирманов) зависно од тога да ли подаци прате нормалну расподелу. Добијени резултати су груписани и приказани табеларно и графички. Сви подаци су анализирани коришћењем статистичког програма IBM statistics SPSS верзија 20.

## 3. Резултати

### 3.1. Опште карактеристике испитаница и рођених беба

#### 3.1.1. Просечна старост испитаница

Просечна старост испитаница које су биле укључене у истраживање је представљена у Табели 1. Труднице без тромбофилије су имале просечну старост  $25.35 \pm 4.06$  године, док су труднице са тромбофилијом имале просечну старост  $30.27 \pm 4.44$  године. Између две испитиване групе трудница није постојала статистички значајна разлика.

**Табела 1.** Просечна старост испитаница које су биле укључене у истраживање.

Просечна старост испитаница	Труднице са тромбофилијом n=60	Труднице без тромбофилије n=60	<i>p</i>
		30.27±4.44	25.35±4.06

#### 3.1.2. Паритет испитаница

Испитанице из групе трудница без тромбофилије нису имале статистички значајну разлику у паритету ( $1.55 \pm 0.59$ ) у односу на труднице са тромбофилијом ( $2.55 \pm 1.02$ ).

**Табела 2.** Паритет испитаница које су биле укључене у истраживање.

Паритет испитаница	Труднице са тромбофилијом n=60	Труднице без тромбофилије n=60	<i>p</i>
		2.55±1.02	1.55±0.59

### 3.1.3. Просечна тежина рођених беба

Просечна тежина рођених беба трудница без тромбофилије је била  $3370.33 \pm 401.43$ , док је просечна тежина рођених беба трудница са тромбофилијом била  $3498.92 \pm 499.64$ . Између ове две групе није регистрована статистички значајна разлика.

**Табела 3.** Просечна тежина рођених беба трудница без тромбофилије и трудница са тромбофилијом.

Просечна тежина рођених беба	Труднице са тромбофилијом n=60	Труднице без тромбофилије n=60	<i>p</i>
		3498.92±499.64	3370.33±401.43

### 3.1.4. Просечна дужина рођених беба

Просечна дужина рођених беба трудница без тромбофилије је била  $54.75 \pm 2.15$ , док је просечна дужина рођених беба трудница са тромбофилијом била  $55.6 \pm 2.31$ . Између ове две групе није регистрована статистички значајна разлика.

**Табела 4.** Просечна тежина рођених беба трудница без тромбофилије и трудница са тромбофилијом.

Просечна дужина рођених беба	Труднице са тромбофилијом n=60	Труднице без тромбофилије n=60	<i>p</i>
		55.6±2.31	54.75±2.15

### 3.1.5. Пол рођених беба

Пол рођених беба трудница без тромбофилије је био заступљен на следећи начин: мушки пол – 63,33%, женски пол 36,33%. Пол рођених беба трудница са тромбофилијом је био заступљен на следећи начин: мушки пол – 68,33%, женски пол 26,67%. Између ове две групе није регистрована статистички значајна разлика.

**Табела 5.** Процентуална заступљеност полова међу рођеним бебама трудница без тромбофилије и трудница са тромбофилијом.

Пол рођених беба	Трудице са тромбофилијом		Труднице без тромбофилије		<i>p</i>
	Мушки пол	Женски пол	Мушки пол	Женски пол	<i>p</i> >0.05
	68,33%,	26,67%	63,33%,	36,33%.	

### 3.1.6. Број претходних спонтаних побачаја код испитаница

Број претходних спонтаних побачаја се значајно разликовао код трудница са тромбофилијом у односу на труднице без тромбофилије. Број претходних спонтаних побачаја код трудница без тромбофилије је износио  $1.82 \pm 0.39$ , док је број претходних спонтаних побачаја код трудница са тромбофилијом је износио  $1.27 \pm 0.77$ . Између ове две групе је постојала статистички значајна разлика у погледу броја претходних спонтаних побачаја.

**Табела 6.** Број претходних спонтаних побачаја код трудница без тромбофилије и трудница са тромбофилијом.

Број претходних спонтаних побачаја код испитаница	Трудице са тромбофилијом	Труднице без тромбофилије	<i>p</i>
	n=60	n=60	
	$1.27 \pm 0.77$	$1.82 \pm 0.39$	<i>p</i> <0.01

### 3.1.7. Процентуална заступљеност конзумирања цигарета међу испитаницама

Процентуална заступљеност конзумирања цигарета међу испитаницама без тромбофилије је представљена у Табели 7. на следећи начин: мушки пол – 63,33%, женски пол 36,33%. Пол рођених беба трудница са тромбофилијом је био заступљен на следећи начин: мушки пол – 68,33%, женски пол 26,67%. Између ове две групе није регистрована статистички значајна разлика.



**Табела 7.** Процентуална заступљеност конзумирања цигарета међу трудницама без тромбофилије и трудницама са тромбофилијом.

Процентуална заступљеност конзумирања цигарета	Трудице са тромбофилијом		Труднице без тромбофилије		<i>p</i>
	Да	Не	Да	Не	<i>p</i> >0.05
	28.33%,	71.67%	21.67%,	78.33%.	

### 3.1.8. Процентуална заступљеност употребе утроегестана међу испитаницама

Процентуална заступљеност употребе утроегестана међу испитаницама без тромбофилије је представљена у Табели 8. на следећи начин: у популацији трудница са тромбофилијом 76.67%, је користило утроегестан, док 23.33% није користило овај лек; насупротив томе, у популацији здравих трудница 33.33% је било без терапије утроегестаном, док 66.67% трудница без тромбофилије није користило утроегестан.

**Табела 8.** Процентуална заступљеност употребе утроегестана међу трудницама без тромбофилије и трудницама са тромбофилијом.

Процентуална заступљеност употребе утроегестана	Трудице са тромбофилијом		Труднице без тромбофилије		<i>p</i>
	Да	Не	Да	Не	<i>p</i> <0.05
	76.67%,	23.33%	33.33%,	66.67%	

## 3.2. Карактеристике трудница са тромбофилијом

### 3.2.1. Тип тромбофилије

Код испитаница је највећи део трудница (37) које болују од тромбофилије имају PAI хомозигот мутацију (61.67%). Мутација MTHFR хетерозигот (9 трудница) и мутација PAI хомозигот MTHFR хетерозигот (12 трудница) су биле две мање заступљене категорије (15% и 20%). По једна трудница из групе која је имала дијагнозу тромбофилије је имала PAI хетерозигот тип и антифосфолопидни синдром (1.67%).

**Табела 9.** Тип тромбофилије код трудница.

Тип тромбофилије код трудница	РАI хомозигот	РАI хетерозигот	РАI хомозигот МТНFR хетерозигот	Антифосфолипидни синдром	МТНFR хетерозигот	<i>p</i>
		37 трудница 61.67%	1 трудница 1.67%	12 трудница 20%	1 трудница 1.67%	9 трудница 15%

### 3.2.2. Терапија трудница са тромбофилијом

#### 3.2.2.1 Врста терапије

Код испитаница је 36 трудница које болују од тромбофилије било на терапији нискомолекулским надропарином (60%). 23 труднице које болују од тромбофилије је било на терапији еноксапарином (38.33%). Једна трудница из групе која је имала дијагнозу тромбофилије је није била на терапији (1.67%).

**Табела 10.** Врста терапије нискомолекулским хепаринима међу трудницама са тромбофилијом.

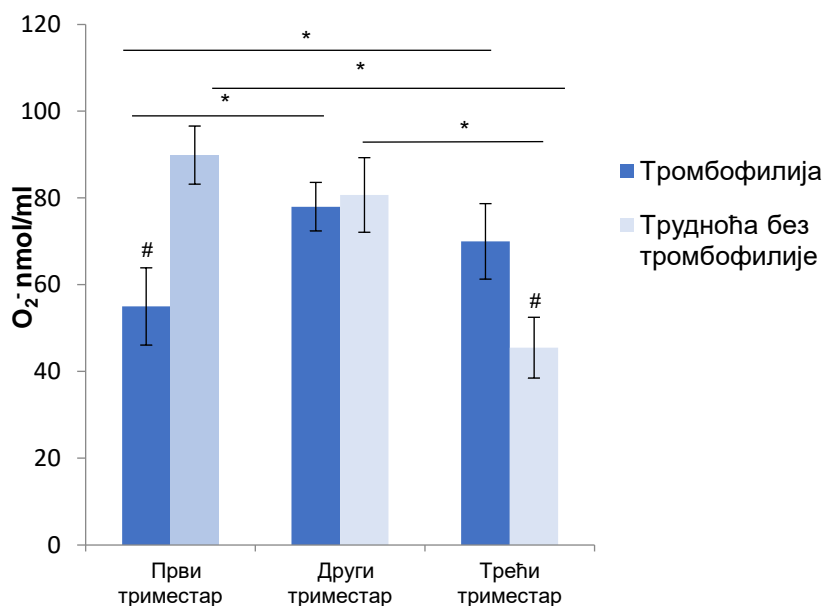
Терапија трудница са тромбофилијом	Нискомолекулски хепарин - надропарин	Нискомолекулски хепарин - еноксапарин	Без терапије	<i>p</i>
		36 трудница 60%	23 трудница 38.33%	1 трудница 1.67%

#### 3.2.2.2. Породична анамнеза тромбофилије код трудница са тромбофилијом

Негативну породичну анамнезу о тромбофилији је имало 36 испитанице (60%), док је 24 трудница имало позитивну породичну анамнезу (40%).

### 3.3. Вредности параметара оксидационог стреса у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије

#### 3.3.1. Концентрација супероксид анјон радикала ( $O_2^-$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије



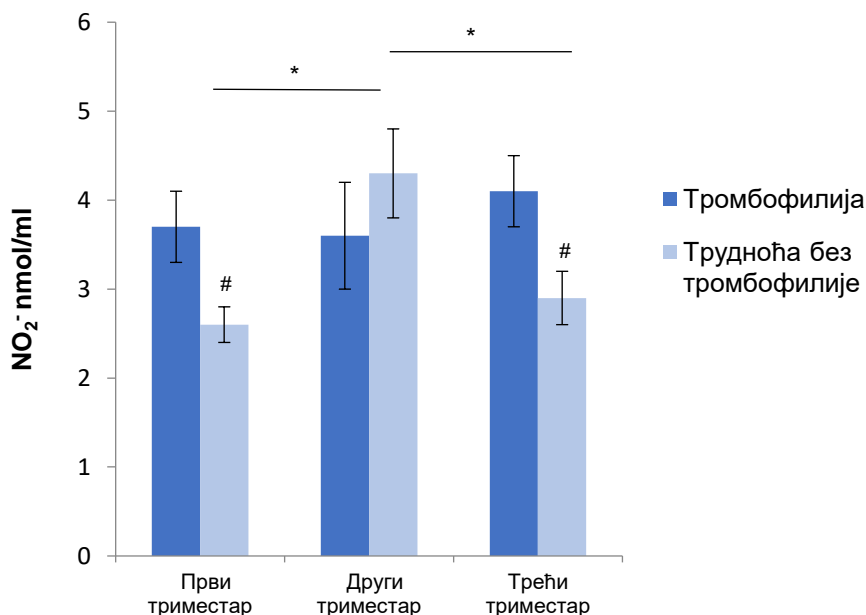
**Слика 2.** Концентрација супероксид анјон радикала ( $O_2^-$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.

У групи са тромбофилијом, ниво  $O_2^-$  у другом и трећем је повећан у поређењу са нивоом у првом триместру ( $p < 0,05$ ). Током посматраног периода, у групи са нормалном трудноћом, ниво  $O_2^-$  је био сличан у првом и другом триместру и ови нивои су били значајно виши у односу на ниво у трећем триместру ( $p < 0,05$ ). Значајно смањење нивоа овог параметра забележено је у трудноћи са тромбофилијом у односу на нормалну трудноћу у првом тромесечју ( $p < 0,05$ ), док је у групи са тромбофилијом ниво био виши у трећем триместру ( $p < 0,05$ ) (Слика 2., Табела 11.).

**Табела 11.** Концентрација  $O_2^-$  у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.

Концентрација $O_2^-$ у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница					
Трудноћа са тромбофилијом			Трудноћа без тромбофилије		
Први триместар	Други триместар	Трећи триместар	Први триместар	Други триместар	Трећи триместар
55±8,9	78±5,6	70±8,7	89,9±6,7	80,7±8,6	45,5±7

### 3.3.2. Концентрација нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије



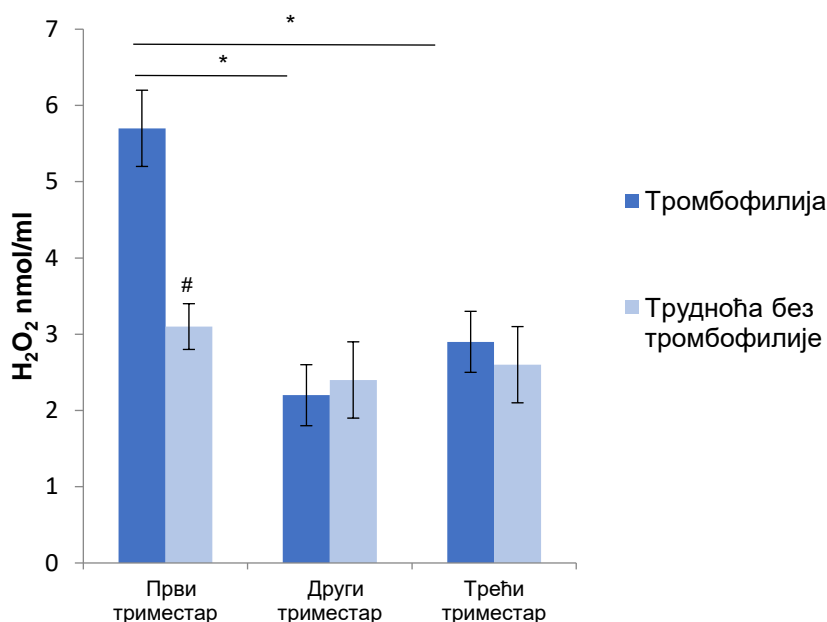
**Слика 3.** Концентрација нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.

Вредности  $\text{NO}_2^-$  су статистички значајно повећане у другом тромесечју у односу на први и трећи триместар у групи нормалне трудноће ( $p < 0,05$ ). Код жена са тромбофилијом, ниво овог параметра је повећан у поређењу са нивоима код здравих трудница у првом и у трећем триместру ( $p < 0,05$ ) (Слика 3., Табела 12.).

**Табела 12.** Концентрација  $\text{NO}_2^-$  у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.

Концентрација $\text{NO}_2^-$ у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница					
Трудноћа са тромбофилијом			Трудноћа без тромбофилије		
Први триместар	Други триместар	Трећи триместар	Први триместар	Други триместар	Трећи триместар
3,7±0,4	3,6±0,6	4,1±0,4	2,6±0,2	4,3±0,5	2,9±0,3

### 3.3.3. Концентрација водоник пероксида ( $H_2O_2$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије



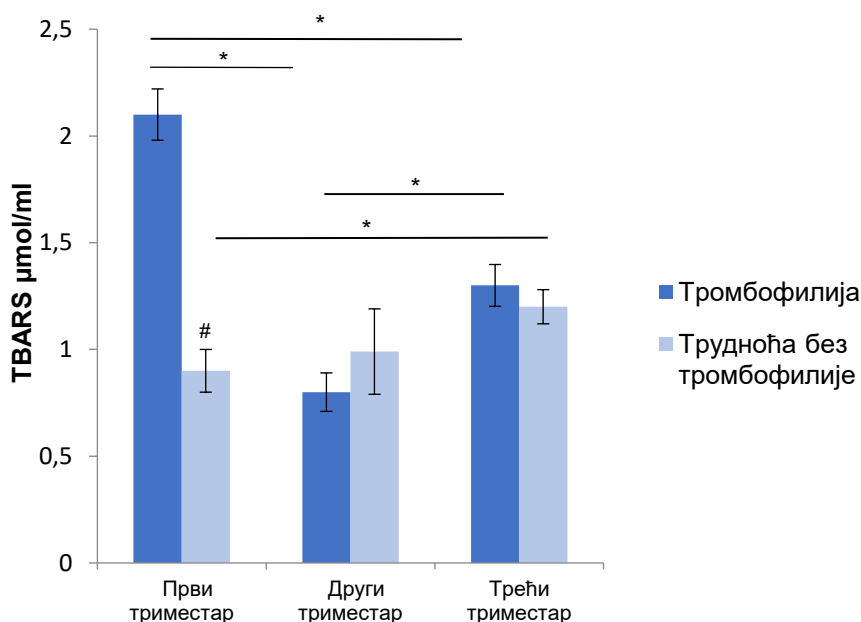
**Слика 4.** Концентрација водоник пероксида ( $H_2O_2$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.

Код жена са тромбофилијом, ослобађање  $H_2O_2$  је значајно веће у првом тромесечју у поређењу са другим и трећим ( $p < 0,05$ ). С друге стране, није било статистички значајне промене у генерисању  $H_2O_2$  током различитих периода гестације у нормалној трудноћи. Једина разлика у нивоу овог параметра између здравих и трудница са тромбофилијом примећена је у првом тромесечју, где је ниво био виши код трудница са тромбофилијом ( $p < 0,05$ ) (Слика 4., Табела 13.).

**Табела 13.** Концентрација  $H_2O_2$  у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.

Концентрација $H_2O_2$ у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница					
Трудноћа са тромбофилијом			Трудноћа без тромбофилије		
Први триместар	Други триместар	Трећи триместар	Први триместар	Други триместар	Трећи триместар
5,7±0,5	2,2±0,4	2,9±0,4	3,1±0,3	2,4±0,5	2,6±0,5

### 3.3.4. Индекс липидне пероксидације изражен као TBARS у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије



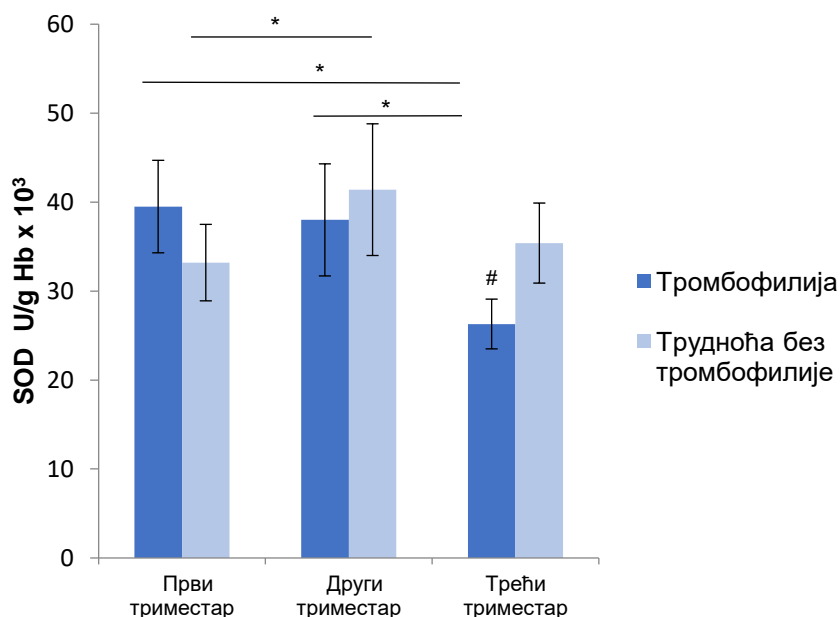
**Слика 5.** Индекс липидне пероксидације изражен као TBARS у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.

Током посматраног периода трудноће, код жена са тромбофилијом ниво TBARS је био виши у првом тромесечју у односу на други и трећи триместар ( $p < 0,05$ ). Поред тога, ниво TBARS у трећем тромесечју је повећан у односу на други триместар ( $p < 0,05$ ). У групи са нормалном трудноћом, повећање нивоа овог параметра је утврђено у трећем тромесечју у поређењу са нивоом у првом тромесечју ( $p < 0,05$ ). Већи ниво TBARS примећен је код жена са тромбофилијом у првом тромесечју у поређењу са здравим трудницама ( $p < 0,05$ ) (Слика 5., Табела 14.).

**Табела 14.** Концентрација TBARS у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.

Концентрација TBARS у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница					
Трудноћа са тромбофилијом			Трудноћа без тромбофилије		
Први триместар	Други триместар	Трећи триместар	Први триместар	Други триместар	Трећи триместар
0,9±0,12	0,99±0,09	0,2±0,01	2,1±0,1	0,8±0,2	1,3±0,08

### 3.3.5. Активност супероксид дисмутазе (SOD) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије



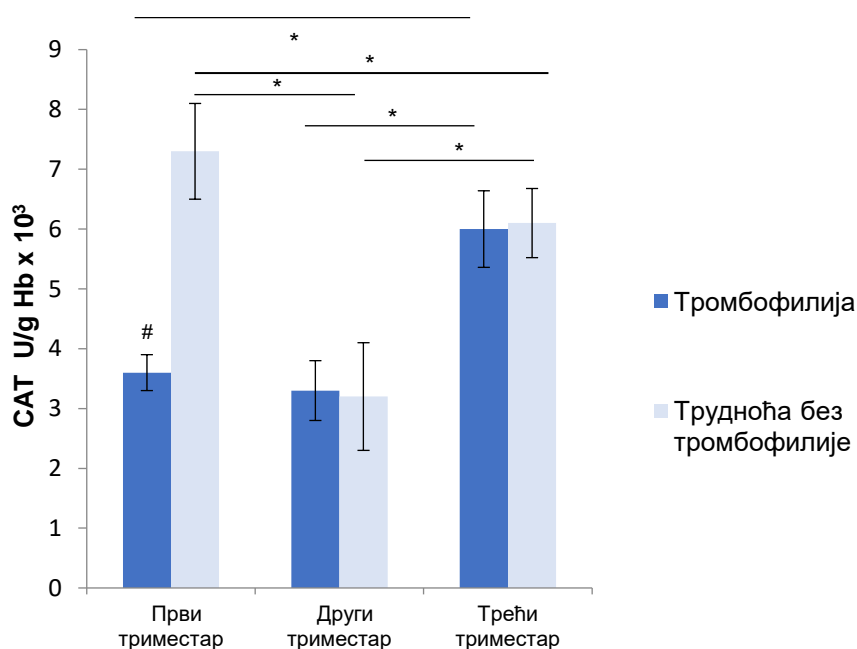
**Слика 6.** Активност супероксид дисмутазе (SOD) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.

Активност SOD у првом и другом триместру била је слична и виша него у трећем триместру код жена са тромбофилијом ( $p < 0,05$ ). У првом триместру регистрована је нижа активност овог ензима у односу на други триместар код здравих трудница ( $p < 0,05$ ). Активност SOD је била нижа у трудноћи са тромбофилијом у поређењу са нормалном трудноћом у трећем триместру ( $p < 0,05$ ) (Слика 6., Табела 15.).

**Табела 15.** Активност SOD у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.

Активност SOD у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница					
Трудноћа са тромбофилијом			Трудноћа без тромбофилије		
Први триместар	Други триместар	Трећи триместар	Први триместар	Други триместар	Трећи триместар
39,5±5,05	38±6,3	26,3±2,8	33,2±4,3	41,4±7,4	35,4±4,5

## 3.3.6. Активност каталазе (САТ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије



**Слика 7.** Активност каталазе (САТ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.

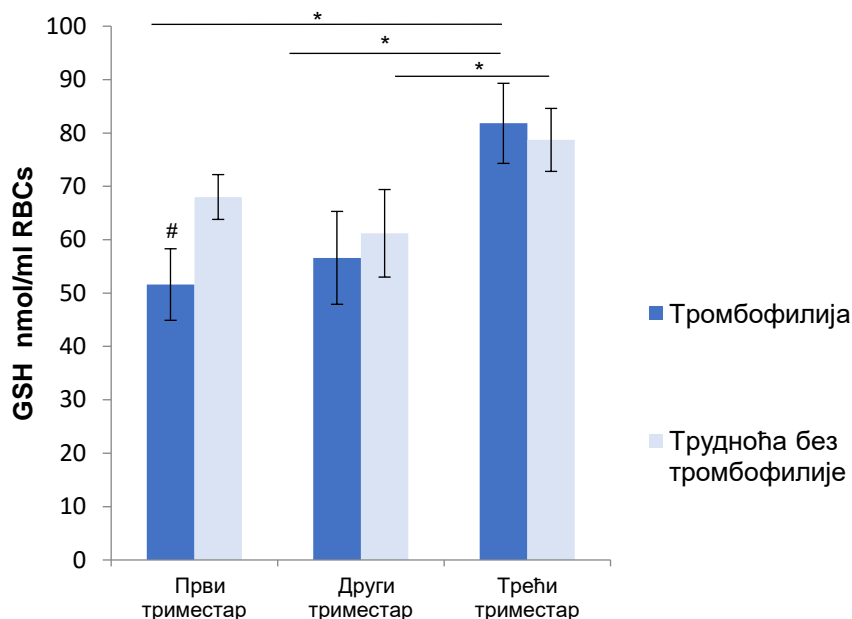
У групи трудница са тромбофилијом, највећа активност САТ била је у трећем триместру, значајно виша у односу на први и други триместар ( $p < 0,05$ ). Активност САТ је повећана у првом тромесечју у односу на друго и треће у нормалној трудноћи ( $p < 0,05$ ). Поред тога, нижа активност САТ је регистрована у другом у односу на трећи триместар, код здравих трудница ( $p < 0,05$ ). Активност овог ензима била је већа у групи са нормалном трудноћом у поређењу са групом са тромбофилијом у првом триместру ( $p < 0,05$ ) (Слика 7., Табела 16.), док се у остала два триместра активност овог ензима није разликовала између две испитиване групе трудница.

**Табела 16.** Активност САТ у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.

Активност САТ у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница					
Трудноћа са тромбофилијом			Трудноћа без тромбофилије		
Први триместар	Други триместар	Трећи триместар	Први триместар	Други триместар	Трећи триместар
3,6±0,3	3,3±0,5	6±0,64	7,3±0,8	3,2±0,9	6,1±0,58



### 3.3.7. Концентрација редукованог глутатиона (GSH) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије



**Слика 8.** Концентрација редукованог глутатиона (GSH) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.

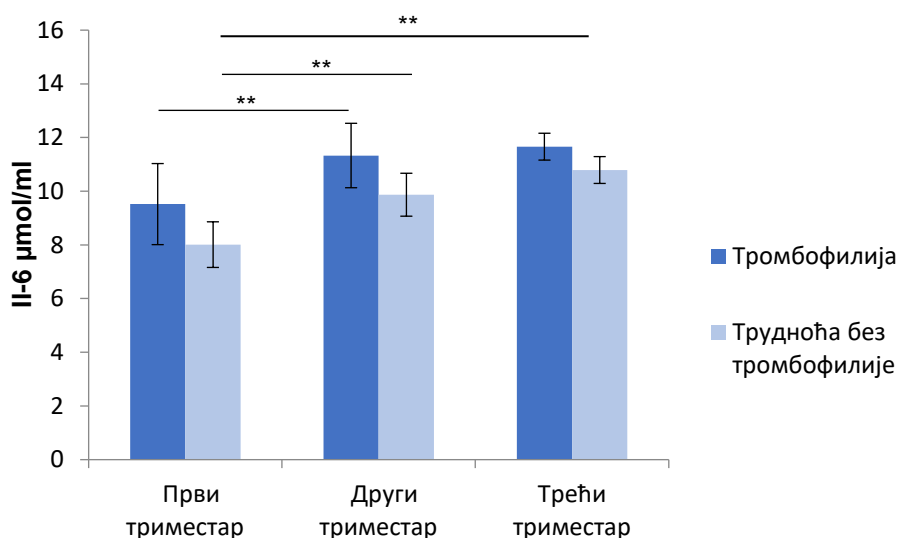
Код жена са тромбофилијом, вредност GSH је била слична у првом и другом триместру и те вредности су биле значајно ниже у поређењу са вредношћу у трећем триместру ( $p < 0,05$ ). Током гестације, код здравих жена дошло је до повећања нивоа GSH у трећем тромесечју у односу на други триместар ( $p < 0,05$ ). Разлика у нивоу GSH примећена је у првом тромесечју између нормалне трудноће и трудноће са тромбофилијом, где је ниво био нижи у групи са тромбофилијом ( $p < 0,05$ ) (Слика 8., Табела 17.).

**Табела 17.** Концентрација GSH у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.

Концентрација GSH у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница					
Трудноћа са тромбофилијом			Трудноћа без тромбофилије		
Први триместар	Други триместар	Трећи триместар	Први триместар	Други триместар	Трећи триместар
51,6±6,7	56,6±8,7	81,8±7,5	68±4,2	61,2±8,2	78,7±5,9

### 3.4. Вредности параметара оксидационог стреса у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије

#### 3.4.1. Концентрација интерлеукина-6 (IL-6) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије



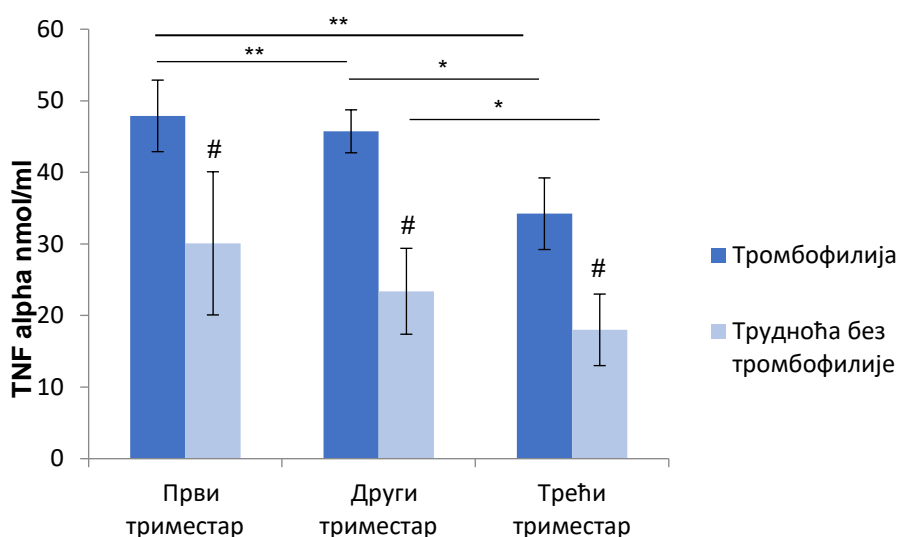
**Слика 9.** Концентрација интерлеукина-6 у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.

Код жена са тромбофилијом, вредност IL-6 је била статистички значајно мања у првом у односу на други триместар ( $p < 0,01$ ). Током гестације, код здравих жена дошло је до повећања нивоа IL-6 у другом и трећем триместру у односу на први триместар ( $p < 0,01$ ). Разлика у нивоу IL-6 није примећена ни у једном триместру између нормалне трудноће и трудноће са тромбофилијом, (Слика 9., Табела 18.).

**Табела 18.** Концентрација IL-6 у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.

Концентрација IL-6 у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница					
Трудноћа са тромбофилијом			Трудноћа без тромбофилије		
Први триместар	Други триместар	Трећи триместар	Први триместар	Други триместар	Трећи триместар
9,52±1,51	11,33±1,21	11,66±0,5	8,01±0,85	9,87±0,80	10,79±0,5

### 3.4.2. Концентрација фактора некрозе тумора (TNF- $\alpha$ ) алфа у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије



**Слика 10.** Концентрација фактора некрозе тумора алфа (TNF- $\alpha$ ) у крви трудница са тромбофилијом и без тромбофилије у првом, другом и трећем триместру.

Концентрација фактора некрозе тумора алфа (TNF- $\alpha$ ) у крви трудница са тромбофилијом у првом триместру је била већа у односу на други ( $p < 0,01$ ). Такође, концентрација фактора некрозе тумора алфа (TNF- $\alpha$ ) у крви трудница са тромбофилијом у другом и трећем триместру се значајно разликовала ( $p < 0,05$ ), као и између првог и трећег триместра ( $p < 0,01$ ), и у трећем триместру су регистроване најниже вредности током трудноће. Концентрација фактора некрозе тумора алфа (TNF- $\alpha$ ) у крви трудница без тромбофилије у другом и трећем триместру се значајно разликовла ( $p < 0,05$ ), с тим што су у трећем триместру регистроване најниже вредности. Поред тога, регистрована је значајна разлика између поменуте две групе испитница у сва три триместра ( $p < 0,05$ ) (Слика 10., Табела 19.). Труднице са тромбофилијом су имале повишене концентрације оног параметра у односу на здраве трудноце у сва три триместра.

**Табела 19.** Концентрација TNF- $\alpha$  у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница.

Концентрација TNF- $\alpha$ у првом, другом и трећем триместру код испитиваних трудница					
Трудноћа са тромбофилијом			Трудноћа без тромбофилије		
Први триместар	Други триместар	Трећи триместар	Први триместар	Други триместар	Трећи триместар
47,89 $\pm$ 5,23	45,73 $\pm$ 3,56	34,22 $\pm$ 5,41	30,08 $\pm$ 10,44	23,37 $\pm$ 6,16	28,3 $\pm$ 5,9

## 4. Дискусија

Тромбофилија је медицински појам који означава склоност ка стварању тромба у крвном суду. Ово стање може бити резултат поремећаја у систему за коагулацију крви који може изазвати неконтролисано формирање тромба у венама или артеријама. Овај поремећај може бити генетски условљен или се може развити као резултат фактора околине или одређеног здравственог стања (111, 112). Постоје различите врсте тромбофилије, а дијагноза се најпоузданије поставља специфичним тестовима. Ово стање може бити присутно и без компликација, али такође, може бити и узрок различитих здравствених проблема, укључујући рекурентне побачаје током трудноће, дубоке венске тромбозе или емболије у крвним судовима плућа. Лечење тромбофилије обично укључује употребу антикоагуланса (лекова који спречавају стварање тромба) или других метода које имају за циљ спречавање развоја тромбозе. Узимајући у обзир разноврсност и потенцијално озбиљне последице овог здравственог стања, рано откривање и третман тромбофилија су кључни за превенцију компликација и одржавање здравља. Тромбофилија, као повећана предиспозиција за стварање крвних угрушака, има комплексну етиологију која укључује и наследне и стечене факторе, одражавајући сложену интеракцију између генетских чиниоца и утицаја околине. Наслеђене тромбофилне аномалије обухватају недостатке антитромбина, протеина С, протеина S, заједно са мутацијама у фактору коагулације V (фактор V Leiden) и полиморфизмима гена за протромбин G20210A (113). Супротно томе, антифосфолипидни синдром осликава често стечену манифестацију тромбофилије. Реперкусије тромбозе на морталитет и морбидитет су велике, посебно када је реч о трудноћи која је компликована тромбофилијом. Тромбофилија током гестације корелира са повишеним ризиком за настанак за великог броја компликација, укључујући венску тромбоемболију, тешку прееклампсију/еклампсију, абрупцију плаценте, HELLP синдром, интраутерини застој у расту и рекурентне побачаје (9).

Оксидациони стрес је укључен у различита патолошка стања и у великој мери је повезан са процесом старења и развојем бројних болести, укључујући кардиоваскуларне поремећаје, неуродегенеративне болести, као и репродуктивне проблеме. Разумевање и модулација оксидационог стреса су критични за одржавање општег здравља и спречавање појаве или прогресије различитих здравствених проблема. Оксидациони стрес је неравнотежа између производње реактивних врста кисеоника (РОС) и способности тела да их неутралише или елиминише (114). Оксидациони стрес настаје када постоји вишак прооксиданата у односу на антиоксидансе, нарушавајући сложену равнотежу неопходну за ћелијску хомеостазу. РОС, као што су слободни радикали и пероксиди, су природни нуспроизводи метаболичких процеса унутар ћелија. Организам поседује капацитет у виду постојања одбрамбених механизма, да се супротстави овим штетним молекулама. Међутим, превелико накупљање РОС може довести до тога да се премаши капацитет организма за њихово уклањање. Један од начина којим се тело бори против оксидационог стреса је кроз антиоксидативни систем заштите, који укључује антиоксидативне ензиме и друге молекуле који могу неутралисати слободне радикале и смањити њихов негативан утицај на ћелије. На ћелијском нивоу, оксидативни стрес може довести до оштећења виталних биомолекула као што су липиди, протеини и ДНК. Пероксидација липида, на пример, може пореметити ћелијске мембране, угрожавајући њихов интегритет и функцију. Протеини, кључни за различите ћелијске процесе, могу бити подвргнути оксидативним модификацијама, нарушавајући њихову нормалну

активност. Поред тога, оштећење ДНК изазвано оксидативним стресом може допринети мутацијама и геномској нестабилности, потенцијално покренути развој рака или других генетских поремећаја. Улога оксидативног стреса превазилази интрацелуларне ефекте, утичући на међућелијску комуникацију и доприноси инфламаторним одговорима. Митохондрије, које се често сматрају генератором енергије у ћелијама, посебно су подложне оксидативном оштећењу управо због њиховог учешћа у производњи енергије и стварању РОС током ћелијског дисања. Као резултат тога, одржавање редокс равнотеже је императив за добробит ћелија и опште здравље организма. Истраживања настављају да откривају комплексне везе између оксидативног стреса и различитих болести, отварајући пут потенцијалним терапијским интервенцијама које имају за циљ ублажавање његових штетних ефеката.

Оксидативни стрес је несумњиво повезан са абнормалностима у развоју трудноће и фетуса. Међутим, још увек није могуће јасно утврдити и потврдити да је то узрочни фактор, због бројних недоумица и непостојања специфичног механизма деловања. Анализирајући доступну литературу из последње деценије, установљено је да је тема оксидативног стреса у трудноћи све чешћа и да се сазнања о овој теми шире (115). Обзиром да је оксидативни стрес показао значајан утицај на здравље, разумевање његових механизма и начина на који можемо утицати на његове негативне последице има важност за развој стратегија превенције и лечења различитих здравствених проблема. Оксидативни стрес, који карактерише поремећај који фаворизује прооксиданте у односу на антиоксиданте, појављује се и током физиолошког напредовања трудноће због повећаних метаболичких захтева (68). Бројне студије говоре у прилог чињеници да током трудноће долази до повећане производње прооксиданаса, због високих енергетских захтева многих телесних функција (53). Поред тога, добро је утврђена и веза између оксидативног стреса и неповољних исхода трудноће, укључујући прееклампсију и дијабетес, што скакако наглашава његову кључну улогу у патогенези различитих поремећаја здравља (70). Постоје докази да хумана плацента индукује пероксидацију липида што доводи до повећања концентрације липидних пероксида у крви мајке. Такође је потврђена и веза између редокс статуса у организму мајке и фетуса (71). Штавише, претпостављена повезаност оксидационог стреса и тромбофилије указује да тромбофилија током трудноће подстиче хемостатски одговор и формирање микротромба, подстичући стварање прооксиданата. На овај начин настаје зачарани круг који подстиче цикличну прогресију погоршања, одржавајући миље стварања прокоагуланаса и прооксиданаса, чиме се врше штетни ефекти на плаценту и плацентну циркулацију. Упркос овом концептуалном оквиру, постоји мањак научних истраживања које се баве систематским изучавањем маркера оксидативног стреса и антиоксидативних одбрамбених механизма током развоја трудноће код жена које се боре са тромбофилијом.

Оба стања, оксидативни стрес и тромбофилија, имају комплексан утицај на организм. Када су у питању њихове међусобне интеракције, постоји претпоставка да оксидативни стрес може утицати на механизме коагулације крви, доводећи до појаве тромбозе (116). Заправо, слободни радикали могу утицати на процес коагулације крви, што може довести до дисбаланса у систему коагулације и антикоагулације и повећања ризика од тромбозе. Са друге стране, тромбофилија, као и различите склоности ка тромбози, може бити повезана са инфламацијским процесима који такође играју улогу у оштећењу ћелија и ткива. Формирање микротромба током трудноће, које је узроковано интензивнијим хемостатским одговором, доводи до повећања формирања слободних радикала (72). На тај начин се формира механизам међусобне потенцијације ова два

процеса, што дефинитивно води ка оштећењу плаценте и плацентне циркулације. Ове интеракције су област активног истраживања, а разумевање механизма и веза између стања оксидационог стреса, инфламације и тромбофилије може имати значајне последице за лечење и превенцију здравствених проблема повезаних са тромбозом и оксидативним стресом (117). Инфламација је одговор тела на повреде или инфекције и укључује имунолошки одговор. Током инфламације, различите ћелије и цитокини (протеини који регулишу имунолошке одговоре) могу бити активирани. Током инфламаторних процеса, може доћи до активације коагулационих путева, што утиче на формирање тромба. Такође, оксидативни стрес може допринети оштећењу ћелија крвних судова и активацији коагулационих фактора, повећавајући ризик од тромбозе. Инфламација, оксидациони стрес, тромбофилија и трудноћа су комплексни биолошки процеси, а њихова повезаност у контексту трудноће може бити истраживачки изазов, али и имати значајне последице за здравље мајке и развој плода. Иако је ова област донекле истражена, неопходна су додатна истраживања и тумачења, како би се у потпуности разумеле њихове интеракције и утицаји на организам. Оксидациони стрес и инфламација могу бити повезани, што нарочито може бити експримирано током трудноће. Инфламаторни процеси утичу на оксидативни стрес, а обратно, слободни радикали генерисани оксидативним стресом могу активирати имунолошки одговор и инфламаторне процесе. Ова интеракција може допринети дисфункцији ендотела, оштећењу крвних судова, и активацији коагулационих процеса, повећавајући ризик од тромбозе током трудноће, нарочито код особа са тромбофилијом (118).

У склопу комплексних интеракција оксидативног стреса и инфламације у патогенези тромбофилије током трудноће, наше истраживање је настојало да разјасни суптилна преклапања параметара редокс статуса код трудница које болују од тромбофилије са цитокинима који су доминантно експримирани у инфламаторним стањима, фактором некрозе тумора и интерлеукином-6. Детаљним испитивањем маркера оксидационог стреса и антиоксидативног одбрамбеног система током сва три триместра трудноће, наша студија је имала за циљ да пружи увид у динамичку интеракцију између тромбофилије и оксидативног стреса и инфламације током развоја трудноће. Ово истраживање је осмишљено да процени потенцијалне разлике у динамици производње прооксидативних и антиоксидативних маркера, као и цитокина у периоду гестације у нормалној трудноћи и трудноћи са тромбофилијом. Да бисмо употпунили слику о редокс статусу током трајања трудноће, изабрали смо праћење вредности оксидативних параметара и цитокина у три временска периода, на крају 1., 2. и 3. триместра трудноће. Резултати наше студије указују да тромбофилија, оксидативни стрес, инфламација, као и њихова међусобна интеракција могу да имају значајан улогу у трудноћи. Укратко, резултати овог истраживања пружају увид у различите аспекте тромбофилије и њеног утицаја на трудноћу.

У истраживању је испитивана веза између тромбофилије и одређених параметара као што су старост трудница, паритет, тежина и дужина новорођенчади, пол новорођенчади, број претходних спонтаних побачаја, као и употреба цигарета и утроегестана у трудноћи. Иако неки параметри трудноће нису значајно утицали на присуство тромбофилије, други параметри као што су старост, претходни спонтани побачаји и употреба утроегестана показали су значајне разлике у групи која је имала тромбофилију у односу на популацију трудница без тромбофилије.

Важно је нагласити разлике у просечној старости између трудница са и без тромбофилије. Труднице са тромбофилијом имале су значајно већу просечну старост у

односу на оне без тромбофилије. Ово може указивати на потенцијалну везу између старости и ризика од тромбофилије код трудница. Могућност настанка тромбозе се повећава са годинама, као резултат различитих фактора, међу којима је свакако и трудноћа (38). Главни фактори ризика за тромбозу током трудноће су тромбофилија, оперативни порођај, старост мајке, гојазност и прееклампсија; они се могу идентификовати код око 70% жена које развију компликације током трудноће и пуерперијума (119). Ендотелна дисфункција повезана са старењем укључује појачану регулацију путева оксидативног стреса зависних од NADPH оксидазе и циклооксигеназе (120), а прекомерна експресија антиоксидативног ензима глутатион пероксидазе 1 штити крвне судове од тромбоза повезане са старењем (58, 121).

Поред тога, није било значајних разлика у паритету између две групе трудница, што може указивати на чињеницу да број претходних порођаја није значајан предиктор за тромбофилију у трудноћи. Студије су показале да жене са вишеструким претходним трудноћама имају већи ризик од развоја тромбоемболијских компликација током трудноће. Ово може бити повезано са факторима као што су промене у васкуларном тонуусу и структури, могуће оштећење ендотела крвних судова током претходних трудноћа, као и повећано циркулаторно оптерећење током вишешлодних трудноћа. Један од најважнијих индивидуалних фактора ризика за венску тромбоемболију у трудноћи је тромбоза у анамнези. Понављани тромбоемболијски догађаји чине 15% до 25% тромбоемболијских догађаја у трудноћи, а ризик од понављања венског тромбоемболизма је повећан 3 до 4 пута (122).

Што се тиче тежине и дужине новорођенчади, није било статистички значајних разлика између две групе трудница. Ово указује на то да присуство тромбофилије код трудница не утиче значајно на ове параметре развоја новорођенчади. Слично истраживање је потврдило наше резултате (123). Ипак, скорија студија је показала да је тежина новорођенчета значајно већа у контролној групи, у поређењу са групама са тромбофилијом. Поред тога, утврђена је негативна корелација између индекса телесне масе мајке, присуства тромбофилије при порођају и тежине новорођенчета (124). Ово указује да што је већи индекс телесне масе мајке са тромбофилијом, већа је вероватноћа да ће новорођенче имати мању порођајну тежину. Важно је поменути да је иста студија пронашла зависност између дозе примењиваних нискомолекуларних хепарина код мајке и тежине новорођенчета. У поменутој студији дозе нискомолекуларних хепарина су биле кориговане и прилагођивање вредностима anti-Fxa током трудноће, и то: 0,35 UI/mL у групи са наследном тромбофилијом и 0,36 UI/mL у групи са стеченом и мешовитом тромбофилијом.

У нашој студији, пол новорођенчади није показао статистички значајне разлике између две групе, што може потврдити независност пола од присуства тромбофилије у трудница. Такође, слична студија је показала да не постоји повезаност пола новорођенчета и тромбофилије (123).

Једно значајно откриће је да је број претходних спонтаних побачаја значајно различит између трудница са и без тромбофилије. Труднице са тромбофилијом имале су значајно мањи број претходних спонтаних побачаја у односу на оне без тромбофилије. Ово може указивати на потенцијалну везу између тромбофилије и раног губитка трудноће. Тумачење оваквог налаза може бити у смеру ранијег медицинског третмана код трудница које имају тромбофилију, и профилаксе нових спонтаних побачаја увођењем адекватног фармаколошког приступа. Истраживање које је обухватило 188

трудница са тромбофилијом и 202 контролне особе без тромбофилије показало је да је 22% трудница са тромбофилијом имало претходни губитак трудноће у поређењу са 11% у контролној групи (125).

Што се тиче употребе утрогестана у трудноћи, постојале су значајне разлике између група трудница. Труднице са тромбофилијом имале су већи проценат употребе утрогестана у односу на оне без тромбофилије. Овакав налаз се може тумачити у контексту могуће разлике у приступу терапији трудноће у жена са тромбофилијом, што може бити и значајно за сагледавање ризика од тромбоемболичних догађаја у току трудноће. Утрогестан је модерни прогестерон који показује максималну ефикасност са минималним нуспојавама (126). Он је природни прогестерон у микронизираном облику, што га чини погодним за оралну, али и вагиналну примену са истом ефикасношћу. Утрогестан се може широко применити у гинекологији са одговарајућим индикацијама, као што је угрожена трудноћа у првом триместру.

У нашој студији није постојала статистички значајна разлика између две групе трудница у погледу конзумирања цигарета, иако квантитативна изложеност дуванском диму може бити у позитивној корелацији са активношћу система коагулације крви. Изложеност никотину може повећати концентрације инхибитора активатора плазминогена-1 (који је главни регулатор фибринолизе) (127). иако је неразјашњено у којој мери никотин појачава коагулацију.

#### 4.1. Повезаност тромбофилије у трудноћи и параметара оксидационог стреса

Наши резултати показују да се ослобађање  $H_2O_2$  у нормалној трудноћи није разликовало током периода гестације, док је ослобађање  $O_2^-$  било највеће у првом тромесечју, а затим су се вредности смањивале до краја трудноће, у другом и трећем триместру. Значајан пад нивоа  $O_2^-$  током трудноће у овој студији може бити последица интеракције  $NO$  са реактивним врстама кисеоника (РОС), посебно  $O_2^-$ , што резултира стварањем пероксинитрита ( $ONOO^-$ ) (112). Поред тога, повишени нивои  $NO_2^-$  у другом тромесечју су регистровани у поређењу са првим, као и трећим триместром, при чему су се у трећем триместру вредности овог параметра вратиле на сличне вредности из првог триместра. Поред тога, пероксидација липида је била најнижа у првом триместру, а затим је почела да расте, како би се до краја трећег триместра уочила статистички значајна разлика у поређењу са вредностима на крају првог триместра. Такође, оваке резултате су описали и други аутори, који су објавили да је у првом тромесечју трудноће липидна пероксидација била најнижег степена, док је ниво липидне пероксидације током развоја трудноће растао (129, 129, 130). Ипак, у научној литератури се могу наћи студије чији су резултати показали различиту динамику пероксидације липида у периоду гестације. Овако различити налази могу бити последица примењене другачије методологије истраживања у односу на нашу. Други аутори су мерили коњуговане диене или липидне хидропероксиде као маркер пероксидације (131, 132), док је у нашем истраживању ниво липидне пероксидације изражен као TBARS.



Вредности CAT и GSH су биле најниже, док је вредност SOD била највећа у другом триместру. Међутим, на крају трудноће није било разлике у SOD и GSH у поређењу са вредностима у првом триместру. С друге стране, активност CAT је смањена у трећем триместру у односу на први. Повећана активност SOD у другом триместру праћена је драстичним падом концентрације  $O_2^-$  током последњег триместра. Претходне студије су показале да се активности CAT и SOD у ткивима плаценте повећавају како трудноћа напредује, док је активност глутатион пероксидазе (Gpx) остала непромењена током целе трудноће (129). Поред тога, други истраживачи су потврдили непромењену активност CAT и Gpx у еритроцитима мајке током гестације (130). Антиоксидативна активност у ткивима плаценте је значајан показатељ оксидативног статуса мајке и фетуса јер је откривено да висок оксидативни стрес мајке одговара још већем оксидативном стресу новорођенчета (72).

Са друге стране, код жена са тромбофилијом,  $NO_2^-$  се није значајно мењао током трудноће, док су нивои TBARS и  $H_2O_2$  били највиши у првом триместру, праћен значајним смањењем у другом и трећем триместру. Тренд у ослобађању  $O_2^-$  био је сасвим другачији, пошто се овај прооксидант све више стварао како је трудноћа напредовала. Повећана активност CAT, који катализује разградњу водоник-пероксида на воду и кисеоник, на крају гестације (у трећем тромесечју) може објаснити добијене резултате за концентрацију  $H_2O_2$ . Ова два параметра су се мењала у складу са напредовањем трудноће код жена са тромбофилијом, као лик у огледају. Са друге стране, смањена активност SOD, која је одговорна за реакцију катализације која претвара супероксидни анијонски радикал у водоник пероксид, праћена је вишим нивоом  $O_2^-$  у трећем тромесечју, што се свкако уклапа у физиолошке улоге овог ензима и његове ефекте на смањење супероксид ајнон радикала, код жена које су имале тромбофилију. Већа продукција NO може играти важну улогу у раном спонтаном побачају (133). Такви резултати потврђују ембриотоксички карактер NO, што води до хипотезе да NO може имати потенцијалну улогу у раној смрти ембриона (134). Губитак ембриона код мишева је повезан са локалном производњом NO (135).

Посебан фокус нашег истраживања била је потенцијална разлика у редокс статусу између нормалне трудноће и трудноће са тромбофилијом. Већи ниво већине измерених прооксиданата приметили смо код трудница са тромбофилијом током првог тромесечја, док током другог триместра разлика у посматраним вредностима није постојала. Штавише,  $NO_2^-$  и  $O_2^-$  су повећани у трећем тромесечју и у групи са тромбофилијом. Поред ових промена, открили смо ниже вредности CAT и GSH у првом триместру и нижу активност SOD у трећем триместру у трудноћи са тромбофилијом. Генерално посматрано, разлика између нормалне трудноће и трудноће са тромбофилијом у другом тромесечју није откривена.

Постоје докази да је регистрован је нижи ниво антиоксидативне заштите у организму током трудноће, али је већина студија које су се бавиле овом проблематиком била фокусирана на редокс статус здравих трудница или трудница са дијабетесом, прееклампсијом и другим стањима које се срећу код компликованих трудноћа. Међутим, подаци који се односе на антиоксидативни одбрамбени систем током трудноће са тромбофилијом су ограничени. Постоје истраживања која су имала за циљ да процене редокс статус ткива плаценте након царског реза код трудница са тромбофилијом у поређењу са здравом трудноћом, са фокусом на испитивање порекла оксидационог стреса анализирањем феталне крви и плодове воде као узорака. Њихови налази сугеришу да је већа активност CAT и Gpx присутна у плацентном ткиву тромбофилних мајки у

поређењу са здравим мајкама и да је главни прооксиданс који утиче на плацентно ткиво управо  $H_2O_2$  који је вероватно дистрибуиран из крви и ендотела мајке. Ово истраживање је такође показало да антиоксидативна активност у крви фетуса и оксидативни статус амнионске течности нису промењени код трудница са тромбофилијом (110). Рекурентни побачај у првом триместру је повезан са значајно нижим нивоима GSH, GSH-R, GSH-PX, каталазе и супероксид дисмутазе, у поређењу са контролним групама (136, 137). Ове промене су у складу са променама које настају са оксидативним стресом и одражавају повећану липидну пероксидацију код рекурентних побачаја, што доводи до потрошње антиоксиданата. GSH и GSH-PX су антиоксиданти који неутралишу слободне радикале и липидне пероксиде како би одржали унутарћелијску хомеостазу и редокс равнотежу. Повишени нивои GSH код трудница са позитивном анамнезом рекурентних побачаја били су повезани са лошијим исходима (136). Показано је да GSH штити ћелије од оксидативног стреса, и да има заштитну улогу код преимплантационог ембриона, учествујући у реакцијама које неутралишу водоник-пероксид, органске пероксиде и слободне радикале.

Повећан ниво  $H_2O_2$  код тромбофилије у односу на нормалну трудноћу у нашој студији је регистрован у првом триместру. Када  $H_2O_2$  прође мембране ћелија плаценте, плацента има тенденцију да се брани од тромбофилије активацијом антиоксидативног система заштите, посебно повећањем активности SOD, што је примећено у нашој студији. Овакав налаз је од великог значаја, обзиром на чињеницу да повећање концентрације  $H_2O_2$  може изазвати дисфункцију ћелија плаценте (138). SOD може допринети одржавању трудноће спречавајући акумулацију супероксидних радикала који узрокују синтезу PGF-2a (139). Ранија истраживања су показала да витамин Е има антиоксидативно дејство и испољава вишеструке антитромботичке ефекте како *in vitro*, тако и *in vivo*. Ови ефекти укључују смањење експресије и ослобађања адхезионих молекула на ендотелним ћелијама, чиме се омета интеракција између белих крвних зрнаца и ендотела (60). Поред тога, код здравих добровољаца, дневна доза од 600 mg витамина Е је значајно инхибирала активацију и адхезију тромбоцита индуковану колагеном, али и продукцију  $H_2O_2$  (140).

Поред тога, постоје докази о повезаности између маркера оксидације у плазми и ензима антиоксидативне одбране антепартум и постпартум код трудница са тромбофилијом. Код здравих испитаника није примећена разлика између антепарталног и постпарталног редокс статуса. С друге стране, повећан оксидационог стреса код трудница са тромбофилијом примећен је након порођаја, што указује на то да плацента игра улогу у антиоксидативној одбрани циркулације мајке пре порођаја (141).

Тромбоцити имају ефикасан антиоксидативни ензимски систем који укључује компоненте попут супероксид дисмутазе, каталазе, глутатион пероксидазе и других. Међутим, дисбаланс између оксидативног стреса и антиоксидативне заштите може довести до развоја тромботичких болести повећавањем активације тромбоцита. Активирани тромбоцити продукују реактивне кисеоничне врсте (ROS) путем различитих механизма, укључујући NADPH оксидазу, циклооксигеназу и митохондријалну респирацију. ROS даље појачавају активацију тромбоцита кроз стимулацију сигналних путева, попут PI3K и PKC. Повишен оксидативни стрес такође повећава инфламаторне медијаторе тромбоцита попут PAF-а и тромбоксана, додатно промовишући активацију тромбоцита и коагулацију. Додатно, ROS утичу на адхезивне молекуле на тромбоцитима и ендотелу, појачавајући њихову интеракцију. Инфламација и оксидативни стрес индукују стварање неутрофилних замки које могу директно активирати тромбоците и

коагулацију. Оштећен ендотел ослобађа протромботичне протеине попут колагена, ткивног фактора и von Willebrandовог фактора, додатно убрзавајући коагулацију. Коначно, ROS могу ометати антиагрегацијске механизме ендотела, попут NO сигнализације (116).

Антиоксидантни статус у нормалној трудноћи и болестима везаним за трудноћу привукао је све већи интерес у последње време. Познато је да антиоксидантни статус представља физиолошку баријеру против напада слободних радикала у одређеним деловима тела. Како би се одржали физиолошки услови, као што је нормална трудноћа, треба да постоји равнотежа између прооксидативних и антиоксидативних механизма. Нарушавање ове равнотеже, која нормално иде у корист антиоксидативне активности, доводи до патолошких клиничких стања као што је побачај. Тренутно етиологија понављајућег спонтаног побачаја није јасна и представља научни изазов, али оксидативни стрес може играти улогу (142).

## 4.2. Повезаност тромбофилије у трудноћи и цитокина (IL-6 и TNF- $\alpha$ )

Нивои интерлеукина-6 (IL-6) могу се променити током трудноће, а на ове промене често утичу различити фактори. Увидом у досадашњу литературу пронађено је да нивои IL-6 могу бити повећани, непромењени или снижени како трудноћа напредује (143). У физиолошкој трудноћи, није неуобичајено да се нивои IL-6 повећају, посебно током трећег триместра (144). Ово повећање IL-6 на крају трудноће је део сложених имунолошких адаптација које се дешавају на нивоу комуникације мајке и фетуса, како би се подржао фетус у развоју и организам мајке припремио за порођај. Слични резултати су добијени и у нашој студији. Наиме, ниво IL-6 се повећавао током напредовања трудноће код жена без тромбофилије, а статистички значајна разлика је уочена у трећем триместру у односу на први. IL-6 је цитокин који поседује различите функцијама, укључујући његову улогу у регулисању имунолошког одговора и инфламације. Током трудноће, постоји деликатан баланс између имунолошке толеранције на фетус и заштите од инфекција. Имуни систем се подвргава модулацији како би се спречило одбацивање фетуса, који у овом случају представља полу-алотрансплантат (145). Нивои различитих цитокина, укључујући IL-6, су строго регулисани како би подржали ове комплексне процесе. У многим студијама примећено је повећање нивоа IL-6 како трудноћа напредује, при чему су веће концентрације често пријављене у трећем тромесечју у поређењу са првим (144). Међутим, битно је напоменути да се могу појавити индивидуалне варијације. Поред тога, фактори као што су старост мајке, здравствено стање и присуство компликација могу утицати на нивое цитокина током трудноће (146). Одређене компликације, као што су превремени порођај или прееклампсија, могу бити повезане са различитим обрасцима експресије IL-6 (146).

Однос између нивоа IL-6 и тромбофилије, стања које карактерише повећана тенденција стварања крвних угрушака, је сложен и може зависити од различитих фактора. Тромбофилија је често повезана са проинфламаторним стањем организма. Инфламаторни процеси могу стимулисати ослобађање IL-6, поред других цитокина. Стога, особе са тромбофилијом могу показати повишене нивое IL-6 због инфламаторне

компоненте овог комплексног стања. Такође, тромбофилија може допринети ендотелној дисфункцији, стању у коме унутрашњи слој зида крвних судова не функционише оптимално. Ендотелна дисфункција може бити повезана са појачаном инфламацијом, а IL-6 је укључен у модулацију ендотелне функције (147). Када тромбофилија постоји у трудноћи, интеракција између инфламаторног одговора, хемостазе (згрушавања крви) и јединственог имунолошког окружења које је карактеристично за трудноћу може додатно компликовати однос са IL-6. Сама трудноћа укључује контролисану инфламацију, а тромбофилија може појачати овај процес. У нашој студији регистрован је статистички значајан пораст концентрације IL-6 у другој триместру код трудница са тромбофилијом у односу на први триместар. Међутим, у трећем триместру ова разлика у концентрацији IL-6 није детектована. Код пацијенткиња код којих је дошло до поновног губитка трудноће, детектовани су повишени нивои проинфламаторних цитокина, као што су фактор некрозе тумора-алфа, интерферон-гама и интерлеукин-6. Ово указује на проинфламаторно окружење које је штетно за одржавање трудноће (148). IL-6 сигнализација у организму може послужити као нова стратегија за помоћну терапију дубоке венске тромбозе (149). Нивои IL-6 се могу пратити у лабораториским анализама како би се проценио инфламаторни статус трудница, укључујући и оне са тромбофилијом. Промене нивоа IL-6 могу указивати на промене у инфламаторном и имунолошком одговору повезане са тромбофилијом. Иако постоји извесно разумевање инфламаторних аспеката тромбофилије, специфична улога IL-6 у различитим типовима тромбофилије и његове импликације на клиничке исходе су области истраживања које је у току.

Важно је нагласити да су имунолошке и инфламаторне промене током трудноће строго регулисане, а одступања од норме могу имати импликације и на здравље мајке и фетуса. Фактор некрозе тумора-алфа (TNF- $\alpha$ ) је цитокин укључен у упалу и имунски одговор. Током физиолошке трудноће, постоји сложена интеракција модулације имуног система како би се подржао развој фетуса уз очување здравља мајке. У здравој трудноћи, постоје промене у имунолошком систему да толерише присуство фетуса, који је полу-алотрансплантат (генетски различит од мајке). Ове промене укључују померање ка више антиинфламаторном окружењу, са циљем да се спречи одбацивање феталног ткива. Регулација цитокина, укључујући TNF- $\alpha$ , део је имунолошке адаптације током трудноће. Генерално, постоји тенденција смањења проинфламаторних цитокина и повећања антиинфламаторних цитокина да би се одржала имунолошка толеранција. Истраживања сугеришу да, у нормалним трудноћама, нивои TNF- $\alpha$  могу бити нижи него у стању без трудноће. Смањење проинфламаторних цитокина као што је TNF- $\alpha$  помаже у спречавању претераног имунолошког одговора који би могао бити штетан за фетус у развоју. Важно је напоменути да индивидуални одговори могу варирати. Иако може постојати општи тренд смањења TNF- $\alpha$  током трудноће (150), степен промене се може разликовати међу појединцима. При крају трудноће долази до повећања инфламаторних маркера, укључујући TNF- $\alpha$  (151), који игра улогу у покретању порођаја и процесу порођаја. Ово је нормалан део физиолошких промена које доводе до порођаја. Абнормални нивои или дисрегулација TNF- $\alpha$  могу бити повезани са компликацијама као што су превремени порођај и прееклампсија. Међутим, ова стања укључују поремећај нормалне имунолошке модулације која се види код здравих трудноћа.

Тромбофилија укључује стање хиперкоагулације, где постоји повећан ризик од абнормалног формирања крвних угрушака. Док је TNF- $\alpha$  првенствено повезан са инфламацијом и имунским одговором, његова улога у тромбофилији је вишеструка. TNF- $\alpha$  је проинфламаторни цитокин који може допринети инфламаторном одговору.

Инфламација је уско повезана са тромбозом, јер може утицати на различите компоненте каскаде коагулације и функцију ендотела. TNF- $\alpha$ , заједно са другим медијаторима инфламације, може активирати ендотелне ћелије. Активирани ендотелне ћелије могу да експримирају адхезионе молекуле и промовишу протромботично стање. TNF- $\alpha$  такође може стимулисати активацију тромбоцита, што је кључни корак у формирању крвних угрушака. Активирани тромбоцити ослобађају факторе који појачавају коагулацију и доприносе стварању тромба. У неким случајевима тромбофилије, посебно онима повезаним са аутоимуним стањима или хроничном инфламацијом, TNF- $\alpha$  може играти улогу у појачавању про-коагулантног миљеа, што наглашава међусобну повезаност инфламације и тромбозе. Тромбофилија често укључује комбинацију генетских и стечених фактора, а TNF- $\alpha$  може да ступи у интеракцију са овим факторима, као што су мутације фактора коагулације или антифосфолипидних антитела, што додатно доприноси ризику од тромбозе. Новија истраживања имају за циљ да разјасне специфичне путеве кроз које TNF- $\alpha$  доприноси тромбофилији. Клиничке студије могу проценити нивое TNF- $\alpha$  и других инфламаторних маркера код особа са тромбофилијом како би се побољшало наше разумевање ових односа. Укратко, док је TNF- $\alpha$  првенствено препознат по својој улози у запаљењу и имунолошком одговору, његово учешће у тромбофилији наглашава комплексне интеракције између инфламације и коагулације. Ова динамична интеракција је предмет сталних истраживања.

Улога TNF- $\alpha$  у трудноћи је вишеструка. TNF- $\alpha$  изгледа да регулише пролиферацију и диференцијацију трофобласта, ћелијску адхезију, ремоделирање ткива, апоптозу вилозних трофобласта и производњу хормона трофобласта (152). Стога се чини да низак је ниво TNF- $\alpha$  и користан за трудноћу, док су повишене концентрације штетне. Када се разматрају побачаји у првом тромесечју, познато је да мононуклеарне ћелије периферне крви трудница са поновљеним побачајима показују повећан потенцијал за производњу цитокина инфламаторног типа, укључујући TNF- $\alpha$  (153). Чини се да успешну и неуспешну трудноћу карактеришу различити профили цитокина у интерфејсу мајке и фетуса, и приметно је да су повишене концентрације TNF- $\alpha$  и других цитокина инфламаторног типа (Th1) штетни за трудноћу (154). Дефектна плацентација доводи до хипоксије и реперфузијске повреде плаценте због исхемије, а резултирајући оксидативни стрес покреће отпуштање цитокина и простагландина, што доводи до дисфункције ендотелних ћелија и игра важну улогу у развоју прееклампсије. Показано је да TNF- $\alpha$  узрокује оштећење ендотелних ћелија (155). Примећена је позитивна корелација између TNF- $\alpha$  и NO, што је у складу с резултатом да индуцибилна NO синтаза бива активирана цитокинима попут интерлеукина-1 и TNF- $\alpha$ , као и липополисахаридима (156).

Показано је да TNF- $\alpha$  делује синергетски са другим инфламаторним цитокинима и стимулише синтезу и отпуштање простагландина, изазивајући контракције материце и почетак порођаја. Такође је познато да TNF- $\alpha$  има важну улогу у апоптози. Продукција TNF- $\alpha$  на почетку спонтаног побачаја била веома висока у поређењу са производњом током нормалне трудноће (156). Интересантно је да супресија продукције TNF- $\alpha$  током првог триместра може погодовати нормалном развоју трудноће.

## 5. Закључци

1. У групи са тромбофилијом, ниво  $O_2^-$  је повећан у другом и трећем триместру у поређењу са првим триместром.
2. У групи са нормалном трудноћом, ниво  $O_2^-$  је био сличан у првом и другом триместру, али значајно нижи у трећем триместру.
3. Ниво  $O_2^-$  је значајно нижи у првом триместру код жена са тромбофилијом у поређењу са нормалном трудноћом, али виши у трећем триместру код жена са тромбофилијом.
4. Ниво  $NO_2^-$  је статистички значајно већи у другом триместру у односу на први и трећи триместар код жена са нормалном трудноћом.
5. Код жена са тромбофилијом, ниво  $NO_2^-$  је већи у првом и трећем триместру у поређењу са здравим трудницама.
6. Ослобађање  $H_2O_2$  је значајно веће у првом триместру у поређењу са другим и трећим триместром код жена са тромбофилијом, док код здравих трудница нема статистички значајних промена током трудноће.
7. У првом триместру ниво  $H_2O_2$  је био значајно већи код жена са тромбофилијом у односу на здраве труднице.
8. Ниво TBARS је виши у првом триместру у поређењу са другим и трећим триместром код жена са тромбофилијом, а у трећем триместру виши него у другом. Код здравих трудница, ниво TBARS је већи у трећем триместру него у првом.
9. Активност SOD је слична у првом и другом триместру, а нижа у трећем триместру код жена са тромбофилијом. Код здравих трудница, активност SOD је нижа у првом него у другом триместру.
10. Активност CAT је била већа у првом триместру у односу на други и трећи у групи са нормалном трудноћом. Такође, у трећем триместру активност CAT је била већа у односу на други.
11. У групи са тромбофилијом активност CAT је била значајно већа у трећем у односу на први и други триместар. Здраве труднице су имале већу активност CAT у односу на труднице са тромбофилијом у првом триместру.
12. Вредност GSH је била слична у првом и другом триместру, и значајно нижа у поређењу са трећим триместром. Код здравих жена, дошло је до повећања нивоа GSH у трећем триместру у односу на други триместар. У првом триместру ниво GSH је био нижи у групи са тромбофилијом у поређењу са нормалном трудноћом.

13. Код трудница са тромбофилијом, ниво IL-6 је био статистички значајно нижи у првом у односу на други триместар. Током трудноће, код здравих трудница дошло је до пораста нивоа IL-6 у другом и трећем у односу на први триместар. Разлика у нивоу IL-6 није уочена ни у једном триместру између нормалне трудноће и трудноће са тромбофилијом.

14. Концентрација TNF- $\alpha$  код трудница са тромбофилијом била је виша у сва три триместра у односу на здраве труднице. Концентрација TNF- $\alpha$  код трудница са тромбофилијом је била значајно већа у првом триместру у односу на друга два. Концентрација TNF- $\alpha$  код трудница без тромбофилије је била значјно мања у трећем триместру у односу на други триместар.

## Референце

- [1] Hunt BJ. The current place of anticoagulation in pregnancy. *Br J Haematol.* 2010;149(6):681-693.
- [2] Rodger MA, Hague WM, Kingdom J, et al. Antepartum dalteparin versus no antepartum dalteparin for the prevention of pregnancy complications in pregnant women with thrombophilia (TIPPS): a multinational open-label randomised trial. *Lancet.* 2014;384(9955):1673-1683.
- [3] Bates SM, Middeldorp S, Rodger M, James AH, Greer I. Guidance for the treatment and prevention of obstetric-associated venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis.* 2016;41(1):92-128.
- [4] Redondo S, Santos-Gallego CG, Ganado P, et al. The role of reactive oxygen species in the pathogenesis of pulmonary thromboembolism. *Physiology (Bethesda).* 2017;32(1):15-27.
- [5] Dautaj A, Krasi G, Bushati V, Precone V, Gheza M, Fioretti F, Sartori M, Costantini A, Benedetti S, Bertelli M. Hereditary thrombophilia. *Acta Biomed.* 2019 Sep 30;90(10-S):44-46. doi: 10.23750/abm.v90i10-S.8758. PMID: 31577252; PMCID: PMC7233636
- [6] Kreidy R, Irani-Hakime N. Is thrombophilia a major risk factor for deep vein thrombosis of the lower extremities among Lebanese patients? *Vasc Health Risk Manag.* 2009;5:627-33. doi: 10.2147/vhrm.s6184. Epub 2009 Aug 6. PMID: 19688103; PMCID: PMC2725795.
- [7] Wahed, A., & Dasgupta, A. (2015). Thrombophilias and Their Detection. *Hematology and Coagulation*, 263–275. doi:10.1016/b978-0-12-800241-4.00016-4
- [8] Tranquilli AR, Giannubilo SR, Dell’Uomo B, Grandone E. Adverse pregnancy outcomes are associated with multiple maternal thrombophilic factors. *Eur J Obst Gyn Repr Biol* 2004; 117(2): 144–7.
- [9] Brenner B, Aharon A. Thrombophilia and adverse pregnancy outcome. *Clin Perinatol* 2007; 34(4): 527–41, v.
- [10] Moll S. Thrombophilia: clinical-practical aspects. *J Thromb Thrombolysis.* 2015 Apr;39(3):367-78. doi: 10.1007/s11239-015-1197-3. PMID: 25724822.
- [11] Raju N, Bates SM. Preventing thrombophilia-related complications of pregnancy. *Expert Rev Hematol.* 2009 Apr;2(2):183-96. doi: 10.1586/ehm.09.8. PMID: 21083451.
- [12] Dal Y, Nazıroğlu M, Özkaya MO. Low molecular weight heparin treatment reduced apoptosis and oxidative cytotoxicity in the thrombocytes of patients with recurrent pregnancy



loss and thrombophilia: Involvements of TRPM2 and TRPV1 channels. *J Obstet Gynaecol Res.* 2023 May;49(5):1355-1365. doi: 10.1111/jog.15612. Epub 2023 Feb 18. PMID: 36807656.

[13] Stevens SM, Woller SC, Bauer KA, Kasthuri R, Cushman M, Streiff M, Lim W, Douketis JD. Guidance for the evaluation and treatment of hereditary and acquired thrombophilia. *J Thromb Thrombolysis.* 2016 Jan;41(1):154-64. doi: 10.1007/s11239-015-1316-1. PMID: 26780744; PMCID: PMC4715840.

[14] Vrotniakaite-Bajerciene, K.; Tritschler, T.; Jalowiec, K.A.; Broughton, H.; Brodard, J.; Porret, N.A.; Haynes, A.; Rovo, A.; Kremer Hovinga, J.A.; Aujesky, D.; et al. Thrombophilia Impact on Treatment Decisions, Subsequent Venous or Arterial Thrombosis and Pregnancy-Related Morbidity: A Retrospective Single-Center Cohort Study. *J. Clin. Med.* 2022, 11, 4188. <https://doi.org/10.3390/jcm11144188>

[15] Connors JM. Thrombophilia Testing and Venous Thrombosis. *N Engl J Med.* 2017 Sep 21;377(12):1177-1187. doi: 10.1056/NEJMra1700365. PMID: 28930509.

[16] Campello E, Spiezia L, Adamo A, Simioni P. Thrombophilia, risk factors and prevention. *Expert Rev Hematol.* 2019 Mar;12(3):147-158. doi: 10.1080/17474086.2019.1583555. Epub 2019 Feb 26. PMID: 30773075.

[17] Kujovich JL. Factor V Leiden thrombophilia. *Genet Med.* 2011 Jan;13(1):1-16. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181faa0f2. PMID: 21116184.

[18] Armstrong EM, Bellone JM, Hornsby LB, Treadway S, Phillippe HM. Acquired Thrombophilia. *J Pharm Pract.* 2014 Jun;27(3):234-42. doi: 10.1177/0897190014530424. Epub 2014 Apr 17. PMID: 24742931.

[19] Greaves M. Acquired thrombophilia. *Vasc Med.* 2004 May;9(3):215-8. doi: 10.1191/1358863x04vm533xx. PMID: 15675187.

[20] Simcox LE, Ormesher L, Tower C, Greer IA. Thrombophilia and Pregnancy Complications. *Int J Mol Sci.* 2015 Nov 30;16(12):28418-28. doi: 10.3390/ijms161226104. PMID: 26633369; PMCID: PMC4691051.

[21] Middeldorp S, Naue C, Köhler C. Thrombophilia, Thrombosis and Thromboprophylaxis in Pregnancy: For What and in Whom? *Hamostaseologie.* 2022 Feb;42(1):54-64. doi: 10.1055/a-1717-7663. Epub 2022 Feb 23. PMID: 35196731.

[22] Eldor A. Thrombophilia and its treatment in pregnancy. *J Thromb Thrombolysis.* 2001 Sep;12(1):23-30. doi: 10.1023/a:1012730325902. PMID: 11711685.

[23] Maiello M, Torella M, Caserta L, Caserta R, Sessa M, Tagliaferri A, Bernacchi M, Napolitano M, Nappo C, De Lucia D, Panariello S. Trombofilia in gravidanza: evidenze clinico-sperimentali di uno stato trombofilico [Hypercoagulability during pregnancy: evidences for a thrombophilic state]. *Minerva Ginecol.* 2006 Oct;58(5):417-22. Italian. PMID: 17006429.

[24] Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy. *Thromb Res.* 2004;114(5-6):409-14. doi: 10.1016/j.thromres.2004.08.004. PMID: 15507271.

[25] Takashima M, Yamasaki M, Ohashi M, Morikawa H, Mochizuki M. [A trial of low-dose aspirin therapy in high-risk pregnancy]. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*. 1992 Jul;44(7):845-52. Japanese. PMID: 1500806.

[26] Oruç S, Saruç M, Koyuncu FM, Ozdemir E. Changes in the plasma activities of protein C and protein S during pregnancy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2000 Nov;40(4):448-50. doi: 10.1111/j.1479-828x.2000.tb01179.x. PMID: 11194434.

[27] Gore M, Eldon S, Trofatter KF, Soong SJ, Pizzo SV. Pregnancy-induced changes in the fibrinolytic balance: evidence for defective release of tissue plasminogen activator and increased levels of the fast-acting tissue plasminogen activator inhibitor. *Am J Obstet Gynecol*. 1987 Mar;156(3):674-80. doi: 10.1016/0002-9378(87)90076-7. PMID: 3493696.

[28] Gris JC, Guillotin F, Chéa M, Bourguignon C, Bouvier S. The Risk of Thrombosis Around Pregnancy: Where Do We Stand? *Front Cardiovasc Med*. 2022 May 26;9:901869. doi: 10.3389/fcvm.2022.901869. PMID: 35722088; PMCID: PMC9205638.

[29] Tripodi A, Mannucci PM. Laboratory investigation of thrombophilia. *Clin Chem*. 2001 Sep;47(9):1597-606. PMID: 11514392.

[30] Reese JA, Peck JD, Deschamps DR, McIntosh JJ, Knudtson EJ, Terrell DR, Vesely SK, George JN. Platelet Counts during Pregnancy. *N Engl J Med*. 2018 Jul 5;379(1):32-43. doi: 10.1056/NEJMoa1802897. PMID: 29972751; PMCID: PMC6049077.

[31] Ciobanu AM, Colibaba S, Cimpoa B, Peltecu G, Panaitescu AM. Thrombocytopenia in Pregnancy. *Maedica (Bucur)*. 2016 Mar;11(1):55-60. PMID: 28465752; PMCID: PMC5394486.

[32] Said JM, Ignjatovic V, Monagle PT, Walker SP, Higgins JR, Brennecke SP. Altered reference ranges for protein C and protein S during early pregnancy: Implications for the diagnosis of protein C and protein S deficiency during pregnancy. *Thromb Haemost*. 2010 May;103(5):984-8. doi: 10.1160/TH09-07-0476. Epub 2010 Feb 19. PMID: 20174758.

[33] Hale SA, Sobel B, Benvenuto A, Schonberg A, Badger GJ, Bernstein IM. Coagulation and Fibrinolytic System Protein Profiles in Women with Normal Pregnancies and Pregnancies Complicated by Hypertension. *Pregnancy Hypertens*. 2012 Apr 1;2(2):152-157. doi: 10.1016/j.preghy.2012.01.004. PMID: 22712057; PMCID: PMC3375860.

[34] O'Shaughnessy F, O'Reilly D, Ní Áinle F. Current opinion and emerging trends on the treatment, diagnosis, and prevention of pregnancy-associated venous thromboembolic disease: a review. *Transl Res*. 2020 Nov;225:20-32. doi: 10.1016/j.trsl.2020.06.004. Epub 2020 Jun 15. PMID: 32554071.

[35] Bremme KA. Haemostatic changes in pregnancy. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2003 Jun;16(2):153-68. doi: 10.1016/s1521-6926(03)00021-5. PMID: 12763484.

[36] Bagot CN, Leishman E, Onyiaodike CC, Jordan F, Freeman DJ. Normal pregnancy is associated with an increase in thrombin generation from the very early stages of the first

trimester. *Thromb Res.* 2017 Sep;157:49-54. doi: 10.1016/j.thromres.2017.06.027. Epub 2017 Jun 29. PMID: 28692840.

[37] Gong JM, Shen Y, He YX. Reference Intervals of Routine Coagulation Assays During the Pregnancy and Puerperium Period. *J Clin Lab Anal.* 2016 Nov;30(6):912-917. doi: 10.1002/jcla.21956. Epub 2016 Apr 7. PMID: 27061783; PMCID: PMC6806709.

[38] Samfireag M, Potre C, Potre O, Tudor R, Hoinoiu T, Anghel A. Approach to Thrombophilia in Pregnancy-A Narrative Review. *Medicina (Kaunas).* 2022 May 23;58(5):692. doi: 10.3390/medicina58050692. PMID: 35630108; PMCID: PMC9145888.

[39] Szecsi P.B., Jørgensen M., Klajnbard A., Andersen M.R., Colov N.P., Stender S. Haemostatic reference intervals in pregnancy. *Thromb. Haemost.* 2010;103:718–727. doi: 10.1160/TH09-10-0704.

[40] Dobbenga-Rhodes Y. Shedding Light on Inherited Thrombophilias: The Impact on Pregnancy. *J. Perinat. Neonatal Nurs.* 2016;30:36–44. doi: 10.1097/JPN.000000000000146.

[41] Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS, Pramodh S, Alsulimani A, Alkhanani MF, Harakeh S, Hussain A, Haque S, Reshi MS. Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells.* 2022 Feb 5;11(3):552. doi: 10.3390/cells11030552. PMID: 35159361; PMCID: PMC8833991.

[42] Fruhwirth GO, Hermetter A. Mediation of apoptosis by oxidized phospholipids. *Subcell Biochem.* 2008;49:351-67. doi: 10.1007/978-1-4020-8831-5\_13. PMID: 18751918.

[43] Auten RL, Whorton MH, Nicholas Mason S. Blocking neutrophil influx reduces DNA damage in hyperoxia-exposed newborn rat lung. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002 Apr;26(4):391-7. doi: 10.1165/ajrcmb.26.4.4708. PMID: 11919074.

[44] Poetsch AR. The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis. *Comput Struct Biotechnol J.* 2020 Jan 7;18:207-219. doi: 10.1016/j.csbj.2019.12.013. PMID: 31993111; PMCID: PMC6974700.

[45] Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 2012 Jan;5(1):9-19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613. Epub 2012 Jan 13. PMID: 23268465; PMCID: PMC3488923.

[46] Kander MC, Cui Y, Liu Z. Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med.* 2017 May;21(5):1024-1032. doi: 10.1111/jcmm.13038. Epub 2016 Dec 13. PMID: 27957792; PMCID: PMC5387169.

[47] White RE, Gerrity R, Barman SA, Han G. Estrogen and oxidative stress: A novel mechanism that may increase the risk for cardiovascular disease in women. *Steroids.* 2010 Nov;75(11):788-93. doi: 10.1016/j.steroids.2009.12.007. Epub 2010 Jan 7. PMID: 20060403; PMCID: PMC2891201.

- [48] Stepniak J, Karbownik-Lewinska M. 17 $\beta$ -estradiol prevents experimentally-induced oxidative damage to membrane lipids and nuclear DNA in porcine ovary. *Syst Biol Reprod Med.* 2016;62(1):17-21. doi: 10.3109/19396368.2015.1101510. Epub 2015 Dec 17. PMID: 26677908.
- [49] Alonso-Alvarez C, Bertrand S, Faivre B, Chastel O, Sorci G. Testosterone and oxidative stress: the oxidation handicap hypothesis. *Proc Biol Sci.* 2007 Mar 22;274(1611):819-25. doi: 10.1098/rspb.2006.3764. PMID: 17251089; PMCID: PMC2093982.
- [50] Joksimović J, Selaković D, Jakovljević V, Mihailović V, Katanić J, Boroja T, Rosić G. Alterations of the oxidative status in rat hippocampus and prodepressant effect of chronic testosterone enanthate administration. *Mol Cell Biochem.* 2017 Sep;433(1-2):41-50. doi: 10.1007/s11010-017-3014-0. Epub 2017 Mar 24. PMID: 28342008.
- [51] Bąk A., Roszkowski K. Oxidative stress in pregnant women. *Archives of Perinatal Medicine .* 2013;19(3):155–155.
- [52] Duhig K., Chappell L., Shennan A. Oxidative stress in pregnancy and reproduction. *Obstetric Medicine .* 2016;9(3):113–116. doi: 10.1177/1753495X16648495
- [53] Toescu V., Nuttall S. L., Martin U., Kendall M. J., Dunne F. Oxidative stress and normal pregnancy. *Clinical Endocrinology.* 2002;57(5):609–613. doi: 10.1046/j.1365-2265.2002.01638.x.
- [54] Hussain T, Murtaza G, Metwally E, Kalhoro DH, Kalhoro MS, Rahu BA, Sahito RGA, Yin Y, Yang H, Chughtai MI, Tan B. The Role of Oxidative Stress and Antioxidant Balance in Pregnancy. *Mediators Inflamm.* 2021 Sep 27;2021:9962860. doi: 10.1155/2021/9962860. PMID: 34616234; PMCID: PMC8490076.
- [55] Morales E, García-Serna AM, Larqué E, Sánchez-Campillo M, Serrano-Munera A, Martinez-Graciá C, Santaella-Pascual M, Suárez-Martínez C, Vioque J, Noguera-Velasco JA, Avilés-Plaza FV, Martínez-Villanueva M, Ballesteros-Meseguer C, Galdo-Castiñeira L, García-Marcos L. Dietary Patterns in Pregnancy and Biomarkers of Oxidative Stress in Mothers and Offspring: The NELA Birth Cohort. *Front Nutr.* 2022 Apr 12;9:869357. doi: 10.3389/fnut.2022.869357. PMID: 35495932; PMCID: PMC9039535.
- [56] Lyu Y, Wang G, Sun Z, Cui X, Xiu Q, Wu L. The association of maternal fat-soluble antioxidants in early pregnancy with gestational diabetes mellitus: a prospective cohort study. *Nutr Diabetes.* 2022 Dec 9;12(1):49. doi: 10.1038/s41387-022-00227-x. PMID: 36494332; PMCID: PMC9734187.
- [57] Li Z, Bi R, Sun S, Chen S, Chen J, Hu B, Jin H. The Role of Oxidative Stress in Acute Ischemic Stroke-Related Thrombosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022 Nov 16;2022:8418820. doi: 10.1155/2022/8418820. PMID: 36439687; PMCID: PMC9683973.
- [58] Wang Q, Zennadi R. Oxidative Stress and Thrombosis during Aging: The Roles of Oxidative Stress in RBCs in Venous Thrombosis. *Int J Mol Sci.* 2020 Jun 15;21(12):4259. doi: 10.3390/ijms21124259. PMID: 32549393; PMCID: PMC7352981.

- [59] Vincenzo, S.D.; Ferrante, G.; Ferraro, M.; Cascio, C.; Malizia, V.; Licari, A.; La Grutta, S.; Pace, E. Oxidative Stress, Environmental Pollution, and Lifestyle as Determinants of Asthma in Children. *Biology* 2023, 12, 133. <https://doi.org/10.3390/biology12010133>
- [60] Gutmann C, Siow R, Gwozdz AM, Saha P, Smith A. Reactive Oxygen Species in Venous Thrombosis. *Int J Mol Sci.* 2020 Mar 11;21(6):1918. doi: 10.3390/ijms21061918. PMID: 32168908; PMCID: PMC7139897.
- [61] Rosenfeld MA, Bychkova AV, Shchegolikhin AN, Leonova VB, Kostanova EA, Biryukova MI, Sultimova NB, Konstantinova ML. Fibrin self-assembly is adapted to oxidation. *Free Radic Biol Med.* 2016 Jun;95:55-64. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.005. Epub 2016 Mar 9. PMID: 26969792
- [62] De Cristofaro R, Landolfi R. Oxidation of human alpha-thrombin by the myeloperoxidase-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-chloride system: structural and functional effects. *Thromb Haemost.* 2000 Feb;83(2):253-61. PMID: 10739383.
- [63] Sakai J, Li J, Subramanian KK, Mondal S, Bajrami B, Hattori H, Jia Y, Dickinson BC, Zhong J, Ye K, Chang CJ, Ho YS, Zhou J, Luo HR. Reactive oxygen species-induced actin glutathionylation controls actin dynamics in neutrophils. *Immunity.* 2012 Dec 14;37(6):1037-49. doi: 10.1016/j.immuni.2012.08.017. Epub 2012 Nov 15. PMID: 23159440; PMCID: PMC3525814.
- [64] Maruyama T, Hieda M, Mawatari S, Fujino T. Rheological Abnormalities in Human Erythrocytes Subjected to Oxidative Inflammation. *Front Physiol.* 2022 Feb 23;13:837926. doi: 10.3389/fphys.2022.837926. PMID: 35283782; PMCID: PMC8905344.
- [65] Singh M., Shin S. (2009). Changes in erythrocyte aggregation and deformability in diabetes mellitus: a brief review. *Indian J. Exp. Biol.* 47 7–15.
- [66] Gillespie AH, Doctor A. Red Blood Cell Contribution to Hemostasis. *Front Pediatr.* 2021 Apr 1;9:629824. doi: 10.3389/fped.2021.629824. PMID: 33869111; PMCID: PMC8047051.
- [67] Kim Y, Goodman MD, Jung AD, Abplanalp WA, Schuster RM, Caldwell CC, Lentsch AB, Pritts TA. Microparticles from aged packed red blood cell units stimulate pulmonary microthrombus formation via P-selectin. *Thromb Res.* 2020 Jan;185:160-166. doi: 10.1016/j.thromres.2019.11.028. Epub 2019 Nov 26. PMID: 31821908; PMCID: PMC7061313.
- [68] Wang YP, Walsh SW, Guo JD, Zhang JY. Maternal levels of prostacyclin, thromboxane, vitamin E, and lipid peroxides throughout normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165(6 Pt 1): 1690–4.
- [69] Little RE, Gladen BC. Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy: A review of the literature. *Reprod Toxicol* 1999;13(5): 347–52.

- [70] Gupta S, Agarwal A, Banerjee J, Alvarez JG. The role of oxidative stress in spontaneous abortion and recurrent pregnancy loss: a systematic review. *Obstet Gynecol Surv* 2007; 62(5): 335–47; quiz 353–4.
- [71] Argüelles S, Machado MJ, Ayala A, Machado A, Hervías B. Correlation between circulating biomarkers of oxidative stress of maternal and umbilical cord blood at birth. *Free Radic Res* 2006; 40(6): 565–70
- [72] Laude I, Rongières-Bertrand C, Boyer-Neumann C, Wolf M, Mairovitz V, Hugel B, et al. Circulating procoagulant microparticles in women with unexplained pregnancy loss: A new insight. *Thromb Haemost* 2001; 85(1): 18–21.
- [73] Bogdanović Pristov J, Spasojevic I, Mikovic Z, Mandic V, Cerovic N, Spasic M. Antioxidative defense enzymes in placenta protect placenta and fetus in inherited thrombophilia from hydrogen peroxide. *Oxid Med Cell Longev* 2009; 2(1): 14–8.
- [74] Shaito A, Aramouni K, Assaf R, Parenti A, Orekhov A, Yazbi AE, Pintus G, Eid AH. Oxidative Stress-Induced Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2022 Mar 18;27(3):105. doi: 10.31083/j.fbl2703105. PMID: 35345337.
- [75] Loscalzo J. Oxidative stress in endothelial cell dysfunction and thrombosis. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2002 Sep-Dec;32(5-6):359-60. doi: 10.1159/000073600. PMID: 13679676.
- [76] Jackson SP, Darbousset R, Schoenwaelder SM. Thromboinflammation: challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms. *Blood*. 2019 Feb 28;133(9):906-918. doi: 10.1182/blood-2018-11-882993. Epub 2019 Jan 14. PMID: 30642917.
- [77] Majed BH, Khalil RA. Molecular mechanisms regulating the vascular prostacyclin pathways and their adaptation during pregnancy and in the newborn. *Pharmacol Rev*. 2012 Jul;64(3):540-82. doi: 10.1124/pr.111.004770. Epub 2012 Jun 7. PMID: 22679221; PMCID: PMC3400831.
- [78] Norooznejhad AH, Mansouri K. Endothelial cell dysfunction, coagulation, and angiogenesis in coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Microvasc Res*. 2021 Sep;137:104188. doi: 10.1016/j.mvr.2021.104188. Epub 2021 May 20. PMID: 34022205; PMCID: PMC8135191.
- [79] Hamilos M, Petousis S, Parthenakis F. Interaction between platelets and endothelium: from pathophysiology to new therapeutic options. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2018 Oct;8(5):568-580. doi: 10.21037/cdt.2018.07.01. PMID: 30498682; PMCID: PMC6232347.
- [80] Yeung J, Li W, Holinstat M. Platelet Signaling and Disease: Targeted Therapy for Thrombosis and Other Related Diseases. *Pharmacol Rev*. 2018 Jul;70(3):526-548. doi: 10.1124/pr.117.014530. PMID: 29925522; PMCID: PMC6013590.
- [81] Koupenova M, Kehrel BE, Corkrey HA, Freedman JE. Thrombosis and platelets: an update. *Eur Heart J*. 2017 Mar 14;38(11):785-791. doi: 10.1093/eurheartj/ehw550. PMID: 28039338.

- [82] Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM, Stafforini DM. The platelet-activating factor signaling system and its regulators in syndromes of inflammation and thrombosis. *Crit Care Med.* 2002 May;30(5 Suppl):S294-301. doi: 10.1097/00003246-200205001-00020. PMID: 12004251
- [83] Kamphuisen PW, Eikenboom JC, Bertina RM. Elevated factor VIII levels and the risk of thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001 May;21(5):731-8. doi: 10.1161/01.atv.21.5.731. PMID: 11348867.
- [84] Previtali E, Bucciarelli P, Passamonti SM, Martinelli I. Risk factors for venous and arterial thrombosis. *Blood Transfus.* 2011 Apr;9(2):120-38. doi: 10.2450/2010.0066-10. Epub 2010 Oct 25. PMID: 21084000; PMCID: PMC3096855.
- [85] Kohli S, Shahzad K, Jouppila A, Holthöfer H, Isermann B, Lassila R. Thrombosis and Inflammation-A Dynamic Interplay and the Role of Glycosaminoglycans and Activated Protein C. *Front Cardiovasc Med.* 2022 Mar 31;9:866751. doi: 10.3389/fcvm.2022.866751. PMID: 35433860; PMCID: PMC9008778
- [86] Theofilis P, Sagris M, Oikonomou E, Antonopoulos AS, Siasos G, Tsioufis C, Tousoulis D. Inflammatory Mechanisms Contributing to Endothelial Dysfunction. *Biomedicines.* 2021 Jul 6;9(7):781. doi: 10.3390/biomedicines9070781. PMID: 34356845; PMCID: PMC8301477.
- [87] Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol.* 2005 Nov;131(4):417-30. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05753.x. PMID: 16281932
- [88] Stark K, Massberg S. Interplay between inflammation and thrombosis in cardiovascular pathology. *Nat Rev Cardiol.* 2021 Sep;18(9):666-682. doi: 10.1038/s41569-021-00552-1. Epub 2021 May 6. PMID: 33958774; PMCID: PMC8100938.
- [89] Huang X, Liu B, Wei Y, Beyea R, Yan H, Olson ST. Lipid oxidation inactivates the anticoagulant function of protein Z-dependent protease inhibitor (ZPI). *J Biol Chem.* 2017 Sep 1;292(35):14625-14635. doi: 10.1074/jbc.M117.793901. Epub 2017 Jul 17. PMID: 28717005; PMCID: PMC5582853.
- [90] van Hinsbergh VW. Endothelium--role in regulation of coagulation and inflammation. *Semin Immunopathol.* 2012 Jan;34(1):93-106. doi: 10.1007/s00281-011-0285-5. Epub 2011 Aug 4. PMID: 21845431; PMCID: PMC3233666.
- [91] Haram K, Mortensen JH, Myking O, Magann EF, Morrison JC. The Role of Oxidative Stress, Adhesion Molecules and Antioxidants in Preeclampsia. *Curr Hypertens Rev.* 2019;15(2):105-112. doi: 10.2174/1573402115666190119163942. PMID: 30663572.
- [92] Siudut J, Natorska J, Wypasek E, Wiewiórka Ł, Ostrowska-Kaim E, Wiśniowska-Śmiałek S, Plens K, Legutko J, Undas A. Impaired Fibrinolysis in Patients with Isolated Aortic Stenosis is Associated with Enhanced Oxidative Stress. *J Clin Med.* 2020 Jun 25;9(6):2002. doi: 10.3390/jcm9062002. PMID: 32630544; PMCID: PMC7355626.

- [93] Cheung PY, Salas E, Schulz R, Radomski MW. Nitric oxide and platelet function: implications for neonatology. *Semin Perinatol*. 1997 Oct;21(5):409-17. doi: 10.1016/s0146-0005(97)80006-7. PMID: 9352613.
- [94] Mistry HD, Williams PJ. The importance of antioxidant micronutrients in pregnancy. *Oxid Med Cell Longev*. 2011;2011:841749. doi: 10.1155/2011/841749. Epub 2011 Sep 13. PMID: 21918714; PMCID: PMC3171895.
- [95] Olas B. The Antioxidant, Anti-Platelet and Anti-Coagulant Properties of Phenolic Compounds, Associated with Modulation of Hemostasis and Cardiovascular Disease, and Their Possible Effect on COVID-19. *Nutrients*. 2022 Mar 26;14(7):1390. doi: 10.3390/nu14071390. PMID: 35406002; PMCID: PMC9003312.
- [96] Türker FS, Malbora A, Erisir M. Oxidative status and antioxidant enzyme levels in deep venous thrombosis patients. *Am J Cardiovasc Dis*. 2021 Feb 20;11(1):176-183. PMID: 33815933; PMCID: PMC8012287.
- [97] Sobotková A, Másová-Chrastinová L, Suttnar J, Stikarová J, Májek P, Reicheltová Z, Kotlín R, Weisel JW, Malý M, Dyr JE. Antioxidants change platelet responses to various stimulating events. *Free Radic Biol Med*. 2009 Dec 15;47(12):1707-14. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.09.015. Epub 2009 Sep 17. PMID: 19766712; PMCID: PMC2854508.
- [98] Nandi A, Yan LJ, Jana CK, Das N. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Nov 11;2019:9613090. doi: 10.1155/2019/9613090. PMID: 31827713; PMCID: PMC6885225.
- [99] Carillon J, Rouanet JM, Cristol JP, Brion R. Superoxide dismutase administration, a potential therapy against oxidative stress related diseases: several routes of supplementation and proposal of an original mechanism of action. *Pharm Res*. 2013 Nov;30(11):2718-28. doi: 10.1007/s11095-013-1113-5. Epub 2013 Jun 21. PMID: 23793992.
- [100] Lushchak VI. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *J Amino Acids*. 2012;2012:736837. doi: 10.1155/2012/736837. Epub 2012 Feb 28. PMID: 22500213; PMCID: PMC3303626.
- [101] Glassman I, Le N, Mirhosseini M, Alcantara CA, Asif A, Goulding A, Muneer S, Singh M, Robison J, Guilford F, Venketaraman V. The Role of Glutathione in Prevention of COVID-19 Immunothrombosis: A Review. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2023 Mar 20;28(3):59. doi: 10.31083/j.fbl2803059. PMID: 37005767; PMCID: PMC10406467.
- [102] McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen. *J Biol Chem* 1969; 244(22): 6056-63.
- [103] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2): 351-8.



- [104] Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PI, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982; 126(1): 131-8.
- [105] Auclair C, Voisin E. Nitrobluetetrazolium reduction. In: Greenwald RA (ed) *Handbook of methods for oxygen radical research*. CRP Press, Boca Raton 1985: pp 123-32.
- [106] Pick E, Keisari Y. A simple colometric method for the measurement of hydrogen peroxide by cells in culture. *J Immunol Methods* 1980; 38(1-2): 161-70.
- [107] Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxidedismutase. *J BiolChem* 1972; 247(10): 3170-5.
- [108] Beutler E. Catalase. In: Beutler E (ed) *Red cell metabolism, a manual of biochemical methods*. Grune and Stratton, New York 1982, pp 105-6.
- [109] Beutler E. Reduced glutathione (GSH). In: Beutler E (ed) *Red cell metabolism, a manual of biochemical methods*. Grune and Stratton, New York 1975, pp 112-4.
- [110] Pristov JB, Spasojevic I, Mikovic Z, Mandic V, Cerovic N, Spasic M. Antioxidative defense enzymes in placenta protect placenta and fetus in inherited thrombophilia from hydrogen peroxide. *Oxid Med Cell Longev*. 2009 Jan-Mar;2(1):14-8. doi: 10.4161/oxim.2.1.7705. PMID: 20046640; PMCID: PMC2763226.
- [111] Merriman L, Greaves M. Testing for thrombophilia: an evidence-based approach. *Postgrad Med J* 2006; 82:699-704.
- [112] Middeldorp S. Thrombophilia and pregnancy complications: cause or association? *J Thromb Haemost* 2007; 5:276-282.
- [113] Rambaldi MP, Mecacci F, Guaschino S, Paidas MJ. Inherited and acquired thrombophilias. *Reprod Sci* 2014; 21:167-182.
- [114] Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism* 2000; 49:3-8.
- [115] Tobała-Wróbel K, Pietryga M, Dydowicz P, Napierała M, Bączert J, Florek E. Association of Oxidative Stress on Pregnancy. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 Sep 15;2020:6398520. doi: 10.1155/2020/6398520.
- [116] Li P, Ma, X, Huang, G. (2024). Understanding thrombosis: the critical role of oxidative stress. *Hematology*, 29(1). <https://doi.org/10.1080/16078454.2023.2301633>
- [117] Grandone E, Piazza G. Thrombophilia, Inflammation, and Recurrent Pregnancy Loss: A Case-Based Review. *Semin Reprod Med*. 2021 Mar;39(1-02):62-68. doi: 10.1055/s-0041-1731827. Epub 2021 Jul 2. PMID: 34215013.
- [118] Jauniaux E, Poston L, Burton GJ. Placental-related diseases of pregnancy: Involvement of oxidative stress and implications in human evolution. *Hum Reprod Update*. 2006 Nov-

Dec;12(6):747-55. doi: 10.1093/humupd/dml016. Epub 2006 May 8. PMID: 16682385; PMCID: PMC1876942.

[119] Tan JY. Thrombophilia in pregnancy. *Ann Acad Med Singap.* 2002 May;31(3):328-34. PMID: 12061293.

[120] Silva G.C., Abbas M., Khemais-Benkhiat S., Burbán M., Ribeiro T.P., Toti F., Idris-Khodja N., Cortes S.F., Schini-Kerth V.B. Replicative senescence promotes prothrombotic responses in endothelial cells: Role of NADPH oxidase- and cyclooxygenase-derived oxidative stress. *Exp. Gerontol.* 2017;93:7–15. doi: 10.1016/j.exger.2017.04.006.

[121] Dayal S., Wilson K.M., Motto D.G., Miller F.J., Jr., Chauhan A.K., Lentz S.R. Hydrogen peroxide promotes aging-related platelet hyperactivation and thrombosis. *Circulation.* 2013;127:1308–1316. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000966.

[122] James AH. Pregnancy-associated thrombosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2009;277-85. doi: 10.1182/asheducation-2009.1.277. PMID: 20008211.

[123] Dusek J, Nedvedova L, Scheinost O, Hanzl M, Kantorova E, Fendrstatova E, Sram RJ, Kotouckova H, Voracek J. Frequency of Leiden Mutation in Newborns with Birth Weight below 1500 g. *Healthcare (Basel).* 2022 May 6;10(5):865. doi: 10.3390/healthcare10050865. PMID: 35628002; PMCID: PMC9140989.

[124] Samfireag M, Potre O, Potre C, Moleriu RD, Petre I, Borsi E, Hoinoiu T, Petre I, Popoiu TA, Iurciuc S, Anghel A. Maternal and Newborn Characteristics-A Comparison between Healthy and Thrombophilic Pregnancy. *Life (Basel).* 2023 Oct 19;13(10):2082. doi: 10.3390/life13102082. PMID: 37895463; PMCID: PMC10608229.

[125] Brenner B. Thrombophilia in pregnancy and its role in abortion. *Womens Health (Lond).* 2005 Jul;1(1):35-8. doi: 10.2217/17455057.1.1.35. PMID: 19803944.

[126] Marinov B, Petkova S, Dukovski A, Georgiev G, Garnizov T, Manchev V, Kolarov G, Iunakova M. Utrogestan i zastrashena bremennost [Utrogestan and high risk pregnancy]. *Akush Ginekol (Sofia).* 2004;43(5):22-4. Bulgarian. PMID: 15518280.

[127] Tapsón VF. The role of smoking in coagulation and thromboembolism in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc.* 2005;2(1):71-7. doi: 10.1513/pats.200407-038MS. PMID: 16113472.

[128] Iioka H, Akada S, Hisanaga H, Shimamoto T, Yamada Y, Moriyama IS, et al. Changes in plasma levels of lipid peroxide and vitamin E during pregnancy. *Asia Oceania J Obstet Gynecol* 1991; 17:357–361.

[129] Takehara Y, Yoshioka T, Sasaki J. Changes in the levels of lipoperoxide and antioxidant factors in human placenta during gestation. *Acta Med Okayama* 1990; 44:103–111.

[130] Carone D, Loverro G, Greco P, Capuano F, Selvaggi L. Lipid peroxidation products and antioxidant enzymes in red blood cells during normal and diabetic pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1993; 51:103–109.

- [131] Gladen BC, Tabacova S, Baird DD, Little RE, Balabaeva L. Variability of lipid hydroperoxides in pregnant and nonpregnant women. *Reprod Toxicol* 1999; 13:41–44.
- [132] Uotila J, Tuimala R, Aarnio T, Pyykko K, Ahotupa M. Lipid peroxidation products, selenium-dependent glutathione peroxidase, and vitamin E in normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1991; 42:95–100.
- [133] Xia G, Sun Y. Expression of the inducible nitric oxide synthase isoform in chorionic villi in the early spontaneous abortion. *J Tongji Med Univ.* 2000;20(4):338-9. doi: 10.1007/BF02888198. PMID: 12840930.
- [134] Athanassakis I, Aifantis I, Baritakis S, Farmakiotis V, Koumantakis E, Vassiliadis S. Nitric oxide production by pre-implantation embryos in response to embryotoxic factors. *Cell Physiol Biochem.* 2000;10(3):169-76. doi: 10.1159/000016347. PMID: 10878447.
- [135] Wilson R, McInnes I, Leung B, McKillop JH, Walker JJ. Altered interleukin 12 and nitric oxide levels in recurrent miscarriage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1997 Dec;75(2):211-4. doi: 10.1016/s0301-2115(97)00124-3. PMID: 9447376.
- [136] Miller H, Wilson R, Jenkins C, MacLean MA, Roberts J, Walker JJ. Glutathione levels and miscarriage. *Fertil Steril.* 2000 Dec;74(6):1257-8. doi: 10.1016/s0015-0282(00)01585-5. PMID: 11119764.
- [137] Smith CV, Jones DP, Guenther TM, Lash LH, Lauterburg BH. Compartmentation of glutathione: implications for the study of toxicity and disease. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1996 Sep;140(1):1-12. doi: 10.1006/taap.1996.0191. PMID: 8806864.
- [138] Lucchesi PA, Belmadani S, Matrougui K. Hydrogen peroxide acts as both vasodilator and vasoconstrictor in the control of perfused mouse mesenteric resistance arteries. *J Hypertens* 2005; 23:571–579.
- [139] Sugino N, Nakata M, Kashida S, Karube A, Takiguchi S, Kato H. Decreased superoxide dismutase expression and increased concentrations of lipid peroxide and prostaglandin F(2alpha) in the decidua of failed pregnancy. *Mol Hum Reprod.* 2000 Jul;6(7):642-7. doi: 10.1093/molehr/6.7.642. PMID: 10871652.
- [140] Steiner M, Glantz M, Lekos A. Vitamin E plus aspirin compared with aspirin alone in patients with transient ischemic attacks. *Am J Clin Nutr.* 1995;62(6 Suppl):1381s–1384s. doi:10.1093/ajcn/62.6.1381S
- [141] Myatt L, Cui X. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol.* 2004 Oct;122(4):369-82. doi: 10.1007/s00418-004-0677-x. Epub 2004 Jul 10. PMID: 15248072.
- [142] Wisdom SJ, Wilson R, McKillop JH, Walker JJ. Antioxidant systems in normal pregnancy and in pregnancy-induced hypertension. *Am J Obstet Gynecol.* 1991 Dec;165(6 Pt 1):1701-4. doi: 10.1016/0002-9378(91)90018-m. PMID: 1750463.
- [143] Vilotić A, Nacka-Aleksić M, Pirković A, Bojić-Trbojević Ž, Dekanski D, Jovanović Krivokuća M. IL-6 and IL-8: An Overview of Their Roles in Healthy and Pathological

Pregnancies. *Int J Mol Sci.* 2022 Nov 23;23(23):14574. doi: 10.3390/ijms232314574. PMID: 36498901; PMCID: PMC9738067.

[144] Fu Y, Tang L, Hu M, Xiang Z, Hu Y. Changes of serum interleukin-6 in healthy pregnant women and establishment of relevant reference intervals. *Clin Chim Acta.* 2020 Mar;502:116-119. doi: 10.1016/j.cca.2019.12.013. Epub 2019 Dec 19. PMID: 31866334.

[145] Moffett A, Loke C. Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nat Rev Immunol.* 2006 Aug;6(8):584-94. doi: 10.1038/nri1897. PMID: 16868549.

[146] Mor G, Aldo P, Alvero AB. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol.* 2017 Aug;17(8):469-482. doi: 10.1038/nri.2017.64. Epub 2017 Jun 19. PMID: 28627518.

[147] Didion SP. Cellular and Oxidative Mechanisms Associated with Interleukin-6 Signaling in the Vasculature. *Int J Mol Sci.* 2017 Nov 29;18(12):2563. doi: 10.3390/ijms18122563. PMID: 29186034; PMCID: PMC5751166.

[148] Raghupathy R, Makhseed M, Azizieh F, Hassan N, Al-Azemi M, Al-Shamali E. Maternal Th1- and Th2-type reactivity to placental antigens in normal human pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortions. *Cell Immunol.* 1999 Sep 15;196(2):122-30. doi: 10.1006/cimm.1999.1532. PMID: 10527564.

[149] Salemi R, Gattuso G, Tomasello B, Lavoro A, Gaudio A, Libra M, Signorelli SS, Candido S. Co-Occurrence of Interleukin-6 Receptor Asp358Ala Variant and High Plasma Levels of IL-6: An Evidence of IL-6 Trans-Signaling Activation in Deep Vein Thrombosis (DVT) Patients. *Biomolecules.* 2022 May 10;12(5):681. doi: 10.3390/biom12050681. PMID: 35625609; PMCID: PMC9138210.

[150] Curry AE, Vogel I, Skogstrand K, Drews C, Schendel DE, Flanders WD, Hougaard DM, Thorsen P. Maternal plasma cytokines in early- and mid-gestation of normal human pregnancy and their association with maternal factors. *J Reprod Immunol.* 2008 Apr;77(2):152-60. doi: 10.1016/j.jri.2007.06.051. Epub 2007 Aug 9. PMID: 17692390.

[151] Daher S, Fonseca F, Ribeiro OG, Musatti CC, Gerbase-DeLima M. Tumor necrosis factor during pregnancy and at the onset of labor and spontaneous abortion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999 Mar;83(1):77-9. doi: 10.1016/s0301-2115(98)00252-8. PMID: 10221614.

[152] Hunt JS, Chen HL, Miller L. Tumor necrosis factors: pivotal components of pregnancy? *Biol Reprod.* 1996 Mar;54(3):554-62. doi: 10.1095/biolreprod54.3.554. PMID: 8835376.

[153] Hill JA, Polgar K, Anderson DJ. T-helper 1-type immunity to trophoblast in women with recurrent spontaneous abortion. *JAMA.* 1995 Jun 28;273(24):1933-6. PMID: 7783303.

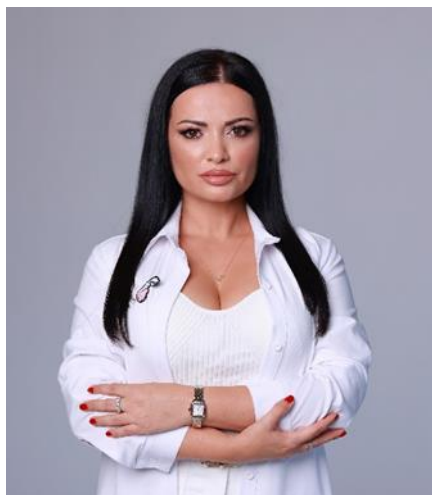
[154] Mor G. Introduction to the immunology of pregnancy. *Immunol Rev.* 2022 Jul;308(1):5-8. doi: 10.1111/imr.13102. Epub 2022 May 30. PMID: 35635382.

[155] Hung TH, Charnock-Jones DS, Skepper JN, Burton GJ. Secretion of tumor necrosis factor-alpha from human placental tissues induced by hypoxia-reoxygenation causes

endothelial cell activation in vitro: a potential mediator of the inflammatory response in preeclampsia. *Am J Pathol.* 2004 Mar;164(3):1049-61. doi: 10.1016/s0002-9440(10)63192-6. PMID: 14982858; PMCID: PMC1614718.

[156] El-Far M, El-Sayed IH, El-Motwally Ael-G, Hashem IA, Bakry N. Tumor necrosis factor-alpha and oxidant status are essential participating factors in unexplained recurrent spontaneous abortions. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45(7):879-83. doi: 10.1515/CCLM.2007.138. PMID: 17617031.

## Биографски подаци



Александра Димитријевић, је рођена 27.10.1984. године у Ћуприји. Завршила је основну школу „13 октобар“ као носилац дипломе „Вук Караџић“. Након завршетка основне школе, 1999. године уписује средњу медицинску школу „Данило Димитријевић“, у Ћуприји. Током све четири године имала је одличан успех. Након средње школе, 2003. године уписује основне академске студије, биологије, на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу. Основне академске студије завршила је 2007. године са просечном оценом 7,86 и стекла звање *дипломирани биолог*. Након завршетка основних академских студија, 2009. године уписује докторске академске студије, на

Факултету медицинских наука у Крагујевцу, смер – Хумана репродукција и развој. Положила је све предмете предвиђене планом и програмом, са просечном оценом 8.16. Током докторских студија била је главни истраживач на Јуниор пројекту „Инфламационо-оксидациони статус трудница које болују од тромбофилије“. Такође, је научни истраживач на Јуниор пројекту „Експресија VEGF-C, D2-40, Prox-1 и AdipoR1 у различитим стадијумима карцинома грлића материце“. Запослена је у Институту за јавно здравље у Крагујевцу као дипломирани биолог од 2017. године. Положила је стручни испит и поседује Лиценцу Министарства просвете и науке за самостално обављање образовно-васпитног рада. Такође, положила је државни стручни испит за здравствене сараднике Министарства здравља. Завршила је низ курсева и поседује мноштво сертификата у оквиру специфичног образовања из области дијагностике инфертилитета. Неки од њих су: Курс континуиране медицинске едукације - "Методологија истраживања у медицини и фармацији"; Сертификат са едукативног семинара Удружења Уролога Србије - "Анализа спермограма - практична примена и клинички значај", (са радном дозволом); Сертификат за завршену обуку за изолацију DNK нуклеинских киселина из људског материјала, PCR у реалном времену и технике; Сертификат за завршену обуку за извођење молекуларних метода екстракције нуклеинских киселина DNK и RNK у реалном времену и технике PCR-а; Сертификат обуке MetaClass Кариотипизирање, MetaClass FISH кариотипизирање; Сертификат за метод Halosperm G2 фрагментације DNK сперматозоида; Сертификат за DNA-Технологију: Androflor real-time PCR кит, AZF микроделеције real-time PCR генотипизирање кит; Сертификат Appliedbiosystems напредне обуке о принципима креирања NGS панела и анализирања података добијених секвенцирањем на Ion Torrent ThermoFisher систему; Сертификат о завршетку радионице Next-Generation Scientist (NGS) Illumina; Сертификат III ECPD Међународни симпозијум о контроверзама у неплодности и перинатологији. Аутор је и коаутор бројних научних радова.

## Библиографија аутора

[1] Aleksandra S. Dimitrijević, Jovana V. Bradić, Vladimir I. Živković, Aleksandra B. Dimitrijević, Mirjana L. Milojević Čorbić, Janko M. Đurić, Dragan V. Vasiljević, Vladimir Lj. Jakovljević. Redox status of pregnant women with Thrombophilia. *Vojnosanitetski pregled*. Online First January, 2020

[2] Novaković S, Jakovljević V, Jović N, Andrić K, Milinković M, Aničić T, Pindović B, Kareva EN, Fisenko VP, Dimitrijević A, Joksimović Jović J. Exploring the Antioxidative Effects of Ginger and Cinnamon: A Comprehensive Review of Evidence and Molecular Mechanisms Involved in Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and Other Oxidative Stress-Related Disorders. *Antioxidants (Basel)*. 2024 Mar 25;13(4):392. doi: 10.3390/antiox13040392. PMID: 38671840; PMCID: PMC11047656

[3] Aleksandra Dimitrijević, Vladimir Jakovljević, Nikola Jović, Janko Đurić, Kristina Andrić, Jovana Joksimović Jović. Oxidative Stress and Thrombophilia: Focus on Pregnancy-Related Pathophysiological Mechanisms, *Experimental and Applied Biomedical Research (EABR)*, vol.0, no.0, 2024, pp.-. DOI: 10.2478/eabr-2023-0010

**ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

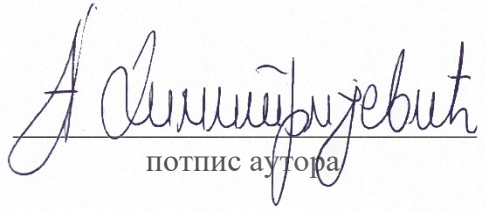
**ИНФЛАМАЦИОНО-ОКСИДАЦИОНИ СТАТУС ТРУДНИЦА КОЈЕ БОЛУЈУ ОД ТРОМБОФИЛИЈЕ**

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

*Овом Изјавом такође потврђујем:*

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- 

У Крагујевцу, 24.06.2024. године,



потпис аутора



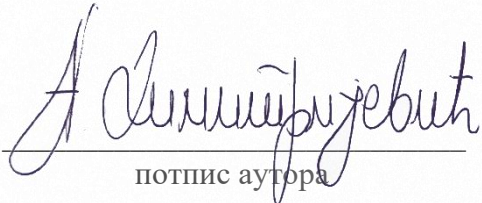
**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ  
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:  
ИНФЛАМАЦИОНО-ОКСИДАЦИОНИ СТАТУС ТРУДНИЦА КОЈЕ БОЛУЈУ ОД  
ТРОМБОФИЛИЈЕ

истоветне.

■

У Крагујевцу, 24.06.2024. године,



потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Ја, Александра Димитријевић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

**ИНФЛАМАЦИОНО-ОКСИДАЦИОНИ СТАТУС ТРУДНИЦА КОЈЕ БОЛУЈУ ОД ТРОМБОФИЛИЈЕ**

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам<sup>1</sup>

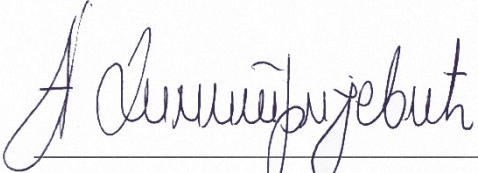
---

<sup>1</sup> Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада<sup>2</sup>

У Крагујевцу, 24.06.2024. године,



ПОТПИС АУТОРА

---

<sup>2</sup> Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>