

**ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ****ΠΡΟΕΚΛΑΜΨΙΑ:  
ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ****I. Γραμματικάκης, Ν. Ευαγγελινάκης, Γ. Σαλαμαλέκης, Μ. Κρεατσά, Δ. Κασσάνος****ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Η προεκλαμψία παραμένει ένα από τα βασικά αίτια μητρικής και εμβρυικής νοσηρότητας και θνησιμότητας. Παρά την εκτεταμένη έρευνα που διεξάγεται στον τομέα αυτό, η αιτιοπαθογένεια της νόσου παραμένει εν πολλοίς άγνωστη. Πρόσφατα δεδομένα, ωστόσο, παρέχουν ικανοποιητική εξήγηση για τη φύση της διαταραχής στην προεκλαμψία, καθώς και για την εκδήλωση των ιδιαίτερων κλινικών σημείων που τη χαρακτηρίζουν. Το βασικό χαρακτηριστικό αυτών των απόψεων είναι ότι η υπέρταση και η πρωτεϊνουρία που αποτελούν τα απαραίτητα κριτήρια της διάγνωσης της προεκλαμψίας προκύπτουν από την επίδραση πολλών διαφορετικών παραγόντων. Το σημαντικότερο, όμως, είναι το γεγονός ότι η θεραπεία της προεκλαμψίας δεν έχει αλλάξει σημαντικά τα τελευταία 40 χρόνια. Σκοπός αυτής της ανασκόπησης είναι να περιγραφούν τα πλέον πρόσφατα δεδομένα που προκύπτουν τόσο από την κλινική όσο και από την εργαστηριακή έρευνα στην παθοφυσιολογία της προεκλαμψίας.

*Λέξεις κλειδιά: παθοφυσιολογία, προεκλαμψία, ρίζες οξυγόνου, αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας.*

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Πρόκειται για επιπλοκή της κύησης που χαρακτηρίζεται από οιδήματα, υπέρταση και πρωτεϊνουρία, σε γυναίκες χωρίς προϋπάρχουσα υπέρταση ή πρωτεϊνουρία και εμφανίζεται μετά την 20ή εβδομάδα της κύησης<sup>1</sup>. Εάν δεν αντιμετωπιστεί έγκαιρα η προεκλαμψία μπορεί να μεταπέσει σε εκλαμψία, κατάσταση απειλητική για τη ζωή της εγκύου<sup>2</sup>. Η προεκλαμψία αποτελεί τη σημαντικότερη αιτία μητρικής και εμβρυικής νοσηρότητας - θνησιμότητας<sup>3,4</sup>. Η συχνότητα εμφάνισης κυμαίνεται μεταξύ 2%-7%, ενώ μπορεί να είναι και τριπλάσια, ανάλογα με τα εθνικά και κοινωνικά χαρακτηριστικά των γυναικών<sup>5,6</sup>. Υπολογίζεται ότι ετησίως περί τις 8.370.000 κύσεις επιπλέκονται με προεκλαμψία<sup>5,6</sup>.

**ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ**

Η προεκλαμψία παρατηρείται κυρίως στις πρωτοτόκες, ενώ ο προστατευτικός μηχανισμός της πολυτοκίας φαίνεται ότι εκλείπει στις περιπτώσεις αλλαγής του συντρόφου<sup>7</sup>. Έτσι, ενισχύεται η θεωρία ότι η πολλαπλή έκθεση σε ειδικά αντισώματα από τον ίδιο σύντροφο έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση του σχετικού κινδύνου εμφάνισης της επιπλοκής. Πάντως, αναφέρεται ότι η προστατευτική αυτή επίδραση εξαρτάται και από το μεσοδιάστημα των κύσεων<sup>8</sup>. Έτσι, εάν το μεσοδιάστημα αυτό είναι μεγαλύτερο από 10 έτη, ο σχετικός κίνδυνος είναι ίδιος με τις πρωτοτόκες. Η θεωρία, όμως, αυτή δεν είναι ακόμα επαρκώς τεκμηριωμένη<sup>9</sup>.

Στους προδιαθεσικούς παράγοντες συμπεριλαμβάνονται η μεγάλη ηλικία (>40 ετη), η νεφρική νόσος, η υπέρταση, ο διαβήτης, η πολύδυμη κύηση, η παχυσαρκία, το ιστορικό σε προηγούμενη κύηση, ο πρώτος τόκος, τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα<sup>10,11</sup>. Άλλοι παράγοντες κινδύνου είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη και η θρομβοφιλία<sup>12-14</sup>. Επίσης, ο υποσιτισμός σε αναπτυσσόμενες χώρες έχει αναγνωριστεί ως προδιαθεσικός παράγοντας<sup>15</sup>. Η χορήγηση ασβετίου δε φαίνεται να συσχετίζεται με τη νόσο<sup>16-18</sup>.

**ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

Ασαφής εξακολουθεί να παραμένει η γονιδιακή αιτιολογία της επιπλοκής αυτής. Κανένα γονίδιο δεν έχει ακόμα βρεθεί που να συσχετίζεται αποκλειστικά με τη νόσο. Έτσι, έχει περιγραφεί ότι η νόσος κληρονομείται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο ή τον αυτοσωμικό επικρατούμενο τύπο, αλλά και ότι οφείλεται σε πολλά γονίδια, καθώς και σε άλλους παράγοντες. Ακόμη, έχει περιγραφεί συσχέτιση της προεκλαμψίας με πολυμορφισμό γονιδίων που ελέγχουν

Πίνακας 1. Ταξινόμηση διαταραχών αρτηριακής πίεσης κατά τη διάρκεια της κύησης εκτός από την προεκλαμψία

|   |  |
|---|--|
| Χρόνια υπέρταση:                          | Η υπέρταση προϋπάρχει της κύησης είτε ως πρωτοπαθής, είτε ως δευτεροπαθής (προϋπάρχουσα νεφρική νόσος)   |
| Υπέρταση κήσεως                           | Η υπέρταση διαγιγνώσκεται για πρώτη φορά μετά την 20η εβδομάδα κύησης χωρίς να συνοδεύεται από πρωτεϊνουρία. Μπορεί να είναι είτε παροδική, οπότε εξαφανίζεται μέχρι τη 12η εβδομάδα της λοχείας, είτε χρόνια        |
| Προεκλαμψία επί εδάφους χρόνιας υπέρτασης | Έντονη αύξηση της αρτηριακής πίεσης, εμφάνιση ή ραγδαία επιδείνωση πρωτεϊνουρίας, θρομβοκυτταροπενία ή αύξηση των τιμών των ενζύμων του ήπατος μετά την 20η εβδομάδα της κύησης σε γυναίκες με προϋπάρχουσα υπέρταση |

την αρτηριακή πίεση, την πηκτικότητα, το μεταβολισμό ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ρενίνη, αγγειοτενσινογόνο, ενδοθηλιακή συνθετάση του νιτρικού οξειδίου, λιπάση λιποπρωτεΐνης, παράγοντας V Leiden). Όμως οι θεωρίες αυτές δεν έχουν ακόμη γίνει αποδεκτές<sup>19-23</sup>. Οι επίτοποι που ενοχοποιούνται είναι οι 2p13-2p15-9p13<sup>24,25</sup>. Ωστόσο, οι επίτοποι αυτοί αντιπροσωπεύουν ένα μικρό ποσοστό των εκλαμπτικών περιπτώσεων, ενώ άλλοι ερευνητές δε συσχετίζουν τους επίτοπους αυτούς με τη νόσο<sup>26,27</sup>. Επίσης, ο επίτοπος 10q22 ενοχοποιείται για την προεκλαμψία<sup>28</sup>.

Το γονίδιο STOX1 στον επίτοπο 10q22 περιέχει πέντε μεταλλάξεις. Το γονίδιο αυτό είναι ίδιο σε αδελφές που εμφανίζουν προεκλαμψία και επομένως κληρονομείται από τη μητέρα<sup>29</sup>. Φαίνεται ότι το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που συνδέεται με DNA και η οποία ελέγχει τον πολυπλοειδισμό της εξωλαχνιακής τροφοβλάστης<sup>29</sup>. Τέλος, έχουν καταγραφεί μεμονωμένοι πολυμορφισμοί 28 νουκλεοτιδίων, μεταξύ των οποίων και νουκλεοτίδια που ελέγχουν τη δράση της αγγειοτενσίνης (αγγειοτενσινογόνο, υποδοχέας της αγγειοτενσίνης II τύπου 1, οξειδωτική μεθυλενική τετραϋδροφυλλική αναγωγή)<sup>30</sup>. Καμία, ωστόσο, μετάλλαξη δε φαίνεται να προκαλεί πολύ αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου, γεγονός που αποδεικνύει ότι οι μεταβολές της δραστηριότητας της αγγειοτενσίνης και το οξειδωτικό stress, δεν αποτελούν τη βασική αιτία της προεκλαμψίας.

#### ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Τα κυριότερα συμπτώματα της προεκλαμψίας είναι η υπέρταση και η πρωτεϊνουρία. Ως υπέρταση ορίζεται η αύξηση της συστολικής αρτηριακής πίεσης περισσότερο από 140mmHg ή της διαστολικής αρτηριακής πίεσης περισσότερο από 90mmHg σε δύο ή περισσότερες μετρήσεις, με διαφορά τουλάχιστον 4-6 ωρών (όχι όμως περισσότερο από επτά ημέρες), μετά την 20ή εβδομάδα της κύησης σε γυναίκες χωρίς ιστορικό υπέρτασης<sup>31,32</sup>.

Σε πρωτοτόκες γυναίκες η προεκλαμψία διαφοροδιαγιγνώσκεται από την υπέρταση της κύησης με την ανεύρεση πρωτεϊνουρίας, η οποία ορίζεται ως η ύπαρξη επιπέδων πρωτεΐνης μεγαλύτερων από 0.3g σε ούρα 24ώρου<sup>1</sup>. Η διάγνωση της πρωτεϊνουρίας θα πρέπει να γίνεται καλύτερα με τη συλλογή ούρων 24ώρου και όχι με τυχαίες μεμονωμένες μετρήσεις<sup>33-35</sup>. Να σημειωθεί ότι τα διαγνωστικά κριτήρια που παρατίθενται στους πίνακες που ακολουθούν, δεν αφορούν περιπτώσεις που η υπέρταση ή η πρωτεϊνουρία προϋπάρχουν της 20ής εβδομάδος της κύησης<sup>36,37</sup>. Προεκλαμψία, ωστόσο, μπορεί να εμφανιστεί και σε περιπτώσεις προϋπάρχουσας χρόνιας υπέρτασης η οποία επιδεινώνεται κατά την κύηση (πίνακας 1).

Η προεκλαμψία χαρακτηρίζεται ως σοβαρή, εάν πληρούνται ένα ή περισσότερα κριτήρια από τον πίνακα 2<sup>38</sup>. Η προεκλαμψία μπορεί να συσχετίζεται, εκτός από υπέρταση και πρωτεϊνουρία, και με κεφαλαλγία, διαταραχές οράσεως, επιγαστρική άλγος, άλγος δεξιού υποχονδρίου, ναυτία και έμετο (πίνακας 2). Η αιμόλυση, τα αυξημένα ηπατικά ένζυμα και η θρομβοκυττοπενία αποτελούν χαρακτηριστικά εργαστηριακά ευρήματα βαρείας μορφής προεκλαμψίας (σύνδρομο HELLP) το οποίο εκδηλώνεται σε ποσοστό 5%-8% των προεκλαμπτικών γυναικών<sup>38</sup>. Η προεκλαμψία μπορεί να προκαλέσει βλάβες σε οποιοδήποτε όργανο της μητέρας, κυρίως όμως στο αγγειακό σύστημα, στους νεφρούς, στο ήπαρ, στον εγκέφαλο και στους μηχανισμούς πηκτικότητας (πίνακας 2). Η νεφρική λειτουργία επηρεάζεται από τις βλάβες του ενδοθηλίου, οι οποίες προκαλούν αγγειόσπασμο και κατά συνέπεια ελάττωση της νεφρικής αιμάτωσης. Το αποτέλεσμα είναι η εμφάνιση πρωτεϊνουρίας<sup>39</sup>. Σε σοβαρές μορφές προεκλαμψίας μπορεί να υπάρξει ολιγουρία, ή ακόμα και ανουρία ως συνέπεια της ελαττωμένης καρδιακής παροχής και των υψηλών περιφερικών αντιστάσεων. Ωστόσο, σπάνια είναι η οξεία νεφρική ανεπάρκεια<sup>39</sup>.

Πίνακας 2. Κλινικά σημεία προεκλαμψίας στη μητέρα

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| Υπέρταση:                          | συστολική πίεση >140 mmHg, διαστολική πίεση >90 mmHg <sup>1</sup>   |
| Πρωτεϊνουρία:                      | πρωτεΐνη ούρων 24ώρου >300 mg <sup>127</sup>  |
| Ελαττωμένος όγκος πλάσματος:       | κατά 30-40% σε σχέση με τη φυσιολογική κύηση <sup>128</sup>   |
| Οιδήματα:                          | κατακράτηση υγρών στο διάμεσο χώρο, πολυπαραγοντική (παρατηρείται σε άνω του 50% των φυσιολογικών κύσεων) <sup>128</sup><br>Ελάττωση της αιματικής ροής στη νεφρική αρτηρία <sup>94</sup> |
| Αύξηση του ουρικού οξέος ορού:     | οφείλεται στην ελάττωση της κάθαρση του ουρικού οξέος από τους νεφρούς <sup>129</sup>   |
| Αύξηση τρανσαμινασών και LDH:      | νέκρωση ηπατοκυττάρων με διαρροή ηπατικών ενζύμων στη μητρική κυκλοφορία <sup>130</sup>   |
| Οίδημα εγκεφάλου:                  | λόγω υπέρτασης και διαταραχής του μηχανισμού αντοξήμησης των αγγείων <sup>131</sup>   |
| Θρομβοκυταροπενία:                 | Αιμοπετάλια <150,000 κύτταρα/μμ <sup>2</sup> <sup>132</sup>   |
| Διαταραχή του πηκτικού μηχανισμού: | αλλαγές στον καταρράκτη της πήξης και στον ινωδολυτικό μηχανισμό <sup>133</sup>   |

Η προεκλαμψία, εάν δεν αντιμετωπιστεί έγκαιρα μπορεί να μεταπέσει σε εκλαμπτικούς σπασμούς<sup>2</sup>. Των εκλαμπτικών σπασμών μπορεί να προηγείται ισχυρή κεφαλαλγία και διαταραχή της όρασης. Συχνά παρατηρείται διαταραχή του επιπέδου συνείδησης, χωρίς να οφείλεται αποκλειστικά στην υποκείμενη υπερτασική εγκεφαλοπάθεια. Θάνατος της μητέρας συμβαίνει συχνότερα σε περιπτώσεις εκλαμψίας και σοβαρής υπέρτασης, ενώ οι γυναίκες με ιστορικό προεκλαμψίας έχουν αυξημένο κίνδυνο να εμφανίσουν επιπλοκές από το καρδιαγγειακό σύστημα<sup>40</sup>. Η ελάττωση της μητροπλακουντιακής ροής και τα έμφρακτα του πλακούντα έχουν σαν αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία της εμβρυοπλακουντιακής μονάδας και κατά συνέπεια την υπολειπόμενη ανάπτυξη του εμβρύου, την πιθανή αποκόλληση του πλακούντα και τέλος την ανάπτυξη ολιγοϋδράμιου. Γενικά, το περιγεννητικό αποτέλεσμα και η μητρική επίπτωση είναι καλύτερα σε ήπιες μορφές προεκλαμψίας που εκδηλώνεται μετά την 36η εβδομάδα της κύησης, ενώ αντίθετα σε περιπτώσεις κύησης που η νόσος εκδηλώνεται προ της 33ης εβδομάδος το αποτέλεσμα δεν είναι τόσο ικανοποιητικό<sup>1,6,41,42</sup>. Επίσης, η περιγεννητική και η μητρική νοσηρότητα και θνησιμότητα είναι μεγαλύτερη σε γυναίκες με συνυπάρχουσες άλλες παθήσεις, ενώ μεγαλύτερη επίπτωση της προεκλαμψίας παρατηρείται στις αναπτυσσόμενες χώρες<sup>34,37,43</sup>.

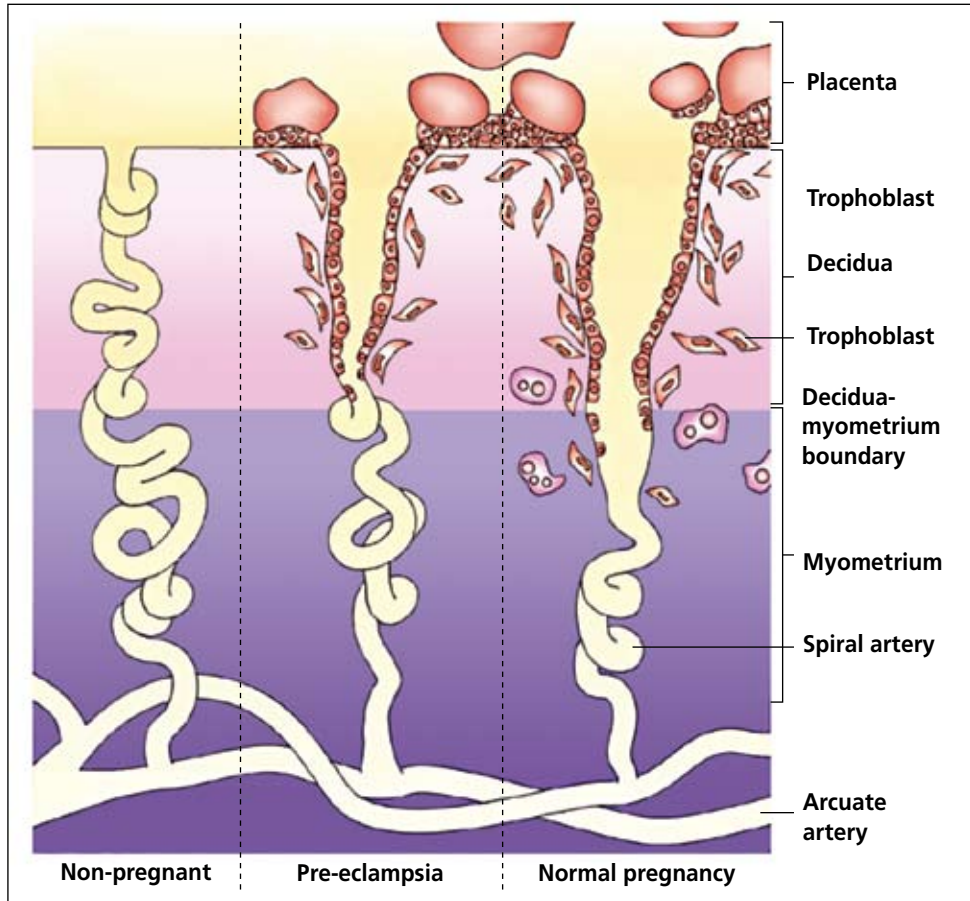
Σχετικά με τον έλεγχο screening των εγκύων γυναικών, προκειμένου να ανιχνευθούν έγκαιρα οι περιπτώσεις εκείνες που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης προεκλαμψίας, έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι και δείκτες όπως ο έλεγχος της αιμάτωσης του πλακούντα, η αντίσταση των αγγείων με τη Doppler υπερηχογραφία, η εντόπιση δεικτών ενδοθηλιακού - οξειδωτικού stress<sup>44</sup>. Δυστυχώς, ωστόσο, οι σχετικές έρευνες δεν απεδείχθησαν ικανοποιητικές στην κλινική εφαρμογή<sup>44</sup>. Επίσης, άλλοι ερευνητές προτείνουν το συνδυασμό αιμοδυναμικών και βιοχημικών δεικτών<sup>45</sup>. Έτσι, η Doppler υπερηχογραφία των μητριάων αγγείων εφαρμόζεται σε αρκετά κέντρα αναφοράς. Παραταύτα, πολλές διχογνωμίες υπάρχουν ως προς την αποτελεσματικότητα της μεθόδου, καθότι οι μετρήσεις γίνονται σε διαφορετική εβδομάδα κύησης και αναλύονται με διαφορετικό τρόπο<sup>46</sup>.

### ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Πολλές προσπάθειες έχουν γίνει προκειμένου να γίνουν κατανοητοί οι ακριβείς παθογενετικοί μηχανισμοί της προεκλαμψίας βάσει συγκεκριμένων διαγνωστικών κριτηρίων. Ωστόσο, οι περισσότερες μελέτες περιλαμβάνουν ομάδες γυναικών με εγκατεστημένη νόσο και όχι έγκυες σε πρόδρομα στάδια της νόσου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να καθίσταται δύσκολη η ακριβής διερεύνηση. Πειράματα σε ζώα απέτυχαν να διαφωτίσουν την αιτιοπαθογένεια της νόσου, λόγω του ότι τα ευρήματα των μελετών αυτών δεν έχουν εφαρμογή στο ανθρώπινο είδος. Για τους λόγους αυτούς έχουν προταθεί διάφορες θεωρίες για την αιτιοπαθογένεια της νόσου, οι οποίες αφορούν κυρίως τη μητροπλακουντιακή μονάδα.

#### 1) Εμβρυοπλακουντιακός Παράγοντας

Προκειμένου να προχωρήσει φυσιολογικά μια κύηση, η πρώιμη βλαστοκύστη θα πρέπει να εμφυτευθεί στο ενδομήτριο κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να είναι δυνατή η επαρκής αιμάτωση των κοτυληδόνων του πλακούντα<sup>47</sup>. Κατά



Εικόνα 1. Διαταραχές διείσδυσης της τροφοβλάστης στην προεκλαμψία (Nature Immunology, 2008).

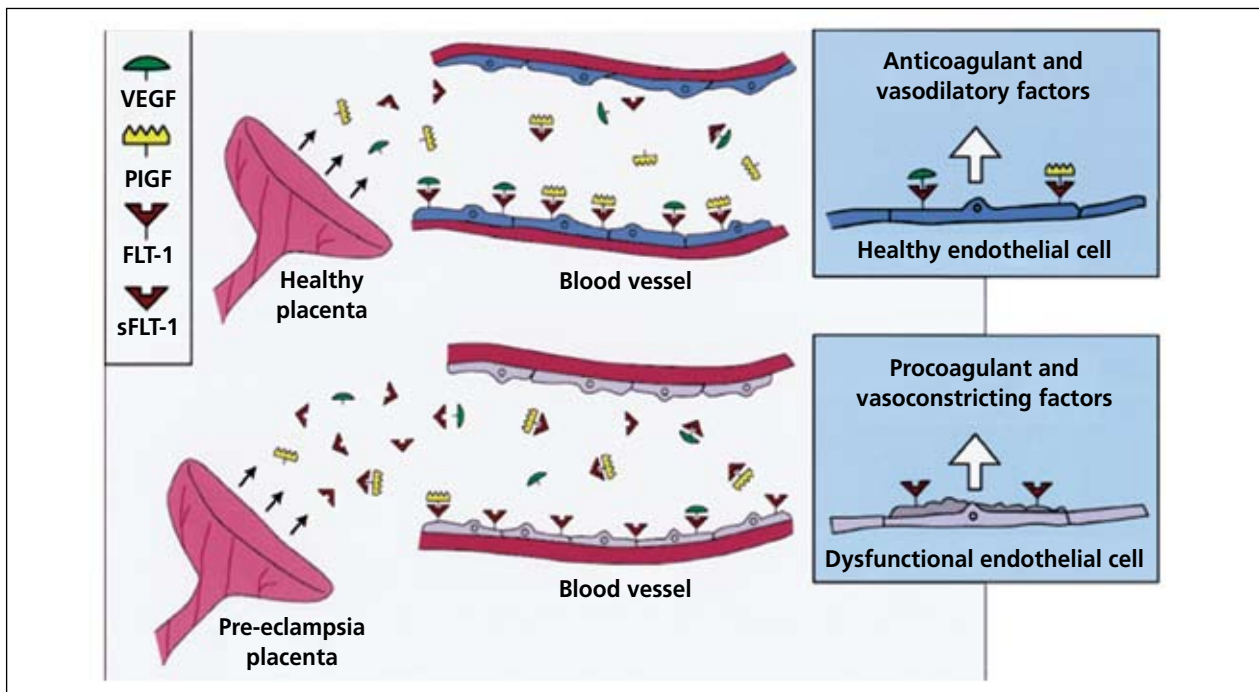
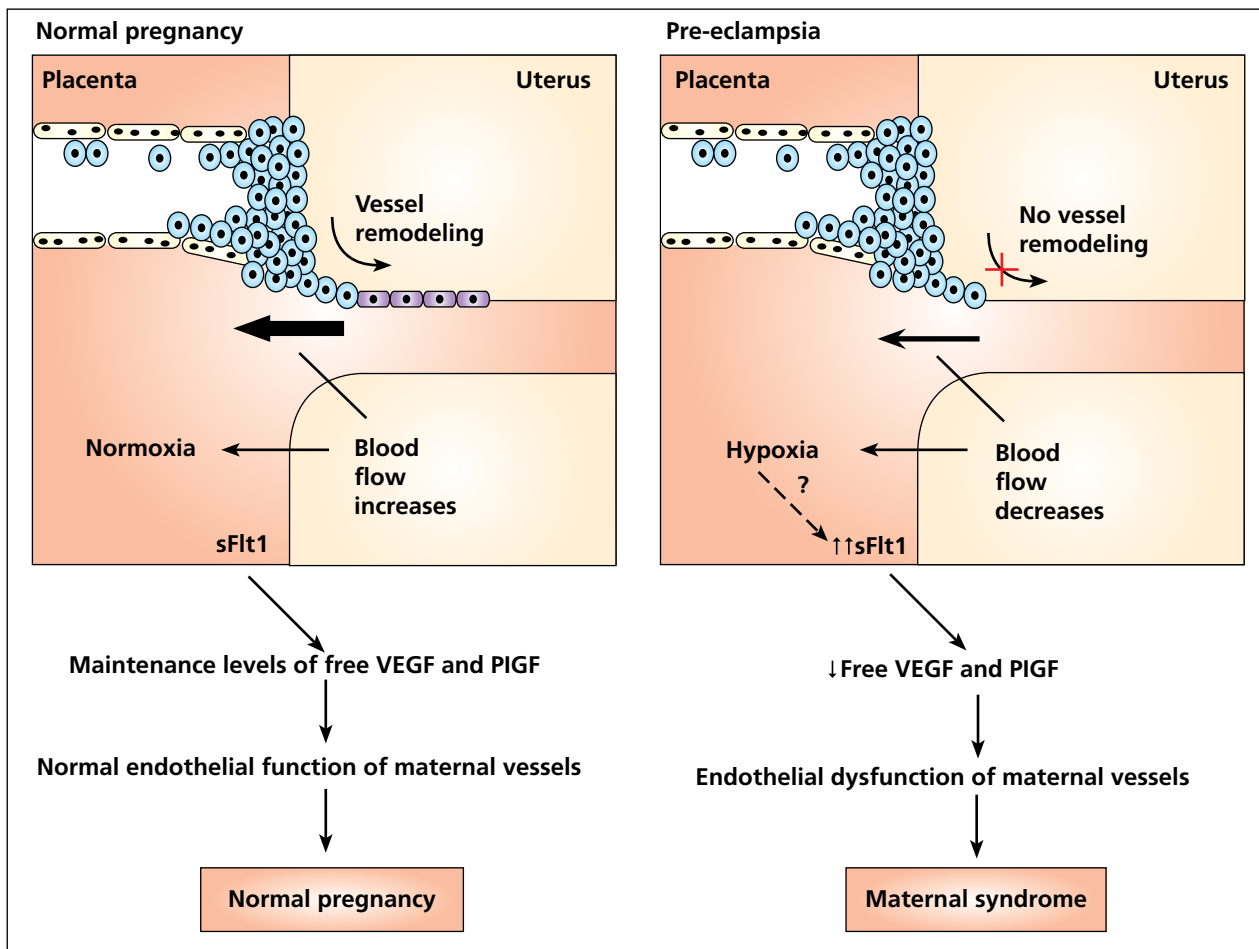
τη διαδικασία αυτή, η εξωλαχινακή κυτταροτροφοβλάστη αναπτύσσεται από τις αχοριακές χοριοιικές λάχνες διαμορφώνοντας το κατάλληλο περιβάλλον στην ενδομητρική κοιλότητα. Έχουν εντοπιστεί δύο πληθυσμοί διείσδυσης εξωχοριοιικών τροφοβλαστών. Πρώτον, οι τροφοβλάστες που διεισδύουν μέχρι το μυομήτριο και οι οποίοι στο τέλος της διαδικασίας διείσδυσης μετατρέπονται σε πολύ μεγάλα πολυπύρηννα κύτταρα<sup>48</sup>.

Φαίνεται ότι οι τροφοβλάστες αυτοί εκκρίνουν αγγειοδιασταλτικές ουσίες (π.χ. μονοξειδίο του άνθρακα και του αζώτου - CO, NO), οι οποίες δρουν στις σπειροειδείς αρτηρίες, προτού καταστραφούν από τους ενδοαγγειακούς τροφοβλάστες<sup>48</sup>. Οι ενδοαγγειακοί κυτταροτροφοβλάστες, μέσω δράσης στο τοίχωμα των σπειροειδών αρτηριών, προκαλούν διαστολή των αγγείων. Έτσι, κατά το δεύτερο τρίμηνο της κύησης, οι σπειροειδείς αρτηρίες μετατρέπονται με την επίδραση της κυτταροτροφοβλάστης, από μικρά αγγεία με μεγάλη αντίσταση σε αγγεία με μεγάλη χωρητικότητα. Η διαδικασία αυτή της διείσδυσης επιτρέπει την ανάπτυξη της εμβρυοπλακουντιακής μονάδας. Ωστόσο, να σημειωθεί ότι το επιφανειακό τμήμα των σπειροειδών αρτηριών δε μεταβάλλεται και εξακολουθεί να χαρακτηρίζεται από υψηλές αντιστάσεις<sup>49</sup>.

Το αποτέλεσμα αυτών των διεργασιών είναι να μειωθεί σημαντικά η ποσότητα αίματος του μεσολάγχγιου χώρου. Έτσι, θεωρείται ότι η διαταραχή διείσδυσης της τροφοβλάστης είναι ο βασικότερος παθογενετικός μηχανισμός της προεκλαμψίας. Σε μελέτες που έχουν γίνει σε ιστολογικά παρασκευάσματα υστερεκτομηθέντων γυναικών λόγω προεκλαμψίας, απεδείχθη ότι τόσο το βάθος διείσδυσης όσο και ο αριθμός των τροφοβλαστών ήταν σημαντικά μειωμένα<sup>50</sup> (εικόνα 1).

#### - Μοριακοί-κυτταρικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη φυσιολογική πλακουντοποίηση

Με βάση τα μέχρι σήμερα υπάρχοντα δεδομένα, η διαταραχή διείσδυσης των μητροπλακουντιακών αγγείων οφείλεται στη δράση ενδογενών (ανωμαλίες της εξωχοριοιικής τροφοβλάστης) και εξωγενών παραγόντων από τη μήτρα (ανωμαλίες Natural Killer Cells της μήτρας, ανωμαλίες κυτταροσυγκολλητικών μορίων στο ενδοθήλιο της μητέρας). Φαίνεται ότι οι παράγοντες αυτοί αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με αποτέλεσμα την εκδήλωση της νόσου.



Εικόνα 2. Προεκλαμψία και αγγειογενετικοί παράγοντες (Nature Reviews, 2005).

*- Ανωμαλίες Natural Killer Κυτταρων της μήτρας*

Τα Natural Killer λεμφοκύτταρα αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό των λεμφοκυττάρων του χορίου. Κατά την αρχόμενη κύηση λειτουργούν σαν «φίλτρο» γύρω από τα κύτταρα της κυτταροτροφοβλάστης και σε αλληλεπίδραση με τους εξωλαχνιακούς τροφοβλάστες επάγουν την αγγειογένεση, μέσω παραγωγής κυτταροκινών (VEGF - αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας, PLGF - πλακουντιακός αυξητικός παράγοντας, αγγειοποιητίνη 2)<sup>51</sup>. Παρά το ότι τα τροφοβλαστικά κύτταρα των λαχνών που ανευρίσκονται στο μητρικό αίμα εμφανίζουν έλλειψη μορίων MHC (μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας) τύπου 1 και 2, η κυτταροτροφοβλάστη που διεισδύει εμφανίζει έναν ασυνήθη συνδυασμό τέτοιων μορίων όπως, HLA-C, HLA-E, HLA-G. Τα μόρια αυτά ενώνονται με ειδικούς υποδοχείς στην επιφάνεια των Natural Killer λεμφοκυττάρων, π.χ. τους υποδοχείς killer cell immunoglobulin - like receptors (KIRs) και CD94. Το σύμπλεγμα υποδοχέα - υποστρώματος φαίνεται ότι ρυθμίζει την αλληλεπίδραση της εξωλαχνιακής τροφοβλάστης με τα Natural Killer κύτταρα του χορίου. Στο ανθρώπινο γονιδίωμα ο επίτοπος για τους υποδοχείς KIR αποτελείται από 7-15 γονίδια και εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 19q. Τα γονίδια αυτά περιέχουν πληροφορίες τόσο για την καταστολή όσο και για την ενεργοποίηση των υποδοχέων KIR. Οι επίτοποι αυτοί εμφανίζουν διαφορετική αλληλουχία γονιδίων με αποτέλεσμα να υπάρχουν πολλές μορφές.

Στον άνθρωπο τόσο τα HLA-C γονίδια, όσο και τα γονίδια KIR εμφανίζουν πολυμορφία και ως εκ τούτου σε κάθε κύηση το μόριο HLA-C της τροφοβλάστης που προέρχεται από τον πατέρα είναι διαφορετικό, ενώ επίσης διαφορετικοί είναι και οι υποδοχείς KIRs των Natural Killer Cells, που προέρχονται από τη μητέρα<sup>52</sup>.

Η προεκλαμψία είναι συχνότερη σε ομόζυγες γυναίκες για τύπο γονιδίων A (δηλαδή γονίδια που κυρίως καταστέλλουν τους KIRs), συγκριτικά με γυναίκες ομόζυγες για τύπο γονιδίων B (δηλαδή γονίδια που ενεργοποιούν τους KIRs), καθώς και συγκριτικά με ετερόζυγες γυναίκες<sup>53</sup>. Επίσης, ο συνδυασμός ύπαρξης του εμβρυικού HLA-C2 γονότυπου (του οποίου το προϊόν έκφρασης συνδέεται περισσότερο με τους KIR από ότι του HLA-C1) με το μητρικό AA KIR γονότυπο, συσχετίζεται συχνότερα με προεκλαμψία<sup>53</sup>. Ο συνδυασμός αυτός φαίνεται ότι αποτελεί το σημαντικότερο κατασταλτικό ερέθισμα από την εξωλαχνιακή τροφοβλάστη προς τα κύτταρα NK. Έτσι, υποστηρίχθηκε η άποψη, ότι η καταστολή των μητρικών NK κυττάρων επιδρά στις διαταραχές των μητρικών αγγείων της τροφοβλάστης. Πάντως, ένα μικρό ποσοστό κυήσεων με έμβρυα που έχουν το γονότυπο C2 και με μητέρες που έχουν το γονότυπο AA αναπτύσσουν προεκλαμψία, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι πιθανότατα εμπλέκονται και άλλοι παράγοντες.

*- Ανωμαλίες κυτταροσυναγγεϊογενετικών μορίων στο ενδοθήλιο της μήτρας*

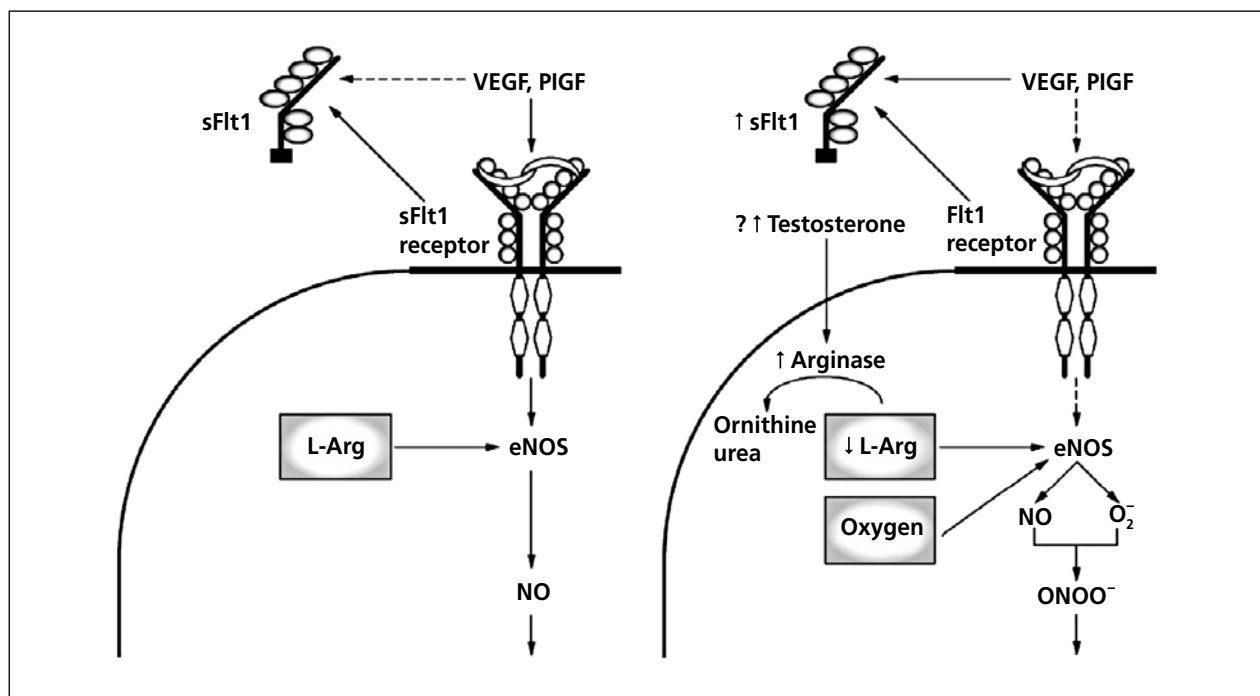
Στη φυσιολογική κύηση οι κυτταροτροφοβλάστες καθώς διεισδύουν στο τοίχωμα της μήτρας χάνουν σταδιακά την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται και να ρυθμίζουν την παραγωγή μεταλλοπρωτεϊνών του εξωκυτταρίου χώρου, μηχανισμοί με τους οποίους προάγεται η μετατροπή επιθηλιακού ιστού σε ενδοθήλιο<sup>54</sup>. Οι κυτταροτροφοβλάστες καταστέλλουν τους παρόμοιους του επιθηλίου υποδοχείς (epithelial like receptors), όπως το κυτταροσυνδετικό μόριο αμινοπεπτιδίων ενδοθηλίου (PECAM), αγγειακή - ενδοθηλιακή cadherin, αγγειακό - κυτταροσυνδετικό μόριο - 1 (VCAM-1) και, τέλος, α4, α5β3 ιντεγκρίνες<sup>54</sup>. Στην προεκλαμψία, η διαδικασία αυτή της μετατροπής των κυττάρων είναι επηρεασμένη και οι κυτταροτροφοβλάστες δε διαφοροποιούνται και δε διεισδύουν.

Ανοσοϊστοχημικά σε βιοψίες πλακούντων προεκλαμπτικών γυναικών παρατηρούνται πολύ χαμηλά επίπεδα αγγειακής - ενδοθηλιακής cadherin, VCAM 1 και α5β3 ιντεγκρινών, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα κύτταρα «αδυνατούν» να εμφανίσουν ενδοθηλιακό φαινότυπο<sup>49</sup>.

*- Τοπική ανεπάρκεια αγγειογενετικών παραγόντων VEGF - PLGF*

Αυτή η «αδυναμία» μετατροπής των κυττάρων αποδίδεται στην ανεπάρκεια, τοπικά, αγγειογενετικών παραγόντων, μεταξύ των οποίων οι VEGF και PLGF, παράγοντες που σε φυσιολογική κύηση εμφανίζονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις<sup>55</sup>. Ειδικότερα, ο VEGF επάγει την παραγωγή της ιντεγκρίνης α5β3 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Το μόριο αυτό συσχετίζεται με την αγγειογένεση και με τη διείσδυση της κυτταροτροφοβλάστης<sup>54</sup>.

Υποδοχείς VEGF των κυτταροτροφοβλαστών (FLT 1): οι κυτταροτροφοβλάστες έχουν υποδοχείς VEGF, μεταξύ των οποίων και ο Fms-like tyrosine kinase 1 (Flt 1) υποδοχέας (υποδοχέας VEGF 1)<sup>56</sup>. Υψηλά επίπεδα του Flt 1 παρατηρούνται στους διεισδυτικούς κυτταροτροφοβλάστες, ακόμη και έξι εβδομάδες μετά τη γονιμοποίηση<sup>56</sup>, με αποτέλεσμα η ένωση του υποδοχέα με τους παράγοντες VEGF και PLGF να εμπλέκεται στους μηχανισμούς διείσδυσης και ψευδοαγγειογένεσης. Η πιθανότητα αυτή ενισχύεται και από το γεγονός ότι παρατηρείται ελαττωμένη κυτταρο - κυτταρική επικοινωνία καθώς και ελαττωμένα επίπεδα ιντεγκρίνης α1. Επίσης, πλακούντες προεκλαμπτικών γυναικών εμφανίζουν ελαττωμένα επίπεδα VEGF m-RNA, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι ο παράγοντας VEGF συσχετίζεται με την ανώμαλη πλακουντοποίηση<sup>57</sup>.



Σχήμα 1. Τα ελαττωμένα επίπεδα L-αργινίνης έχουν ως αποτέλεσμα ελαττωμένη διήθηση διαμέσου του πλακούντα και βλάβες στα μικρά αγγεία. Η σύνδεση του VEGF και του PlGF στον τυροσινικό υποδοχέα που ομοιάζει στους Fms στην κυτταροτροφοβλάστη διεγείρει την παραγωγή νιτρικού οξειδίου. Αυτή η αλληλεπίδραση με τον VEGF και τον PlGF αναστέλλεται από το διαλυτό τυροσινικό υποδοχέα που ομοιάζει στους Fms. Στο φυσιολογικό πλακούντα υπάρχει επαρκής ποσότητα L-αργινίνης στους ιστούς ώστε να επιτυγχάνεται ικανοποιητική παραγωγή νιτρικού οξειδίου (αριστερό τμήμα εικόνας). Ταυτόχρονα, αυξημένη παραγωγή αργινάσης-II ελαττώνει τη συγκέντρωση της L-αργινίνης στον πλακούντα, με αποτέλεσμα η ενδοθηλιακή συνθάση του νιτρικού οξειδίου να προτιμά την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου αντιδρούν με το νιτρικό οξύ με αποτέλεσμα να μειώνεται ο χρόνος ημίσειας ζωής του δεύτερου (δεξί τμήμα εικόνας). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα ανωμαλίες στη διάχυση διαμέσου του πλακούντα και μικροαγγειακό οξειδωτικό stress.

(eNOS: ενδοθηλιακή συνθάση του νιτρικού οξειδίου (endothelial nitric oxide synthase), Flt1: τυροσινικός υποδοχέας 1 τύπου Fms (Fms-like tyrosine kinase 1), L-Arg: L-αργινίνη (L-arginine), NO: νιτρικό οξείδιο (nitric oxide), O<sub>2</sub><sup>-</sup>: ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (superoxide anion), PlGF: πλακουντιακός αυξητικός παράγοντας (placental growth factor), sFlt: διαλυτός τυροσινικός υποδοχέας 1 τύπου Fms (soluble Fms-like tyrosine kinase 1), VEGF: ενδοθηλιακός αγγειακός αυξητικός παράγοντας (vascular endothelial growth factor).)

Τα επίπεδα του VEGF και του υποδοχέα Flt 1 είναι ελαττωμένα στην προεκλαμψία, συγκριτικά με τη φυσιολογική κύηση. Το μεγαλύτερο ποσοστό του Flt 1 που παράγεται στον πλακούντα κατά τη διάρκεια του προχωρημένου σταδίου της κύησης ανευρίσκεται σε διαλυτή μορφή (sFlt 1), η οποία υπολείπεται της αδιάλυτης μορφής του κυτταροπλάσματος και της κυτταρικής μεμβράνης. Η διαλυτή μορφή του Flt 1 εκκρίνεται σε μεγάλες ποσότητες στο αίμα, όπου ελαττώνει τα επίπεδα του ελεύθερου VEGF<sup>58</sup>. Σε κυτταροτροφοβλάστες προεκλαμπτικών πλακούντων παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα sFlt 1 καθώς και sFlt 1 m-RNA<sup>59</sup>, συγκριτικά με πλακούντες φυσιολογικών κύσεων<sup>59</sup>.

Γίνεται φανερό ότι η υπερπαραγωγή του sFlt 1 έχει ως αποτέλεσμα την ελαττωμένη σύνδεση του VEGF με τον Flt1 της κυτταροτροφοβλάστης, έτσι ώστε να εμφανίζεται διαταραχή στη διείσδυση της τροφοβλάστης και προεκλαμψία<sup>60</sup>.

Ωστόσο, δεν έχει ακόμη απαντηθεί ακριβώς το ερώτημα εάν η διαταραχή της αλληλεπίδρασης του VEGF με τον Flt 1 συσχετίζεται με την ανώμαλη πλακουντοποίηση και τη διαταραχή της αρχιτεκτονικής των σπειροειδών αρτηριών που παρατηρούνται κατά την προεκλαμψία (εικόνα 2).

#### - Μονοξείδιο του αζώτου, συνθέταση του νιτρικού οξειδίου (NOS)

Ενδιαφερόσα είναι η παρατήρηση, ότι η αλληλεπίδραση του VEGF με τον Flt 1 επιφέρει την απελευθέρωση μονοξειδίου του αζώτου (NO), το οποίο έχει αγγειοδιασταλτική δράση<sup>61</sup>. Το NO παράγεται από το αμινοξύ L-αργινίνη

με τη δράση των ισοενζύμων της συνθετάσης του νιτρικού οξειδίου (NOS) (σχήμα 1)<sup>61,62</sup>. Η ενδοθηλιακή συνθετάση του νιτρικού οξειδίου (eNOS), ανευρίσκεται στο ενδοθήλιο του ομφάλιου λώρου, στο χόριο και στις λάχνες της κυτταροτροφοβλάστης<sup>63</sup>. Σε διάφορες μελέτες γίνεται αναφορά στην έντονη παραγωγή της eNOS στην εξωλαχνιακή τροφοβλάστη, σε άλλες ωστόσο μελέτες δεν επιβεβαιώνεται κάτι τέτοιο<sup>64-68</sup>. Επίσης, το NO διεγείρει τη δραστηριότητα και την παραγωγή πρωτεασών που αποδομούν μόρια του εξωκυττάρου χώρου, όπως οι MMP2, MMP9, οι οποίες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο κατά τη διαδικασία της εμφύτευσης του εμβρύου<sup>69</sup>. Ακόμη, η πρωτεάση MMP2 (μεταλλοπρωτεϊνάση του εξωκυττάρου χώρου) παίζει κεντρικό ρόλο στους μηχανισμούς δράσης της ρελαξίνης, η οποία κατά την κύηση εμφανίζει αυξημένη λειτουργικότητα, με αποτέλεσμα να ελαττώνεται η μυϊκή δραστηριότητα του αγγειακού τοιχώματος μικρών αγγείων. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω ενεργοποίησης του ενδοθηλιακού υποδοχέα ενδοθηλίνης B<sup>70</sup>.

Η απελευθέρωση NO δρα αυξητικά στα εξωλαχνιακά τροφοβλαστικά κύτταρα και προάγει τη μετανάστευση τους μέσω της αγγειοποιητίνης, σύμφωνα με *in vitro* μελέτες<sup>71</sup>. Ακόμη, το NO συνδέεται με τον υποδοχέα Flt 1 και προάγει στην κυτταροτροφοβλάστη την κινητικότητα και τη διείσδυση, μεταφέροντας το μήνυμα ενεργοποίησης της διείσδυσης από τον VEGF<sup>72</sup>. Φαίνεται, λοιπόν, ότι το μονοξείδιο του αζώτου διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική πλακουντοποίηση<sup>61,73</sup>.

Κατά συνέπεια, γίνεται αντιληπτό για ποιο λόγο στην προεκλαμψία η κυτταροτροφοβλάστη χαρακτηρίζεται από ελαττωμένη ικανότητα παραγωγής NO. Ωστόσο, η ανεπαρκής δραστηριότητα του NO σε προεκλαμπτικούς πλακούντες, δε σημαίνει απαραίτητα και βλάβη σε επίπεδο ενζύμων, δεδομένου ότι τα επίπεδα της eNOS ανευρίσκονται φυσιολογικά<sup>63,74</sup>. Αντίθετα, φαίνεται ότι η «ανεπάρκεια» αυτή του NO οφείλεται είτε σε ελαττωμένη δραστηριότητα της ουσίας, είτε σε ελαττωμένο χρόνο ημίσειας ζωής. Αυτό συμπεραίνεται από το ότι τα επίπεδα του κυκλικού GMP (πρόκειται για ενδοκυττάριο second messenger του NO), είναι χαμηλότερα στην πλακουντιακή κυκλοφορία εκλαμπτικών γυναικών, συγκριτικά με φυσιολογικές εγκυμοσύνες<sup>65</sup>. Πιθανότατα, η μειωμένη αυτή δραστηριότητα του NO οφείλεται στην ταχεία αποδόμησή του σε νιτρικό υπεροξείδιο (ONOO<sup>-</sup>), ένα δυνητικά κυτταροτοξικό ανιόν<sup>75</sup>. Επίσης, φαίνεται ότι το NO αλληλεπιδρά με ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, όπως π.χ. το ανιόν του υπεροξειδίου του οξυγόνου (O<sup>2-</sup>)<sup>76</sup>.

#### - Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, ρόλος της L-Αργινίνης

Πιο συγκεκριμένα, η υπερπαραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου που παρατηρείται στην προεκλαμψία, αποδίδεται στη συνθετάση NOS, η οποία μπορεί να συνθέσει και ανιόντα υπεροξειδίου του οξυγόνου<sup>77</sup>. Η ακριβής ποσότητα NO και O<sup>2-</sup> που παράγεται ρυθμίζεται από τα ενδοκυττάρια επίπεδα του αμινοξέος L-Arg<sup>78,79</sup>. Έτσι, σε επαρκή ποσότητα L-Arg, η NOS παράγει μόνο NO, με βάση πειράματα που έχουν γίνει σε μακροφάγα και ηπατοκύτταρα ποντικών<sup>78,80</sup>.

Αντίθετα, έλλειψη L-Arg έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή τόσο NO όσο και O<sup>2-</sup> και των μεταβολιτών του (O-NOO<sup>-</sup>). Λογικό είναι, λοιπόν, να θεωρείται ότι μια δυσλειτουργία της NOS μπορεί να προκαλέσει προεκλαμψία, δεδομένου ότι τα επίπεδα της L-Arg είναι μειωμένα σε λάχνες εκλαμπτικών γυναικών<sup>81</sup>. Τα χαμηλά επίπεδα της L-Arg οφείλονται πιθανότατα στη δράση της αργινάσης II, η οποία αποδομεί την L-Arg σε ουρία και ορνιθικό οξύ<sup>82</sup>. Το ένζυμο αυτό παρατηρείται σε αυξημένα επίπεδα στα τροφοβλαστικά κύτταρα προεκλαμπτικών γυναικών<sup>82</sup>. Ο ακριβής μηχανισμός μέσω του οποίου υπερλειτουργεί η αργινάση II, δεν είναι ακόμη γνωστός. Φαίνεται πάντως, ότι όπως και σε ποντίκια έτσι και στον άνθρωπο η τεστοστερόνη ενεργοποιεί την αργινάση II, γεγονός που εξηγεί και τα αυξημένα επίπεδα τεστοστερόνης στην προεκλαμψία (σχήμα 1)<sup>83,84</sup>.

Η συμμετοχή του NO και της L-Arg στην αιτιοπαθογένεια της προεκλαμψίας, στηρίζεται και στο γεγονός ότι η μακροχρόνια θεραπεία υποκατάστασης με L-Arg σε γυναίκες που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης ανωμαλιών του πλακούντα, έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση των αγγειακών αντιστάσεων και τη βελτίωση του περιγεννητικού αποτελέσματος<sup>85</sup>. Αντιθέτως, η μακροχρόνια χορήγηση ανταγωνιστών L-Arg, όπως ο νιτρο-L-Arg-μεθυλ-εστέρας σε εγκυμονούντα ποντίκια είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη ενός συνδρόμου παρόμοιου με την προεκλαμψία (υπέρταση, πρωτεϊνουρία, IUGR)<sup>86</sup> καθώς και την αύξηση των επιπέδων στο αίμα δεικτών οξειδωτικού stress<sup>87</sup>.

Η διαταραχή του μηχανισμού αγγειοδιαστολής μέσω του NO έχει ως συνέπεια την αγγειοσύσπασση των εμβρυοπλακουντιακών αγγείων, η οποία με τη σειρά της συνεπάγεται την ανεπαρκή αιμάτωση, κάτι το οποίο χαρακτηρίζει τη βαριά προεκλαμψία. Η άμεση συνέπεια της διαταραχής διείσδυσης της τροφοβλάστης είναι η ανεπαρκής αιμάτωση του πλακούντα και η επακόλουθη ισχαιμία. Αυτό έχει ως συνέπεια την έκλυση παραγόντων που μπορεί να προκαλέσουν διάφορα σύνδρομα τόσο στο έμβryo όσο και στη μητέρα.

#### - Παράγοντας επαγόμενος από την υποξία (HIF 1a)

Ένας παράγοντας που εκλύεται σε συνθήκες υποξίας και ο οποίος ανευρίσκεται αυξημένος σε τροφοβλαστικά κύτταρα



προεκλαμψίας, είναι ο HIF1α (Hypoxia Inducible Factor), που προέρχεται από τον HIF1<sup>48,88,89</sup>. Ειδικότερα, ο HIF1 επιδρά στην προσαρμογή του κυττάρου σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου, ενεργοποιώντας τη μεταγραφή διάφορων γονιδίων. Έτσι, σε ανθρώπινες λάχνες, οι οποίες βρίσκονται σε συνθήκες υποξίας ο HIF1 διεγείρει την παραγωγή του παράγοντα TGFβ3 (μεταρρεπτικός αυξητικός παράγοντας β3), ο οποίος δρα κατασταλτικά στην πρώιμη διαφοροποίηση της τροφοβλάστης<sup>90,91</sup>. Ο παράγοντας αυτός ανευρίσκεται αυξημένος στους προεκλαμπτικούς πλακούντες<sup>88</sup>. Η καταστολή του παράγοντα αυτού με ειδικά αντι-ολιγονουκλεοτίδια σε καλλιέργειες εκλαμπτικών λαγχών αποκαθιστά τη διεισδυτική ικανότητα των τροφοβλαστικών κυττάρων, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι ο παράγοντας HIF1 συμμετέχει στην παθογένεια της προεκλαμψίας<sup>91</sup>.

#### - Οξειδάση της Ξανθίνης (XO)

Τέλος, η ανεπαρκής αιμάτωση του πλακούντα δημιουργεί συνθήκες υποξίας, οι οποίες ευνοούν την πρόκληση οξειδωτικών βλαβών<sup>92</sup>. Η υπάρχουσα υποξία προκαλεί αύξηση της δραστηριότητας της οξειδάσης της ξανθίνης (XO)<sup>93</sup>, η οποία ανήκει στην οικογένεια των ολοενζύμων της δεϋδρογενάσης της ξανθίνης (XDH). Πρόκειται για ένζυμο που παράγουν ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS). Τόσο η XO όσο και η XDH ανευρίσκονται αυξημένες στην κυτταροτροφοβλάστη προεκλαμπτικών γυναικών<sup>76</sup>.

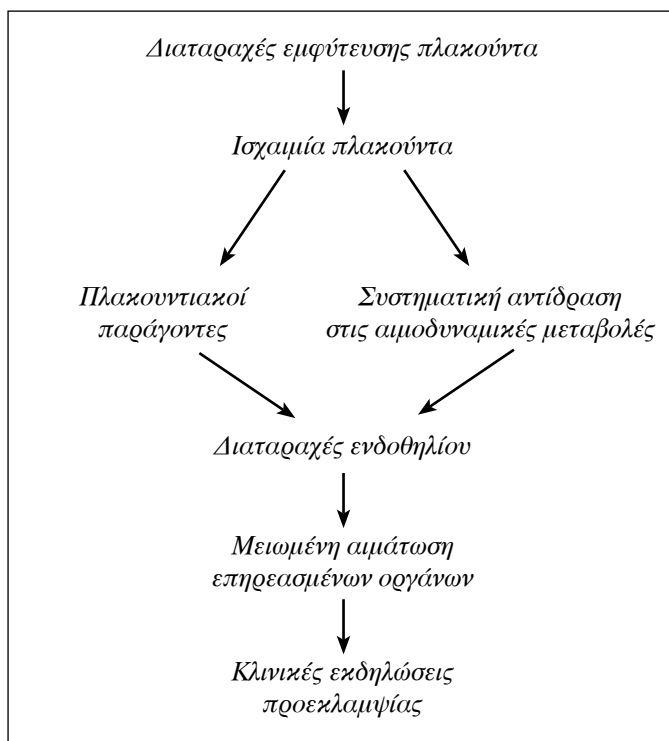
Οι μεταβολές αυτές, σε συνδυασμό με την προαναφερθείσα υπερπαραγωγή ONOO<sup>-</sup>, έχουν σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τον πλακούντα στη μητρική κυκλοφορία. Φαίνεται ότι οι ρίζες αυτές επιτείνουν τη μητρική ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

#### II) Μητρικός παράγοντας

Οι ανωμαλίες του πλακούντα που περιγράφησαν προηγουμένως έχουν διάφορες συνέπειες στη μητέρα (σχήμα 2). Παρά το γεγονός ότι κατά την κύηση η αρτηριακή πίεση και οι περιφερικές αγγειακές αντιστάσεις, φυσιολογικά, ελαττώνονται, στην προεκλαμψία παρατηρούνται αυξημένες περιφερικές αγγειακές αντιστάσεις<sup>94</sup>. Τα επίπεδα της αγγειοτενσίνης πλάσματος και η δραστηριότητα της ρενίνης πλάσματος είναι ελαττωμένα, ενώ η πυκνότητα του παράγοντα AT1 των αιμοπεταλίων είναι παρόμοια με τη φυσιολογική κύηση. Φαίνεται, επομένως, ότι η αυξημένη ανταπόκριση στην αγγειοτενσίνη που παρατηρείται στην προεκλαμψία δεν οφείλεται απαραίτητα στην ύπαρξη μεγαλύτερου αριθμού υποδοχέων<sup>95-97</sup>.

#### - Ρόλος Ενδοθηλίνης 1, Θρομβοξάνης A2 (TXA2), Προστακυκλίνης (PGI2)

Αρκετές ουσίες που πιθανολογείται ότι προκαλούν επιπλοκές στη μητέρα στα πλαίσια της προεκλαμψίας έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα. Ο ρόλος της ενδοθηλίνης 1 (αγγειοσυσπαστική δράση) παραμένει ασαφής, παρά το ότι σε αρκετές μελέτες αναφέρονται αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα προεκλαμπτικών γυναικών<sup>74</sup>. Η θρομβοξάνη A2 (TXA2), με επίσης αγγειοσυσπαστική δράση, παράγεται σε πολύ μεγάλες ποσότητες στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια στα μακροφάγα αλλά και στους νεφρούς προεκλαμπτικών γυναικών<sup>98</sup>. Σε ορισμένες μελέτες αναφέρεται αποβολή μεταβολιτών της θρομβοξάνης στα ούρα, σε άλλες όμως όχι<sup>74</sup>.



Σχήμα 2. Γεγονότα που επισυμβαίνουν στην παθοφυσιολογία της προεκλαμψίας. Η ανώμαλη εμφύτευση του πλακούντα, ιδιαίτερα δε η απουσία διεύρυνσης των σπειροειδών μητριαίων αρτηριολίων, αποτελεί το κοινό σημείο εκκίνησης της προεκλαμψίας. Ελαττωμένη ροή αίματος στον πλακούντα έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση πλακουντιακών παραγόντων και την επαγωγή συστηματικών πλέον αιμοδυναμικών μεταβολών. Η κλινική εικόνα στη μητέρα οφείλεται στις κυκλοφορικές μεταβολές λόγω της δυσλειτουργίας των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του καταρράκτη του πηκτικού μηχανισμού και την απώλεια της αγγειακής ακεραιότητας. Η προεκλαμψία επιδρά στα περισσότερα όργανα της μητέρας, αλλά κυρίως στους νεφρούς, το ήπαρ και τον εγκέφαλο.

Επίσης, σύμφωνα με τους περισσότερους ερευνητές, η σύνθεση αγγειοδιασταλτικών ουσιών όπως π.χ. NO και προστακυκλίνης (PGI<sub>2</sub>), είναι ελαττωμένη στην προεκλαμψία<sup>74,99,100</sup>. Αντίθετα άλλοι ερευνητές αναφέρουν φυσιολογικά ή ακόμα και αυξημένα επίπεδα NO<sup>63</sup>. Οι διαφορές αυτές οφείλονται στο ότι η σύνθεση του NO υπολογίζεται έμμεσα από τους μεταβολίτες της ουσίας που αποβάλλονται με τα ούρα. Ωστόσο, οι μεταβολίτες αυτοί υπάρχουν στα τρόφιμα και στο νερό<sup>63</sup>. Έτσι, ανάλογα με το χρόνο της μέτρησης, τη μέθοδο και τις διατροφικές συνήθειες είναι και τα ανάλογα αποτελέσματα. Η δραστηριότητα του NO αξιολογείται με βάση την ταχύτητα ροής σε υποδορία αγγεία, η οποία εξαρτάται από την υπάρχουσα αγγειοδιαστολή. Η ταχύτητα αυτή ανευρίσκεται ελαττωμένη στην προεκλαμψία<sup>63</sup>. Ακόμη, αυξημένα επίπεδα ασύμμετρης διμεθυλαργινίνης (ενδογενής καταστολέας του NO) αναφέρονται στην προεκλαμψία, χωρίς όμως ακόμα να έχει επιβεβαιωθεί κάτι τέτοιο<sup>101,102</sup>.

Πιθανότατα, λοιπόν, όλες αυτές οι μεταβολές σε επίπεδο αγγειοδιασταλτικών ουσιών που παρατηρούνται στην προεκλαμψία εντάσσονται στο πλαίσιο μιας γενικευμένης φλεγμονώδους αντίδρασης η οποία ενεργοποιεί το ενδοθήλιο και τα κυκλοφορούντα λευκοκύτταρα.

#### - Υποδοχέας sFlt 1

Η συσχέτιση μεταξύ μειωμένης μητροπλακουντιακής ροής στην αρχή ή στη μέση της εγκυμοσύνης με την ανάπτυξη προεκλαμψίας που πρόκειται να ακολουθήσει, καθώς και τα αυξημένα επίπεδα πλάσματος - ούρων του υποδοχέα sFlt1, τα οποία παρατηρούνται ήδη έως και πέντε εβδομάδες πριν από την εκδήλωση της νόσου, αποτέλεσαν τελευταία δύο νέα στοιχεία στην προσπάθεια κατανόησης της παθογένεσης της προεκλαμψίας<sup>58,103,104</sup>. Η ταυτόχρονη μέτρηση των επιπέδων του sFlt1 και της αιμάτωσης της μήτρας θα μπορούσαν να αποτελέσουν ένα πρώιμο δείκτη για την πιθανότητα ανάπτυξης προεκλαμψίας αλλά και ενδομήτριας καθυστέρησης ανάπτυξης<sup>105,106</sup>.

Ωστόσο, άγνωστος εξακολουθεί να παραμένει ο ακριβής μηχανισμός μέσω του οποίου γίνεται η παραγωγή του υποδοχέα sFlt1 από τον πλακούντα. Πιθανότατα η υποκείμενη μειωμένη πλακουντιακή αιμάτωση έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγής του υποδοχέα<sup>107,108</sup>. Στη φυσιολογική κύηση, ο υποδοχέας sFlt1 αυξάνει στο τελευταίο τρίμηνο της κύησης, παρά την κανονική μητροπλακουντιακή ροή. Κατά συνέπεια, η πρώιμη παραγωγή του sFlt1 από τον πλακούντα - ως συνέπεια της μειωμένης αιμάτωσης - θα μπορούσε να εξηγήσει την εκδήλωση της προεκλαμψίας. Επίσης, η ανίχνευση επιπέδων χαμηλότερων του φυσιολογικού του παράγοντα PLGF στα ούρα κατά το μέσο της εγκυμοσύνης, μαζί με τη μέτρηση του sFlt1 θα αποτελούσε επιπλέον χρήσιμο στοιχείο στην πρόβλεψη ανάπτυξης προεκλαμψίας<sup>109</sup>.

Το αποτέλεσμα όλων αυτών των μηχανισμών είναι η ελάττωση της αιμάτωσης των ζωτικών οργάνων (σχήμα 2). Ακόμη, να σημειωθεί ότι ο παράγοντας VEGF εκτός από την νεοαγγειογένεση προκαλεί και αγγειοδιαστολή, επάγοντας την παραγωγή NO και PGI<sub>2</sub> από το ενδοθήλιο των αγγείων. Κατά συνέπεια τα χαμηλά επίπεδα του VEGF επιτείνουν τον τόνο των αγγείων και προκαλούν υπέρταση, τη βασικότερη εκδήλωση της προεκλαμψίας<sup>110</sup>.

Σε πειράματα που έχουν γίνει σε ποντίκια, η χορήγηση - μέσω αδενοϊών - sFlt1 είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη υπέρτασης, πρωτεϊνουρίας και ενδοθηλιακών βλαβών, εικόνας δηλαδή παρόμοιας με την προεκλαμψία σε γυναίκες. Στα ίδια πειράματα, η χορήγηση του παράγοντα VEGF είχε ως αποτέλεσμα την υποστοφογή της υπέρτασης και των άλλων βλαβών<sup>59,111</sup>. Σε άλλες παρόμοιες μελέτες η χορήγηση sFlt1 ή αντισωμάτων για τον παράγοντα VEGF φέρεται να προκαλεί σοβαρής μορφής πρωτεϊνουρία μέσω βλαβών στα ενδοθηλιακά κύτταρα του σπειράματος, καθώς και μέσω της καταστολής της νεφρίνης (πρωτεΐνη ιδιαίτερα σημαντική για τη σπειραματική διήθηση)<sup>112</sup>.

Επίσης, σε καρδιοπαθείς που χορηγήθηκαν αντισώματα ή αγωνιστές των υποδοχέων του VEGF στα πλαίσια της αντιμετώπισης της νεοαγγειογένεσης, παρατηρήθηκε υπέρταση, πρωτεϊνουρία και υπερπηκτικότητα<sup>113,114</sup>. Φαίνεται, λοιπόν, ότι η αυξημένη παραγωγή του sFlt1 στην προεκλαμψία προκαλεί τα παρατηρούμενα συμπτώματα στη μητέρα. Η γενετική πληροφορία για τον sFlt1 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 13. Έτσι, ασθενείς με τρισωμία 13 διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης προεκλαμψίας συγκριτικά με άλλες τρισωμίες και με φυσιολογικές εγκύους<sup>115,116</sup>.

#### - Σύστημα Ρενίνης - Αγγειοτενσίνης

Σχετικά με τη συμμετοχή του συστήματος ρενίνης - αγγειοτενσίνης στην εκδήλωση των συμπτωμάτων της προεκλαμψίας στη μητέρα δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός ο ακριβής ρόλος του. Φαίνεται, πάντως ότι στην προεκλαμψία υπάρχει αυξημένη ανταπόκριση στην αγγειοτενσίνη II, όχι όμως λόγω περισσότερων υποδοχέων AT1.

#### - Ετεροδιμερισμός υποδοχέα AT1 και B2 (υποδοχέας βραδυκινίνης)

Έχει βρεθεί τετραπλάσια έως και πενταπλάσια αύξηση του υποδοχέα B2 (υποδοχέας βραδυκινίνης) σε επιπλοϊκά αγγεία και αιμοπετάλια προεκλαμπτικών γυναικών, γεγονός που φαίνεται να οφείλεται σε αυξημένο ετεροδιμερισμό μεταξύ του υποδοχέα AT1 και του B2<sup>117</sup>. Η κατάσταση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη ανταπόκριση στην αγγειοτενσίνη II, ενώ ταυτόχρονα δημιουργείται αντίσταση στην απενεργοποίηση των υποδοχέων AT1, η οποία

προκαλείται μέσω του οξειδωτικού stress της προεκλαμψίας. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης των ετεροδιμερών AT1-B2 δεν είναι ακόμη γνωστός. Έτσι, θεωρείται ότι οι συνθήκες φλεγμονώδους αντίδρασης και υποξίας που χαρακτηρίζουν την προεκλαμψία αυξάνουν την έκφραση των B2 υποδοχέων, γεγονός που επάγει τον ετεροδιμερισμό με τους υποδοχείς AT1. Η θεωρία αυτή αποτελεί μια πιθανή εκδοχή, δεν εξηγεί όμως με σαφήνεια την αυξημένη ανταπόκριση στην αγγειοτενσίνη II.

#### - Ρόλος αντισωμάτων-αγωνιστών AT1 υποδοχέων

Το πλάσμα προεκλαμπτικών γυναικών περιέχει αντισώματα - αγωνιστές που στοχεύουν τους AT1 υποδοχείς των λείων μυικών ινών των αγγείων και τα οποία εξαφανίζονται μετά την κύηση<sup>70,118</sup>. Ωστόσο, η προέλευση αυτών των αντισωμάτων καθώς και το εάν η εξαφάνισή τους σχετίζεται χρονικά με την εκδήλωση προεκλαμπτικών συμπτωμάτων εξακολουθεί να παραμένει άγνωστο. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι τα ετεροδιμερή AT1-B2 δρουν αντιγονικά με αποτέλεσμα να προκαλούν μια ανοσολογική αντίδραση (παραγωγή των αγωνιστικών αντισωμάτων που προαναφέρθηκαν).

#### - Παρατεταμένη ενεργοποίηση της NADH/NADPH οξειδάσης του ενδοθηλίου των αγγείων και των λείων μυικών ινών

Επιπρόσθετα, τα ετεροδιμερή, εκτός από την αύξηση του μυικού τόνου των αγγείων και την ενεργοποίηση των υποδοχέων AT1, παράγουν και ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μέσω της παρατεταμένης ενεργοποίησης της NADH/NADPH οξειδάσης του ενδοθηλίου και των λείων μυικών ινών των αγγείων<sup>70</sup>. Επίσης, τα αντισώματα - αγωνιστές AT1 δρουν στους υποδοχείς της αγγειοτενσίνης των λείων μυικών ινών των αγγείων και στα μεσαγγειακά κύτταρα προκαλώντας την παραγωγή ιντερλευκίνης-6 και του ανασταλτικού παράγοντα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1<sup>119</sup>. Ίσως, οι μηχανισμοί αυτοί να αποτελούν την αιτία των διαταραχών της πήκτικότητας και των νεφρικών βλαβών της προεκλαμψίας.

Τέλος, σε *in vitro* πειράματα έχει αποδειχτεί η δράση των αντισωμάτων - αγωνιστών στη διαταραχή της τροφοβλαστικής διείσδυσης, μέσω της ενεργοποίησης του ανασταλτικού παράγοντα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1<sup>120</sup>. Ωστόσο, η σπουδαιότητα των αντισωμάτων αυτών δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί πλήρως, δεδομένου ότι εξακολουθεί να παραμένει άγνωστο εάν αποτελούν χαρακτηριστικό της προεκλαμψίας ή εάν εντάσσονται στο ευρύτερο πλαίσιο μιας υπερτασικής νόσου.

#### - Ενδοθηλιακές βλάβες μέσω οξειδωμένων LDLs

Το οξειδωτικό stress που προκύπτει από την ισχαιμία του πλακούντα θεωρείται ότι αποτελεί τη βασικότερη αιτία ενδοθηλιακών βλαβών στην προεκλαμψία. Φαίνεται ότι ο σχηματισμός οξειδωμένων LDLs προάγει τις ενδοθηλιακές βλάβες στην αθηροσκληρόση. Στην προεκλαμψία παρατηρείται αυξημένη εναπόθεση λιπιδίων κυττάρων, καθώς και νεκρώσεις στο τοίχωμα των αγγείων<sup>121</sup>. Ακόμη, σε προεκλαμπτικές γυναίκες παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα IgG αντισωμάτων έναντι των LDL, γεγονός, ωστόσο, που δεν είναι αποδεκτό από όλους τους ερευνητές. Σε βιοχημικό επίπεδο, το οξειδωτικό stress αναστέλλει τη μεταφορά ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια, προάγει την υπεροξειδωση των λιπιδίων και την οξειδωση πρωτεϊνών. Αυτό γίνεται μέσω των παραγόμενων ελεύθερων ριζών οξυγόνου<sup>75</sup>. Τα υπεροξειδία των λιπιδίων και οι ελεύθερες ρίζες ενεργοποιούν την κυκλοξυγενάση-1 και 2, με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή TxA2<sup>122</sup>, ενώ παράλληλα καταστέλλουν τη συνθετάση PGI2. Η διαταραχή αυτή της ισορροπίας μεταξύ TxA2 και PGI2 έχει ως αποτέλεσμα την εκδήλωση προεκλαμψίας<sup>122</sup>.

#### III) Θεωρία ταυτόχρονης δράσης παθογενετικών μηχανισμών από τη μητροπλακουντιακή μονάδα και από τη μητέρα

Παρά το γεγονός ότι η ακριβής αιτιοπαθογένεια της προεκλαμψίας εξακολουθεί να μην είναι γνωστή, φαίνεται ότι προκαλείται από την ταυτόχρονη δράση παθογενετικών μηχανισμών τόσο από τη μητροπλακουντιακή μονάδα όσο και από τη μητέρα. Έτσι, η έλλειψη της L-Arg που οφείλεται στην υπεραγωγή της αργινάσης έχει ως αποτέλεσμα την ελαττωμένη δραστηριότητα ή το μειωμένο χρόνο ημίσειας ζωής του NO. Αυτό συνεπάγεται διαταραχές της πλακουντοποίησης και συνεπώς, προεκλαμπτική νόσο. Η υποξία που δημιουργείται από την ανώμαλη πλακουντοποίηση προκαλεί την έκκριση ουσιών από τον πλακούντα στη μητρική κυκλοφορία. Δύο από αυτές τις ουσίες είναι ο υποδοχέας sFlt1 και οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, οι οποίες προκαλούν ενδοθηλιακές βλάβες και αργότερα πολλαπλές βλάβες οργάνων.

#### ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

Τα νεότερα δεδομένα σχετικά με την αιτιοπαθογένεια της νόσου υποδεικνύουν μια προληπτική θεραπευτική προσέγγιση. Έτσι, η χορήγηση αντιοξειδωτικών ή L-Arg θα μπορούσε να συμβάλει στην πρόληψη της νόσου μέσω της δυναμικής αντιμετώπισης της συστηματικής αγγειακής δυσλειτουργίας. Η χορήγηση L-Arg θα μπορούσε, θεωρητικά, να εξισορροπήσει την αυξημένη αποδόμηση αυτού του αμινοξέος από την αργινάση II του πλακούντα και να ενεργοποιήσει την ενδοθηλιακή

συνθεσία του NO, ώστε να παράγεται περισσότερο NO από ότι ανιόντα υπεροξειδίων. Σε σχετικές μελέτες αναφέρεται ελάττωση της αρτηριακής πίεσης και αύξηση της σύνθεσης NO μετά από χορήγηση L-Arg<sup>85,123,124</sup>. Επίσης, η χορήγηση συνδυασμού αντιοξειδωτικών βιταμινών E και C σε γυναίκες που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης προεκλαμψίας μειώνει τα κυκλοφορούντα επίπεδα του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1 στο αίμα, ελαττώνει το οξειδωτικό stress και ελαττώνει τη συχνότητα της εμφανιζόμενης προεκλαμψίας<sup>125</sup>. Φαίνεται, λοιπόν, ότι η πρόληψη του οξειδωτικού stress θα μπορούσε να συμβάλλει στην αντιμετώπιση της νόσου. Σχετικές μεγάλες μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη<sup>126</sup>.

Η προσπάθεια επαναφοράς των επιπέδων του VEGF και του PLGF σε φυσιολογικές τιμές φαίνεται να έχει ευεργετικό αποτέλεσμα στη συστηματική φλεγμονώδη και αγγειακή αντίδραση που παρατηρείται στην προεκλαμψία<sup>111</sup>. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε μέσω ελάττωσης των επιπέδων πλάσματος του sFlt1, είτε μέσω αναστολής της δράσης του.

#### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ελλείψης, μέχρι σήμερα, κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών της προεκλαμψίας έχει ως αποτέλεσμα να μην είναι εύκολη η χρήση νέων θεραπευτικών μεθόδων. Δυνητικά φαίνεται ότι καταστολείς της αργινάσης, αντιοξειδωτικές ουσίες ή αναστολή της παραγωγής του sFlt1 από τον πλακούντα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην αντιμετώπιση της νόσου. Σε τρέχουσες μελέτες ερευνάται η αποτελεσματικότητα χορήγησης L-Arg σε γυναίκες με προεκλαμψία. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών μπορεί στο μέλλον να αποτελέσουν βάση στοιχείων, ώστε σε πολυκεντρικές, μεγάλες μελέτες να αποφασηθεί ο προοτατευτικός ρόλος της L-Arg, προκειμένου να αντιμετωπιστεί μία από τις κυριότερες αιτίς μητρικής και εμβρυικής νοσηρότητας και θνησιμότητας.

#### SUMMARY

Pre-eclampsia remains one of the leading causes of maternal and fetal morbidity and mortality. Despite active research, the etiology of this disorder remains unknown. Recent work has, however, provided promising explanations for the causation of the disorder and some of its phenotypes. Evidence indicates that the symptoms of hypertension and proteinuria, upon which the diagnosis of pre-eclampsia is based, have several underlying causes. Nevertheless, the treatment of pre-eclampsia has not changed significantly in over 40 years. This review describes the most recent insights into the pathophysiology of preeclampsia from both basic and clinical research, and attempts to provide a unifying hypothesis to reconcile the abnormalities at the fetoplacental level and the clinical features of the maternal syndrome. Endmost purpose of all efforts is to provide a rationale for novel and more effective therapeutic interventions for pre-eclampsia.

*Keywords: pathophysiology, pre-eclampsia, oxygen radicals, vascular endothelial growth factor.*

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Pressure in Pregnancy Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:S1-S22.
2. Mahmoudi N et al. Eclampsia: A 13-year experience at a United States tertiary care center. *J Womens Health Gender Based Med* 1999; 8:495-500.
3. de Swiet M. Maternal mortality: confidential enquiries into maternal deaths in the United Kingdom. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:760-766.
4. Sibai BM et al. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:1000-1006.
5. Villar K et al. Eclampsia and pre-eclampsia: a health problem for 2000 years. In *Preeclampsia*, 2003; 189-207 (Eds Critchley H et al.) London: RCOG Press.
6. Sibai BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003; 102:181-192.
7. Li D and Wi S. Changing paternity and the risk of preeclampsia in the subsequent pregnancy. *Am J Epidemiol* 2000; 151:57-62.
8. Skjaerven R et al. The interval between pregnancies and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2002; 346:33-38.
9. Dekker G and Robillard PY. The birth interval hypothesis: does it really indicate the end of the primipaternity hypothesis? *J Reprod Immunol* 2003; 59:245-251.
10. Duckitt K and Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ* 2005; 330:565.
11. Milne F et al. The pre-eclampsia community guideline (PRECOG): how to screen for and detect onset of pre-eclampsia in the community. *BMJ* 2005; 330:549-550.
12. Walker JJ. Pre-eclampsia. *Lancet* 2000; 356:1260-1265.
13. Wolf M et al. First trimester insulin resistance and subsequent preeclampsia: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1563-1568.
14. Kupferminc M et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999; 340:9-13.
15. Brewer T. Role of malnutrition in pre-eclampsia and eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1976; 125:281-282.
16. Hofmeyr GJ et al. Calcium supplementation to prevent pre-eclampsia - a systemic review. *S Afr Med J* 2003; 93:224-228.
17. Atallah AN et al. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; CD001059.
18. Villar J and Belizan JM. Same nutrient, different hypotheses: disparities in trials of calcium supplementation during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (Suppl 5):S1375-S1379.

19. Ward K et al. A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. *Nat Genet* 1993; 4:59-61.
20. Armgimsson R et al. Evidence for a familial pregnancy-induced hypertension locus in the eNOSgene region. *Am J Hum Genet* 1997; 61:354-362.
21. Dizon - Townson D et al. The factor V Leiden mutation may predispose women to severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175:902-905.
22. Sohda S et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and pre-eclampsia. *J Med Genet* 1997; 34:525-526.
23. O'Shaughnessy K et al. Factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase gene variants in an East Anglian preeclampsia cohort. *Hypertension* 1999; 33:1338-1341.
24. Armgimsson R et al. A genome - wide scan reveals a maternal susceptibility locus for preeclampsia on chromosome 2p13. *Hum Mol Genet* 1999; 8:1799-1805.
25. Laivuori H et al. Susceptibility loci for preeclampsia on chromosomes 2p25 and 9p13 in Finnish families. *Am J Hum Genet* 2003; 72:168-177.
26. Lachmeijer AM et al. A genome - wide scan for preeclampsia in the Netherlands. *Eur J Hum Genet* 2001; 9:758-764.
27. Moses EK et al. A genome scan in families from Australia and New Zealand confirms the presence of a maternal susceptibility locus for pre-eclampsia, on chromosome 2. *Am J Hum Genet* 2000; 67:1581-1585.
28. Oudejans CB et al. The parent-of-origin-effect of 10q22 in pre-eclamptic females coincides with two regions clustered for genes with down-regulated expression in androgenetic placentas. *Mol Hum Reprod* 2004; 10:589-598.
29. van Dijk M et al.: Maternal segregation of the Dutch preeclampsia locus at 10q22 with a new member of the winged helix gene family. *Nat Genet*, in press.
30. GOPEC Consortium Disentangling fetal and maternal susceptibility for pre-eclampsia: a British multicenter candidate-gene study. *Am J Hum Genet* 2005; 77:127-131.
31. Levine RJ et al. Should the definition of preeclampsia include a rise in diastolic blood pressure of  $\geq 15$  mm Hg in association with proteinuria? *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:787-792.
32. Brown MA et al. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: a statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregn* 2001; 20:IX-XIV.
33. Waugh JJ et al. Accuracy of urinalysis dipstick techniques in predicting significant proteinuria in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2004; 103:769-777.
34. Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of HELLP syndrome. *Obstet Gynecol* 2004; 103:981-991.
35. Yamashit W et al. Random urinary protein-to-creatinine ratio for prediction of significant proteinuria in women with preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2004; 16:275-279.
36. Brown MA et al. The detection, investigation and management of hypertension in pregnancy: executive summary. *Aust NZ J Obstet Gynecol* 2000; 40:133-138.
37. Sibai BM Chronic hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2002; 100:369-377.
38. Gilstrap LC III and Ramin SM. on behalf of the ACOG Committee on Practice Bulletin Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Int J Obstet Gynecol* 2002; 77:67-75.
39. Moran P et al. The renal response to preeclampsia. *Semin Nephrol* 2004; 24:588-595.
40. Haukkamaa L et al. Risk for subsequent coronary artery disease after preeclampsia. *Am J Cardiol* 2004; 93:805-808.
41. Zhang J et al. Severe maternal morbidity associated with hypertensive disorders in pregnancy in the United States. *Hypertens Pregn* 2003; 22:203-212.
42. Hauth JC et al. Pregnancy outcomes in healthy nulliparous women who subsequently developed hypertension. *Obstet Gynecol* 2000; 95:24-28.
43. Buchbinder A et al. Adverse perinatal outcomes are significantly higher in severe gestational hypertension than in mild preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186:66-71.
44. Conde-Agudelo A et al. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2004; 104:1367-1391.
45. North RA. Can we predict pre-eclampsia? In *Preeclampsia*, 2003; 257-275 (Eds Critchley H et al.) London: RCOG Press.
46. Axt-Fliedner R. Second trimester uterine artery Doppler ultrasound as a screening test for adverse pregnancy outcome. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2004; 31:9-11.
47. Red-Horse K et al. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. *J Clin Invest* 2004; 114:744-754.
48. Lyall F Priming and remodelling of human placental bed spiral arteries during pregnancy - a review. *Placenta* 2005; 26 (Suppl A):S31-S36.
49. Zhou Y et al. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype: One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest* 1997; 99:2152-2164.
50. Kadyrov M et al. Preeclampsia and maternal anemia display reduced apoptosis and opposite invasive phenotypes of extravillous trophoblast. *Placenta* 2003; 24:540-548.
51. Moffett-King A Natural killer cells and pregnancy. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:656-663.
52. Parham P. NK cells and trophoblasts: partners in pregnancy. *J Exp Med* 2004; 200:951-955.
53. Hiby SE et al. Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success. *J Exp Med* 2004; 200:957-965.
54. Zhou Y et al. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J Clin Invest* 1997; 99:2139-2151.
55. Sharkey A et al. Expression of vascular endothelial growth factor in human placenta. *J Reprod Fertil* 1993; 99:609-615.
56. Zhou Y et al. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Am J Pathol* 2002; 160:1405-1423.
57. Cooper J et al. VEGF mRNA levels in placentae from pregnancies complicated by preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103:1191-1196.
58. Levine R et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004; 350:672-683.
59. Maynard S et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003; 111:649-658.

61. Hirashima M et al. Trophoblast expression of *fms*-like tyrosine kinase 1 is not required for the establishment of the maternal-fetal interface in the mouse placenta. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:15637-15642.
62. Papapetropoulos A et al. Nitric oxide production contributes to the angiogenic properties of vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. *J Clin Invest* 1997; 100:3131-3139.
63. Moncada S and Higgs A The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329:2002-2012.
64. Baylis C et al. Recent insights into the roles of nitric oxide and renin-angiotensin in the pathophysiology of preeclamptic pregnancy. *Semin Nephrol* 1998; 18:208-230.
65. Thomson AJ et al. Nitric oxide synthase activity and localization do not change in uterus and placenta during human parturition. *Hum Reprod* 1997; 12:2546-2552.
66. Martin D and Conrad KP. Expression of endothelial nitric oxide synthase by extravillous trophoblast cells in the human placenta. *Placenta* 2000; 21:23-31.
67. Eis AL et al. Immunohistochemical localization of endothelial nitric oxide synthase in human villous and extravillous trophoblast populations and expression during syncytiotrophoblast formation in vitro. *Placenta* 1995; 16:113-126.
68. Orange SJ et al. Placental endothelial nitric oxide synthase localization and expression in normal human pregnancy and pre-eclampsia. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2003; 30:376-381.
69. Lyall F et al. Human trophoblast invasion and spiral artery transformation. The role of nitric oxide. *Am J Pathol* 1999; 154:1105-1114.
70. Novaro V et al. Regulation of metalloproteinases by nitric oxide in human trophoblast cells in culture. *Reprod Fertil Dev* 2001; 13:411-420.
71. Davison JM et al. New aspects in the pathophysiology of preeclampsia. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:2440-2448.
72. Dunk C et al. Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 activate trophoblast Tie-2 to promote growth and migration during placental development. *Am J Pathol* 2000; 156:2185-2199.
73. Ahmed A et al. Role of VEGF receptor-1 (Flt-1) in mediating calcium-dependent nitric oxide release and limiting DNA synthesis in human trophoblast cells. *Lab Invest* 1997; 76:779-791.
74. Chang CC et al. Induction of VE-cadherin in rat placental trophoblasts by VEGF through a NOdependent pathway. *Placenta* 2005; 26:234-241.
75. Noris M et al. The role of vasoactive molecules of endothelial origin in the pathophysiology of normal pregnancy and pregnancy-induced hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1996; 5:347-352.
76. Radi R et al. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys* 1991; 288:481-487.
77. Many A et al. Invasive cytotrophoblasts manifest evidence of oxidative stress in preeclampsia. *Am J Pathol* 2000; 156:321-331.
78. Wang W et al. Superoxide production and reactive oxygen species signaling by endothelial nitric-oxide synthase. *J Biol Chem* 2000; 275:16899-16903.
79. Xia Y et al. Nitric oxide synthase generates superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:6770-6774.
80. Vasquez-Vivar J et al. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:9220-9225.
81. Xia Y and Zweier JL Superoxide and peroxynitrite generation from inducible nitric oxide synthase in macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:6954-6958.
82. Noris M et al. L-arginine depletion in preeclampsia orients nitric oxide synthase toward oxidant species. *Hypertension* 2004; 43:614-622.
83. Li H et al. Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide, polyamine, and proline synthases in endothelial cells. *Am J Physiol* 2001; 280:E75-E82.
84. Lowe D. Nitric oxide dysfunction in the pathophysiology of preeclampsia. *Nitric Oxide* 2000; 4:441-458.
85. Carlsen SM et al. Early second-trimester maternal hyperandrogenemia and subsequent preeclampsia: a prospective study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005; 84:117-121.
86. Germain A et al. Evidence supporting a beneficial role for long term L-arginine supplementation in high risk pregnancies. *Hypertension* ; 2004; 44.
87. Molnar M et al. Prolonged blockade of nitric oxide synthesis in gravid rats produces sustained hypertension, proteinuria, thrombocytopenia, and intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170:1458-1466.
88. Tanir HM et al. Effect of quercetine and glutathione on the level of superoxide dismutase, catalase, malonyldialdehyde, blood pressure and neonatal outcome in a rat model of pre-eclampsia induced by NG-nitro-L-arginine-methyl ester. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 118:190-195.
89. Caniggia I and Winter JL Hypoxia inducible factor-1: oxygen regulation of trophoblast differentiation in normal and pre-eclamptic pregnancies - A review. *Placenta* 2002; 23 (Suppl A):S47-S57.
90. Rajakumar A et al. Evidence of the functional activity of hypoxia-inducible transcription factors overexpressed in preeclamptic placentae. *Placenta* 2004; 25:763-769.
91. Caniggia I et al. Hypoxia-inducible factor-1 mediates biological effects of oxygen in human trophoblast differentiation through TGFβ3. *J Clin Invest* 2000; 105:577-587.
92. Caniggia I et al. Inhibition of TGFβ3 restores the invasive capability of extravillous trophoblast in preeclamptic pregnancies. *J Clin Invest* 1999; 103:1641-1650.
93. Hung TH et al. Hypoxia-reoxygenation. A potent inducer of apoptotic changes in the human placenta and possible etiological factor in preeclampsia. *Circ Res* 2002; 90:1274-1281.
94. Parks D et al. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol* 1988; 254:G768-G774.
95. McLaughlin MK and Roberts JM. Hemodynamic changes in pregnancy. In *Hypertensive Disorders in Pregnancy*, 1999; 92-95 (Eds Lindheimer MD et al.) Stamford: Appleton & Lange.
96. Shah D Role of the renin-angiotensin system in the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Renal Physiol* 2005; 288:F614-F625.
97. Bowyer L et al. Forearm blood flow in preeclampsia. *BJOG* 2003; 110:383-391.
98. Elsheikh A et al. The renin-aldosterone system during normal and hypertensive pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* 2001; 264:182-185.

99. Walsh S. Eicosanoids in preeclampsia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004; 70:223-232.
100. Seligman SP et al. The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171:944-948.
101. Garmendia JV et al. Nitric oxide in different types of hypertension during pregnancy. *Clin Sci* 1997; 93:413-421.
102. Fickling SA et al. Plasma concentrations of endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Lancet* 1993; 34:242-243.
103. Lopez-Jaramillo P et al. Cyclic guanosidine 3,5 monophosphate concentrations in pre-eclampsia: effects of hydralazine. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103:33-38.
104. Pridjian G and Puschett JB. Preeclampsia. Part 1: Clinical and pathophysiologic considerations. *Obstet Gynecol Surv* 2002; 57:598-618.
105. Buhimschi CS et al. Urinary angiogenic factors cluster hypertensive disorders and identify women with severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192:734-741.
106. Stepan H et al. Soluble fms-like tyrosine kinase 1. *N Engl J Med* 2004; 351:2241-2242.
107. Wolf M et al. Circulating levels of the antiangiogenic marker sFLT-1 are increased in first versus second pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193:16-22.
108. Lutun A and Carmeliet P Soluble VEGF receptor Flt1: the elusive preeclampsia factor discovered? *J Clin Invest* 2003; 111:600-602.
109. Li H et al. Hypoxia-induced increase in soluble Flt-1 production correlates with enhanced oxidative stress in trophoblast cells from the human placenta. *Placenta* 2005; 26:210-217.
110. Levine RJ et al. Urinary placental growth factor and risk of preeclampsia. *JAMA* 2005; 293:77-85.
111. Masuda Y et al. Vascular endothelial growth factor enhances glomerular capillary repair and accelerates resolution of experimentally induced glomerulonephritis. *Am J Pathol* 2001; 159:599-608.
112. Lindheimer MD Unraveling the mysteries of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193:3-4.
113. Sugimoto H et al. Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti- VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. *J Biol Chem* 2003; 278:12605-12608.
114. Yang J et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med* 2003; 349:427-434.
115. Eremina V et al. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest* 2003; 111:707-716.
116. Boyd P et al. Pre-eclampsia and trisomy 13: a possible association. *Lancet* 1987; 2:425-427.
117. Bdolah Y et al. Trisomy 13 and preeclampsia: an old link with a new explanation. *J Soc Gynecol Invest* 2005; 12 (Suppl 2):S196A.
118. AbdAlla S et al. Increased AT1 receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness. *Nat Med* 2001; 7:1003-1009.
119. Dechend R et al. AT(1) receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients cause vascular cells to express tissue factor. *Circulation* 2000; 101:2382-2387.
120. Bobst SM et al. Maternal autoantibodies from preeclamptic patients activate angiotensin receptors on human mesangial cells and induce interleukin-6 and plasminogen activator inhibitor-1 secretion. *Am J Hypertens* 2005; 18:330-336.
121. Xia Y et al. Maternal autoantibodies from preeclamptic patients activate angiotensin receptors on human trophoblast cells. *J Soc Gynecol Invest* 2003; 10:82-93.
122. Hubel C et al. Lipid peroxidation in pregnancy: New perspectives on preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161:1025-1034.
123. Cosentino F et al. High glucose causes upregulation of cyclooxygenase-2 and all prostanoid profile in human endothelial cells: role of protein kinase C and reactive oxygen species. *Circulation* 2003; 107:1017-1023.
124. Facchinetti F et al. L-Arginine infusion reduces blood pressure in preeclamptic women through nitric oxide release. *J Soc Gynecol Invest* 1999; 6:202-207.
125. Rytlewski K et al. Effects of prolonged oral supplementation with L-arginine on blood pressure and nitric oxide synthesis in preeclampsia. *Eur J Clin Invest* 2005; 35:32-37.
126. Chappell L et al. Vitamin C and E supplementation in women at risk of preeclampsia is associated with changes in indices of oxidative stress and placental function. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187:777-784.
127. Roberts JM and Speer P. Antioxidant therapy to prevent preeclampsia. *Semin Nephrol* 2004; 24:557-564.
128. Gallery E and Lindheimer M. Pathology and pathophysiology of preeclampsia: Alterations in volume homeostasis. In Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 1999; 327-347 (Eds Lindheimer M et al.) Stamford: Appleton & Lange.
129. Hayashi T. Uric acid and endogenous creatinine clearance studies in normal pregnancy and toxemias of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1956; 71:859-870.
130. Zissin R et al. Hepatic infarction in preeclampsia as part of the HELLP syndrome: CT appearance. *Abdom Imaging* 1999; 24:594-596.
131. Port J and Beauchamp NJ Reversible intracerebral pathologic entities mediated by vascular autoregulatory dysfunction. *Radiographics* 1998; 18:353-367.
132. Saleh A et al. Markers for endothelial injury, clotting and platelet activation in preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet* 1992; 251:105-110.
133. Stubbs T et al. Evidence of accelerated platelet production and consumption in non thrombocytopenic preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 155:263-265.