

Dynamics of serum levels and reference ranges of copeptin in the 3rd trimester of pregnancy in healthy pregnant women with uncomplicated pregnancy and delivery

Dynamika sérových hladin a referenční intervaly kopeptinu během III. trimestru těhotenství u zdravých těhotných žen s nekomplikovaným průběhem těhotenství a porodu

L. Roubalova¹, A. Gardlo², S. Horejskova³, A. Dudova³, L. Krofta³, M. Lubusky¹

¹ Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Palacky University Olomouc, Olomouc University Hospital

² Department of Clinical Biochemistry, Olomouc University Hospital

³ The Institute for the Care of Mother and Child, 3rd Faculty of Medicine Charles University, Prague

Summary: Objective: Copeptin is a stable fragment of vasopressin. Copeptin levels have been found to reflect the degree of endothelial stress in various conditions, including acute coronary syndrome. Copeptin may be a biomarker for endothelial stress during pregnancy. However, there is still a lack of understanding of its dynamics and levels throughout pregnancy. This study aims to describe intra-individual and longitudinal changes in copeptin levels at 30th and 36th gestational weeks in healthy pregnant women with uncomplicated pregnancy and delivery and to establish specific reference ranges. **Methods:** A total of 125 pregnant women with uncomplicated pregnancy and delivery were included. These women were monitored throughout their pregnancy and gave birth at the Department of Obstetrics and Gynecology Olomouc University Hospital. The blood was taken at ~30 and ~36 gestational weeks. Serum copeptin levels were measured using a Kryptor Compact PLUS analyzer. For statistics, we used R software and the "referenceRanges" package. **Results:** It was found that serum levels of copeptin were significantly higher in the 36th week group than in the 30th week group ($P < 0.05$). Cook's distance was used to eliminate outliers. The 30th week median was 3.377 pmol/l, reference range = 1.343–7.829 pmol/l, and the 36 week was median 4.735 pmol/l and reference range = 2.06–13.2 pmol/l. In the 36th week reference range, the median was higher than in healthy, non-pregnant women ($P < 0.05$). Copeptin values can exceed 10 pmol/l, particularly after the 36th week. In the 3rd trimester, this value may indicate cardiovascular and endothelial overload. **Conclusion:** Copeptin levels were found to vary significantly depending on gestational week. The proposed reference ranges take into account the increased secretion of vasopressin in pregnancy. The existence of specific upper reference limits represents a potential advantage in detecting pregnant women prone to hypertensive disease in the 3rd trimester.

Key words: copeptin – vasopressin – preeclampsia – gestational hypertension – reference ranges – pregnancy

Introduction

Pregnancy can put a lot of strain on a woman's cardiovascular system due to volume overload, which can lead to hypertensive diseases. Preeclampsia (PE) is one of the most serious hypertensive diseases, causing significant maternal and perina-

tal morbidity and mortality worldwide [1]. Despite years of research, the exact cause of PE is still unknown. However, the main theory suggests that the placenta plays a significant role, with insufficient remodeling of the spiral arteries, placental insufficiency, and pathological activation of the

vascular endothelium being major contributors [2,3]. Nevertheless, these findings are only present in a fraction of PE pregnancies [4]. Additionally, studies have shown that certain cardiovascular risk factors can increase the likelihood of developing preeclampsia [5,6].

Souhrn: Cíl: Kopeptin je stabilní fragment vazopresinu. Bylo zjištěno, že hladiny kopeptinu odrážejí stupeň endoteliálního stresu u různých stavů, včetně akutního koronárního syndromu. Kopeptin může být biomarkerem endoteliálního stresu během těhotenství, stále však chybí znalosti o jeho dynamice a hladinách v průběhu těhotenství. Cílem této studie je popsat intraindividuální a longitudinální změny hladin kopeptinu v 30. a 36. gestačním týdnu u zdravých těhotných žen s nekomplikovaným těhotenstvím a porodem a stanovit specifická referenční rozmezí. **Metody:** Do studie bylo zařazeno celkem 125 těhotných žen s nekomplikovaným těhotenstvím a porodem. Tyto ženy byly sledovány po celou dobu těhotenství a porodily na Porodnicko-gynekologické klinice FN Olomouc. Krev byla odebrána v 30. a 36. týdnu těhotenství. Hladiny kopeptinu v séru byly měřeny pomocí analyzátoru Kryptor Compact PLUS. Pro statistické zpracování byl použit software R a balíček „referenceRanges“. **Výsledky:** Bylo zjištěno, že sérové hladiny kopeptinu byly významně vyšší v 36. týdnu než v 30. týdnu ($p < 0,05$). K vyloučení odlehlých hodnot byla použita Cookova vzdálenost. Pro 30. týden byl stanoven medián 3,377 pmol/l, referenční interval 1,343–7,829 pmol/l, pro ~36. týden byl stanoven medián 4,735 pmol/l a referenční interval 2,06–13,2 pmol/l. V 36. týdnu byl referenční interval i medián významně vyšší než u zdravých netěhotných žen ($p < 0,05$). Hodnoty kopeptinu překračují 10 pmol/l, zejména po 36. týdnu. Ve III. trimestru může tato hodnota indikovat zvýšenou kardiovaskulární a endoteliální zátěž. **Závěr:** Bylo zjištěno, že hladiny kopeptinu se významně liší v závislosti na gestačním týdnu. Navrhované referenční intervaly zohledňují zvýšenou sekreci vazopresinu v těhotenství. Existence specifických horních referenčních mezí představuje potenciální výhodu při identifikaci těhotných žen s rizikem vzniku hypertenzního onemocnění ve III. trimestru.

Klíčová slova: kopeptin – vazopresin – preeklampsie – gestační hypertenze – referenční interval – těhotenství

It seems that an insufficiently functioning cardiovascular system also plays a key role in the etiology of PE. Recent works confirm that there is a direct link between adaptation disorders and the risk of PE, especially late forms after the 34th gestational weeks (GW) [7]. Insufficient cardiac output leads to reduced uteroplacental perfusion and subsequently to stress-pathological activation of the endothelium of uteroplacental vessels.

This association has led to the investigation of existing and new biomarkers that are commonly used in the diagnosis of acute and chronic heart failure. Researchers have extensively studied the biomarkers mentioned in various studies [8–11].

One such promising biomarker is copeptin. It is a fragment of the pro-hormone for vasopressin, which is responsible for increasing vascular vasoconstriction and regulating water retention in the kidneys. This hormone is released in response to changes in plasma osmolality and reduced cardiac output. Copeptin, being a degradation product of vasopressin, is used as an indicator to determine serum vasopressin levels due to its greater stability [12].

The vasopressin-regulated stress-mediated hypothalamic-pituitary-adrenal axis plays a crucial role in the endo-

crine stress response [13]. Thus, it has been found that copeptin levels can indicate the degree of endothelial stress in various stress conditions, including acute coronary syndrome [14]. Several studies have suggested that increased levels of copeptin may play a role in the development of both early onset and late onset PE [15–18]. It is currently difficult to clinically use copeptin due to a lack of understanding of its levels during specific gestational weeks and how physiological changes during pregnancy can impact its concentration, particularly in the third trimester. In addition, it is important to note that the degree of standardization of the analytical determination of copeptin is very low, and therefore the values can differ significantly depending on the method used. It is also necessary to realize that the reference ranges used in studies were extrapolated from the non-pregnant population and provided by the manufacturer [9].

In this retrospective observational study, the objective was to determine the changes in serum copeptin levels during the third trimester in healthy pregnant women who had uncomplicated pregnancies and deliveries. The study aimed to assess the importance of these changes between different gestational weeks. Furthermore, we aim to propose reference ranges in monitored

gestational weeks for KryptorCompact systems (BRAHMS).

Materials and methods

The study included 125 women, who were monitored throughout their pregnancy and gave birth at the Department of Obstetrics and Gynecology Olomouc University Hospital. Uterine artery Doppler flow was performed in women during the GW 30–32 and GW 36–37 of gestation from September 2019 to May 2021. Records of blood pressure, weight, body mass index (BMI), proteinuria, and estimated fetal weight were obtained during each visit. Proteinuria was determined using the Albumin-Creatinine Ratio (qACR) from a single urine sample according to the formula albumin (mg)/creatinine (mmol). BMI was calculated as weight (kg)/height² (m). Additionally, venous blood was drawn from all pregnant women during each visit. All pregnant women had data available from their obstetrics history, including previous pregnancies, anamnesis, birth, and newborn records.

Venous blood was collected in vacuum tubes with a clotting activator (Vacurette, Greiner). Samples were taken between 30. 8. 2019 and 6. 5. 2021 and were transported to the laboratory immediately after collection. Upon arrival, they were centrifuged, and the sepa-

rated serum was stored at -80°C until analysis. Prior to analysis, samples were thawed only once and analyzed immediately in one run. The analysis for the study was done in June 2020 and September 2021. The sampling analysis was performed in the accredited laboratory of the Department of Clinical Biochemistry in the Olomouc University Hospital on the BRAHMS, KryptorCompact PLUS automatic analyzer. The ThermoScientific BRAHMS COPEPTIN US kits were used in this study as per the manufacturer's instructions. This is a homogeneous sandwich immunoassay based on the principle of TRACE technology (Time-Resolved Amplified Cryptate Emission) to determine serum copeptin levels. According to the B·R·A·H·M·S COPEPTIN US method, the total sample analysis time was 14 min and the sample volume required was 50 μl . The calibration range of this method spreads out from 0.9 to 500 pmol/l. It is noteworthy that none of the values were found to be outside this calibration range.

All participants in the study gave informed consent and the study was approved by the Ethical Review Committee of the Olomouc University Hospital (n. 35/22, March 7th, 2022).

Statistical analysis

The study utilized a non-parametric test to compare the copeptin values in pregnant women in the 30 and 36 GW. A Shapiro-Wilk normality test was conducted, revealing a P-value of 3.55×10^{-26} . The data didn't follow a normal distribution, which was confirmed later on. Thus, non-parametric methods were used to analyze the data. Linear regression using Cook's distance method was applied to eliminate statistical outliers in the study's data. The method used for estimating the reference ranges with respective 90% confidence intervals and median was the same as that used for calculating the 2.5 and 97.5 centiles. Values in individual weeks were compared using the

Tab. 1. Characteristics of the cohort.

Tab. 1. Charakteristika souboru.

Parameters	Median/range/number
age (years)	33 (28–40)
BMI	22.9 (18.1–32.9)
race	caucasian
SBP at 30 th –32 nd gestational week	122 (95–139)
DBP at 30 th –32 nd gestational week	73 (51–90)
SBP at 36 th –37 th gestational week	124 (95–140)
DBP at 36 th –37 th gestational week	80 (60–90)
GA at first sampling	30+0 to 32+1
GA at second sampling	36+0 to 37+5
vaginal delivery	N = 125
GA at delivery (weeks + days)	36+1 to 41+4
birth weight (g)	3,490 (2,170–4,620)
BMI – body mass index, DBP – diastolic blood pressure, GA – gestational age, N – number, SBP – systolic blood pressure	

Tab. 2. Values of copeptin at 30th and 36th gestational weeks.

Tab. 2. Hodnoty kopeptinu v 30. a 36. gestačním týdnu.

Biomarker	Gestational week	Median	Reference range	
			low limit	high limit
copeptin (pmol/l)	30	3.4	1.3	7.8
	36	4.7	2.1	13.2

Wilcoxon paired test. The statistical analysis for this study was conducted using the R program (R Core Team 2021) [19] and the "referenceRanges" package [20]. Graphs were constructed using the Microsoft Excel program.

Results

Characteristics of the cohort

The study included 125 pregnant women who met the inclusion criteria. Inclusion criteria were an uncomplicated singleton pregnancy, aged between 28 and 40 years, BMI ≤ 33 or less during the 1st trimester, no previous or gestational hypertension, no proteinuria, spontaneous or induced vaginal delivery after 36+0 weeks, and newborns weighing ≥ 10 th percentile according to The National Newborn Standards (Intergrowth-21st) [21]. The characteristics of the cohort are given in Tab. 1. Five outliers were excluded from the values

in ~ 30 GW and four outliers in ~ 36 GW. Gestational hypertension, preeclampsia, and fetal growth restriction were excluded based on blood pressure values ($\leq 140/90$ mmHg), proteinuria (qACR < 30 mg/mmol), normal Doppler parameters, and estimated fetal weight (EFW ≥ 10 th percentile) according to The International Fetal Growth Standards (Intergrowth-21st) [22].

According to Tab. 2, the median's lowest and highest values of the 2.5 and 97.5 percentile for each gestational week are presented. It was found that the levels of copeptin increased depending on the gestational week. The median value given by the manufacturer for healthy non-pregnant women is 3.9 pmol/l, which is in line with the median at 30 GW. However, the median at 36 GW is significantly higher. Fig. 1 also illustrates the copeptin levels at 2 gestational periods and the shift of the median from

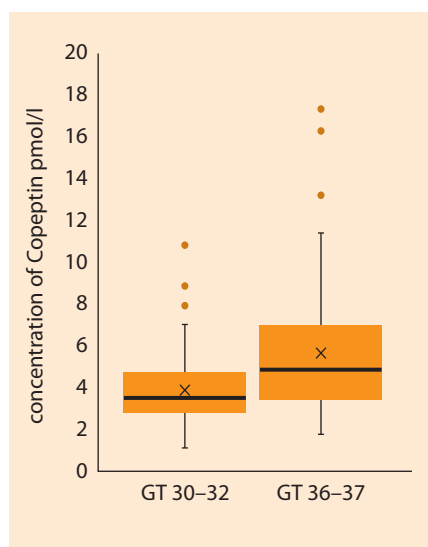


Fig. 1. Box plot of the copeptin concentration at 30th–32nd and 36th–37th gestational weeks.

Obr. 1. Krabicový graf znázorňující koncentraci kopeptinu v 30.–32. a 36.–37. gestačním týdnu.

3.4 (30 GW) to 4.7 (36 GW). Furthermore, it was confirmed with a Wilcoxon paired test that there is a statistically significant difference between copeptin levels in pregnant women at 30 GW and 36 GW, with a P-value of 3.55×10^{-26} .

The proposed reference range (RR) for ~30 GW was 1.34–7.83 pmol/l, and for ~36 GW it was 2.06–13.2 pmol/l (Fig. 2, 3).

Fig. 1 and 3 clearly show that while the lower reference limit does not vary significantly, the median, and especially the upper reference limit, increases significantly with increasing gestational week.

Discussion

To date, only one study has been conducted to estimate reference ranges of copeptin in healthy pregnant women for the KryptorCompact plus device. This study, which included 62 pregnant women, found changes in copeptin values related to gestational age, which is consistent with our findings [23]. The manufacturer's reported median reference limit for non-pregnant women is

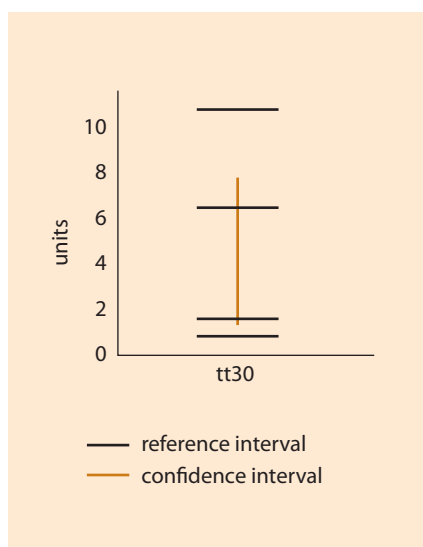


Fig. 2. Reference range for 30th gestational weeks.

Obr. 2. Referenční interval pro 30. gestační týden.

3.9 pmol/l. However, our results show that at the ~36 GW, the median value is significantly higher than the manufacturer's reported value. In contrast, 97.5% of the values in the study by Joose et al. remained below the manufacturer's reference limit.

The increasing production of vasopressin with gestational week is not surprising. The significant increase in cardiac output and body fluid volume in pregnancy is associated with arterial vasodilation and a decrease in arterial blood volume. The consequence is an increased glomerular filtration rate combined with sodium and water retention. Adaptation in pregnant women is manifested by increased vasopressin secretion to osmotic challenges. It is interesting to note that during the 2nd and 3rd trimesters of pregnancy, the placenta produces an increased amount of vasopressinase, which is responsible for the breakdown of vasopressin. However, this compensation is not sufficient to prevent the increase in plasma vasopressin during pregnancy, which can lead to vasoconstriction and an increase in blood pressure due to vasopressin's action via the V1 receptor [24,25].

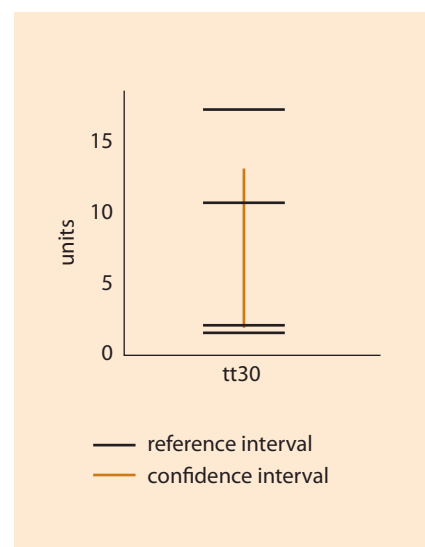


Fig. 3. Reference range for 36th gestational weeks.

Obr. 3. Referenční interval pro 36. gestační týden.

The continuous increase in vasopressin during pregnancy has been confirmed by several studies, although most of these studies have focused on the use of copeptin as a novel biomarker of preeclampsia. Santillan et al. measured copeptin levels in the first, second, and third trimesters in a cohort of pregnant women with preeclampsia, a control group, and a group of non-pregnant women [15]. Significantly higher concentrations were found in the control group than in the group of non-pregnant women, starting in the 1st trimester. Tuten et al. also found in their study that copeptin concentrations in the control groups were associated with gestational age [17]. Marek et al. monitored copeptin levels by ELISA in 21 pregnant women who developed gestational hypertension and 37 pregnant women in the control group. The levels were determined in the 1st, 2nd and 3rd trimesters. The median in the control group for the 1st trimester was 51.5 pg/ml, for the 2nd trimester it was 59.1 pg/ml, and for the 3rd trimester it was 66 pg/ml. Despite the different methods of determination, a significant difference was again found between trimesters with an increase in concentration with gestational week [26].

Significant findings were that the upper reference ranges at ~36 GW were higher than the manufacturer's cut-off value of 10 pmol/l for the diagnosis of heart failure. It is suggested that the increasing stress on the cardiovascular system of pregnant women during the 3rd trimester could be the cause of high vasopressin concentrations. The question is whether the increase in late pregnancy is due to osmotic or non-osmotic causes and whether the secretion is solely from the brain [27].

In line with the study by Joosen et al., we recommend the use of reference ranges specific to pregnancy, gestational age, and assay methodology for use in clinical trials, particularly to distinguish elevated vasopressin concentrations due to preeclampsia or gestational hypertension [23].

Conclusion

To conclude, there was a significant difference in copeptin levels depending on gestational week. However, the changes between GW were within the reference ranges for non-pregnant women without risk of heart failure. The proposed ranges take into account the increased vasopressin secretion in pregnancy. Specific upper reference limits have the potential benefit of identifying pregnant women at higher risk of hypertension in pregnancy. For use in clinical trials, particularly to distinguish elevated vasopressin concentrations due to preeclampsia or gestational hypertension, it is appropriate to use reference ranges specific to pregnancy and gestational age and to the assay methodology.

References

1. Phipps EA, Thadhani R, Benzing T et al. Preeclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies. *Nat Rev Nephrol* 2019; 15(5): 275–289. doi: 10.1038/s41581-019-0119-6.
2. Nirupama R, Divyashree S, Janhavi P et al. Preeclampsia: pathophysiology and management. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* 2021; 50(2): 101975. doi: 10.1016/j.jogoh.2020.101975.
3. Poon LC, Shennan A, Hyett JA et al. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: a pragmatic guide for first-trimester screening and prevention. *Int J Gynaecol Obstet* 2019; 145(Suppl 1): 1–33. doi: 10.1002/ijgo.12802.
4. Falco ML, Sivanathan J, Laoreti A et al. Placental histopathology associated with pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 50(3): 295–301. doi: 10.1002/uog.17494.
5. Romundstad PR, Magnussen EB, Smith GD et al. Hypertension in pregnancy and later cardiovascular risk: common antecedents? *Circulation* 2010; 122(6): 579–584.
6. Serrano NC, Guio-Mahecha E, Quintero-Lesmes DC et al. Lipid profile, plasma apolipoproteins, and pre-eclampsia risk in the GenPE case-control study. *Atherosclerosis* 2018; 276: 189–94. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.05.051.
7. Thilaganathan B, Kalafat E. Cardiovascular system in preeclampsia and beyond. *Hypertension* 2019; 73(3): 522–531. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11191.
8. Furenäs E, Eriksson P, Wennerholm UB et al. Pregnancy in a healthy population: dynamics of NTproBNP and hs-cTroponin T. *Open Hear* 2020; 7(2): e001293. doi: 10.1136/openhrt-2020-001293.
9. Dockree S, Brook J, Shine B et al. Pregnancy-specific reference intervals for BNP and NT-pro BNP-changes in natriuretic peptides related to pregnancy. *J Endocr Soc* 2021; 5(7): bvab091. doi: 10.1210/jendso/bvab091.
10. Zulfikaroglu E, Islımye M, Tonguc EA et al. Circulating levels of copeptin, a novel biomarker in pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res* 2011; 37(9): 1198–1202. doi: 10.1111/j.1447-0756.2010.01498.x.
11. Jadli A, Sharma N, Damania K et al. Promising prognostic markers of preeclampsia: new avenues in waiting. *Thromb Res* 2015; 136(2): 189–195. doi: 10.1016/j.thromres.2015.05.011.
12. Dobsa L, Edozien KC. Copeptin and its potential role in diagnosis and prognosis of various diseases. *Biochem Med (Zagreb)* 2013; 23(2): 172–190. doi: 10.11613/bm.2013.021.
13. Rivier C, Vale W. Modulation of stress-induced ACTH release by corticotropin-releasing factor, catecholamines and vasopressin. *Nature* 1983; 305(5932): 325–327. doi: 10.1038/305325a0.
14. Schurtz G, Lamblin N, Bauters C et al. Copeptin in acute coronary syndromes and heart failure management: state of the art and future directions. *Arch Cardiovasc Dis* 2015; 108(6–7): 398–407. doi: 10.1016/j.acvd.2015.04.002.
15. Santillan MK, Santillan DA, Scroggins SM et al. Vasopressin in preeclampsia: a novel very early human pregnancy biomarker and clinically relevant mouse model. *Hypertension* 2014; 64(4): 852–859. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03848.
16. Yeung EH, Liu A, Mills JL et al. Increased levels of copeptin before clinical diagnosis of preeclampsia. *Hypertension* 2014; 64(6): 1362–1367. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03762.
17. Tuten A, Oncul M, Kucur M et al. Maternal serum copeptin concentrations in early- and late-onset pre-eclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2015; 54(4): 350–354. doi: 10.1016/j.tjog.2013.10.045.
18. Bellos I, Pergialiotis V, Papapanagiotou A et al. Association between serum copeptin levels and preeclampsia risk: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2020; 250: 66–73. doi: 10.1016/j.ejogrb.2020.04.051.
19. R Core Team. A language and environment for statistical computing. The R Project for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2021 [online]. Available from: <https://www.R-project.org/>.
20. Finnegan D. Reference Intervals. R package version 1.2.0. 2020 [online]. Available from: <https://CRAN.R-project.org/package=referenceIntervals>.
21. Villar J, Cheikh Ismail L, Victora CG et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet* 2014; 384(9946): 857–868. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60932-6.
22. Papageorgiou AT, Kennedy SH, Salomon LJ et al. The INTERGROWTH-21(st) fetal growth standards: toward the global integration of pregnancy and pediatric care. *Am J Obstet Gynecol* 2018; 218(2S): S630–S640. doi: 10.1016/j.ajog.2018.01.011.
23. Joosen AM, van der Linden IJM, Schrauwen L et al. Reference intervals and longitudinal changes in copeptin and MR-proADM concen-

Publication ethics: The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE uniform requirements for biomedical papers.

Publikační etika: Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

Conflict of interests: The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning the drugs, products or services used in the study.

Konflikt zájmů: Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie/práce nemají žádný konflikt zájmů.

trations during pregnancy. Clin Chem Lab Med 2017; 56(1): 113–119. doi: 10.1515/cclm-2017-0110.

24. Szczepanska-Sadowska E, Cudnoch-Jedrzejewska A, Wsol A. The role of oxytocin and vasopressin in the pathophysiology of heart failure in pregnancy and in fetal and neonatal life. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2020; 318(3): H639–H651. doi: 10.1152/ajpheart.00484.2019.

25. Schrier RW. Systemic arterial vasodilation, vasopressin, and vasopressinase in pregnancy. J Am Soc Nephrol 2010; 21(4): 570–572. doi: 10.1681/ASN.2009060653.

26. Marek A, Stojko R, Drosdzol-Cop A. Copeptin in patients with pregnancy-induced hypertension. Int J Environ Res Public Health 2021; 18(12): 6470. doi: 10.3390/ijerph18126470.

27. Sandgren JA, Scroggins SM, Santillan DA et al. Vasopressin: the missing link for preeclampsia? Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2015; 309(9): R1062–R1064. doi: 10.1152/ajpregu.00073.2015.

ORCID authors

L. Roubalova 0009-0000-0565-0537

L. Krofta 0000-0001-7372-3953

M. Lubusky 0000-0003-0551-0942

Submitted/Doručeno: 6. 12. 2023

Accepted/Přijato: 12. 12. 2023

Lucie Roubalova, M.A.

Department of Obstetrics and Gynecology

Faculty of Medicine

Palacky University Olomouc

Olomouc University Hospital

Zdravotníků 248/7

779 00 Olomouc

roubalova.l@seznam.cz

Dynamika sérových hladin a referenční intervaly kopeptinu během III. trimestru těhotenství u zdravých těhotných žen s nekomplikovaným průběhem těhotenství a porodu

Dynamics of serum levels and reference ranges of copeptin in the 3rd trimester of pregnancy in healthy pregnant women with uncomplicated pregnancy and delivery

L. Roubalová¹, A. Gardlo², S. Horejsková³, A. Dudová³, L. Krofta³, M. Ľubušký¹

¹ Porodnicko-gynekologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Oddělení klinické biochemie, FN Olomouc

³ Ústav pro péči o matku a dítě, 3. LF UK, Praha

Souhrn: Cíl: Kopeptin je stabilní fragment vazopresinu. Bylo zjištěno, že hladiny kopeptinu odrážejí stupeň endoteliálního stresu u různých stavů, včetně akutního koronárního syndromu. Kopeptin může být biomarkerem endoteliálního stresu během těhotenství, stále však chybí znalosti o jeho dynamice a hladinách v průběhu těhotenství. Cílem této studie je popsat intraindividuální a longitudinální změny hladin kopeptinu v 30. a 36. gestačním týdnu u zdravých těhotných žen s nekomplikovaným těhotenstvím a porodem a stanovit specifická referenční rozmezí. **Metody:** Do studie bylo zařazeno celkem 125 těhotných žen s nekomplikovaným těhotenstvím a porodem. Tyto ženy byly sledovány po celou dobu těhotenství a porodily na Porodnicko-gynekologické klinice FN Olomouc. Krev byla odebrána v 30. a 36. týdnu těhotenství. Hladiny kopeptinu v séru byly měřeny pomocí analyzátoru Kryptor Compact PLUS. Pro statistické zpracování byl použit software R a balíček „referenceRanges“. **Výsledky:** Bylo zjištěno, že sérové hladiny kopeptinu byly významně vyšší v 36. týdnu než v 30. týdnu ($p < 0,05$). K vyloučení odlehlých hodnot byla použita Cookova vzdálenost. Pro 30. týden byl stanoven medián 3,377 pmol/l, referenční interval 1,343–7,829 pmol/l, pro ~36. týden byl stanoven medián 4,735 pmol/l a referenční interval 2,06–13,2 pmol/l. V 36. týdnu byl referenční interval i medián významně vyšší než u zdravých netěhotných žen ($p < 0,05$). Hodnoty kopeptinu překračují 10 pmol/l, zejména po 36. týdnu. Ve III. trimestru může tato hodnota indikovat zvýšenou kardiovaskulární a endoteliální zátěž. **Závěr:** Bylo zjištěno, že hladiny kopeptinu se významně liší v závislosti na gestačním týdnu. Navrhované referenční intervaly zohledňují zvýšenou sekreci vazopresinu v těhotenství. Existence specifických horních referenčních mezí představuje potenciální výhodu při identifikaci těhotných žen s rizikem vzniku hypertenzního onemocnění ve III. trimestru.

Klíčová slova: kopeptin – vazopresin – preeklampsie – gestační hypertenze – referenční interval – těhotenství

Úvod

Těhotenství je stav, který je spojen s objemovým přetížením a zvýšenou zátěží kardiovaskulárního systému těhotné ženy. Jeho nedostatečná adaptace je jednou z hlavních příčin hypertenzních onemocnění v těhotenství. Mezi nejzá-

važnější hypertenzní onemocnění patří preeklampsie (PE), která je celosvětově hlavní příčinou mateřské a perinatální mortality a morbidity [1]. Etiologie PE navzdory mnoha letům výzkumného úsilí stále není jednoznačná. Hlavní teorie předpokládá majoritní podíl pla-

centy, resp. nedostatečné remodelace spirálních arterií, placentární insuficience a patologické aktivace cévního endotelu [2,3]. Nicméně klinické nálezy, které podporují tuto teorii, se vyskytují pouze u části preeklamptických těhotenství [4]. Mnoho epidemiologických

Summary: Objective: Copeptin is a stable fragment of vasopressin. Copeptin levels have been found to reflect the degree of endothelial stress in various conditions, including acute coronary syndrome. Copeptin may be a biomarker for endothelial stress during pregnancy. However, there is still a lack of understanding of its dynamics and levels throughout pregnancy. This study aims to describe intra-individual and longitudinal changes in copeptin levels at 30th and 36th gestational weeks in healthy pregnant women with uncomplicated pregnancy and delivery and to establish specific reference ranges. **Methods:** A total of 125 pregnant women with uncomplicated pregnancy and delivery were included. These women were monitored throughout their pregnancy and gave birth at the Department of Obstetrics and Gynecology Olomouc University Hospital. The blood was taken at ~30 and ~36 gestational weeks. Serum copeptin levels were measured using a Kryptor Compact PLUS analyzer. For statistics, we used R software and the "referenceRanges" package. **Results:** It was found that serum levels of copeptin were significantly higher in the 36th week group than in the 30th week group ($P < 0.05$). Cook's distance was used to eliminate outliers. The 30th week median was 3.377 pmol/l, reference range = 1.343–7.829 pmol/l, and the 36 week was median 4.735 pmol/l and reference range = 2.06–13.2 pmol/l. In the 36th week reference range, the median was higher than in healthy, non-pregnant women ($P < 0.05$). Copeptin values can exceed 10 pmol/l, particularly after the 36th week. In the 3rd trimester, this value may indicate cardiovascular and endothelial overload. **Conclusion:** Copeptin levels were found to vary significantly depending on gestational week. The proposed reference ranges take into account the increased secretion of vasopressin in pregnancy. The existence of specific upper reference limits represents a potential advantage in detecting pregnant women prone to hypertensive disease in the 3rd trimester.

Key words: copeptin – vasopressin – preeclampsia – gestational hypertension – reference ranges – pregnancy

studií poukazuje na fakt, že některé kardiovaskulární rizikové faktory rovněž zvyšují riziko vzniku preeklampsie [5,6].

Do popředí se tedy dostává i hypotéza, že v etiologii PE hraje klíčovou roli nedostatečně fungující kardiovaskulární systém. Recentní práce potvrzují, že existuje přímá souvislost s poruchami adaptace a rizikem vzniku PE, a to především pozdní formy po 34. gestačním týdnu (GT) [7]. Nedostatečný výkon srdce vede ke snížené uteroplacentární perfuzi a následně k stresové patologické aktivaci endotelu uteroplacentárních cév.

Tato souvislost vedla ke zkoumání stávajících i nových biomarkerů, které se běžně používají v diagnostice akutních i chronických srdečních selhání [8–11].

Jedním ze zkoumaných biomarkerů je kopeptin, který je terminálním fragmentem prohormonu pro vazopresin. Vazopresin zvyšuje vazokonstrikci cév a řídí retenci vody v ledvinách. Uvolňuje se do krevního oběhu v reakci na změny osmolality plazmy a snížený srdeční výdej. Kopeptin jako jeho degradační produkt má mnohem větší stabilitu, a proto je používán jako indikátor sérových hladin vazopresinu [12].

Vazopresinem regulovaná stresově podmíněná hypotalo-pituitárně-adrenální osa je zapojena do endokrinní stresové odpovědi [13]. Hladiny kopeptinu tedy odráží míru endoteliální zátěže u různých stresových stavů vč. akut-

ního koronárního syndromu [14]. Celá řada studií ukazuje, že zvýšené hladiny kopeptinu mohou být zapojeny i do patogeneze jak časných, tak i pozdních preeklampsie [15–18]. Klinickému využití kopeptinu brání nedostatek našich znalostí o jeho hladinách v jednotlivých gestačních týdnech a jak fyziologické změny v těhotenství ovlivňují jeho koncentraci, a to především během III. trimestru. Kromě toho je míra standardizace analytického stanovení kopeptinu velmi nízká, a proto se hodnoty významně odlišují v závislosti na použité metodě. Používané referenční intervaly jsou extrapolovány z netěhotné populace a jsou udávány výrobcem [9].

Cílem této retrospektivní observační studie bylo stanovit longitudinální změny sérových hladin kopeptinu během III. trimestru u zdravých těhotných žen s nekomplikovaným průběhem těhotenství a porodem a posoudit významnost změn mezi gestačními týdny. Dále navrhnout referenční intervaly ve sledovaných gestačních týdnech pro systémy KryptorCompact (BRAHMS).

Materiál a metody

Do studie byly zařazeny těhotné ženy, které byly sledovány po celou dobu těhotenství a porodily na Porodnicko-gynekologické klinice FN Olomouc. Všechny těhotné ženy na tomto praco-

višti podstoupily zhodnocení funkce fetoplacentární jednotky v 30.–32. GT a současně v 36.–37. GT v období září 2019 až květen 2021. Během každé návštěvy byly získány záznamy o krevním tlaku a hmotnosti, indexu tělesné hmotnosti (BMI – body mass index), proteinurii v moči, bylo provedeno dopplerovské vyšetření uteroplacentárních cév a byl proveden odhad hmotnosti plodu (EFW – estimated fetal weight). Proteinurie byla stanovena pomocí qACR (albumin-creatinine ratio) z jednorázové moči. Hodnota qACR byla vypočítána dle vzorce Albumin (mg) / Kreatinin (mmol). Hodnota BMI byla získána dle vzorce hmotnost (kg) / výška² (m). Zároveň byla všem těhotným ženám při každé návštěvě odebrána žilní krev.

U všech těhotných žen byly k dispozici údaje o historii těhotenství, včetně předchozích těhotenství, anamnézy, záznamů o porodu a novorozenci.

Odběr žilní krve byl prováděn do vakuových zkumavek s aktivátorem srážení (Vacurette, Greiner). Vzorky byly odebírány v období 30. 8. 2019 až 6. 5. 2021 a ihned po odběru transportovány do laboratoře, kde byly centrifugovány a oddělené sérum bylo uchováno při teplotě –80 °C do doby analýzy. Před analýzou byly vzorky rozmrazeny pouze jednou a analyzovány ihned v jedné sérii. Analýza proběhla

v červnu 2020 a v září 2021. Stanovení bylo provedeno v akreditované laboratoři Oddělení klinické biochemie FN Olomouc, na automatickém analyzátoru BRAHMS, KryptorCompact PLUS. Byly použity soupravy BRAHMS COPEPTIN US (ThermoScientific) v souladu s instrukcemi výrobce. Jedná se o homogenní sendvičovou imunoanalýzu na principu TRACE technologie (time-resolved amplified cryptate emission). Celková doba analýzy jednoho vzorku je 14 min, objem vzorku je 50 µl. Kalibrační rozsah metody BRAHMS COPEPTIN US je 0,9–500 pmol/l. Žádný z vyšetřovaných vzorků nebyl mimo kalibrační rozsah.

Všechny těhotné ženy podepsaly informovaný souhlas. Studie byla schválena Etickou komisí FN Olomouc (rozhodnutí č. 35/22 ze dne 7. 3. 2022).

Statistická analýza

Pro srovnání hodnot kopeptinu u těhotných v 30. GT a 36. GT bylo použito párové srovnávání. Byl proveden Shapiro-Wilkův test normality s hodnotou $p = 3,55 \times 10^{-26}$. Bylo potvrzeno nenormální rozdělení našich dat, a proto byly používány neparametrické metody. Pro vyloučení statisticky odlehklých hodnot byly použity metody založené na lineární regresi s využitím Cookovy vzdálenosti. Stejnou metodou byly jako 2,5 a 97,5 percentil odhadnuty referenční intervaly s příslušným 90% CI a medián. Pro porovnání hodnot v jednotlivých týdnech byl proveden Wilcoxonův párový test. Statistická analýza byla prováděna pomocí programu R [19] a balíčku „referenceIntervals“ [20]. Pro konstrukci grafů byl použit program Microsoft Excel.

Výsledky

Charakteristika souboru

Do studie bylo zařazeno 125 těhotných žen. Kritérium pro zařazení do studie byl nekomplikovaný průběh jednočetného těhotenství, věk 28–40 let, BMI $\leq 33 \text{ kg/m}^2$ v době první návštěvy (I. trimestr), žádná předchozí hypertenze, vyloučená gestační hypertenze,

Tab. 1. Charakteristika souboru.

Tab. 1. Characteristics of the cohort.

Parametr	Medián/rozmezí/počet
věk (roky)	33 (28–40)
BMI	22,9 (18,1–32,9)
rasa	kavkazská
systolický tlak v 30.–32. GT	122 (95–139)
diastolický tlak v 30.–32. GT	73 (51–90)
systolický tlak v 36.–37. GT	124 (95–140)
diastolický tlak v 36.–37. GT	80 (60–90)
gestační věk v době prvního odběru	30+0 až 32+1
gestační věk v době druhého odběru	36+0 až 37+5
spontánní nebo indukovaný vaginální porod	n = 125
gestační věk v době porodu	36+1 až 41+4
váha novorozence (g)	3 490 (2 170–4 620)
BMI – index tělesné hmotnosti, GT – gestační týden	

Tab. 2. Hodnoty kopeptinu v 30. a 36. gestačním týdnu.

Tab. 2. Values of copeptin at 30th and 36th gestational weeks.

Biomarker	Gestační týden	Medián	Referenční interval	
			spodní limit	horní limit
kopeptin (pmol/l)	30	3,4	1,3	7,8
	36	4,7	2,1	13,2

nezjištěná proteinurie, spontánní nebo indukovaný vaginální porod po gestačním týdnu 36+0, hmotnost novorozence ≥ 10 percentil podle The National Newborn Standards (Intergrowth-21st) [21]. Charakteristika souboru je uvedena v tab. 1. Z hodnot ve 30.–32. GT bylo vyloučeno pět odlehklých hodnot, v 36.–37. GT čtyři odlehklé hodnoty. Gestační hypertenze, preeklampsie a růstová restrikce byly vyloučeny na základě hodnot krevního tlaku ($\leq 140/90 \text{ mmHg}$), proteinurie ($\text{qACR} < 30 \text{ mg/mmol}$), normálních dopplerovských parametrů a odhadované hmotnosti plodu ($\text{EFW} \geq 10$ percentil) podle The International Fetal Growth Standards (Intergrowth-21st) [22].

Medián, nejnižší a nejvyšší hodnoty, 2,5 a 97,5 percentil pro jednotlivé gestační týdny jsou uvedeny v tab. 2. Hladiny kopeptinu stoupaly v závislosti na gestačním týdnem. Výrobce udává

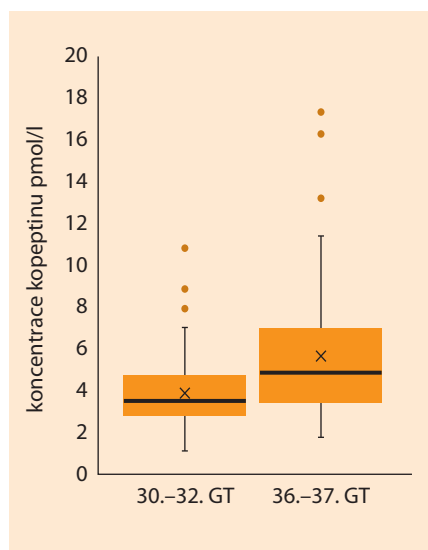
medián pro zdravé netěhotné ženy je 3,9 pmol/l. Tomu zcela odpovídá medián v 30. GT. Naproti tomu medián v 36. GT je signifikantně vyšší. Hladiny kopeptinu ve dvou gestačních obdobích a posun mediánu ve 30. GT med = 3,4 a 36. GT med = 4,7 dokumentuje obr. 1. Provedený Wilcoxonův párový test hodnotou $p = 8,03 \times 10^{-18}$ potvrdil statisticky významný rozdíl mezi hodnotami kopeptinu u těhotných žen v 30. GT a 36. GT.

Navržený referenční interval (RI) pro 30. GT je 1,34–7,83 pmol/l, pro 36. GT je 2,06–13,2 pmol/l (obr. 2, 3).

Obrázky 1 a 3 jasně ukazují, že zatímco spodní referenční mez se významně neliší, medián – a především horní referenční mez – se významně zvyšuje s rostoucím gestačním týdnem.

Diskuze

Dosud byla provedena pouze jedna známá studie, která odhadovala refe-

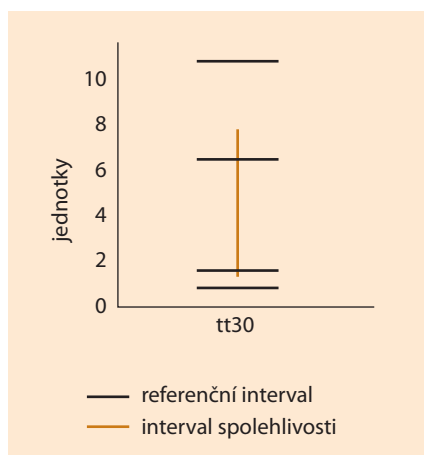


Obr. 1. Krabicový graf znázorňující koncentraci kopeptinu v 30.–32. a 36.–37. gestačním týdnu.

Fig. 1. Box plot of the copeptin concentration at 30th–32nd and 36th–37th gestational weeks.

referenční intervaly kopeptinu u 62 zdravých těhotných žen [23] pro analyzátor KryptorCompact PLUS. V souladu s našimi výsledky byly zaznamenány změny hodnot kopeptinu v závislosti na gestačním týdnu. Medián referenční meze pro netěhotné ženy udávaný výrobcem je 3,9 pmol/l. Na rozdíl od našich výsledků zůstal 97,5 percentil jejich hodnot pod touto hodnotou. Z našich výsledků vyplývá, že v 36. GT je medián signifikantně vyšší než výrobcem udávaná hodnota.

Zvyšující se produkce vazopresinu s gestačním týdnem není překvapující. Významné zvýšení srdečního výdeje a objemu tělesných tekutin v těhotenství je spojeno s arteriální vazodilatací a snížením objemu arteriální krve. Následkem je zvýšení rychlosti glomerulární filtrace v kombinaci s retencí sodíku a vody. Adaptace u těhotných žen se projevuje zvýšenou sekrecí vazopresinu na osmotické výzvy. Protože ale vazopresin přes V1 receptor vede k vazokonstrikci a zvyšování krevního tlaku, placenta během II. a III. trimestru produkuje zvýšené množství vazopresinazy, která je zodpovědná za jeho od-



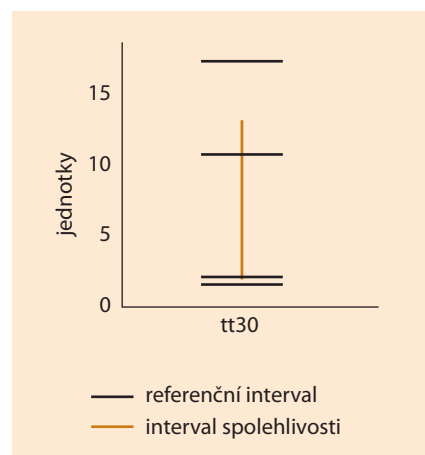
Obr. 2. Referenční interval pro 30. gestační týden.

Fig. 2. Reference range for 30th gestational weeks.

bourávání. Nicméně tato kompenzace nestačí k tomu, aby se zabránilo zvyšování plazmatického vazopresinu během těhotenství [24,25].

Kontinuální zvyšování vazopresinu během těhotenství potvrzuje celá řada studií, přestože se většina těchto studií zabývala především využitím kopeptinu jako nového biomarkeru preeklampsie. Santillan et al. měřili hladiny kopeptinu v I., II. a III. trimestru u kohorty těhotných žen s preeklampií, kontrolní skupiny a skupiny netěhotných žen [15]. V kontrolní skupině byly zjištěny signifikantně vyšší koncentrace než u skupiny netěhotných žen, a to již od I. trimestru. Tuten et al. také ve své studii zjistili, že koncentrace kopeptinu v kontrolních skupinách byly asociovány s gestačním stářím [17]. Marek et al. sledovali hladiny kopeptinu u 21 těhotných žen, u nichž se objevila gestační hypertenze, a u 37 těhotných žen v kontrolní skupině ELISA metodou. Hladiny byly stanoveny v I., II. a III. trimestru. Medián v kontrolní skupině pro I. trimestr byl 51,5 pg/ml, pro II. trimestr 59,1 pg/ml a pro III. trimestr 66 pg/ml. I přes odlišnou metodu stanovení byl opět nalezen signifikantní rozdíl mezi jednotlivými trimestry s nárůstem koncentrace s gestačním týdnem [26].

Významným zjištěním bylo, že stanovený horní referenční interval v 36. GT



Obr. 3. Referenční interval pro 36. gestační týden.

Fig. 3. Reference range for 36th gestational weeks.

je vyšší než cut-off hodnota výrobce 10 pmol/l pro diagnostiku srdečního selhání. Nabízí se, že příčinou vysokých koncentrací vazopresinu by mohla být zvyšující se zátěž na kardiovaskulární systém těhotné ženy během III. trimestru. Otázkou je, zda je zvýšení v pozdních fázích těhotenství způsobeno z osmotických nebo neosmotických příčin a jestli se jedná o sekreci výhradně z mozku [27].

V souladu se studií Joosen et al. doporučujeme pro použití v klinických studiích, zejména k odlišení zvýšených koncentrací vazopresinu v důsledku preeklampsie nebo gestační hypertenze, používat referenční intervaly specifické pro těhotenství, gestační věk a pro metodiku stanovení [23].

Závěr

Byl nalezen signifikantní rozdíl v hladinách kopeptinu v závislosti na gestačním týdnem. Nicméně změny mezi jednotlivými GT byly v rámci referenčních intervalů pro netěhotné ženy bez rizika srdečního selhání. Navržené referenční intervaly zohledňují zvýšenou sekreci vazopresinu v těhotenství. Specifické horní referenční meze mají potenciální přínos pro identifikaci těhotných žen s vyšším rizikem hypertenzních onemocnění v těhotenství. Pro použití v klinických

studiích, zejména k odlišení zvýšených koncentrací vazopresinu v důsledku pre-eclampsie nebo gestační hypertenze, je vhodné používat referenční intervaly specifické pro těhotenství a gestační věk a pro metodiku stanovení.

Literatura

1. Phipps EA, Thadhani R, Benzing T et al. Preeclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies. *Nat Rev Nephrol* 2019; 15(5): 275–289. doi: 10.1038/s41581-019-0119-6.
2. Nirupama R, Divyashree S, Janhavi P et al. Preeclampsia: pathophysiology and management. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* 2021; 50(2): 101975. doi: 10.1016/j.jogoh.2020.101975.
3. Poon LC, Shennan A, Hyett JA et al. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: a pragmatic guide for first-trimester screening and prevention. *Int J Gynaecol Obstet* 2019; 145(Suppl 1): 1–33. doi: 10.1002/ijgo.12802.
4. Falco ML, Sivanathan J, Laoreti A et al. Placental histopathology associated with pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 50(3): 295–301. doi: 10.1002/uog.17494.
5. Romundstad PR, Magnussen EB, Smith GD et al. Hypertension in pregnancy and later cardiovascular risk: common antecedents? *Circulation* 2010; 122(6): 579–584.
6. Serrano NC, Guio-Mahecha E, Quintero-Lesmes DC et al. Lipid profile, plasma apolipoproteins, and pre-eclampsia risk in the GenPE case-control study. *Atherosclerosis* 2018; 276: 189–94. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.05.051.
7. Thilaganathan B, Kalafat E. Cardiovascular system in preeclampsia and beyond. *Hypertension* 2019; 73(3): 522–531. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11191.
8. Furenäs E, Eriksson P, Wennerholm UB et al. Pregnancy in a healthy population: dynamics of NT-proBNP and hs-cTropoin T. *Open Hear* 2020; 7(2): e001293. doi: 10.1136/openhrt-2020-001293.
9. Dockree S, Brook J, Shine B et al. Pregnancy-specific reference intervals for BNP and NT-proBNP—changes in natriuretic peptides related to pregnancy. *J Endocr Soc* 2021; 5(7): bvab091. doi: 10.1210/endo/bvab091.
10. Zulfikaroglu E, Islımye M, Tonguc EA et al. Circulating levels of copeptin, a novel biomarker in pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res* 2011; 37(9): 1198–1202. doi: 10.1111/j.1447-0756.2010.01498.x.
11. Jadli A, Sharma N, Damania K et al. Promising prognostic markers of preeclampsia: new avenues in waiting. *Thromb Res* 2015; 136(2): 189–195. doi: 10.1016/j.thromres.2015.05.011.
12. Dobsa L, Edozien KC. Copeptin and its potential role in diagnosis and prognosis of various diseases. *Biochem Med (Zagreb)* 2013; 23(2): 172–190. doi: 10.11613/bm.2013.021.
13. Rivier C, Vale W. Modulation of stress-induced ACTH release by corticotropin-releasing factor, catecholamines and vasopressin. *Nature* 1983; 305(5932): 325–327. doi: 10.1038/305325a0.
14. Schurtz G, Lamblin N, Bateurs C et al. Copeptin in acute coronary syndromes and heart failure management: state of the art and future directions. *Arch Cardiovasc Dis* 2015; 108(6–7): 398–407. doi: 10.1016/j.acvd.2015.04.002.
15. Santillan MK, Santillan DA, Scroggins SM et al. Vasopressin in preeclampsia: a novel very early human pregnancy biomarker and clinically relevant mouse model. *Hypertension* 2014; 64(4): 852–859. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03848.
16. Yeung EH, Liu A, Mills JL et al. Increased levels of copeptin before clinical diagnosis of preeclampsia. *Hypertension* 2014; 64(6): 1362–1367. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03762.
17. Tuten A, Oncul M, Kucur M et al. Maternal serum copeptin concentrations in early- and late-onset pre-eclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2015; 54(4): 350–354. doi: 10.1016/j.tjog.2013.10.045.
18. Bellos I, Pergialiotis V, Papapanagiotou A et al. Association between serum copeptin levels and preeclampsia risk: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2020; 250: 66–73. doi: 10.1016/j.ejogrb.2020.04.051.
19. R Core Team. A language and environment for statistical computing. The R Project for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2021 [online]. Available from: <https://www.R-project.org/>.
20. Finnegan D. Reference Intervals. R package version 1.2.0. 2020 [online]. Available from: <https://CRAN.R-project.org/package=referenceIntervals>.
21. Villar J, Cheikh Ismail L, Victora CG et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet* 2014; 384(9946): 857–868. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60932-6.
22. Papageorgiou AT, Kennedy SH, Salomon LJ et al. The INTERGROWTH-21(st) fetal growth standards: toward the global integration of pregnancy and pediatric care. *Am J Obstet Gynecol* 2018; 218(2S): S630–S640. doi: 10.1016/j.ajog.2018.01.011.
23. Joosen AM, van der Linden IJM, Schrauwen L et al. Reference intervals and longitudinal changes in copeptin and MR-proADM concentrations during pregnancy. *Clin Chem Lab Med* 2017; 56(1): 113–119. doi: 10.1515/cclm-2017-0110.
24. Szczepanska-Sadowska E, Cudnoch-Jedrzejewska A, Wsol A. The role of oxytocin and vasopressin in the pathophysiology of heart failure in pregnancy and in fetal and neonatal life. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2020; 318(3): H639–H651. doi: 10.1152/ajpheart.00484.2019.
25. Schrier RW. Systemic arterial vasodilation, vasopressin, and vasopressinase in pregnancy. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21(4): 570–572. doi: 10.1681/ASN.2009060653.
26. Marek A, Stojko R, Drosdzol-Cop A. Copeptin in patients with pregnancy-induced hypertension. *Int J Environ Res Public Health* 2021; 18(12): 6470. doi: 10.3390/ijerph18126470.
27. Sandgren JA, Scroggins SM, Santillan DA et al. Vasopressin: the missing link for preeclampsia? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2015; 309(9): R1062–R1064. doi: 10.1152/ajpregu.00073.2015.

ORCID autorů

L. Roubalová 0009-0000-0565-0537
L. Krofta 0000-0001-7372-3953
M. Ľubušký 0000-0003-0551-0942

Mgr. Lucie Roubalová
Porodnicko-gynekologická klinika
LF UP a FN Olomouc
Zdravotníků 248/7
779 00 Olomouc
roubalova.l@seznam.cz

Publikační etika: Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

Publication ethics: The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE uniform requirements for biomedical papers.

Konflikt zájmů: Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie/práce nemají žádný konflikt zájmů.

Conflict of interests: The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning the drugs, products or services used in the study.