

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

---

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ –

ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑ –

ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ»

Διευθυντής ΠΜΣ : Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Γενετικοί πολυμορφισμοί που σχετίζονται με την προεκλαμψία»

Παπαδούλη Μάρθα Ανθή

Ειδικευόμενη Μαιευτήρας –Γυναικολόγος

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης

ΛΑΡΙΣΑ

Σεπτέμβριος 2019

**Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής:**

**1<sup>ος</sup> Εξεταστής**

**(Επιβλέπων)**

**Δαπόντε Αλέξανδρος**

Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**2<sup>ος</sup> Εξεταστής**

**Σάτρα Μαρία**

Δρ.Ε.ΔΙ.Π Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλίας

**3<sup>ος</sup> Εξεταστής**

**Σωτηρίου Σωτήριος**

Επίκουρος Καθηγητής Εμβρυολογίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

*Στον αγαπημένο μου πατέρα ,  
που ελπίζω να με βλέπει από ψηλά  
και στην αγαπημένη μου μητέρα.*

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Με την περάτωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή του Τμήματος Ιατρικής κ. Αλέξανδρο Δαπόντε για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Επίσης θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για όλες τις υποδείξεις και συμβουλές του, καθώς για την προθυμία και για τις γνώσεις που αποκόμισα καθ' όλη την διάρκεια των φοιτητικών μου χρόνων.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κ. Δρ. Σάτρα Μαρία, Ε.ΔΙ.Π Μοριακής Βιολογίας, για την καθοδήγηση, τις πολύτιμες συμβουλές και τις καίριες παρατηρήσεις επί της οργάνωσης, της δομής και του περιεχομένου της παρούσας εργασίας.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Σωτηρίου Σωτήριο, για τις πολύτιμες γνώσεις που μου προσέφερε τόσο κατά την διάρκεια των μεταπτυχιακών μαθημάτων όσο και κατά την εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας.

Ιδιαίτερα θερμές ευχαριστίες θέλω τέλος να δώσω στην οικογένεια μου για την συνεχή συμπαράσταση τους, την ηθική τους στήριξη, για τις πολύτιμες συμβουλές τους και για όλα όσα μου έχουν προσφέρει όλα αυτά τα χρόνια της ζωής μου.

Μάρθα-Ανθή Παπαδούλη

## ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

Όνοματεπώνυμο: Παπαδούλη Μάρθα Ανθή  
Ημερομηνία γέννησης: 17/06/1986  
Διεύθυνση κατοικίας: 23ης Οκτωβρίου 5, 41221, Λάρισα  
Τηλέφωνο: +306932915470  
E-mail: [papmaranthi@gmail.com](mailto:papmaranthi@gmail.com)

## ΣΠΟΥΔΕΣ

2005-2014 Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Λάρισα  
2004-2005 Τμήμα Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας,  
2004 Απολυτήριο 2<sup>ου</sup> Ενιαίου Λυκείου Λάρισας

## ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

05/02/2018 – σήμερα Ειδικευόμενη Μαιευτικής- Γυναικολογίας  
Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας  
  
26/01/2016 – 26/01/2018 Ειδικευόμενη Μαιευτικής-Γυναικολογίας, Γενικό  
Νοσοκομείο Λαμίας  
  
15/09/2015 – 25/01/2016 Ειδικευόμενη Γενικής Χειρουργικής σε παράταση,  
Γενικό Νοσοκομείο Τρικάλων  
  
15/09/2014 – 14/09/2015 Ειδικευόμενη Γενικής Χειρουργικής, Γενικό  
Νοσοκομείο Τρικάλων

## «Γενετικοί πολυμορφισμοί που σχετίζονται με την προεκλαμψία»

**Παπαδούλη Μάρθα – Ανθή**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, 2018

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

*ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ*

*ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ*

*ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ*

### ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Επιβλέπων:**

**Δαπόντε Αλέξανδρος**

Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**Σύμβουλος :**

**Σάτρα Μαρία**

ΕΔΠΙ, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**Μέλος :**

**Σωτηρίου Σωτήριος**

Επίκουρος Καθηγητής Εμβρυολογίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

## Περίληψη

Η προεκλαμψία είναι μια συνηθισμένη επιπλοκή της εγκυμοσύνης που συνδέεται με την υψηλή μητρική θνησιμότητα και τον θάνατο και τον ενδομήτριο περιορισμό της ανάπτυξης του εμβρύου. Υπάρχουν εκτεταμένες ενδείξεις ότι η μείωση της ροής του αίματος από την μήτρα προς τον πλακούντα σε αυτό το σύνδρομο είναι αποτέλεσμα του τοξικού συνδυασμού της υποξίας, της ανισορροπίας των αγγειογόνων και των αντιαγγειογόνων παραγόντων, της φλεγμονής και της διαταραγμένης ανοσίας. Οι γυναίκες που υποβάλλονται σε θεραπεία για την προεκλαμψία έχουν επίσης αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακής και νεφρικής νόσου. Προς το παρόν δεν είναι σαφές εάν οι αυξημένοι κίνδυνοι καρδιαγγειακής και νεφρικής νόσου οφείλονται σε υπολειμματικές ή προοδευτικές επιδράσεις της ενδοθηλιακής βλάβης από την προεκλαμψία ή από κοινούς παράγοντες κινδύνου μεταξύ της προεκλαμψίας και της καρδιακής νόσου.

Η προεκλαμψία έχει ένα σαφές γενετικό υπόβαθρο και κάθε ένας από τους κύριους αιτιολογικούς παράγοντες που συζητούνται, δηλαδή η ανοσοκαταστολή, η ισχαιμία του πλακούντα, το αυξημένο οξειδωτικό στρες και ο μεταβολισμός των λιπιδίων μπορεί να οφείλεται σε γενετικές επιπτώσεις. Η προεκλαμψία ξεκινά από την κακή πλακουντοποίηση (στάδιο 1) στην αρχή της εγκυμοσύνης και συνεχίζει με έναν προοδευτικά υποξικό πλακούντα που οδηγεί στα μητρικά σημάδια της προεκλαμψίας (στάδιο 2). Έχουν κατηγορηθεί αρκετά γονίδια και τα πιο πιθανά από αυτά σχετίζονται με την ίδια την παθοφυσιολογία της νόσου. Χαρακτηριστικά γονίδια είναι του παράγοντα V Leiden, του ενζύμου μετατροπής της αγγειοτενσίνης (ACE), της υδρολάση εποξειδίου (EPHX) και της S-τρανσφεράση γλουταθειόνης (GST), της συνθετάσης NOS, του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF), του παράγοντα νεκρωσης όγκου αλφα (TNFα) και της ιντερλευκίνης -1 και -10 (IL-1, IL10). Παρά τις μελέτες που έχουν γίνει όμως η ακριβής γενετική οδός της προεκλαμψίας δεν έχει αποσαφηνιστεί.

Τα MicroRNA είναι μικρά μη κωδικοποιητικά RNA που ανακαλύφθηκαν πριν από δύο δεκαετίες και παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον λόγω της ικανότητάς τους να ρυθμίζουν σχεδόν κάθε πτυχή της κυτταρικής λειτουργίας. Πολλά στοιχεία σχετικά με το ρόλο των miRNA στην προεκλαμψία μελετήθηκαν τα τελευταία 10 χρόνια. Τα διαφορετικά εκφραζόμενα miRNA είναι χαρακτηριστικά τόσο για την ήπια όσο και για

την σοβαρή προεκλαμψία. Σε πολλές περιπτώσεις στοχεύουν γονίδια που σχετίζονται με την οδό της σηματοδότησης και οδηγούν σε τροποποιημένες διεργασίες που εμπλέκονται άμεσα στην προεκλαμψία. Το ανοσοποιητικό σύστημα, η αγγειογένεση και ο πολλαπλασιασμός και η εισβολή των τροφοβλαστών, όλες οι θεμελιώδεις πλευρές του πλακούντα, ελέγχονται σε διάφορους βαθμούς από τα miRNA που είναι ρυθμισμένα θετικά ή αρνητικά. Τέλος, τα miRNA αντιπροσωπεύουν έναν πιθανό θεραπευτικό στόχο και ένα διαγνωστικό εργαλείο.

Τα κυκλικά RNA (circRNA) είναι μη κωδικοποιητικά RNA που χαρακτηρίζονται από κυκλικές ομοιοπολικά κλειστές δομές, οι οποίες δημιουργούνται με οπίσθιο μάτισμα. Το circRNA είναι πιο σταθερό και διατηρημένο από το γραμμικό RNA και υπάρχει σε διάφορους οργανισμούς. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα circRNAs εκφράστηκαν διαφορετικά στη διεπαφή μητέρας-εμβρύου με προεκλαμψία σε σύγκριση με εκείνα φυσιολογικών κυήσεων και μπορεί να προκαλέσουν παθολογικές διεργασίες με επιπτώσεις στην εγκυμοσύνη. Ωστόσο, οι μηχανισμοί δράσης των circRNAs στην προεκλαμψία είναι ακόμη ασαφείς. Εδώ, παρέχουμε μια περιεκτική επισκόπηση της τρέχουσας γνώσης σχετικά με τα circRNA που σχετίζονται με την προεκλαμψία. Συνοψίζουμε τα γνωστά προφίλ έκφρασης των circRNAs και συζητούμε την πιθανή εφαρμογή τους ως βιοδείκτες της προεκλαμψίας. Αναλύονται επίσης οι πιθανοί μηχανισμοί που υποκρύπτουν την δυσλειτουργία των circRNA στην αιτιολογία της προεκλαμψίας.

**Λέξεις κλειδιά: προεκλαμψία, επιγενετική, γονίδια-στόχοι, circRNA, miRNA, γονίδια, θρομβοφιλία, οξειδωτικό στρες, ανοσογενετική**



## Summary

Preeclampsia is a common complication of pregnancy associated with high maternal morbidity and mortality and intrauterine fetal growth restriction. There is extensive evidence that the reduction of uteroplacental blood flow in this syndrome results from the toxic combination of hypoxia, imbalance of angiogenic and antiangiogenic factors, inflammation, and deranged immunity. Women treated for preeclampsia also have an increased risk for cardiovascular and renal disease. At present it is unclear if the increased cardiovascular and renal disease risks are due to residual and/or progressive effects of endothelial damage from the preeclampsia or from shared risk factors between preeclampsia and cardiac disease.

Preeclampsia has a clear genetic component, and each of the main etiologic factors discussed, that are immune maladaptation, placental ischemia, increased oxidative stress and lipid metabolism may have a genetic implication. Furthermore, the segregation of the syndrome into an early-onset, placental and late-onset, maternal form is essential for a better insight into its pathogenesis. Placental preeclampsia arises from poor placentation (stage 1) in the beginning of pregnancy with a progressively hypoxic placenta, which leads to the maternal signs of preeclampsia (stage 2). A number of genes have been targeted as the etiologic factor for preeclampsia, since they are connected to the preeclampsia's pathophysiology. Some of those genes that are explained in extend later are: factor V Leiden, angiotensin-converting enzyme (ACE), epoxide hydrolase (EPHX) and glutathione S-transferase (GST) Synthase-eNOS, Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Tumor Necrosis Factor (TNF $\alpha$ ) and IL-1 and IL10. Even though extensive studies have been made the exact genetic pathway of preeclampsia is yet to be identified.

MicroRNAs are small non-coding RNAs discovered two decades ago, and present great interest given their ability to regulate almost every aspect of the cell function. A lot of evidence regarding the role of miRNAs in pre-eclampsia has been accumulated in the last 10 years. Differentially expressed miRNAs are characteristic of both mild and severe preeclampsia. In many cases they target signaling pathway-related genes that result in altered processes which are directly involved in preeclampsia. Immune system, angiogenesis and trophoblast proliferation and invasion, all fundamental aspects of placentation, are controlled in various degrees by miRNAs

which are up- or downregulated. Finally, miRNAs represent a potential therapeutic target and a diagnostic tool.

Circular RNAs (circRNAs) are noncoding RNAs characterized by circular covalently closed structures, which are generated by back-splicing. circRNA is more stable and conserved than linear RNA and exists in various organisms. Preeclampsia, a common hypertensive disorder of pregnancy, has a profound impact on maternal and neonatal mortality and morbidity. Recent studies demonstrated that circRNAs were differentially expressed in preeclamptic maternal-fetal interface compared with those in the control group and might mediate pathological processes in pregnancy complications. However, the mechanisms of action of circRNAs in preeclampsia are still unclear. Here, we provide a comprehensive review on the current state of knowledge on circRNAs associated with preeclampsia. We summarize the known expression profiles of circRNAs and discuss their potential application as biomarkers of preeclampsia. The possible mechanisms underlying circRNA dysregulation in the etiology of preeclampsia are also explored.

## Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή.....	13
2. Υπέρταση κύησης.....	14
2.1. Διάγνωση.....	16
3. Προεκλαμψία.....	19
3.1. Παράγοντες Κινδύνου και Παθογένεια της Προεκλαμψίας .....	20
3.1.1. Προ-αγγειογόνοι παράγοντες .....	23
3.1.2. Αντι-αγγειογόνοι παράγοντες.....	24
3.2. Παθοφυσιολογία διαφόρων κλινικών περιπτώσεων .....	25
3.2.1. Υπέρταση.....	25
3.2.2. Καρδιαγγειακός κίνδυνος.....	26
3.2.3. Υπερουριχαιμία .....	27
3.2.4. Νευρολογικές ανωμαλίες .....	27
3.3. Νεφρολογικές επιδράσεις της προεκλαμψίας.....	28
3.4. Στοιχεία για τη φλεγμονή στην παθογένεση της προεκλαμψίας .....	29
3.5. Μια ενοποιητική υπόθεση για την προεκλαμψία: Διαταραχή της ενδοθηλίνης και σηματοδότησης του νιτρικού οξειδίου .....	30
4. Γενετικοί παράγοντες .....	32
4.1. Γονίδια και προεκλαμψία .....	32
4.2. Μητρικός και εμβρυϊκός γονότυπος .....	33
4.3. Υποψήφια γονίδια.....	34
4.3.1. Ομάδα I: Πρωτεΐνες που δρουν σε αγγεία / αγγειακή αναδιαμόρφωση.....	35
4.3.1.1. Αγγειοτενσινογόνο (AGT).....	35
4.3.1.2. Ένζυμο μετατροπής της αγγειοτενσίνης (ACE).....	36
4.3.1.3. Υποδοχείς τύπου I αγγειοτενσίνης II (AT1R) .....	36
4.3.1.4. Συνθετάση ενδοθηλιακού μονοξειδίου του αζώτου (endothelial Nitric Oxide Synthase-eNOS).....	37
4.3.1.5. Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF) .....	37
4.3.2. Ομάδα II: Θρομβοφιλία.....	38
4.3.2.1. Παράγοντας V Leiden (Factor V Leiden-FVL), προθρομβίνη, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) .....	38
4.3.2.2. Αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1 (PAI-1) .....	39
4.3.2.3. b3 γλυκοπρωτεΐνη ιντεγκρίνης IIIa (Integrin Glycoprotein IIIa-GPIIIa).....	39
4.3.3. Οξειδωτικό στρες, μεταβολισμός λιπιδίων, τραυματισμός του ενδοθηλίου .....	40

4.3.3.1. Υδρολάση εποξειδίου ( <i>Epoxyde Hydrolase-EPHX</i> ).....	40
4.3.3.2. S-τρανσφεράση γλουταθειόνης ( <i>Glutathione S-Transferase-GST</i> ).....	41
4.3.3.3. Λιποπρωτεϊνική λιπάση ( <i>Lipoprotein Lipase-LPL</i> ), απολιποπρωτεΐνη E ( <i>ApolipoproteinE-ApoE</i> ).....	41
4.3.4. Ομάδα IV: Ανοσογενετική .....	42
4.3.4.1. Παράγοντας νέκρωσης όγκου άλφα ( <i>Tumor Necrosis Factor Alpha-TNFα</i> ) .....	42
4.3.4.2. Ιντερλευκίνη-1 και -10 ( <i>IL-1, IL-10</i> ) .....	43
4.3.4.3. Υποδοχέας <i>CD14</i> , <i>CTLA-4</i> και <i>TLR-4</i> .....	44
5. Ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων .....	45
5.1. Κυκλικά RNA ( <i>circRNA</i> ).....	45
5.1.1. Βιογένεση των <i>circRNA</i> .....	46
5.1.2. Λειτουργίες των <i>circRNA</i> .....	47
5.1.3. Τα <i>circRNA</i> λειτουργούν ως σφουγγάρια <i>miRNA</i> ή ανταγωνιστές του ενδογενούς RNA.....	48
5.1.4. Αλληλεπίδραση των <i>circRNA</i> με RBP.....	49
5.1.5. Ο ρόλος των <i>circRNA</i> στην προεκλαμψία.....	50
5.1.6. Διαγνωστική ικανότητα των <i>circRNA</i> στην προεκλαμψία .....	53
5.2. Μικρό RNA ( <i>miRNA</i> ) .....	54
5.2.1. Βιογένεση των <i>miRNA</i> .....	55
5.2.2. Ο ρόλος των <i>miRNA</i> στην προεκλαμψία.....	57
5.2.2.1. Ρύθμιση των <i>miRNA</i> στον πλακούντα .....	57
5.2.2.2 Ρύθμιση των <i>miRNA</i> στην μήτρα.....	58
5.2.2.3. Πολλαπλασιασμός, μετανάστευση και διεισδυση στον φθαρτό από τον τροφοβλάστη .....	59
5.2.2.4. Αγγειογένεση και <i>miRNA</i> .....	59
5.2.2.5 Το <i>miRNA-210</i> .....	63
5.2.2.6. Ανοσολογικό σύστημα και <i>miRNA</i> .....	65
6. Συμπεράσματα-Επίλογος.....	67
Βιβλιογραφία.....	69

## 1. Εισαγωγή

Η προεκλαμψία είναι ένα σοβαρό μαιευτικό πρόβλημα που χαρακτηρίζεται από σημαντικά ποσοστά μητρικής και νεογνικής νοσηρότητας και θνητότητας. Θεωρείται μια από τις υπερτασικές διαταραχές της κύησης. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας 192 γυναίκες πεθαίνουν καθημερινά από προεκλαμψία. Χαρακτηρίζεται από μη φυσιολογική πλακουντοποίηση, η οποία συνοδεύεται από αυξημένη αντίσταση του αγγειακού δικτύου, συσσώρευση των αιμοπεταλίων, ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης και δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα κλινικά ευρήματα της προεκλαμψίας μπορεί να εκδηλωθούν ως σύνδρομο της μητέρας (υπέρταση και λευκωματουρία με ή χωρίς διαταραχή της λειτουργίας άλλων οργάνων), ή/και ως σύνδρομο του εμβρύου (περιορισμός της εμβρυϊκής ανάπτυξης, ελάττωση του αμνιακού υγρού, μειωμένη οξυγόνωση).

Η παρουσία του πλακούντα σχετίζεται άμεσα με την εκδήλωση του συνδρόμου της προεκλαμψίας, γεγονός που επιβεβαιώνεται από την άμεση υποχώρηση των σημείων και συμπτωμάτων της νόσου μετά τον τοκετό. Αντίθετα, η παρουσία του εμβρύου δεν αποτελεί προϋπόθεση για την εμφάνιση προεκλαμψίας, σύμφωνα και με το υψηλό ποσοστό εκδήλωσης της νόσου σε υδατιδώδη μύλη κύηση, που χαρακτηρίζεται από υδρωπική εκφύλιση των λαχνών και συνήθως απουσία εμβρύου.

Σημαντική είναι επίσης η διαπίστωση ότι ο παθογενετικός μηχανισμός της προεκλαμψίας που εμφανίζεται πριν την 34η εβδομάδα της κύησης διαφέρει από αυτόν της προεκλαμψίας που εμφανίζεται στο τέλος της κύησης, στον τοκετό ή στη διάρκεια της λοχείας. Σύμφωνα με πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα, η παθολογική ανάπτυξη του πλακούντα που σχετίζεται άμεσα με το γονιδιακό και ανοσολογικό υπόβαθρο της μητέρας και του εμβρύου, ευθύνεται για την εκδήλωση προεκλαμψίας στις πρωτοτόκες γυναίκες, συνήθως πριν την 34η εβδομάδα της κύησης. Αντίθετα, η προεκλαμψία που εμφανίζεται στις τελευταίες εβδομάδες της κύησης ή στον τοκετό, οφείλεται κατά κύριο λόγο σε ανικανότητα του οργανισμού της μητέρας να ανταπεξέλθει στις αυξημένες απαιτήσεις της αναπτυσσόμενης εμβρυοπλακουντιακής μονάδας, λόγω προϋπάρχουσας αγγειακής νόσου της μητέρας (στα πλαίσια χρόνιας υπέρτασης, σακχαρώδους διαβήτη, παχυσαρκίας) ή πολύδυμης κύησης.

Παρά τη βελτίωση των μεθόδων περιγεννητικής φροντίδας, η συχνότητα εμφάνισης της προεκλαμψίας δεν έχει μεταβληθεί. Επιπλέον, ο μεγάλος αριθμός των ερευνών που πραγματοποιήθηκαν τα τελευταία 20 χρόνια με σκοπό την κατανόηση της παθογένειας της προεκλαμψίας, ουσιαστικά δεν οδήγησε στη βελτίωση των μεθόδων πρόληψης ή πρώιμης διάγνωσης της νόσου. (Μπουχλαριώτου Σ., 2011)

## 2. Υπέρταση κύησης

Ο όρος υπέρταση κύησης χρησιμοποιείται σήμερα για να περιγράψει οποιοδήποτε είδος νέας εκδήλωσης υπέρτασης κατά την κύηση. Από το 2000 υιοθετήθηκε ένα σύστημα ταξινόμησης βασισμένο σε απλά κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα ώστε να καθοδηγήσει τη διαχείριση των περιστατικών. Η ταξινόμηση των υπερτασικών διαταραχών κύησης φαίνεται στον πίνακα 1.

**Πίνακας 1: Διάγνωση των υπερτασικών διαταραχών κύησης. (North et al., 1999)**

<b>1. Υπέρταση κύησης</b>
- Α.Π. $\geq 140/90$ mmHg, πρωτοεμφανιζόμενη στην κύηση.
- Απουσία πρωτεϊνουρίας.
- Η Α.Π. επιστρέφει στο φυσιολογικό σε 12 εβδομάδες (μέγιστος χρόνος) μετά τον τοκετό.
- Η τελική διάγνωση γίνεται μετά τον τοκετό.
- Μπορεί να υπάρχουν κάποια συμπτώματα ή ευρήματα της προεκλαμψίας, όπως δυσφορία στο επιγάστριο ή θρομβοπενία.
<b>2. Προεκλαμψία</b>
<b>Ελάχιστα κριτήρια</b>
- Α.Π. $\geq 140/90$ mmHg μετά τις 20 εβδομάδες κύησης.
- Πρωτεϊνουρία $\geq 300$ mg/ 24ώρο ή $\geq 1+$ στη Γενική ούρων ή στο stick ούρων.
<b>Αυξημένη βαρύτητα προεκλαμψίας</b>
- Α.Π $\geq 160/110$ mmHg
- Πρωτεϊνουρία $\geq 2$ gr / 24ώρο ή $\geq 2+$ στη Γενική ούρων ή στο stick ούρων.

- Κρεατινίνη ορού $\geq 1, 2 \text{ mg/dL}$ εκτός εάν ήταν αυξημένη πρό κύησης.
- Αιμοπετάλια $< 100.000/\text{mm}^3$ .
- Μικροαγγειοπαθητική αιμόλυση (αυξημένη LDH).
- Αυξημένες τρανσαμινάσες (ALT ή AST).
- Επιμένουσα κεφαλαλγία ή άλλες εγκεφαλικές ή οπτικές διαταραχές.
- Επιγαστρικό άλγος που επιμένει.
<b>3. Εκλαμψία</b>
- Σπασμοί σε έγκυο με προεκλαμψία που δεν μπορούν να αποδοθούν σε άλλες αιτίες.
<b>4. Προεκλαμψία σε έδαφος χρόνιας υπέρτασης</b>
- Εμφάνιση πρωτεϊνουρίας $\geq 300\text{mg} / 24\text{ώρο}$ σε υπερτασικές γυναίκες μετά τις 20 εβδομάδες κύησης.
- Ξαφνική αύξηση της πρωτεϊνουρίας ή της Α.Π. ή μείωση αιμοπεταλίων $< 100.000$ σε γυναίκες με υπέρταση και πρωτεϊνουρία πριν τις 20 εβδομάδες κύησης.
<b>5. Χρόνια υπέρταση</b>
- Α.Π. $\geq 140/90 \text{ mmHg}$ πριν την κύηση ή διαγνωσμένη πριν τις 20 εβδομάδες κύησης που δεν αποδίδεται σε τροφοβλαστική νόσο.
Ή
- Υπέρταση που διαγνώστηκε μετά τις 20 εβδομάδες κύησης αλλά παραμένει μετά τις 12 εβδομάδες μετά τον τοκετό.

Υπάρχουν 5 τύποι υπέρτασης:

1. Υπέρταση κύησης
2. Προεκλαμψία
3. Εκλαμψία
4. Προεκλαμψία σε έδαφος χρόνιας υπέρτασης
5. Χρόνια υπέρταση

Η παραπάνω ταξινόμηση έγινε το 2000 από το Εθνικό κέντρο υπέρτασης κύησης των Η.Π.Α., μέλος της Διεθνούς Ένωσης υπέρτασης κύησης και διαφοροποιεί σαφώς τις

υπερτασικές διαταραχές που προηγούνται της κύησης από τις υπερτασικές διαταραχές που απορρέουν της κύησης.

## 2.1. Διάγνωση

Η υπέρταση διαγιγνώσκεται όταν η Αρτηριακή Πίεση (Α.Π.) είναι 140/90 mmHg ή περισσότερο κατά την ανάπαυση. Στο παρελθόν είχε οριστεί υπέρταση κύησης και η αύξηση της συστολικής Α.Π. μεγαλύτερη ή ίση των 30 mmHg ή αύξηση της διαστολικής μεγαλύτερης ή ίσης των 15 mmHg, ακόμα και όταν οι απόλυτες τιμές της Α.Π. ήταν μικρότερες των 140/90 mmHg. Αυτά τα κριτήρια δεν συνιστώνται πια γιατί τα στοιχεία δείχνουν ότι στα περιστατικά αυτά δεν είναι πιθανό να έχουμε κακή έκβαση κύησης. Ωστόσο οι γυναίκες αυτές χρήζουν στενότερης παρακολούθησης.

Επίσης το περιφερικό οίδημα εγκαταλείφθηκε σαν διαγνωστικό κριτήριο γιατί είναι σημείο που συναντάμε και σε φυσιολογικές κύσεις.

### 1. Υπέρταση Κύησης

Η διάγνωση της υπέρτασης τίθεται σε εγκύους όπου η Α.Π. είναι ίση ή μεγαλύτερη από 140/90 mmHg για πρώτη φορά κατά τη διάρκεια της κύησης αλλά και δεν διαπιστώνεται πρωτεϊνουρία. Η υπέρταση κύησης καλείται επίσης και παροδική υπέρταση όταν δεν αναπτύσσεται προεκλαμψία και η Α.Π. επιστρέφει στο φυσιολογικό μέσα σε 12 εβδομάδες από τον τοκετό. Η τελική διάγνωση της υπέρτασης κύησης γίνεται 12 εβδομάδες μετά τον τοκετό. Είναι δηλαδή διάγνωση εξ' αποκλεισμού.

Έγκυοι με υπέρταση κύησης μπορεί να αναπτύξουν προεκλαμψία. Είναι επικίνδυνη, ειδικά για το έμβρυο, η αισθητή αύξηση της Α.Π. κατά το δεύτερο ήμισυ της κύησης. Το 10% των εκλαμπτικών σπασμών αναπτύσσεται πριν την εμφάνιση της πρωτεϊνουρίας. Είναι ξεκάθαρο ότι όταν η Α.Π. αρχίζει να αυξάνει, η μητέρα και το έμβρυο βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο. Η πρωτεϊνουρία είναι σημείο επιδείνωσης της υπερτασικής νόσου και αυξάνει επιπλέον τον κίνδυνο για τη μητέρα και το έμβρυο.



## *2. Προεκλαμψία*

Αυτή η κατάσταση περιγράφεται καλύτερα σαν ειδικό σύνδρομο της κύησης, με μειωμένη κυκλοφορία αίματος, δευτερογενές αγγειοσπασμό και ενεργοποίηση του αγγειακού ενδοθηλίου. Η πρωτεϊνουρία είναι στοιχειώδες εύρημα προεκλαμψίας χωρίς η απουσία της να θεμελιώνει τη διάγνωση. Η πρωτεϊνουρία προσδιορίζεται σε ούρα 24ώρου και είναι σημαντική αν είναι μεγαλύτερη ή ίση με 300mg / 24ώρο ή 30mg/dL σε τυχαίο δείγμα ούρων. Ο βαθμός της πρωτεϊνουρίας μπορεί να έχει μεγάλη διακύμανση στο 24ωρο και ένα μόνο τυχαίο δείγμα ούρων μπορεί να αποτύχει να διαγνώσει σημαντική πρωτεϊνουρία. Η προεκλαμψία θα περιγραφεί εκτενέστερα σε επόμενο κεφάλαιο.

## *3. Εκλαμψία*

Η έναρξη σπασμών σε έγκυο με προεκλαμψία, που δεν μπορούν να αποδοθούν σε άλλες αιτίες, ορίζεται ως εκλαμψία. Οι σπασμοί γενικεύονται και μπορεί να εμφανιστούν πριν, κατά ή μετά τον τοκετό. Σε παλαιότερες μελέτες, το 10% των εκλαμπτικών γυναικών αναπτύσσει σπασμούς μετά από 48 ώρες από τον τοκετό. Μια πιο πρόσφατη μελέτη ανέφερε ότι το ¼ των εκλαμπτικών σπασμών αναπτύχθηκε μετά τις 48 ώρες από τον τοκετό. Η βελτίωση της προγεννητικής φροντίδας οδήγησε σε σημαντική πρόληψη της εκλαμψίας. Η συχνότητα της εκλαμψίας στα αναπτυγμένα κράτη διαρκώς μειώνεται. Έτσι στις Η.Π.Α., την περίοδο 1951-1976, η επίπτωση ήταν 1/700 εγκύους. Την περίοδο 1983-1986 μειώθηκε και ήταν 1/1150 κύσεις και μέχρι το 1999 ήταν 1/1750 τοκετούς. Σε επίπεδο εθνικής στατιστικής στις Η.Π.Α., εκτιμήθηκε ότι η επίπτωση της εκλαμψίας το 2000 ήταν περίπου 1/3250. Στην Αγγλία το 1992 η επίπτωση της εκλαμψίας ήταν 1/2000.

## *4. Προεκλαμψία σε έδαφος χρόνιας υπέρτασης*

Όλες οι χρόνιες υπερτασικές διαταραχές, ανεξάρτητα από τις αιτίες τους, προδιαθέτουν στην ανάπτυξη προεκλαμψίας και εκλαμψίας. Αυτές οι διαταραχές μπορούν να δημιουργήσουν δύσκολα προβλήματα διάγνωσης και θεραπείας σε γυναίκες που δεν έχουν εξεταστεί μέχρι το μέσο της κύησης. Η διάγνωση της χρόνιας υπέρτασης γίνεται όταν:

- α. Η υπέρταση τεκμηριώνεται πριν την κύηση.
- β. Η υπέρταση διαγιγνώσκεται πριν τις 20 εβδομάδες κύησης, εκτός αν υπάρχει τροφοβλαστική νόσος.
- γ. Η υπέρταση παραμένει για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά τον τοκετό.

Επιπρόσθετοι παράγοντες, που βοηθούν να στηριχθεί η διάγνωση, είναι η πολυτοκία και η υπέρταση σε προηγούμενη κύηση. Συχνά υπάρχει οικογενειακό ιστορικό υπέρτασης. Η διάγνωση της χρόνιας υπέρτασης είναι δύσκολο να γίνει όταν η γυναίκα δεν έχει εξεταστεί μέχρι το δεύτερο και την αρχή του τρίτου τριμήνου και στις γυναίκες με φυσιολογική Α.Π. και στις γυναίκες με χρόνια υπέρταση. Έτσι μια γυναίκα με χρόνια υπέρταση, που εξετάστηκε για πρώτη φορά μετά τις 20 εβδομάδες κύησης, συχνά έχει φυσιολογική Α.Π., όμως κατά το τρίτο τρίμηνο η Α.Π. επιστρέφει στα προηγούμενα υπερτασικά επίπεδα. Σε αυτές τις περιπτώσεις η αναζήτηση στοιχείων καταστροφής τελικών οργάνων από τη χρόνια υπέρταση μπορεί να βοηθήσει να αποσαφηνιστεί η υποκείμενη αιτία. Για παράδειγμα μπορεί να ανευρεθεί υπερτροφία της αριστερής κοιλίας ή αλλοιώσεις του αμφιβληστροειδή όπως στενώσεις αρτηριολίων, εξίδρωμα ή κηλίδες. Μερικές από τις αιτίες της υποκείμενης χρόνιας υπέρτασης που αντιμετωπίζονται στην κύηση αναφέρονται στον πίνακα 2.

Η ιδιοπαθής οικογενής υπέρταση είναι η αιτία υποκείμενης αγγειακής νόσου σε πάνω από το 90% των εγκύων γυναικών με χρόνια υπέρταση. Η παχυσαρκία και ο Σακχαρώδης Διαβήτης είναι άλλες αιτίες. Σε ορισμένες γυναίκες, η υπέρταση αναπτύσσεται σε έδαφος νεφρικής παρεγχυματικής νόσου. Πρόσφατες μελέτες νεφρικών βιοψιών έδειξαν αλλοιώσεις, ειδικά στις πολύτοκες, αλλά δεν επιβεβαίωσαν επικράτηση της χρόνιας σπειραματονεφρίτιδας. Η χρόνια υπέρταση με την πάροδο του χρόνου μπορεί να οδηγήσει σε κοιλιακή υπερτροφία, καρδιακή ανεπάρκεια, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο ή νεφρική βλάβη.

**Πίνακας 2: Υποκείμενες αιτίες χρόνιας υπέρτασης (Κρυελέση, 2012)**

- Ιδιοπαθής οικογενής υπέρταση
- Παχυσαρκία

- Ανωμαλίες αρτηριών (νεφρικών, στένωση αορτής)
- Ενδοκρινολογικές διαταραχές (Σακχαρώδης διαβήτης, Σύνδρομο Cushing, Αλδοστερονισμός, Φαιοχρωμοκύτωμα, Θυρεοτοξίκωση)
- Νεφρικές νόσοι - Σπειραματονεφρίτις (οξεία-χρόνια) - Νεφρική ανεπάρκεια (οξεία-χρόνια) - Πολυκυστικοί νεφροί - Διαβητική νεφροπάθεια
- Νοσήματα συνδετικού ιστού (Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, οξώδης πολυαρθρίτις)

Αυτές οι επιπλοκές είναι πιο συχνές σε προεκλαμψία επί εδάφους χρόνιας υπέρτασης. Ο κίνδυνος αποκόλλησης πλακούντα αυξάνεται επίσης ουσιαστικά, όταν υπάρχει προεκλαμψία σε έδαφος χρόνιας υπέρτασης. Επιπλέον τα έμβρυα γυναικών με χρόνια υπέρταση έχουν σημαντικό κίνδυνο υπολειπόμενης ανάπτυξης, πρόωρου τοκετού και θανάτου.

Σε ορισμένες γυναίκες με χρόνια υπέρταση, η Α.Π. αυξάνει σε παθολογικά επίπεδα, τυπικά μετά τις 24 εβδομάδες κύησης. Εάν η υπέρταση συνοδεύεται από πρωτεϊνουρία, τότε διαγιγνώσκεται προεκλαμψία σε έδαφος χρόνιας υπέρτασης. Συχνά η προεκλαμψία σε έδαφος χρόνιας υπέρτασης αναπτύσσεται νωρίτερα στην κύηση από την αμιγή προεκλαμψία και τείνει να είναι έχει βαρύτερη μορφή ενώ συνδυάζεται συχνότερα με υπολειπόμενη ανάπτυξη εμβρύου. Οι δείκτες βαρύτητας που παρουσιάζονται επιπλέον και την προεκλαμψία σε έδαφος χρόνιας υπέρτασης. (Κρυελέση Β., 2012)

### 3. Προεκλαμψία

Η προεκλαμψία, μια ασθένεια που εντοπίζεται μόνο στην εγκυμοσύνη, ορίζεται ως εμφάνιση υπέρτασης και σημαντική πρωτεϊνουρία σε μια υγιή γυναίκα πριν ή μετά την 20ή εβδομάδα κύησης και παρουσιάζεται σε περίπου 2-8% των κυήσεων. Είναι η πιο συχνή ιατρική επιπλοκή της εγκυμοσύνης η συχνότητα της οποίας συνεχίζει να αυξάνεται παγκοσμίως και συνδέεται με σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα της

μητέρας, που αντιπροσωπεύει περίπου 50.000 θανάτους παγκοσμίως ετησίως. Έτσι, η μείωση της μητρικής θνησιμότητας κατά 75% μεταξύ 1990 και 2015 θεωρήθηκε ως μέρος των αναπτυξιακών στόχων της χιλιετίας των χωρών του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ). Παράγοντες κινδύνου για την προεκλαμψία είναι η μη ολοκλήρωση εγκυμοσύνης πέρα των 20 εβδομάδων, η πολλαπλή κύηση, πρωτότερο ιστορικό προεκλαμψίας, η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης, οι διαταραχές των αγγειακών και συνδετικών ιστών όπως ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος και τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, η ηλικία > 35 ετών στην πρώτη εγκυμοσύνη, το κάπνισμα και η αφρικανική-αμερικανική φυλή. Μεταξύ των γυναικών που βρίσκονται στην πρώτη τους κύηση, υπάρχει μια ανομοιογένεια μεταξύ των φυλετικών ομάδων, καθώς ο κίνδυνος στις γυναίκες της Αφρικής είναι διπλάσιος από εκείνον των γυναικών του Καυκάσου και ο κίνδυνος είναι επίσης πολύ υψηλός στις γυναίκες καταγωγής Ινδίας και Πακιστάν. Η σχέση μεταξύ αυτών των παραγόντων κινδύνου και της προεκλαμψίας είναι ελάχιστα κατανοητή. Οι διαφορές στον κίνδυνο μεταξύ των εθνικών ομάδων υποδεικνύουν έναν ισχυρό ρόλο για τους γενετικούς παράγοντες στην παθογένεση της προεκλαμψίας.

Οι περισσότερες θεωρίες σχετικά με την αιτιολογία της προεκλαμψίας υποδηλώνουν ότι η ασθένεια είναι ένας καταρράκτης που προκαλείται από το συνδυασμό μη φυσιολογικής φλεγμονώδους ανταπόκρισης της μητέρας, την ενεργοποίηση / βλάβη ενδοθηλιακών κυττάρων με διαταραγμένο αιμοδυναμικό περιβάλλον και διαταραγμένη ανοσία. Η ακριβής «σκανδάλη» που ενοποιεί τις εκφυλισμένες αγγειακές, ανοσολογικές και φλεγμονώδεις αποκρίσεις απομένει να αποσαφηνιστεί.

### 3.1. Παράγοντες Κινδύνου και Παθογένεια της Προεκλαμψίας

Η προεκλαμψία είναι μια διαταραχή της εγκυμοσύνης που επηρεάζει διάφορα όργανα. Η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, η πρωτεϊνουρία, η παχυσαρκία, το οικογενειακό ιστορικό, η μη ολοκλήρωση εγκυμοσύνης πέρα της 20<sup>ης</sup> εβδομάδας, η πολλαπλή εγκυμοσύνη, η χρήση αντισυλληπτικών, η σύλληψη σε μεγάλη ηλικία (> 40) και η θρομβωτική αγγειακή νόσος συμβάλλουν ως παράγοντες κινδύνου για την προεκλαμψία. Νέα εμφάνιση υπέρτασης (συστολική  $\geq 140$  mmHg) μπορεί να

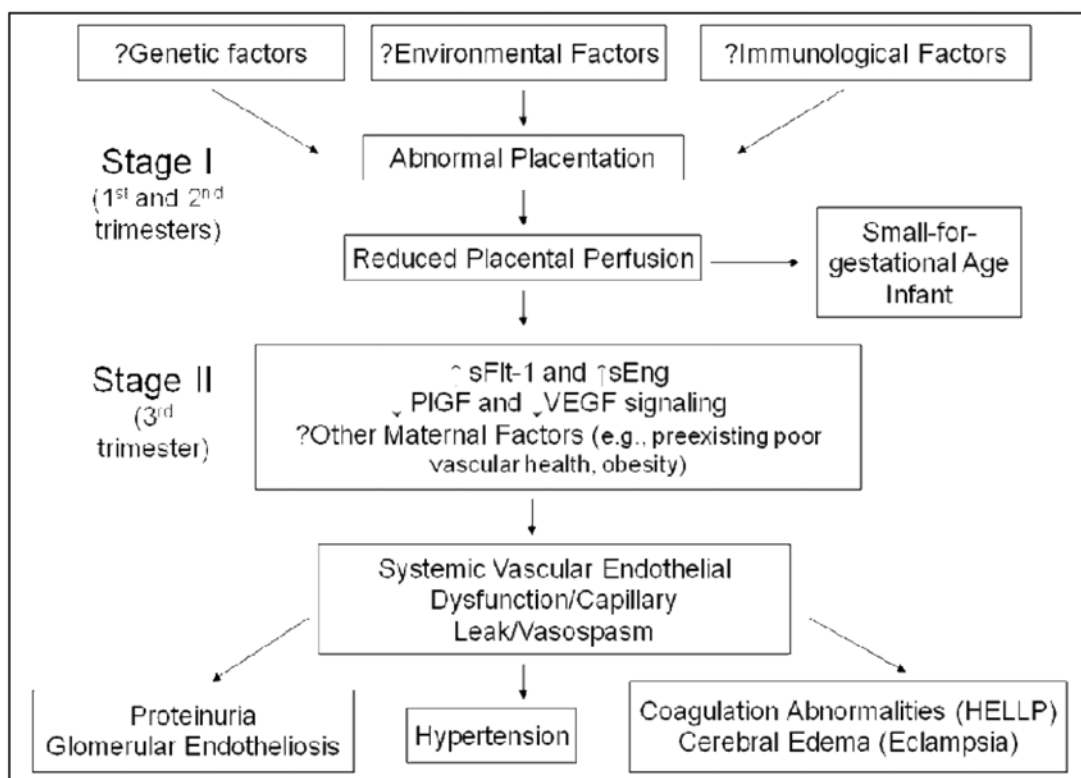
παρατηρηθεί μετά από 20 εβδομάδες κύηση σε προηγουμένως φυσιολογικές γυναίκες. Αρκετά άλλα συμπτώματα όπως οίδημα, νεφρική ανεπάρκεια, ηπατική ανεπάρκεια και σύνδρομο HELLP χειροτερεύουν επίσης την κλινική κατάσταση. Ανάλογα με την πρόωρη ή την καθυστερημένη εμφάνιση, η ασθένεια μπορεί να παρουσιάσει ήπια ή σοβαρά συμπτώματα. Η διαταραγμένη ηπατική λειτουργία, η θρομβοπενία και το σύνδρομο HELLP μπορούν να εξελιχθούν σε εκλαμψία σε σοβαρές περιπτώσεις.

Οι γυναίκες με μη ολοκλήρωση της εγκυμοσύνης πέρα από την 20<sup>η</sup> εβδομάδα (στις οποίες η σύλληψη έγινε μέσω τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής) και οι γυναίκες που έχουν ήδη προσβληθεί από αυτοάνοσα νοσήματα μπορούν να βιώσουν διαταραγμένο μητρικό ανοσοποιητικό σύστημα πρώιμης έναρξης. Αντίθετα, οι γυναίκες με μεταβολικές, νεφρικές ή αγγειακές παθήσεις θεωρούνται ομάδες κινδύνου εμφάνισης προεκλαμψίας. Περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν επίσης να συμβάλλουν στην ασθένεια, όπως συμβαίνει για όσους ζουν σε μεγάλο υψόμετρο και αντιμετωπίζουν υποξικές συνθήκες.

Σε μια μελέτη, οι McDonnold και συνεργάτες αναφέρουν ότι ένα πιθανό αίτιο για την εμφάνιση προεκλαμψίας είναι η παρουσία μόλυνσης από τον ιό HPV. Ο HPV (Human Papillomavirus) επηρεάζει το 80% των γυναικών. Στην κύηση ο ιός πολλαπλασιάζεται ταχύτερα λόγω της αύξησης της προγεστερόνης και λόγω της μείωσης των φυσικών φονικών κυττάρων (NK) και των βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων. Μόλυνση από τον HPV οδηγεί σε χρόνια φλεγμονή και αυτό μπορεί να επηρεάζει την εμφάνιση προεκλαμψίας. Έχει ανευρεθεί ότι οι τροφοβλάστες εκφράζουν υποδοχείς HPV και είναι ο πρωταρχικός στόχος των HPV σε αυθόρμητες αποβολές. Επίσης, Ο HPV έχει συσχετιστεί με αύξηση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, οπότε παρέχεται μια πιθανή σχέση μεταξύ της μόλυνσης από τον ιό HPV και την εμφάνιση προεκλαμψίας. (McDonnold et al., 2014)

Σε μια μελέτη, οι Cunningham και συνεργάτες αξιολόγησαν 37 έγκυες γυναίκες και ανέφεραν 58% και 64% προεκλαμψία σε άτομα με μέτρια και σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια αντίστοιχα. Αντίθετα, οι Fink et al παρατήρησαν μια αναλογία 7.3 για προεκλαμψία σε 169 γυναίκες με νεφρική νόσο. Η ιστοπαθολογική προέλευση διαφέρει ευρέως, αλλά η διαβητική νεφροπάθεια είναι γνωστό ότι είναι η συνηθέστερη αιτία χρόνιας νεφρικής νόσου (Chronic Kidney Disease-CKD) κατά την εγκυμοσύνη. (Fink et al., 1998 & Cunningham et al., 1990)

Ο μη φυσιολογικός πλακούντας είναι γνωστό ότι είναι η κύρια αιτία για την εμφάνιση της προεκλαμψίας και η απομάκρυνσή του τερματίζει τη νόσο. Λόγω μη φυσιολογικής εμφύτευσης και πλακουντοποίησης εμφανίζεται κακή διάχυση στη μήτρα και τον πλακούντα η οποία οδηγεί σε οξειδωτικό στρες, υποξική κατάσταση και απελευθέρωση ορισμένων αντι-αγγειογενετικών παραγόντων. Αυτοί οι αντι-αγγειογενετικοί παράγοντες οδηγούν σε γενικευμένη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία η οποία είναι υπεύθυνη για υπερτασικό σύνδρομο και μικροαγγειοπάθεια. Η παθολογική εξέταση πλακούντων από γυναίκες με σοβαρή προεκλαμψία αποκαλύπτει αρκετές ανωμαλίες όπως έμφρακτα, θρόμβωση, αρτηριοσκλήρυνση και χρόνια φλεγμονή. Ορισμένες αντι-αγγειογόνες πρωτεΐνες που παράγονται από τον ανώμαλο πλακούντα είναι η διαλυτή ενδογλίνη (soluble Endoglin-sEng) και ο διαλυτός αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός υποδοχέας-1 (sFlt-1), που προκαλούν ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, αναστέλλοντας τους προ-αγγειογόνους παράγοντες όπως ο παράγοντας ανάπτυξης του πλακούντα (Placental Growth Factor-PlGF) και οι αγγειακοί ενδοθηλιακοί παράγοντες ανάπτυξης (Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF). Τα επίπεδα του sFlt-1 στο μητρικό αίμα αντιπροσωπεύουν τη σοβαρότητα της προεκλαμψίας ενώ οι ποσότητες VEGF και PlGF μειώθηκαν σε ασθενείς με σοβαρά συμπτώματα σε σύγκριση με τις φυσιολογικές εγκυμοσύνες. Οι μεταβολές των sFlt-1 και PlGF είναι επίσης πιο έντονες στην πρώιμη έναρξη σε σύγκριση με την προεκλαμψία με καθυστερημένη έναρξη.



**Εικόνα 1:** Παθογένεση της Προεκλαμψίας (Από: Naljayan and Karumanchi, 2013)

### 3.1.1. Προ-αγγειογόνοι παράγοντες

Οι VEGF είναι διμερείς γλυκοπρωτεΐνες που εμπλέκονται στην αρτηριογένεση και φλεβογένεση. Οι υποδοχείς της οικογένειας VEGF που υπάρχουν στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα περιλαμβάνουν τους Flt-1 (VEGFR-1) και KDR (VEGFR-2). Οι VEGF είναι γνωστό ότι συνδέονται και με τα δύο είδη υποδοχέων, δηλαδή Flt-1 και KDR, ενώ τα ομοδιμερή PlGF δεσμεύονται ειδικά με Flt-1. Οι VEGF επενεργούν κυρίως επί του VEGFR-2 για να επηρεάσουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο ρόλος του γονιδίου Flt-1 είναι να εκφράζει το sFlt-1, το οποίο δρα ρυθμίζοντας την καθοδήγηση των αναδυόμενων νέων αγγείων μέσω της διαμόρφωσης της τοπικής διαθεσιμότητας του VEGF. Η αποβολή του απλού αλληλόμορφου VEGF έχει ως αποτέλεσμα την αισθητά ανώμαλη δημιουργία αγγείων που αγγίζει το αγγειακό σύστημα του πλακούντα με θάνατο στην 10<sup>η</sup>-12<sup>η</sup> εμβρυϊκή ημέρα. Η επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων και η αγγειακή ομοιοστάση σε ώριμα αγγεία και ιστούς οφείλεται στο VEGF. Τα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για την έκφραση του VEGF εντοπίζονται δίπλα σε ενδοθήλια, επιθηλιακά κύτταρα του χοριοειδούς πλέγματος, νεφρικά υποκύτταρα

και ηπατοκύτταρα. Η αναστολή του VEGF οδηγεί σε παθολογικές καταστάσεις σε πολλά από τα όργανα με ενδοθήλιο και παρατηρείται επίσης στην προεκλαμψία. Οι VEGF έχουν άμεσο αγγειοδιασταλτικό αποτέλεσμα επί της συστημικής αγγείωσης καθώς η έγχυση του VEGF οδηγεί σε αγγειοχαλάρωση εξαρτώμενη από το οξείδιο του αζώτου στη στεφανιαία αρτηρία.

Το PlGF παρουσιάζει ομοιότητα με το VEGF και εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα από τον πλακούντα. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, δεσμεύεται με τον υποδοχέα Flt-1 με υψηλή συγγένεια. Σε μια μελέτη σε ζώα, οι ποντικοί που δεν εκαφράζουν το PlGF εμφανίζουν ελαττώματα στην αγγειογένεση όγκων, στη νεοαγγείωση του μυοκαρδίου και στην επούλωση του τραύματος υποδεικνύοντας ότι το PlGF παίζει ρόλο στην αγγειογένεση σε παθολογικές καταστάσεις. Το PlGF συνδέεται περισσότερο ενεργά με τον υποδοχέα Flt-1 μετατοπίζοντας το VEGF από τον υποδοχέα Flt-1. Άλλοι πιθανοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν άμεσες επιδράσεις της σηματοδότησης Flt-1 και σχηματισμό ετεροδιμερών VEGF / PlGF. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ο πλακούντας απελευθερώνει υψηλή ποσότητα PlGF και τα επίπεδα τους αυξάνονται από το δεύτερο τρίμηνο και στη συνέχεια μειώνονται. (Al-Jameil et al., 2014)

### 3.1.2. Αντι-αγγειογόνοι παράγοντες

Διάφορες μελέτες κατέδειξαν δυνητικά την παρουσία παραγόντων στην κυκλοφορία προεκλαμπτικών γυναικών που απελευθερώνονται από το τραυματισμένο ή το ενεργοποιημένο ενδοθήλιο. Μεταξύ αυτών των παραγόντων περιλαμβάνονται η ενδοθηλίνη-1, η ινωδονεκτίνη, ο παράγοντας von Willebrand, οι δείκτες οξειδωτικού στρες, η θρομβομοντουλίνη και οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες. Υπάρχει έλλειψη προστακυκλίνης, νιτρικού οξειδίου, αγγειοδιασταλτικών παραγόντων στην κυκλοφορία των γυναικών με προεκλαμψία. Μια θεωρία, ότι οι κυκλοφορούντες παράγοντες προκαλούν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, ενισχύθηκε όταν ορός από γυναίκες με προεκλαμψία προκάλεσε ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τραυματισμό *in vitro*.

Οι αντι-αγγειογόνοι παράγοντες απελευθερώνονται από τον πλακούντα και εισέρχονται στη μητρική κυκλοφορία, η οποία είναι η κύρια αιτία ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στην προεκλαμψία. Μία αντι-αγγειογόνος πρωτεΐνη, η διαλυτή κινάση



τυροσίνης τύπου fms (sFlt-1, επίσης γνωστή ως sVEGFR-1) είναι μια διαλυτή μορφή του υποδοχέα VEGF / PlGF Flt-1 που παράγεται με εναλλακτικό μάτισμα. Το sFlt-1 αναστέλλει τη δράση του VEGF και του PlGF με την παρεμπόδιση του σχηματισμού του ενδοθηλιακού σωλήνα και την παρεμπόδιση του αγγειοδιασταλτικού αποτελέσματος. Σε μια μελέτη σε ζώα η χορήγηση sFlt-1 σε εγκύους αρουραίους προκαλεί υπέρταση, πρωτεϊνουρία και σπειραματική ενδοθηλιοπάθεια.

Ένας άλλος αντι-αγγειογόνος παράγοντας είναι ο sEng που βρέθηκε από τους πλακούντες των γυναικών με προεκλαμψία. Μελέτες έχουν εντοπίσει επίπεδα sEng 4 φορές υψηλότερα στις γυναίκες με σοβαρή προεκλαμψία από τις κανονικές γυναίκες. Όταν το sEng συνδυάζεται με το sFlt-1 επάγει χαρακτηριστικά της σοβαρής προεκλαμψίας όπως η ηπατική δυσλειτουργία, η περιορισμένη ανάπτυξη του εμβρύου, οι διαταραχές πήξης και οι νευρολογικές ανωμαλίες. Σε μια μελέτη σε ζώα, το sEng περιορίζει τον σχηματισμό του ενδοθηλιακού σωλήνα και αυξάνει την τριχοειδή διαπερατότητα σε ποντίκι, ήπαρ, πνεύμονα και νεφρά. Όταν οι έγκυοι αρουραίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με συνδυασμένα sFlt-1 και sEng αναπτύχθηκαν τα χαρακτηριστικά της προεκλαμψίας δηλαδή υπέρταση, νεφρωσικό σύνδρομο, χαμηλός αριθμός αιμοπεταλίων, αυξημένα ηπατικά ένζυμα και μειωμένο βάρος εμβρύου. (Al-Jameil et al., 2014)

## 3.2. Παθοφυσιολογία διαφόρων κλινικών περιπτώσεων

### 3.2.1. Υπέρταση

Η υπέρταση εμφανίζεται πολύ συχνά σε προεκλαμψία. Η αυξημένη περιφερική αγγειακή αντίσταση και όχι η αυξημένη καρδιακή παροχή είναι η αιτία της υπέρτασης. Η προεκλαμψία αυξάνει την ανταπόκριση στην αγγειοτασίνη II, τις κατεχολαμίνες και άλλα υπερτασικά ερεθίσματα σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες. Μια μελέτη έχει αναφέρει ότι το αποτέλεσμα μπορεί να ανυψώσει την εμφάνιση της επώδυνης υπέρτασης κατά εβδομάδες έως μήνες. Στην προεκλαμψία ο συνολικός όγκος του πλάσματος είναι χαμηλός και πιθανώς αυξάνει ο κυκλοφορούντας όγκος όπως αποδεικνύεται από την μείωση της ρεννίνης και της αλδοστερόνης και την

αύξηση της νατριουρητικής ορμόνης σε σύγκριση με την κανονική εγκυμοσύνη. Οι δείκτες ενδοθηλιακής ενεργοποίησης και δυσλειτουργίας όπως η ενδοθηλίνη, η κυτταρική φμπρονεκτίνη, ο αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1 (Plasminogen Activator Inhibitor-1-PAI-1) και ο παράγοντας von Willebrand μεταβάλλονται στην προεκλαμψία. Σε *in vitro* μελέτες έχουν παρατηρηθεί τροποποιημένες ενδοθηλιακές λειτουργίες σε προεκλαμπτικά αγγεία. Η αυξημένη συχνότητα εμφάνισης προεκλαμψίας σε γυναίκες με χρόνιες παθήσεις όπως ο διαβήτης και η υπέρταση υποδεικνύει ότι ένας παράγοντας στο περιβάλλον της μητέρας μπορεί επίσης να προσδώσει ευαισθησία στην προεκλαμψία. Αρκετοί μεσολαβητές, όπως αγγειοσυσταλτικά, η νορεπινεφρίνη, η ενδοθηλίνη, η θρομβοξάνη και οι αγγειοδιασταλτικές προστακυκλίνες και το νιτρικό οξείδιο είναι γνωστό ότι μεσολαβούν στη αγγειοσυστολή. (Al-Jameil et al., 2014)

### 3.2.2. Καρδιαγγειακός κίνδυνος

Η προεκλαμψία μπορεί να προχωρήσει σε μόνιμη αγγειακή, μεταβολική βλάβη και να αυξήσει επίσης τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου (Cardiovascular Disease-CVD). Μία μελέτη έδειξε αυξημένο σχετικό κίνδυνο CVD μετά από προεκλαμψία. Η CVD είναι γνωστή ως η κύρια αιτία θνησιμότητας παγκοσμίως. Σε μια μελέτη, η αντίσταση στην ινσουλίνη και η δυσλειτουργία της αγγειογένεσης αποκάλυψαν τη συσχέτιση μεταξύ της προεκλαμψίας και του μεταβολικού συνδρόμου, που έδειξε ότι ακόμη και ένα χρόνο μετά τον τοκετό, συνεχώς αυξάνονται η παροχή της γλυκόζης στον ορό και της sFlt-1. Σημειώνεται ότι παρατηρήθηκε αυξημένη συχνότητα εμφάνισης CVD και διαβήτη τύπου 2 στην κύηση. Μεγάλες αναδρομικές επιδημιολογικές μελέτες κατέδειξαν με συνέπεια ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος για πολλούς τύπους καρδιαγγειακής νόσου σε γυναίκες με ιστορικό προεκλαμψία. Η CVD και η προεκλαμψία έχουν μερικούς κοινούς παράγοντες κινδύνου όπως η παχυσαρκία και το μεταβολικό σύνδρομο. Ως εκ τούτου, επειδή η προεκλαμψία είναι γνωστό ότι είναι ο παράγοντας κινδύνου για CVD, η CVD κάνει το ίδιο με την προεκλαμψία. Οι γυναίκες που είχαν προεκλαμψία πριν από 34 εβδομάδες ή προεκλαμψία σε συνδυασμό με πρόωρο τοκετό έχουν ακόμη μεγαλύτερο κίνδυνο θανάτου από καρδιαγγειακά νοσήματα, με τέσσερις έως οκτώ φορές μεγαλύτερο κίνδυνο από τις γυναίκες που

είχαν κανονική εγκυμοσύνη. Τα άτομα που γεννιούνται από εγκυμοσύνες που περιπλέκονται από την προεκλαμψία ή η υπέρταση κύησης μπορεί επίσης να έχουν μερικούς μελλοντικούς καρδιαγγειακούς κινδύνους. Έχει αναφερθεί αυξημένος κίνδυνος αιμορραγίας και ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου μετά τα στάδια των 60-70 ετών, κυρίως μεταξύ εκείνων με ιστορικό ισχυρής προεκλαμψίας, ίσως λόγω εγκεφαλικής αγγειακής δυσλειτουργίας που προκλήθηκε από ανεπάρκεια ανάπτυξης κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής. (Agatista et al., 2004, Wolf et al., 2004, Wilson et al., 2003 & Berends et al., 2008)

### 3.2.3. Υπερουριχαιμία

Πάνω από 80 χρόνια πριν καθιερώθηκε η σχέση μεταξύ του ουρικού οξέος του ορού και της προεκλαμψίας. Τα επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό είναι ανάλογα στις γυναίκες με προεκλαμψία, με τη σοβαρότητα της πρωτεϊνουρίας, τις νεφρικές αλλαγές, τη μητρική νοσηρότητα και την αποβολή του εμβρύου. Σε μια πρόσφατη μελέτη, έχει προταθεί ότι η υπερουριχαιμία συμβάλλει άμεσα στην αγγειακή βλάβη και την υπέρταση. (Sagen et al., 1984 & Schaffer et al., 2003)

### 3.2.4. Νευρολογικές ανωμαλίες

Εάν η προεκλαμψία παραμείνει αθεράπευτη, η κατάσταση περιπλέκεται από την εμφάνιση επιληπτικών κρίσεων στον εγκέφαλο και αναφέρεται ως εκλαμψία. Κεφαλαλγία, θολή όραση και προσωρινή απώλεια όρασης είναι λίγα από τα συμπτώματα της εκλαμψίας. Οι νευρολογικές αλλαγές όπως το εγκεφαλικό οίδημα και η αγγειοσυστολή έχουν αποδοθεί στην προεκλαμψία. Το εγκεφαλικό οίδημα περιλαμβάνει τα οπίσθια τμήματα της λευκής ουσίας γνωστό ως το σύνδρομο αναστρέψιμης οπίσθιας λευκοεγκεφαλοπάθειας (Reversible Posterior Leuko encephalopathy Syndrome-RPLS). (Schwartz et al., 2000)

### 3.3. Νεφρολογικές επιδράσεις της προεκλαμψίας

Τα νεφρά είναι μεταξύ των κύριων οργάνων που επηρεάζονται από την προεκλαμψία και το αποτέλεσμα μπορεί να παρατηρηθεί με τη μορφή πρωτεϊνουρίας. Το επίπεδο της πρωτεϊνουρίας σχετίζεται άμεσα με την κακή προγεννητική πρόγνωση και τον μεγαλύτερο κίνδυνο επιπλοκών όπως η εκλαμψία και το σύνδρομο HELLP. Η αναλογία πρωτεΐνης ούρων προς κρεατινίνη (αναλογία P: C) έχει γίνει η προτιμώμενη μέθοδος για τον ποσοτικό προσδιορισμό της πρωτεϊνουρίας σε μη εγκύους, αλλά εξακολουθεί να είναι αμφιλεγόμενη στη διάγνωση της προεκλαμψίας. Η μικροαλβουμινουρία είναι δείκτης της νεφρικής ενδοθηλιακής βλάβης που οφείλεται σε τοπικές ή συστηματικές αγγειακές βλάβες. Υπάρχει αυξημένος κίνδυνος μόνιμης μικρολευκωματινουρίας μετά από την προεκλαμψία και αυτή μπορεί να είναι η κύρια αιτία νεφρικής νόσου μετά από την προεκλαμψία. Σε μια μελέτη σε άτομα που εμφάνισαν προηγουμένως προεκλαμψία, αυξήθηκε ο κίνδυνος νεφροπάθειας τελικού σταδίου και οι γυναίκες με επαναλαμβανόμενες προεκλαμπτικές εγκυμοσύνες και εκείνες, οι οποίες γεννούν νεογνά με χαμηλό βάρος γέννησης θεωρούνται άτομα ακόμη υψηλού κινδύνου νεφροπάθειας. Πολλοί μηχανισμοί εξηγούν τη σχέση μεταξύ προεκλαμψίας και νεφρικής νόσου. Η υπέρταση, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, η παχυσαρκία και η καρδιαγγειακή νόσος είναι οι παράγοντες κινδύνου για τη χρόνια νεφρική νόσο και η προεκλαμψία φαίνεται να σχετίζεται με τέσσερις έως πέντε φορές υψηλότερο σχετικό κίνδυνο CKD και μικρολευκωματινουρία. (Rule et al., 2004 & Spargo et al., 1976)

Οι σπειραματικές συνέπειες της προεκλαμψίας μπορούν να γίνουν κατανοητές όσον αφορά τη διάσπαση του φραγμού σπειραματικής διήθησης (Glomerular Filtration Barrier-GFB) μέσω της βλάβης των σπειραματικών ενδοθηλιακών κυττάρων. Όχι μόνο η ενδοθηλιακή βλάβη έχει ως αποτέλεσμα την ενδοθηλίωση, αλλά ταυτόχρονα διαταράσσονται τα ποδοκύτταρα, καθώς αυτά τα εξειδικευμένα κύτταρα εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τα σήματα που προέρχονται από τα σπειραματικά ενδοθηλιακά κύτταρα για τη διατήρηση των δομών και των διαφραγμάτων. Η βλάβη των ενδοθηλιακών σπειραματικών κυττάρων προκαλεί τη διάσπαση πολλαπλών συστατικών του GFB που οδηγεί σε πρωτεϊνουρία και υπέρταση. Η ενδοθηλιακή βλάβη του αρτηριδίου εμφανίζεται επίσης σε προεκλαμψία και μπορεί να προκαλέσει

στένωση αρτηριακής ροής. Έτσι, η σπειραματική διήθηση διακυβεύεται και εκδηλώνεται ως αυξημένη αρτηριακή πίεση. (Karumanchi et al., 2005)

Η μειωμένη GFR οφείλεται στην ενδοθηλίωση και κυρίως μέσω της μείωσης του συντελεστή υπερδιήθησης σε αντίθεση με τη μειωμένη ροή πλάσματος. Έχουν παρατηρηθεί ήπιες μορφές σε 30% των ασθενών με υπέρταση που προκαλείται από εγκυμοσύνη χωρίς πρωτεϊνουρία. Μια πρόσφατη μελέτη βρήκε 5 από 12 άτομα με ίχνη ενδοθηλίου. Περιορισμένη ενδοθηλίωση έχει επίσης αναφερθεί περιστασιακά σε συνδυασμό με άλλες διαταραχές. Μελέτες αποκάλυψαν ότι οι γυναίκες με ιστορικό προεκλαμψίας έχουν αυξημένη αρτηριακή πίεση, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, αύξηση βάρους και άλλα σημάδια καρδιαγγειακού κινδύνου τόσο πριν όσο και μετά την προεκλαμπτική εγκυμοσύνη. Καμία μελέτη δεν έδειξε ότι η ίδια η προεκλαμψία έχει αρνητικές επιπτώσεις στην αρτηριακή πίεση και τη μικρολευκωματινουρία, αν και οι μελέτες υποδηλώνουν την επίδρασή της στην επιδείνωση του προφίλ του καρδιαγγειακού κινδύνου μετά την εγκυμοσύνη σε γυναίκες με προεκλαμψία. Σημειώνεται επίσης ότι οι εκτεταμένες σπειραματικές αλλαγές μπορούν επίσης να επιλυθούν μετά τον τοκετό. Το γεγονός ότι το 20-40% των γυναικών έχουν μικρολευκωματινουρία μετά από προεκλαμπτική κύηση προκαλεί ανησυχία για μόνιμη σπειραματική βλάβη σε μεγάλο ποσοστό αυτών των γυναικών. Αρκετοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι η ίδια η πρωτεϊνουρία προκαλεί συνεχιζόμενη νεφρική δυσλειτουργία μέσω αυξημένης διάμεσης φλεγμονής, και το ίδιο ισχύει για την μικρολευκωματινουρία. (Stevens et al., 2003 & Al-Jameil et al., 2014)

### 3.4. Στοιχεία για τη φλεγμονή στην παθογένεση της προεκλαμψίας

Η φυσιολογική εγκυμοσύνη προκαλεί μεταβολές στη φυσιολογία της μητέρας για να φιλοξενήσει το έμβρυο και τον πλακούντα, καθώς και προϊόντα από την εμβρυοπλακουντιακή μονάδα, όπως τα εξωσώματα πλακούντα, μικροσωματίδια και μικροχιμαιρικά κύτταρα. Σε φυσιολογική εγκυμοσύνη, υπάρχει μια μετατόπιση προς μια ανοσοαπόκριση τύπου Th2, η οποία προστατεύει το μωρό από μια απόκριση Th1 τύπου (κυτταροτοξική) η οποία μπορεί να βλάψει το μωρό με προϊόντα όπως η ιντερλευκίνη-2, η IL-12, η ιντερφερόνη γ (IFN $\gamma$ ), και ο παράγοντας νέκρωσης όγκου  $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ -TNF $\alpha$ ). Έτσι, η φλεγμονή φαίνεται να είναι η σχέση μεταξύ

της προσαρμοστικής ανοσοαπόκρισης και της εμφάνισης της προεκλαμψίας. Η συστηματική φλεγμονή στην προεκλαμψία φαίνεται να ευνοεί την υπεροχή της αντίδρασης τύπου Th1. Η προεκλαμψία προκύπτει από την υπερβολική αγγειακή φλεγμονώδη ανταπόκριση της μητέρας. Σύμφωνα με αυτή την παρατήρηση, μερικές μελέτες δείχνουν αφθονία διαλυτών δεικτών ενεργοποίησης ουδετερόφιλων στην προεκλαμψία, ενώ άλλες έδειξαν ενίσχυση της φλεγμονής στην προεκλαμψία με ενεργοποίηση του συστήματος συμπληρώματος. Συγκεκριμένα, οι κυτοκίνες TNF και η ιντερλευκίνη 6 (IL-6) είναι αυξημένες σε προεκλαμπτικές γυναίκες. Ωστόσο, ο ρόλος της φλεγμονής ως αιτία της προεκλαμψίας εξασθενεί λόγω της αποτυχίας αρκετών μελετών για την εξεύρεση ισχυρής και σταθερής σχέσης μεταξύ της αύξησης της φλεγμονώδους κατάστασης και των κλινικών σημείων της προεκλαμψίας. Σύμφωνα με αυτές τις παρατηρήσεις, οι έγκυες γυναίκες με υπερβολική φλεγμονή και υψηλά επίπεδα κυτοκίνης, όπως αυτές με σοβαρές λοιμώξεις, δεν αναπτύσσουν πάντα προεκλαμψία. (Redman et al., 1999, Sharma et al., 2007 & Kronborg et al., 2011)

### 3.5. Μια ενοποιητική υπόθεση για την προεκλαμψία: Διαταραχή της ενδοθηλίνης και σηματοδότησης του νιτρικού οξειδίου

Ο πλακούντας είναι το πιο κεντρικό όργανο στην παθογένεση της προεκλαμψίας. Εκτός από τις περιπτώσεις μετά τον τοκετό, η απομάκρυνση του πλακούντα καταργεί την ασθένεια. Επιπλέον, ο πλακούντας, όχι το έμβρυο, αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την ανάπτυξη της προεκλαμψίας. Μια σημαντική πρόοδος στην κατανόηση της παθογένειας της προεκλαμψίας είναι η ανάπτυξη εξαιρετικών ζωικών μοντέλων αυτής της ασθένειας. Χρησιμοποιώντας αυτά τα μοντέλα, όπως το μοντέλο μείωσης της αιμάτωσης της μήτρας, έχει αποδειχθεί ότι η εμφάνιση υπέρτασης, πρωτεϊνουρίας και ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας συσχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα sFLT1 και αυξημένα επίπεδα προπροενδοθηλίνης. Περαιτέρω, η χορήγηση του ανταγωνιστή του υποδοχέα ενδοθηλίνης τύπου A εξομάλυνε πλήρως την υπέρταση σε αυτό το μοντέλο, ενώ αυτός ο ανταγωνιστής δεν είχε επίδραση σε φυσιολογικούς εγκύους ελέγχους. (George & Granger, 2011)

Σε ένα δεύτερο μοντέλο στο οποίο χορηγήθηκε στα ζώα περίσσεια ποσότητας sFLT1 για να μιμηθεί την προεκλαμψία, αυξήθηκε η σηματοδότηση της ενδοθηλίνης

και η συγχορήγηση ενός ανταγωνιστή ενδοθηλίνης κατάργησε αυτή την υπερτασική ανταπόκριση. Αυτό υποδηλώνει ότι η υπέρταση που σχετίζεται με την περίσσεια sFlt1 στην προεκλαμψία εξαρτάται από τη σηματοδότηση της ενδοθηλίνης. Η διαλυτή ενδογλίνη (sEng) είναι ένας άλλος αντιαγγειογόνος παράγοντας που απομονώνεται από τον πλακούντα και το αίμα των γυναικών με προεκλαμψία. Το sEng αναστέλλει τη δέσμευση του αυξητικού παράγοντα μετασχηματισμού (Transforming Growth Factor-TGF) -β στον υποδοχέα του και προκαλεί αρνητική ρύθμιση της συνθάσης του νιτρικού οξειδίου. Έτσι, ο συνδυασμός των αυξημένων sFlt1 και sEng φαίνεται να μειώνει την παραγωγή νιτρικού οξειδίου και να ενεργοποιεί την σηματοδότηση της ενδοθηλίνης-1 με υπέρταση και επιδείνωση της μητρικής ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. (Sandrim et al., 2008)

Χρησιμοποιώντας μοντέλα knockout ποντικών, έχει αποδειχθεί ότι τα ποντίκια που δεν έχουν ενδοθηλιακό νιτρικό οξείδιο (eNOS) έχουν υπέρταση, αντίσταση στην ινσουλίνη, υπερλιπιδαιμία και μειωμένη παραγωγή νιτρικού οξειδίου (NO). Μερικές, αλλά όχι όλες οι μελέτες, δείχνουν ότι οι πολυμορφισμοί NOS3 που οδηγούν σε χαμηλότερη παραγωγή NO σχετίζονται με υπέρταση ή / και προεκλαμψία. Τελικά, η έλλειψη eNOS επιδεινώνει τον φαινότυπο της προεκλαμψίας που επάγεται από την αύξηση του sFlt1 στα μη έγκυα θηλυκά ποντίκια. Ενώ αυτές οι μελέτες σε ζώα δεν μπορούν να προεκταθούν απευθείας στους ανθρώπους, φωτίζουν πιθανούς μηχανισμούς όπου η μετάδοση ενδοθηλίνης και οι μεταβολές στην eNOS που επηρεάζουν την ενδοθηλιακή λειτουργία μπορούν να συμβάλλουν στην παθογένεση αυτού του συνδρόμου. Ένας άλλος χυμικός διαμεσολαβητής, ο ρόλος του οποίου έχει αξιολογηθεί στην προεκλαμψία, είναι η ρελαξίνη. Η ρελαξίνη είναι μια πεπτιδική ορμόνη 6KDa που εκκρίνεται από το ωχρό σωματίο και κυκλοφορεί στο μητρικό αίμα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Η παρουσία και / ή η χορήγηση της κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης οδηγεί σε γρήγορη και παρατεταμένη αγγειοδιαστολή στη μητρική κυκλοφορία. Έτσι, φαίνεται ότι είναι μια σημαντική ορμόνη που πρέπει να αξιολογηθεί σε μια ασθένεια που σχετίζεται με αγγειοσυστολή, όπως η προεκλαμψία. Οι συνεχείς αγγειοδιασταλτικές δράσεις της μητέρας που παρατηρήθηκαν με την ρελαξίνη φαίνεται να εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τους ενδοθηλιακούς αυξητικούς παράγοντες όπως η ζελατινάση, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί τη αγγειοδιασταλτική οδό του ενδοθηλίου (ET) B / νιτρικού οξειδίου. Ωστόσο, παρόλο που η ρελαξίνη είναι πράγματι σημαντικά αυξημένη στον ορό των γυναικών στην

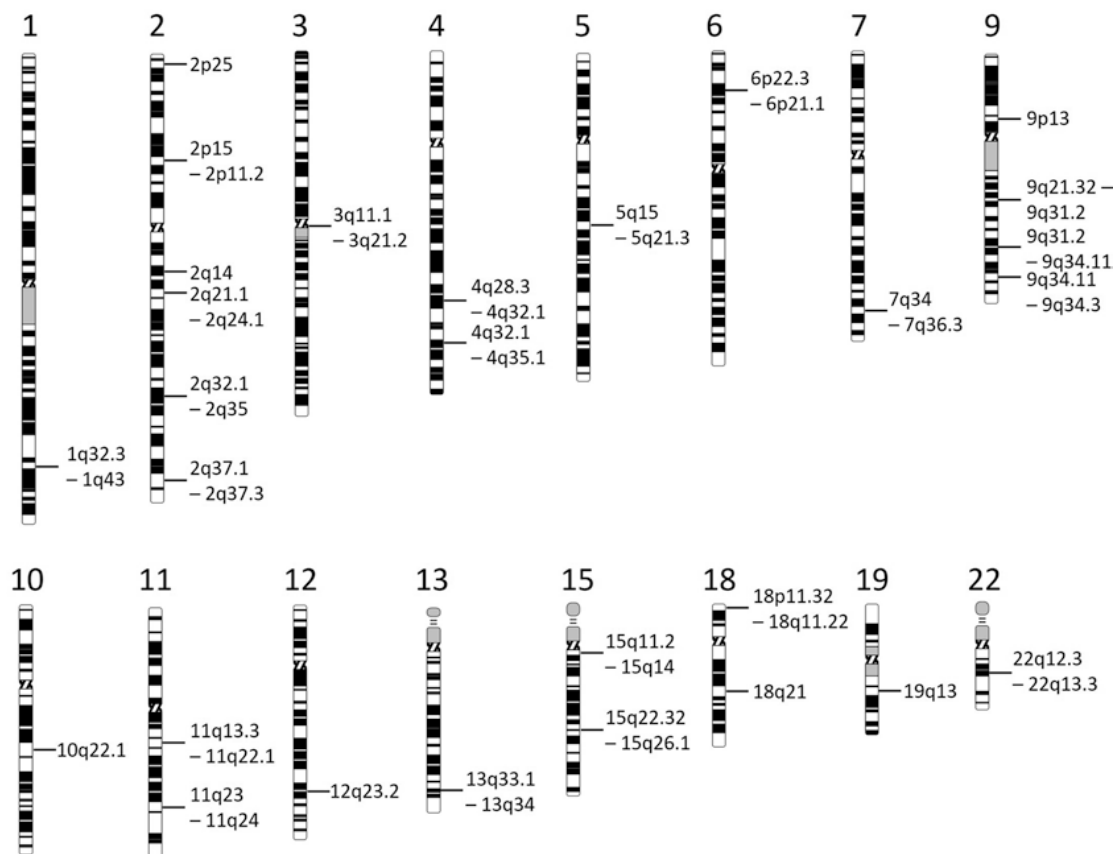
ύστερη εγκυμοσύνη, τα επίπεδα της ρελαξίνης στο αίμα δεν έχουν αποδειχθεί ότι επηρεάζουν την αρτηριακή πίεση, τη νεφρική αγγειακή αντίσταση, τη νεφρική ροή αίματος ή το ρυθμό σπειραματικής διήθησης (GFR) σε γυναίκες με προεκλαμψία. (Li et al., 2012, Conrad, 2011 & Conrad, 2011)

## 4. Γενετικοί παράγοντες

### 4.1. Γονίδια και προεκλαμψία

Παρά την καλά τεκμηριωμένη γενετική συνιστώσα στην αιτιολογία της προεκλαμψίας, η ακριβής γενετική βάση παραμένει άγνωστη. Έχει προταθεί ότι μπορεί να είναι Μεντελικό (αυτοσωμικό υπολειπόμενο, αυτοσωμικό κυρίαρχο με ελλειπή διείσδυση), πολυπαραγοντικό, ή μιτοχονδριακό νόσημα. Μελέτες διδύμων απέδωσαν αντιφατικά αποτελέσματα, αλλά κυρίως έδειξαν ασυμφωνία μεταξύ μονοζυγωτικών διδύμων, μη ευνοώντας έτσι την υπόθεση ενός γονιδίου. Μέχρι στιγμής, οι περισσότερες μελέτες έχουν επικεντρωθεί μόνο στον γονότυπο της μητέρας, αλλά καθώς η ανώμαλη πλακουντοποίηση παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της προεκλαμψίας, τα εμβρυοπλακουντιακά γονίδια φαίνεται να έχουν και αυτά αιτιολογική σημασία. Επιπλέον, υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις ότι η γονιδιωματική αποτύπωση με κυρίαρχη έκφραση του μητρικού αλληλόμορφου εμπλέκεται στην ανάπτυξη της διαταραχής. Η ευαισθησία στην προεκλαμψία θεωρείται ότι οφείλεται σε σύνθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ μητρικών και εμβρυϊκών / πατρικών γονότυπων, διαφορετικών μητρικών γονιδίων, περιβαλλοντικών παραγόντων και παραγόντων προδιάθεσης της μητέρας. Αν και δεν έχει εντοπιστεί μέχρι τώρα κανένα γονίδιο υπεύθυνο για την ανάπτυξη της προεκλαμψίας, η υπόθεση του ενιαίου γονιδίου δεν έχει αποκλειστεί ακόμη εντελώς, τουλάχιστον σε μεμονωμένες οικογένειες. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων η προεκλαμψία μπορεί να θεωρηθεί ως σύνθετη ασθένεια. (Mütze et al., 2008)





**Εικόνα 2:** Περιοχές ευαισθησίας για την προεκλαμψία και ο χρωμοσωμικός εντοπισμός τους. (Από: Yong et al., 2017)

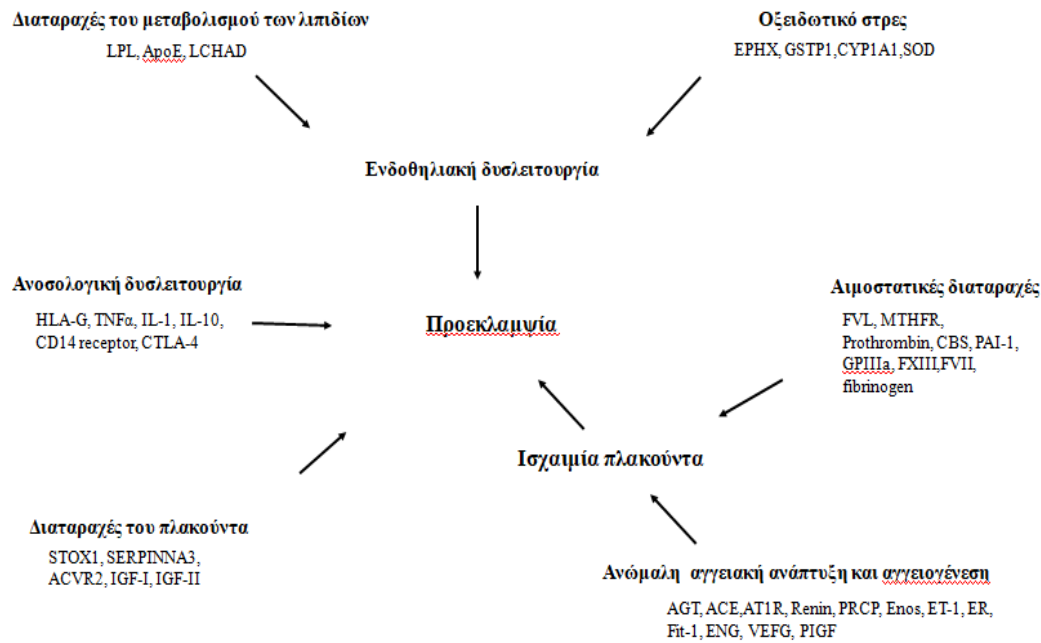
## 4.2. Μητρικός και εμβρυϊκός γονότυπος

Η εμπλοκή του πλακούντα στην παθογένεση της προεκλαμψίας συνεπάγεται την εμβρυϊκή συμβολή στην ανάπτυξη της διαταραχής. Περαιτέρω στοιχεία για τη συμμετοχή των εμβρυϊκών γονιδίων προέρχονται από την παρατήρηση ότι ο κίνδυνος προεκλαμπτικής εγκυμοσύνης αυξάνεται όταν οι άνδρες που έγιναν πατέρες μετά από προεκλαμπτική εγκυμοσύνη με διαφορετικούς συντρόφους και μεταξύ ανδρών που γεννήθηκαν από προεκλαμπτική εγκυμοσύνη. Σε μια μελέτη κοορτής μεγάλης πληθυσμιακής κάλυψης στον Σουηδικό πληθυσμό, οι Cnattingius et al. επιβεβαίωσαν ότι η ευαισθησία στην προεκλαμψία εξαρτάται εξίσου από τις μητρικές γενετικές επιδράσεις και από τη συνδυασμένη επίδραση των εμβρυϊκών γενετικών παραγόντων και την επίδραση που προκαλείται από τους δύο γονείς. Σύμφωνα με την υπόθεση των γενετικών συγκρούσεων, τα γονίδια του εμβρύου (πατρικά) θα επιλεγούν για να αυξήσουν τη μεταφορά θρεπτικών ουσιών στο έμβryo ενώ τα μητρικά γονίδια θα επιλεγούν για να περιορίσουν τις μεταφορές που υπερβαίνουν ένα συγκεκριμένο

μητρικό βέλτιστο. Τα εμβρυϊκά γονίδια προβλέπεται να αυξήσουν την αρτηριακή πίεση της μητέρας προκειμένου να ενισχυθεί η ροή του αίματος στην μήτρα και τον πλακούντα, ενώ τα μητρικά γονίδια θα δράσουν με τον αντίθετο τρόπο. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στις προεκλαμπτικές μητέρες θα μπορούσε επομένως να ερμηνευθεί ως προσπάθεια εμβρύου για την αντιστάθμιση μιας ανεπαρκούς προσφοράς θρεπτικών συστατικών. Προφανώς, ο εμβρυϊκός γονότυπος αξίζει περισσότερης προσοχής από αυτής που δίνεται σε προηγούμενες μελέτες για τη γενετική της προεκλαμψίας. (Cnattingius et al., 2004)

#### 4.3. Υποψήφια γονίδια

Από τις μελέτες σχετικά με τη γενετική της προεκλαμψίας που έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα, είναι πιθανό ότι, εκτός από μεμονωμένες οικογένειες, κανένα γονίδιο δεν μπορεί να θεωρηθεί ότι φέρει αποκλειστικά την «ευθύνη» για την προεκλαμψία και τις παραλλαγές της. Έχουν αναφερθεί μελέτες περισσότερων από 50 υποψήφιων γονιδίων, αποδίδοντας ασυνεπή αποτελέσματα. Μεταξύ αυτών, το 70% της έρευνας που έχει γίνει επικεντρώνεται σε 8 γονίδια. Η γενετική προδιάθεση μπορεί να εμπλέκεται σε οποιαδήποτε από τις τρεις αιτιολογικές προσεγγίσεις της προεκλαμψίας: ανοσοκαταστολή, ισχαιμία του πλακούντα και οξειδωτικό στρες (Εικόνα 2). Όπως προτείνεται από τους Wilson et al., τα υποψήφια γονίδια μπορούν να υποδιαιρεθούν σε διαφορετικές ομάδες σύμφωνα με τον υποτιθέμενο ρόλο τους στην παθοφυσιολογία. (Mütze et al., 2008 & Wilson et al., 2003)



**Εικόνα 3:** Σχέδιο παθοφυσιολογικών σχετικών παραγόντων στην προεκλαμψία και τα αντίστοιχα υποψήφια γονίδια. (Μεταφρασμένο στα ελληνικά από: Mütze et al., 2008)

#### 4.3.1. Ομάδα I: Πρωτεΐνες που δρουν σε αγγεία / αγγειακή αναδιαμόρφωση

Λόγω του κεντρικού ρόλου του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης (RAS) στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, της αγγειακής αναδιαμόρφωσης και του όγκου των σωματικών υγρών κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, τα γονίδια που κωδικοποιούν τα συστατικά του RAS φαίνονται να είναι εύλογοι υποψήφιοι για συμμετοχή στην αιτιολογία της προεκλαμψίας. Η συσχέτιση μεταξύ της προεκλαμψίας και των κοινών πολυμορφισμών στα γονίδια που κωδικοποιούν το ένζυμο μετατροπής της αγγειοτενσίνης (Angiotensin Converting-Enzyme-ACE), το αγγειοτασινογόνο (Angiotensinogen-AGT) και τον υποδοχέα της αγγειοτενσίνης II τύπου 1 (Angiotensin II Receptor type 1-AT1R) έχουν διερευνηθεί σε πολλές μελέτες, αλλά απέδωσαν ασυνεπή αποτελέσματα (Πίνακας 3).

##### 4.3.1.1. Αγγειοτενσινογόνο (AGT)

Ο συνηθέστερος πολυμορφισμός στο γονίδιο AGT είναι ο πολυμορφισμός M235T στο εξόνιο 2, με αποτέλεσμα την υποκατάσταση των αμινοξέων της θρεονίνης με μεθειονίνη στη θέση 235. Το αλληλόμορφο 235T έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται με

μη φυσιολογική αναδιαμόρφωση των σπειροειδών αρτηριών στην μήτρα. Αυτό το αποτέλεσμα δεν μπορούσε να επιβεβαιωθεί από την πλειοψηφία των μετέπειτα μελετών. Οι Lévesque et al. βρήκαν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης προεκλαμψίας για το αλληλόμορφο M του λιγότερο κοινού AGT-T174M-πολυμορφισμού και για έναν συγκεκριμένο απλότυπο που περιλαμβάνει τον πολυμορφισμό T174M και τον M235T. (Lévesque et al., 2004 & Morgan et al., 1999)

#### *4.3.1.2. Ένζυμο μετατροπής της αγγιοτενσίνης (ACE)*

Ένας κοινός πολυμορφισμός εισαγωγής-εξάλειψης στο ιντρόνιο 16 του γονιδίου ACE (ACE-I / D) σχετίζεται με σημαντικές αλλαγές στην δραστηριότητα του ACE στο πλάσμα και στους ιστούς. Υποκείμενα ομόζυγα για το αλληλόμορφο διαγραφής (DD) έχουν τα υψηλότερα επίπεδα ACE. (Mütze et al., 2008)

#### *4.3.1.3. Υποδοχείς τύπου I αγγιοτενσίνης II (AT1R)*

Οι AT1R, οι οποίοι βρίσκονται στα αγγεία ανθεκτικότητας των πλακούντων σε τελειόμηνες εγκυμοσύνες και κατά πάσα πιθανότητα κωδικοποιούνται από εμβρυϊκά γονίδια, μπορούν να συμβάλλουν στη ρύθμιση της ροής αίματος του εμβρύου και έτσι να επηρεάσουν την αιμάτωση του πλακούντα. Επειδή οι AT1R συζευγμένοι με AGT είναι ισχυρά αγγειοσυσταλτικά, φαίνεται ότι η ρύθμιση των υποδοχέων αυτών στην προεκλαμψία είναι εύλογη. Ο Morgan et al. εξέτασαν τέσσερις πολυμορφισμούς στο γονίδιο AT1R (573C>T, 1062A>G, 1166A>C και μια δινουκλεοτιδική επανάληψη στην 3' πλευρική περιοχή). Πρότειναν μια συμβολή έκφρασης του εμβρυϊκού AT1R στην παθογένεση της προεκλαμψίας. Ο 1166A>C είναι ο συνηθέστερος πολυμορφισμός στο γονίδιο AT1R και έχει ερευνηθεί σε μια σειρά μελετών συσχέτισης στις προεκλαμψικές γυναίκες με ασυνεπή αποτελέσματα. (Μπάκα, 2018 & Morgan et al., 1998)

#### *4.3.1.4. Συνθετάση ενδοθηλιακού μονοξειδίου του αζώτου (endothelial Nitric Oxide Synthase-eNOS)*

Κατά τη διάρκεια της κανονικής εγκυμοσύνης αυξάνεται το μονοξείδιο του αζώτου (NO) στον ιστό του πλακούντα και συμβάλλοντας έτσι στην αγγειοδιαστολή, στην αγγειακή αναδιαμόρφωση και την αναστολή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, ενώ στους προεκλαμπτικούς πλακούντες, η δραστηριότητα NOS φαίνεται να μειώνεται, οδηγώντας στα αντίθετα αποτελέσματα. Οι Serrano et al. αναγνώρισαν ομοζυγωτία για το αλληλόμορφο D298 του πολυμορφισμού eNOS E298D και στον απλότυπο D298-786C-4b ως παράγοντες κινδύνου για την προεκλαμψία. Ο πολυμορφισμός eNOS E298D δεν φαίνεται να σχετίζεται με σημαντικά αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης προεκλαμψίας. Ωστόσο, έχει αναφερθεί ότι προεκλαμπτικές γυναίκες που φέρουν τον συγκεκριμένο πολυμορφισμό παρουσιάζουν υψηλότερο κίνδυνο αποκόλλησης των πλακούντων και επανεμφάνιση άλλων ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων στην εγκυμοσύνη. (Serrano et al., 2004)

#### *4.3.1.5. Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF)*

Μέχρι τώρα, μόνο δύο ομάδες μελέτης έχουν ασχοληθεί με το ρόλο των πολυμορφισμών στο γονίδιο VEGF στην προεκλαμψία. Οι Bányász et al. διαπίστωσαν ότι οι γυναίκες που έφεραν το αλληλόμορφο G του πολυμορφισμού VEGF 405G> C είχαν μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης σοβαρής προεκλαμψίας και ότι το αλληλόμορφο A του πολυμορφισμού VEGF-2578C>A συσχετίστηκε με επιταχυνόμενη εξέλιξη της νόσου. Οι Papazoglou et al. ανίχνευσαν σημαντική συσχέτιση με σοβαρή προεκλαμψία για τον πολυμορφισμό VEGF 936C> T αλλά όχι για τους άλλους πολυμορφισμούς που ερευνήθηκαν. Και οι δύο μελέτες διεξήχθησαν σε μικρά δείγματα και οι ενώσεις που ανιχνεύθηκαν ήταν σχετικές μόνο σε σοβαρή ασθένεια. Έτσι, οι πολυμορφισμοί VEGF που ερευνήθηκαν δεν φαίνονται να είναι σημαντικοί παράγοντες προδιάθεσης για την προεκλαμψία. (Bányász et al., 2006 & Papazoglou et al., 2004)

**Πίνακας 3:** Κοινοί πολυμορφισμοί σε γονίδια που δρούν σε αγγεία. (Mütze et al., 2008)

Γονίδιο	Πολυμορφισμός	Αριθμός μελετών που επιβεβαιώνουν	Αριθμός μελετών που δεν επιβεβαιώνουν
AGT	M235T	5	11
	T174M	1	1
ACE	Intron16 ins/del	4	9
AT1R	1166A>C	1	8
eNOS	E298D	4	12
VEGF	405G>C	1	0
	-2578C>A	0	2
	936C>T	1	0
	-634G>C	0	1

#### 4.3.2. Ομάδα II: Θρομβοφιλία

Τα έμφρακτα του πλακούντα και η θωράκιση είναι χαρακτηριστικές ιδιότητες της προεκλαμψίας. Ως εκ τούτου, οι μεταλλάξεις γονιδίων της θρομβοφιλίας έχουν προταθεί ως παράγοντες προδιάθεσης και έχουν διερευνηθεί σε μεγάλο αριθμό μελετών συσχετισμού.

##### 4.3.2.1. Παράγοντας V Leiden (Factor V Leiden-FVL), προθρομβίνη, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)

Έχουν ανακαλυφθεί τρεις σημαντικές κληρονομικές θρομβοφιλίες, οι οποίες είναι συχνά υπεύθυνες για θρομβοεμβολή σε ασθενείς χωρίς άλλο εμφανή παράγοντα κινδύνου για θρόμβωση: η μετάλλαξη FVL 1691G> A (R506Q) προκαλώντας αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (Activated Protein C Resistance-APCR), η μετάλλαξη προθρομβίνης 20210G> A οδηγώντας σε αυξημένες συγκεντρώσεις προθρομβίνης στο πλάσμα, και η μετάλλαξη MTHFR 677C> T οδηγώντας σε μειωμένη δραστηριότητα MTHFR με επακόλουθη υπερομοκυστεϊναιμία. Ωστόσο, δεν

υπάρχουν ενδείξεις για σημαντική επίδραση αυτών των πρωτεϊνών σε αυξημένο κίνδυνο προεκλαμψίας όπως υποδεικνύεται στον Πίνακα 4. (Mütze et al., 2008)

#### 4.3.2.2. Αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1 (PAI-1)

Ο PAI-1 είναι σημαντικός αναστολέας της ινωδόλυσης και οι μεταβολές στα επίπεδα του στο πλάσμα ή στη λειτουργία του PAI-1, βασισμένες σε γενετικές μεταβολές, μπορεί να εμπλέκονται στην παθογένεση αγγειακών παθήσεων συμπεριλαμβανομένων των υπερτασικών διαταραχών εγκυμοσύνης. Το αλληλόμορφο 4G του πολυμορφισμού διαγραφής/εισαγωγής PAI-1 4G/5G σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα πλάσματος PAI-1. Η πλειοψηφία των μετέπειτα μελετών δεν θα μπορούσε να αναπαράγει αυτά τα αποτελέσματα, όπως φαίνεται στον Πίνακα 4. (Glueck et al., 2001)

#### 4.3.2.3. b3 γλυκοπρωτεΐνη ιντεγκρίνης IIIa (Integrin Glycoprotein IIIa-GPIIIa).

Το γονίδιο GPIIIa κωδικοποιεί την υπομονάδα b3 της υποοικογένειας b3 της ιντεγκρίνης συμπεριλαμβανομένης της γλυκοπρωτεΐνης IIb / IIIa (GP IIb / IIIa) που υπάρχει μόνο στα αιμοπετάλια και τα μεγακαρυοκύτταρα και παίζει βασικό ρόλο στη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων. Επιπλέον, η β3 ιντεγκρίνη έχει εμπλακεί στην αποτυχία των κυτταροτροφοβλαστών να υιοθετήσουν έναν αγγειακό φαινότυπο στις προεκλαμπτικές εγκυμοσύνες. (O'Shaughnessy et al., 2001)

**Πίνακας 4:** Κοινοί πολυμορφισμοί για τα γονίδια της θρομβοφιλίας (Mütze et al., 2008)

Γονίδιο	Πολυμορφισμός	Αριθμός μελετών που επιβεβαιώνουν	Αριθμός μελετών που δεν επιβεβαιώνουν
Παράγοντας V Leiden	1691G>A	15	28
MTHFR	677C>T	8	34
Προθρομβίνη	20210G>A	3	22

PAI-1	-675 4G/5G del/ins	2	9
GPIIIa	98C>T	1	1

#### 4.3.3. Οξειδωτικό στρες, μεταβολισμός λιπιδίων, τραυματισμός του ενδοθηλίου

Το οξειδωτικό στρες του πλακούντα, που προκύπτει από μη φυσιολογικό πλακούντα και επακόλουθη βλάβη από ισχαιμία και επαναιμάτωση, αναφέρεται όλο και περισσότερο ότι παίζει κεντρικό ρόλο στην αιτιοπαθογένεια της προεκλαμψίας. Τα ελαττώματα στα γονίδια που εμπλέκονται στη δημιουργία αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species-ROS) μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μέσω υπεροξειδωσης λιπιδίων και ενεργοποίησης λευκοκυττάρων.

##### 4.3.3.1. Υδρολάση εποξειδίου (Epoxyde Hydrolase-EPHX)

Η μικροσωματική EPHX καταλύει κατά κύριο λόγο την υδρόλυση ορισμένων οξειδίων για να σχηματίσει λιγότερο τοξικά προϊόντα, αλλά ανάλογα με τον τύπο των υποστρωμάτων μπορεί επίσης να παράγει τοξικά ενδιάμεσα που θα μπορούσαν να συμβάλλουν στην ανάπτυξη της προεκλαμψίας. Δύο πολυμορφισμοί στο γονίδιο EPHX, Y113H στο εξόνιο 3 και H139R στο εξόνιο 4, σχετίζονται με μια μεταβολή στην ενεργότητα του ενζύμου. Για τον πολυμορφισμό H139R, δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των γυναικών που επλήγησαν από την προεκλαμψία με ή χωρίς σύνδρομο HELLP και τα άτομα-μάρτυρες, ενώ ο γονότυπος υψηλής δραστηριότητας στο εξόνιο 3 (ομόζυγο για το Y113) ήταν σημαντικά συχνότερος μεταξύ των περιπτώσεων προεκλαμψίας σε σύγκριση με τα άτομα-μάρτυρες. Επιπλέον, μια προβλεπόμενη υψηλή ενεργότητα EPHX, η οποία εκτιμήθηκε από τις δύο πολυμορφικές θέσεις μαζί, αποκαλύφθηκε ότι σχετίζεται με την προεκλαμψία. Η ανάλυση του απλότυπου σε μια φινλανδική μελέτη περιπτώσιολογικού ελέγχου έδειξε ότι ο υψηλός-δραστικός απλότυπος Y113-H139 αύξησε σημαντικά τον κίνδυνο για την προεκλαμψία. (Wilson et al., 2003 & Laasanen et al., 2002)



#### 4.3.3.2. S-τρανσφεράση γλουταθειόνης (Glutathione S-Transferase-GST)

Οι ανθρώπινες GST είναι απαραίτητες για την προστασία των κυττάρων από τις κυτταροτοξικές επιδράσεις ROS. Οι πλακουντιακές GST έχουν αναφερθεί ότι συμβάλλουν στην ικανότητα αποτοξίνωσης της μητέρας και του εμβρύου, ενώ το GSTP1 είναι το κύριο ισοένζυμο που υπάρχει σε πλακούντα, φθαρτό και υμένες. Η ομοζυγωτία για το αλληλόμορφο GSTP1b (σπάνιο αλληλόμορφο του πολυμορφισμού GSTP1 I105V) συσχετίστηκε σημαντικά με την προεκλαμψία στον πληθυσμό των Κάτω Χωρών. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές όσον αφορά την εμφάνιση του συνδρόμου HELLP ή σοβαρής προεκλαμψίας. Αυτά τα αποτελέσματα δεν επιβεβαιώθηκαν σε μελέτες σε άλλες εθνικές ομάδες (Πίνακας 5), αλλά μια ιαπωνική ομάδα απέδειξε ότι το αλληλόμορφο GSTP1b θα μπορούσε παρ'όλα αυτά να επηρεάσει τον κίνδυνο για υπερτασικές διαταραχές εγκυμοσύνης. (Ohta et al., 2003 & Zuterzeel et al., 2000)

#### 4.3.3.3. Λιποπρωτεϊνική λιπάση (Lipoprotein Lipase-LPL), απολιποπρωτεΐνη E (ApolipoproteinE-ApoE)

Καθώς η έντονη δυσλιπιδαιμία μπορεί να συμβάλει στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στην προεκλαμψία, έχουν προταθεί ως πιθανά υποψήφια για την προαγωγή αυτής της διαταραχής γονίδια που κωδικοποιούν δύο βασικούς ρυθμιστές του μεταβολισμού λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών, τα οποία είναι τα LPL και ApoE. Η LPL και η πρωτεΐνη ApoE εκφράζονται άφθονα στον πλακούντα. Περιγράφονται τέσσερις συνηθισμένοι πολυμορφισμοί στο γονίδιο LPL που οδηγούν σε ένα τροποποιημένο προφίλ λιπιδίων στο πλάσμα: N291S στο εξόνιο 6, D9N στο εξόνιο 2, -93T>G στην περιοχή του υποκινητή και Ser447X στο εξόνιο 9. Οι παραλλαγές N9 και -93G είναι σε ισχυρή έλλειψη ισορροπίας σύνδεσης και κληρονόμησε μαζί στα λευκά. Τόσο οι παραλλαγές S291 όσο και οι N9/93G σχετίζονται με χαμηλότερη δραστηριότητα LPL και αυξημένη δυσλιπιδαιμία και ως εκ τούτου θεωρούνται παράγοντες προδιάθεσης για την προεκλαμψία ενώ η παραλλαγή X447 έχει ως αποτέλεσμα υψηλότερες συγκεντρώσεις HDL και χαμηλότερες συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων και μπορεί να θεωρηθεί ως προστατευτική παραλλαγή. Από αυτούς

τους πολυμορφισμούς μόνο ο N291S φάνηκε να παίζει ρόλο στην εμφάνιση προεκλαμψίας. (Wilson et al., 2003)

Το γονίδιο ApoE έχει τρία κοινά αλληλόμορφα: το '2, το '3 και το '4, που οδηγεί στην πιο αποτελεσματική απορρόφηση της χοληστερόλης από το έντερο, που αποτελεί καθορισμένο παράγοντα κινδύνου για τη δυσλιπιδαιμία. Οι Nagy και συνεργάτες βρήκαν μια σημαντικά υψηλότερη συχνότητα του αλληλόμορφου '2 σε γυναίκες με σοβαρή προεκλαμψία σε σχέση με τις φυσιολογικές εγκύους ή μη εγκύους γυναίκες ελέγχου. Αυτό το αποτέλεσμα δεν επαναλήφθηκε σε μετέπειτα μελέτες οι οποίες επιπλέον δεν μπορούσαν να δείξουν καμία συσχέτιση με την προεκλαμψία. (Nagy et al., 1998)

**Πίνακας 5:** Πολυμορφισμοί στα γονίδια του οξειδωτικού στρες/μεταβολισμού των λιπιδίων. (Mütze et al., 2008)

Γονίδιο	Πολυμορφισμός	Αριθμός μελετών που επιβεβαιώνουν	Αριθμός μελετών που δεν επιβεβαιώνουν
EPHX	Exon3 Tyr113His	1	3
GST	GSTP1b Ile105Val	1	2
LPL	Exon 6 Asn291Ser	2	2
ApoE	ε2	1	5

#### 4.3.4. Ομάδα IV: Ανοσογενετική

Μία μη προσαρμογή μεταξύ μητέρας - εμβρύου (πατέρα) θεωρείται ότι εμπλέκεται κεντρικά στην παθογένεση της προεκλαμψίας και τα γονίδια που κωδικοποιούν τις διάφορες πτυχές του ανοσοποιητικού συστήματος, φαίνεται να είναι καλοί υποψήφιοι.

##### 4.3.4.1. Παράγοντας νέκρωσης όγκου άλφα (Tumor Necrosis Factor Alpha-TNFα)

Υπάρχουν στοιχεία ότι ο TNFα μπορεί να διαδραματίσει κάποιο ρόλο στην αιτιολογία της προεκλαμψίας. Αυξημένα επίπεδα του TNFα και του υποδοχέα TNF στο

πλάσμα έχουν βρεθεί σε προεκλαμπτικές γυναίκες και θεωρείται ότι προάγουν την απελευθέρωση θρομβοξάνης και τον ενδοθηλιακό τραυματισμό μέσω της επαγωγής οξειδωτικού στρες. Επιπλέον, ο TNFα φαίνεται να εμπλέκεται στην πλακουντοποίηση και την πρόωμη ανάπτυξη του εμβρύου. Το γονίδιο TNFα βρίσκεται στην χρωμοσωμική περιοχή 6p21.1-21.3, δίπλα στο κύριο σύμπλοκο ιστοσυμβατότητας. Ένας μοναδικός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός (-308G>A) στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου TNFα παράγει δύο αλληλόμορφα (TNF1 και TNF2), εκ των οποίων το αλληλόμορφο TNF2 έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με υψηλότερα επίπεδα TNFα και αυξημένο κίνδυνο για διαβήτη τύπου 2, στεφανιαία νόσο και δυσλιπιδαιμία. Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει την επίδραση αυτού και άλλων πολυμορφισμών του υποκινητή TNFα στην προεκλαμψία, αποδίδοντας ασυνεπή αποτελέσματα. (Wilson et al., 2003)

#### *4.3.4.2. Ιντερλευκίνη-1 και -10 (IL-1, IL-10)*

Η IL-1b είναι μια κυτοκίνη η οποία παράγεται από μακροφάγα, μονοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα και αρχίζει έναν προφλεγμονώδη καταρράκτη με την παραγωγή TNFα, ιντερφερόνης γ (IFNγ) και IL-12. Η δραστηριότητα IL-1b ρυθμίζεται από έναν ενδογενή ανταγωνιστικό αναστολέα, τον ανταγωνιστή υποδοχέα IL-1 (IL-1RA) για τον οποίο έχει περιγραφεί μια σύνδεση με επαναλαμβανόμενες αυθόρμητες αποβολές και πρόωρο τοκετό. Τα γονίδια που κωδικοποιούν IL-1b και IL-1RA εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 2q12-q14 και οι πολυμορφισμοί και στα δύο γονίδια έχουν δείχθει ότι μεταβάλλουν την πρωτεϊνική έκφραση. Η έλλειψη συσχέτισης των τριών πολυμορφισμών στο γονίδιο IL-1b και στο γονίδιο IL-1RA με προεκλαμψία έχει υπογραμμιστεί από μετέπειτα μελέτες. Μέχρι στιγμής, μόνο μία ομάδα μελέτης εξέτασε το ρόλο των πολυμορφισμών στο γονίδιο που κωδικοποιεί την IL-1a, μια άλλη κυτοκίνη που επάγει την φλεγμονή. Σε αντίθεση με την IL-1a, η σχέση μεταξύ πολυμορφισμών στο γονίδιο IL-10 και του κινδύνου προεκλαμψίας έχει διερευνηθεί σε αρκετές μελέτες. Η IL-10 δρα με αντιφλεγμονώδη τρόπο και η μειωμένη έκφραση του mRNA του γονιδίου της, έχει περιγραφεί σε προεκλαμπτικούς πλακούντες. Ο γονότυπος -2849G> A μειώνει την παραγωγή IL-10 σε γυναίκες με προεκλαμψία σε σύγκριση με τις γυναίκες-μάρτυρες και δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές για τους άλλους πολυμορφισμούς του υποκινητή του γονιδίου IL-10. Τα αποτελέσματα για

τον πολυμορφισμό -1082G>A παραμένουν αμφιλεγόμενα. (Witkin et al., 2002 & Daher et al., 2006)

#### 4.3.4.3. Υποδοχέας CD14, CTLA-4 και TLR-4

Μια μόνο μελέτη αφορά τον πολυμορφισμό στον υποκινητή του γονιδίου του υποδοχέα CD14 των μονοκυττάρων (-260C> T) και κατέδειξε σημαντικά υψηλότερη συχνότητα του ομόζυγου γονότυπου TT σε προεκλαμπτικά άτομα σε σύγκριση με τους μάρτυρες, αλλά το μέγεθος του δείγματος ήταν αρκετά μικρό (36 περιπτώσεις και 52 άτομα-μάρτυρες). Παρομοίως, το γονίδιο του αντιγόνου-4 των κυτταροτοξικών Τ-λεμφοκυττάρων (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4-CTLA-4) έχει ερευνηθεί σε δύο μελέτες. Όσον αφορά στο γονίδιο TLR-4, διαφαίνεται μία τάση συσχέτισης των δύο πολυμορφισμών (Asp299Gly και Thr399Ile) με την εμφάνιση πρώιμης προεκλαμψίας. Οι TLRs θεωρούνται η πιο σημαντική τάξη υποδοχέων αναγνώρισης μοριακών προτύπων, που συμμετέχουν στη άμυνα του ξενιστή ενάντια σε ένα εύρος παθογόνων επάγοντας και ρυθμίζοντας το σύστημα φυσικής ανοσίας και πλέον η άποψη ότι το σύστημα ανοσίας της μητέρας κατέχει κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη σοβαρών υπερτασικών διαταραχών της κύησης, έχει πολλούς υποστηρικτές (Φεγγά, 2016, Mütze et al., 2008 & Lim et al., 2006).

**Πίνακας 6:** Πολυμορφισμοί που εμπλέκονται στην φλεγμονή και την ανοσοβιολογική απόκριση. (Mütze et al., 2008)

Γονίδιο	Πολυμορφισμός	Αριθμός μελετών που επιβεβαιώνουν	Αριθμός μελετών που δεν επιβεβαιώνουν
TNFα	-308G>A	2	8
	-850C>T	1	0
	-4845T>G	1	0
IL-1 <sup>α</sup>	-889T>C	1	0
	rs3783550	1	0
IL-1RA	IL-1RA	1	2
IL-10	-1082G>A	2	2
	-2849G>A	1	2

Υποδοχέας CD14	-260C>T	1	0
CTLA-4	49G>A	1	0
TLR-4	Asp299Gln	3	2
	Thr399Ile	1	0

## 5. Ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων

Την τελευταία δεκαετία οι γενετικές μελέτες έχουν εστιάσει στη μελέτη μη κωδικοποιητικών RNA, γενετικό υλικό που μέχρι πρόσφατα θεωρούνταν παραπροϊόν της μεταγραφής και φαίνεται να παίζει έμμεσο ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Τα μη κωδικοποιητικά RNA (noncoding RNA-ncRNA) μπορούν να ταξινομηθούν με βάση το μήκος τους. Υπάρχουν μικρά αντίγραφα που έχουν μήκος μικρότερο από 200 νουκλεοτίδια και περιλαμβάνουν τα microRNA (miRNA) και τα κυκλικά RNA (circRNAs). Τα μακρά ncRNA (lncRNA), από την άλλη πλευρά, έχουν μήκος μεγαλύτερο από 200 νουκλεοτίδια. Ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών έχει δείξει ότι μια ποικιλία από ncRNA συσχετίζονται με την ανάπτυξη και εξέλιξη ασθενειών που σχετίζονται με την εγκυμοσύνη.

### 5.1. Κυκλικά RNA (circRNA)

Το κυκλικό RNA είναι ένα καλά αναγνωρισμένο, συχνά εντοπιζόμενο μόριο ncRNA που χαρακτηρίζεται από μια κυκλική ομοιοπολικά κλειστή δομή. Έχει βρεθεί ότι τα κυκλικά RNA παίζουν σημαντικό ρόλο τόσο στην κανονική βιολογική λειτουργία όσο και στην εμφάνιση ορισμένων ασθενειών. Οι ερευνητές έχουν εντοπίσει μια σειρά διαφορετικά εκφρασμένων circRNA που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για τη διάγνωση ορισμένων ασθενειών, όπως όγκοι, νευροεκφυλιστικές διαταραχές, καρδιαγγειακές παθήσεις και τραυματισμοί. Προς το παρόν γίνονται προσπάθειες να αναγνωριστεί ο ρόλος τους στην ανάπτυξη προεκλαμψίας.

### 5.1.1. Βιογένεση των circRNA

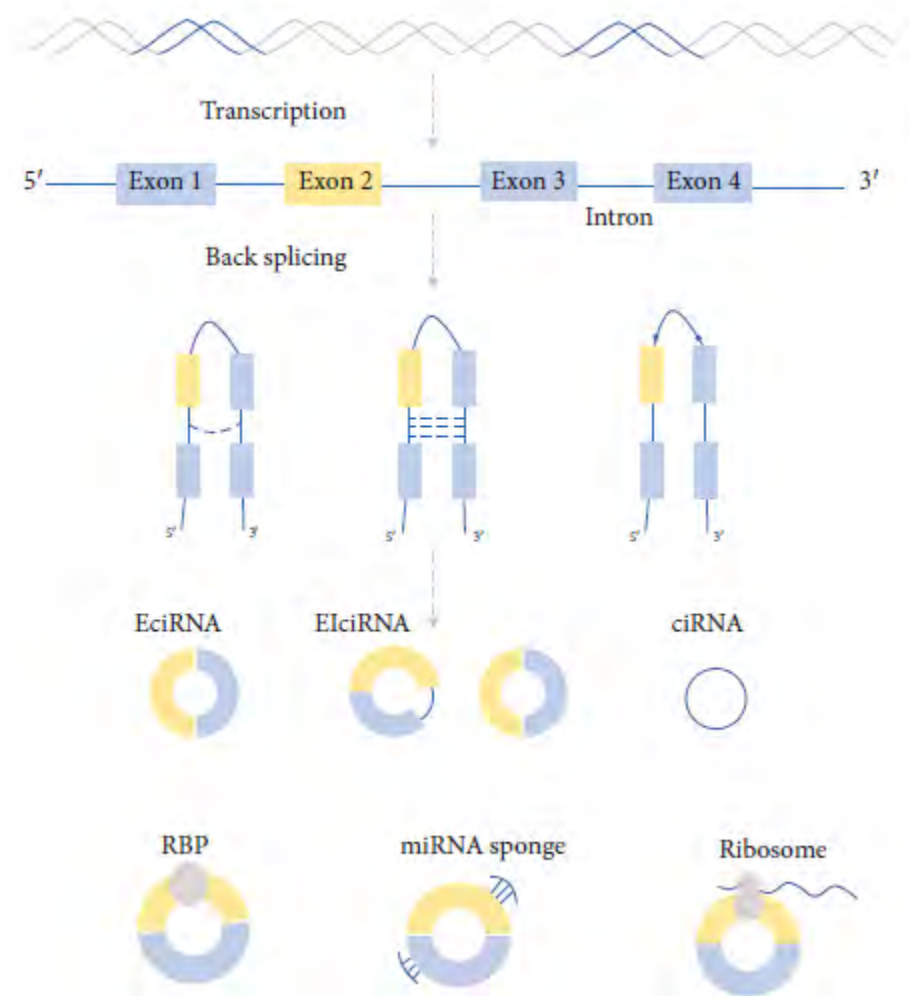
Καθώς τα circRNA δεν έχουν πολικότητα 5' έως 3' ή πολυαδενυλιωμένες ουρές, μπορούν να αποφεύγουν την αποικοδόμηση με RNάσες και να εκφράζονται σταθερά. Η αναδίπλωση των εξωνίων και / ή των εσωνίων οδηγεί στον σχηματισμό κυκλικών εξωνικών circRNA (EcircRNA), κυκλικών ιντρονικών RNA (ciRNA) και των circRNAs εξωνίου-εσωνίου (EcicRNA). Αυτά τα RNA με κυκλικές δομές ονομάζονται circRNA. Έχουν προταθεί δύο μοντέλα κυκλισμού εξωνίων, δηλαδή «κυκλισμός με κατεύθυνση λωρίδας» και «κυκλισμός με οδηγό ζεύξης ιντρονίου». Το πρώτο μοντέλο καταλήγει σε ομοιοπολική σύνδεση από το 3' άκρο του δότη ματίσματος στο 5' άκρο του δέκτη ματίσματος, που οδηγεί σε μια δομή που περιέχει εξόνιο. Αφού απομακρυνθούν τα ιντρόνια, η λωρίδα σχηματίζεται ως ένας εξωνικός κύκλος. Το δεύτερο μοντέλο βασίζεται στο ζεύγος συμπληρωματικών μοτίβων στις μεταγραφές. Όταν δεν ορίζεται, ο όρος "circRNA" συνήθως αναφέρεται στα circRNA που προέρχονται από τα εξώνια, λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι άλλοι τύποι circRNA αντιπροσωπεύουν σχετικά μικρές αναλογίες. Ο μηχανισμός του σχηματισμού είναι αρκετά διαφορετικός για το εσωνικό circRNA και το εξωνικό circRNA. Η σύνθεση του εσωνικού circRNA βασίζεται στις πλούσιες σε GU αλληλουχίες δίπλα στη θέση σύζευξης 5' και στις πλούσιες αλληλουχίες C κοντά στο σημείο διακλάδωσης. Τα δύο τμήματα δεσμεύονται σε έναν κύκλο και, στη συνέχεια, ο σύνδεσμος συγκόλλησης κόβει τις εξωνικές αλληλουχίες και τις ακολουθίες εσωνίων στο τμήμα δέσμευσης. Τα υπόλοιπα εσώνια συνδέονται τελικά μαζί για να σχηματίσουν ώριμα ciRNA. (Zhang et al., 2013 & Li et al., 2015)

Τα ncRNA, συμπεριλαμβανομένων των circRNA, μπορούν να προστατευθούν και να μεταφερθούν από εξωκυτταρικά κυστίδια (Extracellular Vesicles-EV). Τα circRNA εξαλείφονται επίσης από τα κύτταρα στον εξωκυτταρικό χώρο μέσω των EV. Επιπλέον, τα απελευθερωμένα EV μπορούν να ληφθούν από άλλα κύτταρα, υποδεικνύοντας ότι τα απελευθερούμενα circRNA θα μπορούσαν να συμβάλλουν στην επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων όταν λαμβάνονται από τα EV. Η συγκέντρωση των EV στο μητρικό πλάσμα αυξάνεται με την πρόοδο της κύησης. Τα EV που σχετίζονται με την εγκυμοσύνη περιέχουν δείκτες πρωτεΐνης, mRNA και miRNA με ποικίλες βιολογικές λειτουργίες. Μελέτες αποδεικνύουν ότι τα εξωσώματα που περιέχουν miR-526b-2p μπορούν να οδηγήσουν σε προεκλαμψία μέσω καθοδικής ρύθμισης των HIF-

1α και MMP-1. Η αλληλεπίδραση διαφόρων ειδών κυττάρων στη διεπαφή μητέρας-εμβρύου μέσω EV μπορεί να μας βοηθήσει να κατανοήσουμε τους φυσιολογικούς και παθολογικούς μηχανισμούς της εγκυμοσύνης. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για να αποσαφηνιστεί ο ρόλος των circRNA και των EV στην προεκλαμψία. (Adam et al., 2017 & Jia and Li, 2019)

### 5.1.2. Λειτουργίες των circRNA

Η βιολογική λειτουργία των circRNA έχει αναγνωριστεί σταδιακά. Ωστόσο, η κατανόησή μας για τις λειτουργίες τους εξακολουθεί να είναι μάλλον περιορισμένη σε σύγκριση με αυτή των miRNA και των lncRNA. Η πλειοψηφία των circRNA αποτελείται από EcircRNA. Τα EcircRNA μπορούν να λειτουργήσουν ως σφουγγάρια miRNA με τη φιλοξενία στοιχείων απόκρισης miRNA (miRNA Response Elements-MRE). Ο πυρήνας είναι πλούσιος σε ciRNA και EcicRNA, τα οποία μπορεί να ρυθμίζουν τη μεταγραφή γονιδίων και την μετα-μεταγραφική επεξεργασία. Οι γνωστές πιθανές λειτουργίες των circRNA περιλαμβάνουν το να ενεργούν ως σφουγγάρια miRNA ή να ανταγωνίζονται με το ενδογενές RNA (ceRNA), να αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες δέσμησης RNA (RNA-binding proteins-RBP) και να ρυθμίζουν τη μεταγραφή γονιδίων και την μετάφραση mRNA (Εικόνα 1). ( Zhang et al., 2013 & Li et al., 2015)



**Εικόνα 4:** Τα circRNA δημιουργούνται από back-μάτισμα εξονίων, εσώνίων ή και των δύο, για να σχηματίσουν κυκλικά εξωνικά circRNA (EcircRNA), κυκλικά ιντρονικά RNA (ciRNA) και εξώνιο-εσώνιο circRNA (ElciRNA). Οι λειτουργίες των circRNA συμπεριλαμβάνουν σφουγγάρια microRNA (miRNA) ή ανταγωνιστικό ενδογενές RNA, που αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες που δεσμεύονται με RNA (RBP) και ρυθμίζουν μεταγραφή γονιδίων και μετάφραση mRNA. (Jia and Li, 2019)

### 5.1.3. Τα circRNA λειτουργούν ως σφουγγάρια miRNA ή ανταγωνιστές του ενδογενούς RNA

Τα miRNA, τα οποία είναι ncRNA των 18-25 νουκλεοτιδίων, είναι κρίσιμοι μετα-μεταγραφικοί ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης. Τα miRNA φορτώνονται στο σύμπλοκο σίγασης που προκαλείται από RNA (RNA-induced silencing complex-RISC) το οποίο προσλαμβάνει το mRNA στόχο και αρχίζει είτε την αναστολή της μετάφρασης είτε την αποικοδόμηση του mRNA. Τα τελευταία χρόνια, ένας αυξανόμενος αριθμός αναφορών έχει διαπιστώσει ότι το circRNA διαδραματίζει



ζωτικό ρόλο στο δίκτυο του ceRNA. Άλλα RNA με θέσεις στόχο miRNA μπορούν να δεσμεύσουν miRNA και έτσι να ανταγωνίζονται με τα mRNA. Τα circRNA έχουν πολλαπλές MRE που τους επιτρέπουν να ανταγωνίζονται τους κανονικούς στόχους miRNA, με αποτέλεσμα την εξασθένιση των ανασταλτικών επιδράσεων του miRNA στην έκφραση των γονιδίων στόχων. Έτσι, το circRNA μπορεί να παίζει ένα ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης στο μεταγραφικό επίπεδο. (Bartel, 2009)

Το μεταγράφημα πρωτεΐνης 1 σχετιζόμενο με τον εκφυλισμό της παρεγκεφαλίδας (CDR1as), το οποίο αναφέρθηκε για πρώτη φορά ως σφουγγάρι miRNA, έχει 63 θέσεις δέσμευσης για το miR-7. Η υψηλή έκφραση του CDR1as είχε ως αποτέλεσμα την καθοδική ρύθμιση του miR-7, οδηγώντας σε εξασθένιση της ανάπτυξης του μεσεγκεφάλου κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης και μείωση του μεγέθους του μεσαίου εγκεφάλου σε zebrafish. Η θετική ρύθμιση του miR-7 σε κύτταρα νησιδίων ποντικού συνεισέφερε στην έκφραση ινσουλίνης. το circRNA8073 μπορεί να δράσει ως ένα ceRNA για την απομόνωση του miR-181a για την προστασία των μεταγραφών της νευροστενίνης από την επαγόμενη από miR-181a καταστολή στα επιθηλιακά κύτταρα του ενδομητρίου. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι το φαινόμενο του «σφουγγαριού» miRNA του circRNA μπορεί να είναι ένα γενικό φαινόμενο. Οι έρευνες για τα circRNA μας παρέχουν νέες γνώσεις για να κατανοήσουμε την αιτιοπαθογένεση των επιπλοκών της εγκυμοσύνης καθώς και νέους πιθανούς στόχους για τη θεραπεία. (Hansen et al., 2013)

#### 5.1.4. Αλληλεπίδραση των circRNA με RBP

Εκτός από την αλληλεπίδραση με miRNA, τα circRNA μπορούν επίσης να ρυθμίσουν την έκφραση γονιδίων και την πρωτεϊνική μετάφραση μέσω αλληλεπίδρασης με RBP, όπως η RNA πολυμεράση II (RNA Pol II), πρωτεΐνες Argonaute (AGO), η Muscle Blind πρωτεΐνη (MBL) και η quaking I (QKI), οι οποίες είναι γνωστό ότι εμπλέκονται στην επεξεργασία του RNA και στο εναλλακτικό μάτισμα. Η βιογένεση των circRNA μπορεί να μεσολαβείται από πλευρικά μεγάλα ιντρόνια και συμπληρωματικές αλληλουχίες ιντρονίου. Τα RBP όπως η QKI και η MBL έχουν συσχετιστεί με τη βιογένεση ορισμένων circRNA. Τα circRNA μπορούν να δημιουργηθούν με συν-μεταγραφικό ή μετα-μεταγραφικό τρόπο. Μαζί με τη δέσμευση σε μεμονωμένα RBP, τα circRNA μπορούν επίσης να δεσμεύσουν πολλαπλές RBP και να σχηματίσουν μεγάλα συμπλέγματα πρωτεϊνών μέσω σταθερών

αλληλεπιδράσεων. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των circRNA και των RBP μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μια επίδραση παρόμοια με εκείνη του «σφουγγαριού» miRNA, οδηγώντας σε εξάντληση των RBP, μειώνοντας έτσι την αλληλεπίδραση τους με στόχους RNA. Για παράδειγμα, η αλληλεπίδραση μεταξύ MBL και circMBL συμβάλλει στη ρύθμιση των επιπέδων της πρωτεΐνης MBL. Υπάρχουν επίσης στοιχεία που δείχνουν ότι το QKI5 συμβάλλει στην κυκλοποίηση ορισμένων εξονίων. Έτσι, το circRNA μπορεί να έχει την ικανότητα να ρυθμίζει τις πρωτεϊνικές λειτουργίες και τις αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης. (Du et al., 2017 & Ashwal-Fluss et al., 2014)

#### 5.1.5. Ο ρόλος των circRNA στην προεκλαμψία

Μετά την 20<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης, οι γυναίκες με πίεση αίματος υψηλότερη από 140/90 mmHg και πρωτεϊνουρία διαγιγνώσκονται με προεκλαμψία, μια κοινή υπερτασική διαταραχή της εγκυμοσύνης που επηρεάζει το 3-8% των κυήσεων παγκοσμίως. Αν και οι ακριβείς παθολογικοί μηχανισμοί της προεκλαμψίας παραμένουν άγνωστοι, πιστεύεται γενικά ότι η δυσλειτουργία του πλακούντα προκαλεί αυτή τη διαταραχή εγκυμοσύνης. Οι ανωμαλίες του πλακούντα, όπως η ανώμαλη διεισδυση, οι διαταραχές των αγγείων, οι δομικές αλλαγές, η ασβεστοποίηση, η οξειδωτική βλάβη και η ανταπόκριση στη φλεγμονή παρατηρούνται στην προεκλαμψία. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα μη ρυθμισμένα ncRNA στη διεπαφή μητέρας-εμβρύου συμμετέχουν στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού, της διεσδυσης και της απόπτωσης των τροφοβλαστών, προωθώντας έτσι την παθογένεση της προεκλαμψίας. Έτσι, έρευνα εστιάστηκε σε σταθερά ncRNA, τα οποία έχουν τη δυνατότητα να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτες και / ή μπορεί να βοηθήσουν στην αποσαφήνιση της παθογένεσης της προεκλαμψίας. (Song et al., 2017)

Οι δυνητικοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της προεκλαμψίας μπορεί να εμπλέκουν τα circRNA. Το si-circ\_3286 ανέστειλε την εισβολή στα κύτταρα HTR8 / Svyneo. Είναι γνωστό ότι οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις πρωτεΐνης πλάσματος Α (pregnancy-associated plasma protein A-PAPP-A) που συνδέονται με την εγκυμοσύνη συνδέθηκαν με την ανάπτυξη της προεκλαμψίας. Το circRNA\_3286 επικαλύπτεται στο γονίδιο PAPP-A, υποδηλώνοντας ότι αυτό το circRNA μπορεί να σχετίζεται με την παθογένεση της προεκλαμψίας. Ωστόσο, αυτά τα ευρήματα δεν έχουν επιβεβαιωθεί in

vino. Μια άλλη μελέτη αποκάλυψε ότι το circRNA\_0001855 και το circRNA\_0004904 επηρέασαν τη μεταγραφή του RNA της PAPP-A δια ανταγωνισμού με κοινά microRNA. Με αυτόν τον τρόπο, αποκαλύφθηκε η σχέση μεταξύ ncRNA και παθογένειας της προεκλαμψίας. Ωστόσο, εξαιτίας του περιορισμένου αριθμού ερευνών και της έλλειψης in vivo έρευνας, ο ρόλος των circRNA στην εμφάνιση της προεκλαμψίας παραμένει άγνωστος. (Qian et al., 2016)

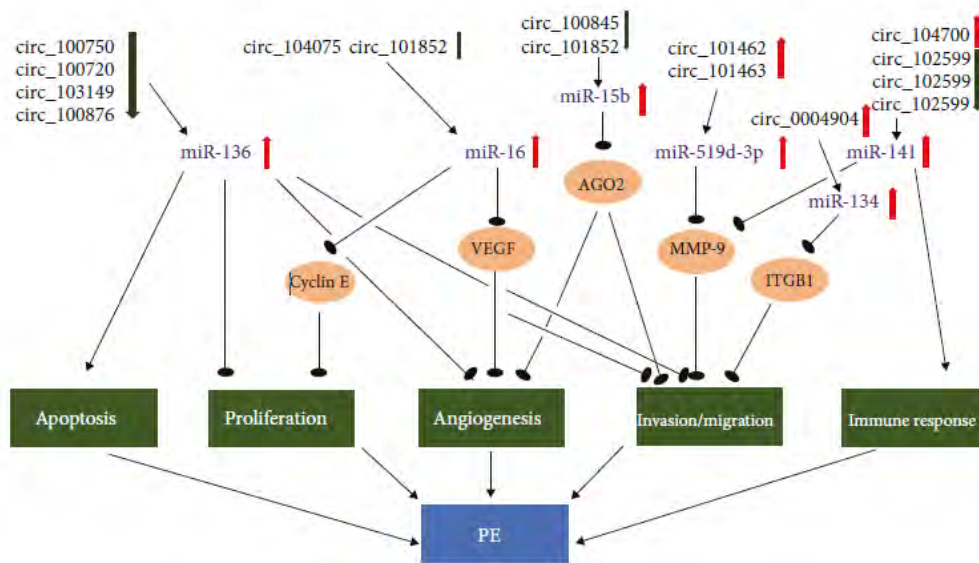
Υπάρχουν διαφορετικά εκφρασμένα circRNA στη διεπαφή μητέρας-εμβρύου και στην κυκλοφορία σε ασθενείς με προεκλαμψία σε σύγκριση με εκείνες που παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια της κανονικής κύησης (Πίνακας 1). Η ανώμαλη έκφραση των circRNA σχετίζεται με επιπλοκές σχετιζόμενες με την εγκυμοσύνη και παθολογικά χαρακτηριστικά. Τα θετικά και αρνητικά ρυθμισμένα circRNA έχουν αναλυθεί με εργαλεία βιοπληροφορικής και έχουν επικυρωθεί από σχετικά πειράματα. (Zhou et al., 2018)

**Πίνακας 7:** Προφίλ έκφρασης circRNA σε γυναίκες με προεκλαμψία. (Jia N., 2019)

Δείγμα	Μέθοδος	Αριθμός θετικά ρυθμισμένων circRNA	Αριθμός αρνητικά ρυθμισμένων circRNA
Πλακούντας	RNA-seq & qRT-PCR	2	47
Αίμα (ολικό)	Microarray & qRT-PCR	1294	884
Πλακούντας	Microarray & qRT-PCR	143	158
Αίμα (ολικό)	Microarray & qRT-PCR	4569	3984

Παρόλο που υπάρχουν ελάχιστες ενδείξεις για μια άμεση σχέση μεταξύ των circRNA και της προεκλαμψίας, ο συσχετισμός μεταξύ miRNA και προεκλαμψίας έχει καθιερωθεί ευρέως. Αναφέρεται ότι η προεκλαμψία που απαιτεί τερματισμό κύησης πριν από τις 34 εβδομάδες σχετίζεται με την κακή ρύθμιση του miR-26a-5p. Τα προφίλ έκφρασης circRNA έδειξαν ότι η σχετική με miR-26a-5p circ\_104823, circ\_104824 και circ\_104819 δεν ρυθμίστηκαν σε περιπτώσεις με προεκλαμψία. Το miR-134 ρυθμίζεται σημαντικά στην προεκλαμψία και συσχετίζεται αρνητικά με την έκφραση του ITGB1. Το miR-134 καταστέλλει τη διείσδυση των κυττάρων τροφοβλάστης με

στόχευση του ITGB1, ενώ τα σχετικά circRNA μπορούν να ρυθμίσουν το PAPP-A ανταγωνιζόμενα το κοινό miR-134. Υποστηρίχθηκε ότι το miR-16 ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων που προέρχονται από τον φθαρτό (mesenchymal stem cells-MSCs) επηρεάζοντας την έκφραση του VEGF. Το υπερεκφραζόμενο miR-16 προκαλεί επίσης διακοπή κυτταρικού κύκλου με στόχευση της κυκλίνης E1. Το επίπεδο έκφρασης του miR-16 συσχετίστηκε αρνητικά με την κυκλίνη E1 και το VEGF-A σε MSC που προέρχονται από το φθαρτό στην προεκλαμψία. Το miR-136 αυξάνει σημαντικά την απόπτωση και αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των MSC. Θα μπορούσε επίσης να αναστείλει την αγγειογένεση και την εισβολή των τροφοβλαστών. Τα circRNA που συσχετίζονται με τα miR-16 και miR-136 είναι ρυθμισμένα αρνητικά στην προεκλαμψία, υποδεικνύοντας τη δυνητική λειτουργία του «σφουγγαριού» microRNA. Η έκφραση του miR-141 ήταν αυξημένη στον πλακούντα σε ασθενείς με προεκλαμψία. Έχει αποκαλυφθεί ότι το miR-141 συμβάλλει στην κύρια λειτουργία των τροφοβλαστών και των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Η διείσδυση κυττάρων τροφοβλάστης και ο σχηματισμός ενδοθηλιακού κυτταρικού σωλήνα αναστέλλεται από το miR-15b μέσω της μείωσης της έκφρασης της AGO2. Η έκφραση του miR-519d-3p ήταν υψηλότερη στον πλακούντα από ασθενείς με προεκλαμψία σε σύγκριση με εκείνη από φυσιολογικές εγκυμοσύνες. Η αυξημένη ρύθμιση miR-519d-3p μπορεί να αναστείλει την έκφραση της MMP-9, η οποία επηρεάζει τη μετανάστευση και την εισβολή των τροφοβλαστικών κυττάρων. Τα circRNA που σχετίζονται με αυτά τα miRNA έχουν βρεθεί ότι δεν ρυθμίζονται στην προεκλαμψία. Λόγω του περιορισμένου αριθμού των μελετών για το circRNA, συσχετίζουμε τα προφίλ έκφρασης των circRNA με τα miRNA (Εικόνα 2). Τα παραδείγματα που αναφέρθηκαν παραπάνω βασίζονται στην υπόθεση ότι τα circRNA δρουν ως «σφουγγάρια» miRNA ή ceRNA. Απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση για να επιβεβαιωθεί η σχέση μεταξύ των circRNAs και των miRNAs και των ρόλων τους στην παθογένεση της προεκλαμψίας. (Jia and Li, 2019)



**Εικόνα 5:** Τα circRNAs στη μητρική διεπαφή που συμμετέχουν στη δυνητική παθογένεση της προεκλαμψίας ως σφουγγάρι miRNA. (Από: Jia and Li, 2019)

#### 5.1.6. Διαγνωστική ικανότητα των circRNA στην προεκλαμψία

Η πρόβλεψη και η πρόληψη έχουν μεγάλη σημασία για τις έγκυες γυναίκες πριν από την έναρξη των επιπλοκών της εγκυμοσύνης. Σε σύγκριση με το γραμμικό RNA, τα circRNA είναι πιο σταθερά και διατηρούνται σε μεγάλο βαθμό σε διάφορους οργανισμούς. Επιπλέον, είναι εξειδικευμένα ως προς τον ιστό καθώς και ως προς την ανάπτυξη. Μέσω των EV, τα circRNA μπορούν να απελευθερωθούν στο εξωτερικό των κυττάρων. Δεδομένου ότι τα EV υπάρχουν στα σωματικά υγρά, η ανάλυση των circRNA σε EV παρέχει μια εφικτή μη επεμβατική διαγνωστική προσέγγιση. Η δομή των circRNA τους βοηθά να ξεφύγουν από τον εκφυλισμό τους, επιτρέποντας έτσι μια σταθερή έκφραση. Αυτό το γεγονός τα καθιστά κατάλληλα να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες, σε σύγκριση με άλλα ncRNA. Έτσι, διαφορετικά εκφρασμένα circRNAs μπορεί να είναι χρήσιμα ως μη επεμβατικοί διαγνωστικοί δείκτες για την προεκλαμψία (Petkovic and Muller, 2015)

Επιπλέον, η έρευνα δείχνει ότι τα circRNA θα μπορούσαν πράγματι να χρησιμεύσουν ως δυνητικοί βιοδείκτες για την προεκλαμψία. Η απεικόνιση της έκφρασης circRNA σε ασθενείς με προεκλαμψία πριν από την εμφάνιση των συμπτωμάτων. Η μελέτη διαπίστωσε ότι το circ\_0004904 και το circ\_0001855 σε

συνδυασμό με το PAPP-A θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως βιοδείκτες για την ανίχνευση προεκλαμψίας. Μια άλλη μελέτη πρότεινε ότι το circ\_0036877 θα μπορούσε να λειτουργήσει ως ceRNA και να χρησιμεύσει ως πιθανός βιοδείκτης για την πρόωμη έναρξη της προεκλαμψίας. Το επίπεδο του circ\_101222 ήταν σημαντικά υψηλότερο στους αιμοποιητικούς ιστούς των ασθενών με προεκλαμψία από ότι σε υγιείς γυναίκες. Επιπλέον, ο συνδυασμός του circ\_101222 και του παράγοντα πρωτεΐνης πλάσματος μπορεί να ενισχύσει την αποτελεσματικότητα της διαλογής. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι τα circRNA μπορεί να έχουν κάποια προκαθορισμένη τιμή στην προεκλαμψία. (Jia and Li, 2019)

Δεδομένου ότι τα circRNA προσελκύουν την προσοχή, οι μελλοντικές μελέτες με μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος, ανεξάρτητες κλινικές επικύρωσης ή ανάλυση συσχέτισης με τα χαρακτηριστικά της νόσου θα μας βοηθήσουν να επικυρώσουμε την αποτελεσματικότητα των circRNA ως βιοδείκτες για την προεκλαμψία. Εκτός από τη διαγνωστική τους ικανότητα, τα ncRNA θα μπορούσαν ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία της προεκλαμψίας στο μέλλον. Η αποβολή των ncRNA από τα πρωτογενή κύτταρα στην κυκλοφορία μπορεί να εμπλέκεται στην επικοινωνία μεταξύ κυττάρων ολόκληρου του σώματος. Επομένως, η στόχευση ενός απλού ncRNA έχει τη δυνατότητα να επηρεάσει πολλαπλές πορείες αρνητικά. Πρόσφατα, έχουν αναπτυχθεί αρκετές διαφορετικές μέθοδοι για την εξομάλυνση των lncRNA στον καρκίνο. Ωστόσο, η στόχευση πολλαπλών οδών μπορεί να οδηγήσει σε μερικές παρενέργειες. Επομένως, οι λειτουργίες των ncRNA θα πρέπει να χαρακτηριστούν πλήρως πριν από την εφαρμογή τους ως θεραπευτικοί στόχοι. (Jia and Li, 2019)

## 5.2. Μικρό RNA (miRNA)

Παρόλο που θεωρούνταν ένα άχρηστο μέρος του γονιδιώματος μόλις πριν από δύο δεκαετίες, τα miRNA είναι σήμερα ένας παγιωμένος ρυθμιστικός μηχανισμός που παρεμβαίνει σε σχεδόν κάθε κυτταρική λειτουργία μέσω της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Τα miRNA είναι μικρά μη κωδικοποιητικά RNA μήκους 18-22 νουκλεοτιδίων που λειτουργούν σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο με αναστολή της διαδικασίας μετάφρασης στο ριβόσωμα ή με αποικοδόμηση του αντίστοιχου mRNA (αγγελιαφόρο RNA). Πάνω από 1500 ανθρώπινα miRNA έχουν ταυτοποιηθεί και

περίπου το 50% όλων των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες υπόκεινται στο ρυθμιστικό τους αποτέλεσμα. Το ώριμο miRNA έχει μια seed αλληλουχία 2-7 νουκλεοτιδίων που αλληλεπιδρά με την 3' μη μεταφραζόμενη περιοχή του στοχευόμενου mRNA. Εάν η συμπληρωματικότητα των δύο περιοχών είναι τέλεια, ακολουθεί αποδόμηση του mRNA, αλλιώς οδηγεί σε μεταφραστική καταστολή του mRNA, ο οποίος είναι ο κύριος ανασταλτικός μηχανισμός. (Mendell and Olson, 2012 & Bartel, 2009)

### 5.2.1. Βιογένεση των miRNA

Η βιογένεση των microRNAs (miRNAs) μπορεί να συνοψιστεί σε πέντε στάδια:

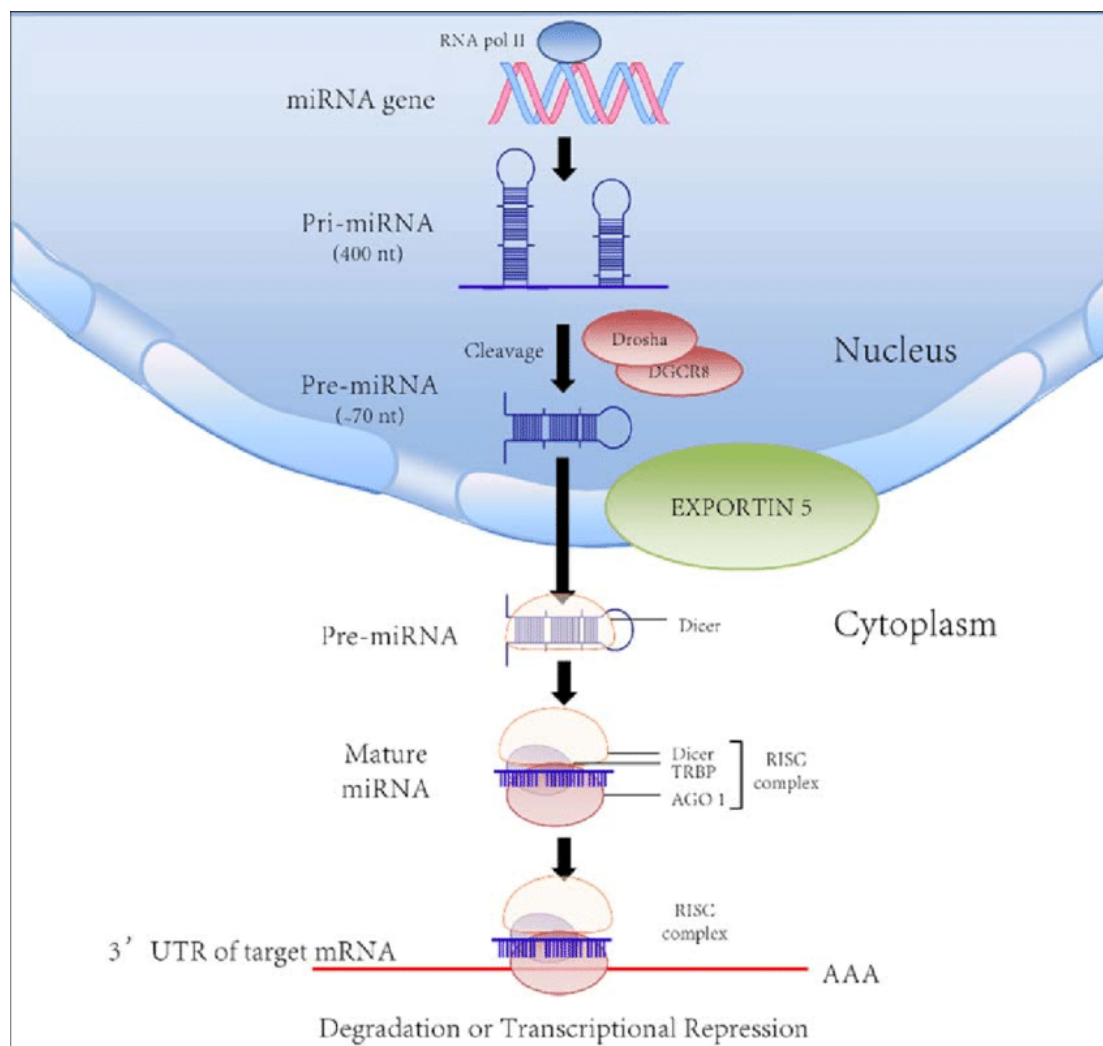
1. Μεταγραφή. Τα μεταγραφήματα miRNA μπορεί να προέρχονται από αυτόνομα μεταγεγραμμένα γονίδια, μπορεί να περιέχονται σε συν-μεταγραφές με άλλα γονίδια ή μπορεί να βρίσκονται σε εσώνια γονιδίων-ξενιστών. Τα περισσότερα miRNA μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση II, ωστόσο μερικά miRNA προέρχονται από την RNA πολυμεράση III με γειτονικά επαναλαμβανόμενα στοιχεία. Το αρχικό μεταγράφημα, που ονομάζεται πρωτογενές microRNA (pri-miRNA), περιέχει μια ανολοκλήρωτη δίκλωνη περιοχή εντός ενός βρόχου φουρκέτας. Μακρύτερες αλληλουχίες εκτείνονται από τα 5' και 3' άκρα της φουρκέτας και μπορεί επίσης να περιέχουν περιοχές διπλής έλικας.
2. Διάσπαση από τη DROSHA. Τα 5' και 3' άκρα του pri-miRNA απομακρύνονται κατά τη διάρκεια της ενδοοριβονουκλεολυτικής διάσπασης από τη νουκλεάση DROSHA σε ένα σύμπλοκο με την πρωτεΐνη DGCR8 που δεσμεύει RNA (το σύμπλεγμα μικροεπεξεργαστών). Το προϊόν διάσπασης είναι μια κοντή φουρκέτα μήκους περίπου 60 έως 70 nt που ονομάζεται pre-microRNA (pre-miRNA).
3. Πυρηνική εξαγωγή από την Exportin-5. Το προκύπτον pre-miRNA δεσμεύεται από την Exportin-5 σε ένα σύμπλεγμα με Ran και GTP. Το σύμπλοκο μεταφέρει το pre-miRNA μέσω του πυρηνικού πόρου στο κυτταρόπλασμα.
4. Διάσπαση από την DICER1. Μόλις εξαχθεί στο κυτταρόπλασμα το pre-miRNA δεσμεύεται από το σύμπλεγμα φόρτωσης RISC που περιέχει την DICER1, μια πρωτεΐνη Argonaute και είτε TARBP2 ή PRKRA. Η DICER1 διασπά το pre-miRNA



για να δώσει ένα ατελές δίκλωνο miRNA μήκους περίπου 21 έως 23 νουκλεοτιδίων. Σε αυτό το στάδιο το δίκλωνο miRNA έχει προεξέχον μονοκλωνικά 3' άκρα μήκους 2-3 nt.

5. Ενσωμάτωση σε σύμπλεγμα σίγασης που προκαλείται από RNA (RISC) και επιλογή κλώνου. Το δίκλωνο miRNA διοχετεύεται σε πρωτεΐνη Argonaute που περιέχεται στο σύμπλεγμα φόρτωσης RISC. Ένα σκέλος, το σκέλος των επιβατών, θα αφαιρεθεί και θα υποβαθμιστεί. Ο άλλος κλώνος, ο κλώνος οδηγός θα συγκρατηθεί και θα καθοδηγήσει το σύμπλεγμα Argonaute-miRNA (RISC) στον στοχοποιημένο mRNA. Το ανθρώπινο γονιδίωμα κωδικοποιεί 4 πρωτεΐνες Argonaute (AGO1, AGO2, AGO3, AGO4), ωστόσο μόνο η AGO2 μπορεί να διασπά τα mRNA στόχους με τέλεια ή σχεδόν τέλεια συμπληρωματικότητα με τον οδηγό miRNA. Συμπλέγματα που περιέχουν άλλες Argonautes μπορούν να χρησιμοποιήσουν μια ελικάση για να αφαιρέσουν το σκέλος των επιβατών, αλλά αυτό δεν είναι πλήρως γνωστό. Η προκύπτουσα AGO2 φορτισμένη με miRNA βρίσκεται κυρίως σε σύμπλοκα με TARBP2 ή PRKRA στην κυτοσολική επιφάνεια του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου. Τα AGO2, TARBP2 και DICER1 παρατηρούνται επίσης στον πυρήνα. (Ketting, 2011)





**Εικόνα 6:** Βιογένεση των microRNA. (Lorenzo et al., 2015)

## 5.2.2. Ο ρόλος των miRNA στην προεκλαμψία

### 5.2.2.1. Ρύθμιση των miRNA στον πλακούντα

Η παθογένεση της προεκλαμψίας είναι ιδιαίτερα περίπλοκη και δεν είναι πλήρως κατανοητή. Τα microRNA του πλακούντα εκφράζονται διαφορετικά σύμφωνα με την ηλικία κύησης. Ο ακριβής μηχανισμός ρύθμισης δεν είναι εντελώς γνωστός. Ωστόσο, η υποξία φαίνεται να αποτελεί μείζονα παράγοντα στη διαδικασία ελέγχου της δραστηριότητάς τους στον πλακούντα. Μια σειρά miRNA (mir-205, -335, -224, -451, -491, -210) εμφανίζονται θετικά ρυθμισμένα σε χαμηλά επίπεδα οξυγόνου ενώ μειώνεται το miR-424. Η υποξία ως επί το πλείστον ρυθμίζει εκ των προτέρων το miR-

210, ένα γεγονός που παρατηρείται σε ασθένειες με χαμηλή πίεση οξυγόνου, όπως ο καρκίνος και η προεκλαμψία, όπου υπάρχει σημαντική αύξηση της δραστηριότητας του miR-210. Τα στοιχεία μέχρι τώρα δείχνουν ότι τα miRNA ρυθμίζονται στο μεταγραφικό επίπεδο και όχι κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τους. (Donker et al., 2007)

Ένας άλλος ρυθμιστικός μηχανισμός είναι η παρουσία παραγόντων μεταγραφής όπως αυτές της οικογένειας ενεργοποιητικής πρωτεΐνης-1 (Activating Protein-1-AP-1) που διατηρούν τη μεταγραφή του miRNA-155. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί μπορούν επίσης να επηρεάσουν την έκφραση των miRNA. Ένα από τα μεγαλύτερα clusters του miRNA, χαρακτηριστικό του πλακούντα, το σύμπλεγμα microRNA του χρωμοσώματος 19 υπόκειται σε μεθυλίωση του DNA. Ο παράγοντας αναστολέων της λευχαιμίας (Leukemia Inhibitor Factor-LIF) είναι σημαντικός για την επίτευξη, τη συντήρηση και την πρόοδο της εγκυμοσύνης. Το LIF ρυθμίζει προς τα πάνω το miRNA -21, -93, και ρυθμίζει προς τα κάτω το miRNA-141 κατά περισσότερο από 50%. Τέλος, εξωτερικές ουσίες όπως η νικοτίνη συσχετίζονται με τη διαφορική έκφραση των miRNA. Το κάπνισμα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μειώνει τα επίπεδα του miRNA -21, -16, -146a. Το κάπνισμα υποψιάζεται ότι μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης προεκλαμψίας. (Morales-Prieto et al., 2011 & Maccani et al., 2010)

#### *5.2.2.2 Ρύθμιση των miRNA στην μήτρα*

Στην μήτρα, τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη ελέγχουν το miRNA παρεμβάλλοντας την μεταγραφή, επεξεργασία, λειτουργία και εντοπισμό τους στο κύτταρο. Η οιστραδιόλη (E2) μπορεί είτε να ενισχύσει άμεσα την έκφραση ορισμένων miRNAs (miRNA -451, -429, -99b, -155, -7a) είτε να την καταστείλει (miRNA -24, -181b). Η χορήγηση της E2 αυξάνει με ταχύτατους ρυθμούς την exportin-5 στη μήτρα και το ίδιο αποτέλεσμα έχει και η άλλη ορμόνη των γονάδων, η προγεστερόνη και οι δυο προάγουν τη μεταφορά των miRNA. Επιπλέον, τα στεροειδή των ωοθηκών προάγουν τη βιοσύνθεση των Drosha, Dgcr8, Exportin-5 και Dicer, όλα τα απαραίτητα συστατικά για τον σχηματισμό και την ωρίμανση των miRNA. (Nothnick et al., 2010)

### *5.2.2.3. Πολλαπλασιασμός, μετανάστευση και διεισδυση στον φθαρτό από τον τροφοβλάστη*

Μια θεμελιώδης πτυχή της πλακουντοποίησης είναι η μετανάστευση και η εισβολή του φθαρτού και του μυομητρίου από τα κύτταρα τροφοβλαστών. Σε σοβαρή προεκλαμψία υπάρχει υπερβολικός πολλαπλασιασμός τροφοβλαστών προωθούμενος από την αρνητική ρύθμιση της miRNA-675. Τα miRNA-195, miRNA-376c και miRNA-78a-5p προάγουν τη μετανάστευση και την εισβολή μέσω καταστολής σηματοδότησης Nodal / TGF-β και ρυθμίζονται αρνητικά σε προεκλαμψία. Το miRNA-376c φαίνεται να είναι ιδιαίτερα σημαντικό για τη ρύθμιση της κινάσης 5 και 7 (Activating Like Kinase-5, -7-ALK5, ALK7), κάτι που καταλήγει στην καταστολή της αρνητικής επίδρασης των οδών σήμανσης TOP-β και οζώδους σηματοδότησης. Με αυτόν τον τρόπο το miRNA-376C διατηρεί την εισβολή των τροφοβλαστών και συνεχώς υποεκφράζεται σε προεκλαμψία. (Fu et al., 2013)

Από την άλλη πλευρά, το miRNA-210 εμφανίζει ανασταλτική δράση καταπιέζοντας την Ephrin-A3 και το Homeobox-A9. Ο φθαρτός, προκειμένου να εισβληθεί, πρέπει να ανακατασκευαστεί, μια διαδικασία στην οποία είναι απαραίτητη η μεταλλοπρωτεϊνάση 2 της μήτρας (Matrix Metalloproteinase 2-MMP2) και η ιντεγκρίνη beta 1 (Integrin beta 1-ITGB1) των εισβάλλοντων εξωλαχνωτών τροφοβλαστών. Στην προεκλαμψία και οι δύο υποεκφράζονται ως αποτέλεσμα της δυσλειτουργίας της κινάσης εστιακής προσκόλλησης (Focal Adhesion Kinase-FAK). Το miRNA-29b, το οποίο ρυθμίζεται θετικά στην προεκλαμψία, μειώνει τα MMP-2 και ITGB1 που προέρχονται από τους τροφοβλάστες με τη στόχευση της FAK. Το miRNA-125-1-3p, το οποίο επίσης ρυθμίζεται θετικά στην προεκλαμψία, καταστέλλει τον υποδοχέα 1 σφινγκοσίνης-1-φωσφορικού άλατος (sphingosine-1-phosphate receptor 1-S1PR1) ο οποίος είναι άλλος υποκινητής της εισβολής τροφοβλάστης. (Skalis et al., 2018)

### *5.2.2.4. Αγγειογένεση και miRNA*

Ο ρόλος των miRNA στην αγγειογένεση έχει αποδειχθεί σε μεταλλαγμένους ποντικούς για τη Dicer (ένα μέλος της οικογένειας των ριβονουκλεασών III των

ενζύμων και θεμελιώδες στην επεξεργασία του miRNA ) το οποίο είχε θανατηφόρο επίδραση στα έμβρυα ή ανεπαρκή ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων τους. Εκτός από τις in vivo μελέτες, τα in vitro ευρήματα υποστηρίζουν το ρόλο των διαφόρων miRNA στην αγγειογένεση όπως προκύπτει από μελέτες των ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων ομφάλιας φλέβας (Human Umbilical Vein Endothelial Cells-HUVEC) όπου τουλάχιστον 15 υψηλά εκφρασμένα miRNA εμπλέκονται στη ρύθμιση της αγγειογένεσης. Τα miRNA -221 και miRNA-222 έχουν μεγάλη σημασία καθώς η αυξημένη έκφρασή τους ακολουθείται από το c-Kit (ένας τύπος υποδοχέα της κινάσης τυροσίνης που συνδέεται με τον παράγοντα των βλαστικών κυττάρων) που οδηγεί σε χαμηλότερα επίπεδα VEGF (αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα-vascular endothelial cell proliferation-VEGF). Ο VEGF έχει μεγάλη σημασία στην διαδικασία της αγγειογένεσης με κρίσιμα σημαντική λειτουργία που συνίσταται στον πολλαπλασιασμό, την εισβολή και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Μέσω αυτών των δράσεων, ο VEGF ασκεί ένα ισχυρό προ-αγγειογόνο αποτέλεσμα το οποίο ουσιαστικά μειώνεται όταν καταστέλλονται τα miRNA του ενδοθηλιακού κυττάρου. Σε ανθρώπινα, ενδοθηλιακά κύτταρα (Endothelial cells-EC) διαμολυσμένα με Dicer siRNA (σίγαση RNA), και σε ποντίκια που είναι υπό όρους Dicer hypomorphs, η αγγειογένεση που προκαλείται από VEGF μεταβάλλεται σημαντικά. (Poliseno et al., 2006)

Στο μητρικό αγγειακό σύστημα, ο VEGF διεγείρει την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO) και προστακυκλίνης και υποστηρίζει τη λειτουργία του τεχνητού ενδοθηλίου στο ήπαρ και τους νεφρούς. Αυτές οι επιδράσεις προκαλούνται από την κινάση τυροσίνης-1 τύπου FMS (FMS-like tyrosine kinase-1-Flt-1). Ο παράγοντας ανάπτυξης πλακούντα (Placental Growth Factor-PlGF) ανήκει στην οικογένεια VEGF και αυξάνει τη σηματοδότηση μέσω VEGF. Η παραγωγή μιας κομμένης, διαλυτής Flt-1 (soluble Flt-1-sFlt-1) από τους συνκυτιοτροφοβλάστες οδηγεί σε δέσμευση τόσο του VEGF όσο και του PlGF και εμποδίζοντας έτσι την αλληλεπίδρασή τους με τους υποδοχείς τους. Παρόλο που η παραγωγή του αντι-αγγειογόνου sFlt-1 είναι ικανή να αναπαράγει πολλά από τα χαρακτηριστικά της προεκλαμψίας, δεν απαντάται σε όλες τις προεκλαμπικές εγκυμοσύνες και μέχρι στιγμής κανένα miRNA δεν συσχετίζεται άμεσα με τη ρύθμιση του. (Wang et al., 2009)

Το miRNA 126/126 \* (126 \* σημαίνει τον αντινοσηματικό κλώνο) εκφράζεται μόνο σε ενδοθηλιακά κύτταρα τόσο σε τριχοειδή όσο και σε μεγαλύτερα αγγεία και

εμπλέκεται στην αγγειογένεση. Το γονιδίωμα που ευθύνεται για την έκφρασή του εντοπίζεται στο γονίδιο EGFL7 στο 7ο ιντρόνιο του χρωμοσώματος 9. Η έκφραση και των δύο συστατικών υποδηλώνει πιθανά διαφορετικά σύμπλοκα σίγασης που ενσωματώνουν ένα διαφορετικό κλώνο έκαστο. Η υποεκπροσώπηση του miRNA-126 έχει βρεθεί σε μελέτες προσυμπτωματικού ελέγχου αλλά κυρίως σε υποψήφιες μελέτες. Το miRNA-126 μειώνεται σε προεκλαμψία και τα χαμηλότερα επίπεδα μπορούν να συσχετιστούν με μειωμένο mRNA του VEGF, αναμενόμενο αποτέλεσμα υπό το φως της στοχευόμενης PIK3K2 (φωσφοϊνοσιτιδική-3-κινάση-Phosphoinositide-3-kinase) και της περιοχής EVH1, που είναι μέρος της οδού σηματοδότησης VEGF. (Meister and Schmidt, 2010)

Η αγγειογένεση επηρεάζεται επίσης από την Ephrin-B2 (EFNB2) η οποία ρυθμίζεται από διάφορα miRNA. Η Ephrin-B2 δρα ως αναστολέας της οδού κινάσης MAP και είναι ένας άλλος στόχος του miRNA-126. Ο EPHB4 (υποδοχέας της εφρίνης B4) και ο συνδέτης του είναι σημαντικοί παράγοντες για την αγγειογένεση στον πλακούντα. Εκτός από το miRNA-126, τρία άλλα miRNA, το miRNA-20a, -17, -20b ρυθμίζουν την έκφραση του EFNB2 και όλα αυτά τα miRNA παρουσιάζουν διαφορετική έκφραση σε σοβαρή προεκλαμψία. Συγκεκριμένα, το miRNA-20a εκφράζεται τακτικά στον φυσιολογικό πλακούντα, αλλά υπερεκφράζεται σε προεκλαμψία, αναστέλλοντας πολλαπλές πλευρές της πλακουντοποίησης όπως ο πολλαπλασιασμός, η μετανάστευση και η εισβολή των τροφοβλαστικών κυττάρων μέσω στόχευσης της FOXA1 (Forkhead Box Protein A1).

Άλλα miRNA που στοχεύουν και αναστέλλουν VEGFA είναι τα υπερεκφραζόμενα miRNA-29b, miRNA-16 και miRNA-155, τα οποία συσχετίζονται αρνητικά με την έκφραση VEGFA, την εισβολή των τροφοβλαστικών κυττάρων και τον σχηματισμό σωλήνων, διακυβεύοντας έτσι την αγγειογένεση του πλακούντα. Αν και τα επίπεδα της αγγειοτενσίνης II αυξάνουν κατά την εγκυμοσύνη, η αρτηριακή πίεση διατηρείται εντός φυσιολογικών ορίων λόγω της μειωμένης ευαισθησίας στην αγγειοσυσταλτική της δράση. Η προεκλαμψία χαρακτηρίζεται από αυξημένη ανταπόκριση στην υπερτασική επίδραση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης (Renin-Angiotensin-System-RAS). Τα αυτοαντισώματα (AA) κατά του τύπου 1α υποδοχέα αγγειοτασίνης II (υποδοχέας AT1) μπορούν να ανιχνευθούν από την 18η εβδομάδα της εγκυμοσύνης, καθιστώντας τα AA έναν από τους πρώτους δείκτες της PE. Αυτά τα AT1-AA του τύπου IgG είναι σε θέση να ενεργοποιήσουν τον υποδοχέα

AT1 και να αναπαραγάγουν τα αποτελέσματα της αγγειοτενσίνης I. Η εισαγωγή του AT1-AA από προεκλαμπτικές γυναίκες σε εγκύους ποντικούς αναπαράγει ολόκληρο το φάσμα της προεκλαμψίας (υπέρταση, πρωτεϊνουρία με νεφρική σπειραματική ενδοθηλίτιδα, ανωμαλίες). Εκτός από την υπέρταση, αυτά τα αποτελέσματα απαιτούν την παρουσία πλακούντα και προκαλούνται από την αύξηση των επιπέδων sFlt-1. Τέλος, η AT1-AA επάγει την παραγωγή ιντερλευκίνης-6 (IL-6), που οδηγεί σε αύξηση της ενδοθηλίνης στα επίπεδα κυτοκίνης. (Skalis et al., 2018)

Το MiR-155 ασκεί ανασταλτική επίδραση στην AT1-R και η αρνητική ρύθμιση του σχετίζεται με αύξηση της έκφρασης AT1-R. Παρόλο που το miR-155 εμφανίζεται ρυθμισμένο στην PE, υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να είναι δυσλειτουργικό. Ένα άλλο miRNA που εμπλέκεται στη ρύθμιση του RAS σε προεκλαμψία είναι το miR-181a που ρυθμίζεται θετικά και προάγει την παραγωγή του AT1-AA μέσω ενίσχυσης της IL-6. Τέλος, η ενεργοποίηση του AT1-R από την AT1-AA έχει θετική επίδραση στην παραγωγή sFlt-1 και sEng (διαλυτή μορφή της Endoglin). Η sEng είναι η διαλυτή μορφή του υποδοχέα του μετασχηματισμένου αυξητικού παράγοντα (Transforming Growth Factor-TGF -  $\beta$ 1 και  $\beta$ 3) και εμποδίζει την αλληλεπίδραση του με τον υποδοχέα κυττάρων και επομένως την προαγγειογονική επίδραση του TGF.

**Πίνακας 8:** Κατάλογος των miRNA που σχετίζονται με την εγκυμοσύνη (Skalis et al., 2018)

Όνομα miRNA	Είδος ρύθμισης	Στόχος	Λειτουργία
miR-210	Θετική	HSD17, ERK, MAPK, KCMF1, EFNA3, HOXA9	Εισβολή, Μετανάστευση, Μονοπάτι σχετιζόμενο με την φλεγμονή
miR-155	Θετική	ATI-R, VEGF	Πολλαπλασιασμός, Εισβολή, ATI-R
miR-126	Αρνητική	PIK3R2, EVHI, VEGF, EFNB2	Αναδιαμόρφωση αγγείων
miR-376c	Αρνητική	Σηματοδότηση Nodal/TGF- $\beta$	Εισβολή τροφοβλάστη
miR-378-5p	Αρνητική	Σηματοδότηση Nodal/TGF- $\beta$	Εισβολή, Μετανάστευση

miR-221	Θετική	c-Kit	Πολλαπλασιασμός, Εισβολή, Μετανάστευση, Αγγειογένεση
miR-222	Θετική	c-Kit	Πολλαπλασιασμός, Εισβολή, Μετανάστευση, Αγγειογένεση
miR-148a	Θετική	HLA-G	Ανοσολογική δυσλειτουργία, Εισβολή
miR-152	Θετική	HLA-G	Ανοσολογική δυσλειτουργία, Εισβολή
miR-223	Αρνητική	STAT3, FOXO1	Απόπτωση, Οξειδωτικό στρες, Εισβολή
miR-20a	Θετική	FOXA1	Πολλαπλασιασμός, Μετανάστευση, Εισβολή
miR-25b	Θετική	FAK	Εισβολή του φθαρτού

#### 5.2.2.5 To miRNA-210

Το miRNA-210 είναι το miRNA που συναντάται συχνότερα στον πλακούντα και στη μητρική κυκλοφορία των προεκλαμπτικών κυήσεων. Η έκφραση αυτού του miRNA εξαρτάται από την υποξία και η μεγάλη αύξηση παρατηρείται σε σοβαρή προεκλαμψία όπου η υποξία είναι επίσης μεγαλύτερη. Χρησιμοποιώντας την *in situ* υβριδοποίηση (ISH), το miRNA-210 βρέθηκε να εκφράζεται τόσο σε θολωτές τροφοβλάστες όσο και σε ενδοαγγειακές τροφοβλάστες που εισβάλλουν (invasive Endovascular Trophoblasts-iEVT).

Ενώ ο πλακούντας είναι συνήθως υποξικός στο πρώτο τρίμηνο με βαθμιαία αποκατάσταση της πίεσης οξυγόνου στο δεύτερο τρίμηνο, η υποξία της προεκλαμψίας είναι επίμονη με υψηλά επίπεδα επαγωγίμου από υποξία παράγοντα 1a (Hypoxia Inducible Factor 1a-HIF-1a) και διαλυτής κινάσης τυροσίνης τύπου 1 (sFlt-1). Ο εκφρασμένος αυξητικός παράγοντας HIF-1a και ο πυρηνικός παράγοντας κάππα-ελαφριάς αλυσίδας ενεργοποιημένων Β-λεμφοκυττάρων (Nuclear Factor kappa of activated B cells-NF-kB) προκαλείται από υποξία και με τη σειρά τους δεσμεύεται με προαγωγέα miRNA-210. Λεπτομερέστερα, το HIF-1a προσκολλάται στην περιοχή HRE του υποκινητή του miRNA-210 με αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση του miRNA-210 προκαλώντας έτσι θετική ανατροφοδότηση. Επιπρόσθετα, το miRNA-210 έχει θετική ανατροφοδότηση στη διαδικασία αυτή με σταθεροποίηση του HIF-1a μέσω της καταστολής του mRNA της αφυδρογονάσης 1 της 3-φωσφορικής γλυκερόλης (Glykerol-3-Phosphate Dehydrogenase 1-Like-GPD1L). Επιπλέον, μία μελέτη έδειξε ότι το miRNA-210 σε υποξικές συνθήκες ρυθμίζεται από τον παράγοντα μεταγραφής p50 που ελέγχει την έκφραση του HIF-1A σε τροφοβλάστες.

Το miRNA-210 μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την εισβολή των τροφοβλαστών μέσω των εξωκυτταρικών κινασών που ρυθμίζουν το σήμα (Extracellular Regulated Kinase-ERK) και των ενεργοποιούμενων από μιτογόνο πρωτεϊνικών κινάσεων (Mitogen Activated Protein Kinase-MAPK) και πιθανώς μέσω καταστολής του γονιδίου KCMF1 του διαμορφωτικού παράγοντα 1 του καναλιού καλίου (K<sup>+</sup>) που είναι συντελεστής διαμόρφωσης του καναλιού καλίου και αποτελεί άμεσο στόχο του miRNA-210. Το KCMF1 επηρεάζει θετικά ολόκληρο το φάσμα της δραστηριότητας των επιθηλιακών καρκινικών κυττάρων (πολλαπλασιασμό, μετανάστευση και εισβολή) και λαμβάνοντας υπόψη τις ομοιότητες του πλακούντα με τη νεοπλασματική διαδικασία, η ανεπαρκής εισβολή της τροφοβλάστης σε προεκλαμψία μπορεί να συσχετιστεί με την χαμηλή έκφραση του KCMF1, που σχετίζονται με την θετική ρύθμιση του miRNA-210. (Fasanaro et al., 2008)

Τα μονοπάτια MAPK και ERK είναι γνωστό ότι συμμετέχουν θετικά στην εισβολή των τροφοβλαστών κατά τη διάρκεια φυσιολογικών κυήσεων και όταν στοχεύουν το miRNA-210 έχουν ως αποτέλεσμα την υποβαθμισμένη διεισδυτικότητα αν και το ακριβές σημείο-στόχος είναι άγνωστο. Ένας άλλος στόχος του miRNA-210 είναι το ένζυμο 17-βηταυδροξυστεροειδής δευδρογονάση (17-betahydroxysteroid dehydrogenase-HSD17B1) που συμμετέχει στη μετατροπή της οιστρονής σε 17-



οιστραδιόλη. Η 17-οιστραδιόλη βρίσκεται στον πλακούντα και παρουσιάζει σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα στην προεκλαμψία, ιδιαίτερα σε σοβαρές περιπτώσεις, όπου μπορεί να ανιχνευθεί στην 20<sup>η</sup> έως την 23<sup>η</sup> και την 27<sup>η</sup> έως και την 30<sup>η</sup> εβδομάδα σε ασυμπτωματικές γυναίκες και έτσι να αποτελέσει ενδεχομένως προγνωστικό παράγοντα για σοβαρή προεκλαμψία.

Ωστόσο, αν και το miRNA-210 φαίνεται να είναι ένας σημαντικός παράγοντας των μηχανισμών που υποκρύπτουν την προεκλαμψία, δεν είναι ξεκάθαρο αν είναι ένας αιτιώδης παράγοντας της προεκλαμψίας ή είναι απλώς μια επιπλοκή που επιδεινώνει την προεκλαμψία μετά από διέγερση του υποδοχέα 3 τύπου Toll (Toll like receptor 3-TLR3) που ανταποκρίνεται στην υποξία και επάγει σημαντικές αυξήσεις των HIF-1A, NF-Bk και miRNA-210. Τέλος, η υπερέκφραση του miRNA-210 φαίνεται να μειώνει το STAT6 / il-4 και να προάγει τη φλεγμονή. Υπό το πρίσμα των στοιχείων που έχουν συσσωρευτεί μέχρι τώρα, το miRNA-210 είναι πιθανώς το miRNA που σχετίζεται στενότερα με το προεκλαμψία. (Muralimanoharan et al., 2012)

#### **5.2.2.6. Ανοσολογικό σύστημα και miRNA**

Η πλακουντοποίηση θέτει ένα ιδιαίτερο πρόβλημα στο μητρικό ανοσοποιητικό σύστημα δεδομένου ότι τα μισά γονίδια του εμβρύου είναι πατρικής προέλευσης και συνεπώς πρέπει να αναγνωριστούν ως «εαυτούς» προκειμένου να αποφευχθεί μια ανοσοαπόκριση. Η βλαστοκύστη αντιπροσωπεύει ένα μερικώς ξένο σώμα και ο μητρικός οργανισμός πρέπει να αναπτύξει έναν ορισμένο βαθμό ανοχής. Αυτό επιτυγχάνεται με την έκφραση των μορίων HLA-C, HLA-G και HLA-E MHC σε συνδυασμό με την απουσία μορίων MHC κατηγορίας I και II. Τα αντιγόνα που λείπουν «κρύβουν» τον πλακούντα, ενώ ο υπάρχων συνδυασμός MHC συμβάλλει στην ενεργό πρόληψη κάθε μητρικής αντίδρασης. Το μητρικό ανοσοποιητικό σύστημα εμφανίζεται να έχει πιο ενεργό ρόλο στην πλακουντοποίηση μέσω αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ανοσοκυττάρων του φθαρτού και των τροφοβλαστών. Τα φυσικά φονικά κύτταρα του φθαρτού (decidua Natural Killer-dNK) είναι παρόντα σε μεγάλους αριθμούς στο πρώτο τρίμηνο και μόνο ένας περιορισμένος πληθυσμός παρουσιάζει τον υποδοχέα ενεργοποίησης του CD160 ο οποίος βρίσκεται στα περιφερικά NK. Κατά συνέπεια, η φύση τους δεν είναι κυτταροτοξική, αλλά μάλλον ενσωματωμένη στη διαδικασία της

πλακουντοποίησης. Το HLA-G αναστέλλει την κυτταροτοξική επίδραση των Τ-λεμφοκυττάρων και των φυσικών φονικών κυττάρων, καθιστώντας δυνατή την πρόοδο των εισβάλλοντων τροφοβλαστών στο φθαρτό, μεταξύ των μητρικών ανοσοκυττάρων. Το miRNA-148a και το miRNA-152 μειώνουν την έκφραση του HLA-G σε εξωλαχνωτές τροφοβλάστες του πλακούντα μετά τη δέσμευση στην 3' μη μεταφραζόμενη περιοχή. Στην ίδια κατεύθυνση, η αυξημένη έκφραση του miRNA-152, εκτός από την έκθεση των εισβάλλοντων τροφοβλαστών, ενισχύει επίσης τη δραστικότητα θανάτωσης των NK κυττάρων. (Manaster et al., 2012)

Ένα άλλο χαρακτηριστικό των κυττάρων dNK είναι η έκκριση αγγειογόνων κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένου του αγγειακού ενδοθηλιακού παράγοντα (Vascular Endothelial Factor-VEGF), της αγγειοπιεσίνης-2, του παράγοντα ανάπτυξης του πλακούντα (Placental Growth Factor-PIGF) και της ιντερφερόνης-γ (Interferon-IFN-γ). Εκτός από την προαγωγή της αγγειογένεσης, τα κύτταρα dNK βρίσκονται επίσης μαζί με τα μακροφάγα στο τοίχωμα των σπειροειδών αρτηριών όπου υπονομεύουν τα στρώματα του λείου μυός προετοιμάζοντας το έδαφος για την εισβολή των τροφοβλαστών. Το miRNA-223 που εκφράζεται σε μακροφάγα και σε φυσικά φονικά κύτταρα, έχει ιδιαίτερο ρόλο στη διαδικασία αυτή. Το miRNA-223 υπάρχει τόσο στο εμβρυϊκό (χοριακό έλασμα) όσο και στο μητρικό τμήμα (βασική πλάκα) του φθαρτού και ως εκ τούτου είναι ένα από τα πλέον διαδεδομένα miRNA.

Το miRNA-223 ρυθμίζεται αρνητικά στην προεκλαμψία και σε πολλές άλλες ασθένειες με ανοσολογική δυσλειτουργία όπως ο καρκίνος, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 και η παθολογική παχυσαρκία. Οι κύριοι στόχοι του miRNA-223 στην προεκλαμψία είναι το STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3), και ο FOXO1 (Forkhead Box protein O1).

Ο FOXO1, ένας παράγοντας μεταγραφής που εμπλέκεται στην κυτταρική απόπτωση και στην ανταπόκριση στο οξειδωτικό στρες, καταστέλλεται σημαντικά σε ήπια προεκλαμψία αλλά όχι σε σοβαρή προεκλαμψία. (Haneklaus et al., 2013)

Ο STAT3, ο δεύτερος στόχος του miRNA-223, φαίνεται να συμμετέχει σε μια σύνθετη οδό IL-6 / STAT3 / miRNA-223 και η miRNA-223 μειώνεται έντονα μετά την ενεργοποίηση της TLR από την IL-6, έτσι υπάρχει θετική ανατροφοδότηση με την παραγωγή του, προάγει την αγγειακή δυσλειτουργία και επηρεάζει αρνητικά την

ικανότητα των κυτταροτροφοβλαστών να εισβάλλουν στο φθαρτό. Από την άλλη πλευρά, η αυξημένη έκφραση του miRNA-223 μειώνει την IL-6.

Είναι επίσης σημαντικό να υπογραμμιστεί ότι το STAT3 υπόκειται σε φωσφορυλίωση στην υποξία και μόλις φωσφορυλιωθεί έχει θετική επίδραση στην παραγωγή IL-6. Η επίμονη υποξία μετά το πρώτο τρίμηνο είναι μια διακριτική κατάσταση της προεκλαμψίας. Επιπλέον, η έκφραση του miRNA-223 θα μπορούσε να είναι το αποτέλεσμα της επίκτητης ανοχής στο πατρικό σπερματοζώαριο και το χαμηλό του επίπεδο μπορεί να υποδεικνύει ευαισθησία στα παθολογικά αλλοαντιγόνα, σε συμφωνία με τον υψηλότερο κίνδυνο προεκλαμψία σε νεαρές γυναίκες. (Lockwood et al., 2008)

## 6. Συμπεράσματα-Επίλογος

Η προεκλαμψία είναι μια συστηματική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από ενδοθηλιακή δυσλειτουργία της μητέρας. Η επαρκής εξέταση, παρακολούθηση και ο έλεγχος ρουτίνας κατά τη διάρκεια και μετά την εγκυμοσύνη μπορεί να αποτρέψει την επιδείνωση της κατάστασης της μητέρας και του εμβρύου. Το προγενέστερο ιστορικό προεκλαμψίας βοηθά στην αξιολόγηση της έγκαιρης διάγνωσης και του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου (CKD).

Ένα συσσωρευτικό σύνολο μελετών συμβάλλει στην αποσαφήνιση της παθογένειας της προεκλαμψίας, παρουσιάζοντας την περίπλοκη σχέση μεταξύ της πλακουντιακής και της αγγειακής ισχαιμίας, της διαταραχής της αγγειογένεσης, της αγγειακής φλεγμονής και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας.

Το γενετικό υπόβαθρο της προεκλαμψίας είναι σήμερα αδιαμφισβήτητο, αλλά οι προσπάθειες για την αποσαφήνιση των γενετικών μηχανισμών είναι προβληματικοί για διάφορους λόγους. Η διαταραχή αφορά μόνο το ήμισυ περίπου του πληθυσμού, δεν εκδηλώνεται μέχρι την αναπαραγωγική ηλικία και περιορίζεται στην εγκυμοσύνη. Επίσης υπάρχει μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των γυναικών που εκδηλώνουν προεκλαμψία όσον αφορά στις υποκείμενες χρόνιες νόσους από τις οποίες μπορεί να πάσχουν όπως ο σακχαρώδης διαβήτης και οι νεφροπάθειες.

Συμπερασματικά, τα δεδομένα παραμένουν ασαφή για τη μεγάλη ομάδα των υποψήφιων γονιδίων για την προεκλαμψία που έχουν δοκιμαστεί μέχρι στιγμής. Τα πιο

ενθαρρυντικά αποτελέσματα προέρχονται από εκτενείς σαρώσεις του γονιδιώματος και την επακόλουθη ανάλυση χρησιμοποιώντας νέες προσεγγίσεις.

Επωφελούμενοι από τις προόδους των εργαλείων βιοπληροφορικής, της μικροσυστοιχίας και των τεχνικών προσδιορισμού αλληλουχίας RNA, ο ρόλος των circRNAs στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης ανακαλύφθηκε εις βάθος. Τα προφίλ έκφρασης των circRNA εξετάζονται σε επιπλοκές εγκυμοσύνης όπως τον διαβήτη κύησης και τις καθ'έξιν αυτόματες αποβολές. Τα circRNA αποδείχτηκαν επίσης ότι δρουν ως σημαντικοί συντελεστές στον καρκίνο των ωοθηκών και του τραχήλου της μήτρας. Επιπλέον, τα νέα στοιχεία δείχνουν ότι τα circRNA έχουν μεγάλη σημασία στις επιπλοκές της εγκυμοσύνης και στον γυναικολογικό καρκίνο. Ωστόσο, σε σύγκριση με άλλα πεδία, ο ρόλος του circRNA στην μαιευτική και τις ασθένειες που σχετίζονται με τη γυναικολογία δεν είναι καλά κατανοητός. Πρόσφατες μελέτες σχετικά με τα circRNA αποκάλυψαν τις σχέσεις τους με την προεκλαμψία και πρότειναν πιθανούς μηχανισμούς. Τα circRNA θα μπορούσαν να ρυθμίσουν την έκφραση γονιδίων και τη μετάφραση πρωτεϊνών. Ωστόσο, πρόσφατες έρευνες εστίασαν στη λειτουργία των circRNA ως σφουγγάρια miRNA, όπως circRNA\_3286, circRNA\_0001855 και circRNA\_0004904. Τα μη φυσιολογικά εκφρασμένα circRNA μπορεί να μεταβάλλουν την έκφραση ορισμένων miRNA μέσω θέσεων δέσμευσης, οι οποίες μπορεί να συμβάλλουν στην ανάπτυξη διαταραχών της εγκυμοσύνης. Εκτός αυτού, οι τύποι και οι ποσότητες των circRNA που κυκλοφορούν μπορούν να προβλέψουν την εμφάνιση της προεκλαμψίας, συμπεριλαμβανομένων των circ\_0036877 και circ\_101222. Τα circRNA μπορούν επίσης να συνδυαστούν με πρωτεΐνες για ανίχνευση της προεκλαμψίας. Η κατανόηση του ρόλου των circRNA στις επιπλοκές της εγκυμοσύνης βρίσκεται ακόμα σε προκαταρκτικό στάδιο.

Τα MicroRNA, μια σχετικά πρόσφατα ανακαλυφθείσα κατηγορία RNA, είναι σε θέση να επηρεάσουν σχεδόν κάθε πτυχή της κυτταρικής λειτουργίας. Η συμμετοχή τους στην προεκλαμψία τεκμηριώνεται από τη σημαντική έρευνα που πραγματοποιήθηκε μέχρι σήμερα. Οι πολλαπλές πτυχές του ρυθμιστικού τους αποτελέσματος και η πλειονότητα των στόχων τους δεν τους επιτρέπει να θεωρηθούν ως αιτιώδης παράγοντας της προεκλαμψίας, αν και αυτό δεν μπορεί να αποκλειστεί. Από την άλλη πλευρά, πρέπει να γίνουν πολλές έρευνες και η μελέτη των miRNA θα μας δώσει τη δυνατότητα να κατανοήσουμε καλύτερα τη φύση της προεκλαμψίας και ελπίζουμε να συμβάλουν στην έγκαιρη ανίχνευση αυτού του συνδρόμου.

## Βιβλιογραφία

1. **Adam S, Elfeky O, Kinhal V et al.** “Review: fetal-maternal communication via extracellular vesicles – implications for complications of pregnancies.” *Placenta*, 2017;54:83-88.
2. **Agatista PK, Ness RB, Roberts JM et al.** “Impairment of endothelial function in women with a history of preeclampsia: an indicator of cardiovascular risk.” *Am J physiol Heart Circ Physiol*, 2004;286(4):H1389-1393.
3. **Al-Jameil N, Khan FA et al.** “A Brief Overview of Preeclampsia” *J Clin Med Res.*, 2014;6(1):1-7.
4. **Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR et al.** “circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing” *Molecular Cell*, 2014; 56(1):55-64.
5. **Askie LM, Duley L, Henderson-Smart DJ and Stewart LA** “Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: A meta-analysis of individual patient data.” *The Lancet*, 2007;369(9575):151-166.
6. **Bányász I, Szabo S, Bokodi G et al.** “Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe pre-eclampsia.” *Mol Hum Reprod*, 2006;12:233-236.
7. **Bartel DP.** “MicroRNAs: target recognition and regulatory functions” *Cell*, 2009;136(2):215-233.
8. **Berends AL, de Groot CJ, Sijbrands EJ et al.** “Shared constitutional risks for maternal vascular-related pregnancy complications and future cardiovascular disease.” *Hypertension*, 2008;51(4):1034-1041.
9. **Bucher HC, Guyatt H, Cook RJ et al.** “Effect of calcium supplementation on pregnancy-induced hypertension and preeclampsia: a meta analysis of randomized controlled trials.” *Journal of American Medical Association*, 1996; 275(14):1113-1117.
10. **Carbonne B, Mace G, Cynober E et al.** “Successful pregnancy with the use of nitric oxide donors and heparin after recurrent severe preeclampsia in a woman with scleroderma” *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2007;197(2):e6-e7

11. **Cnattingius S, Reilly M, Pawitan Y et al.** “Maternal and fetal genetic factor account for most of familial aggregation of preeclampsia: a population-based Swedish cohort study.” *Am J Med Genet A*, 2004;130:365-371.
12. **Conrad KP.** “Emerging role of relaxin in the maternal adaptation to normal pregnancy: implications for preeclampsia.” *Seminars in Nephrology*, 2011;31(1):15-32.
13. **Conrad KP.** “Maternal vasodilation in pregnancy: the emerging role of relaxin.” *American Journal of Physiology*, 2011;301(2):R267-275.
14. **Cunningham FG, Cox SM, Harstad TW et al.** “Chronic renal disease and pregnancy outcome.” *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1990;163(2):453-459.
15. **Daher S, Sass N, Oliveira LG et al.** “Cytokine genotyping in preeclampsia.” *Am J Reprod Immunol*. 2006;55:130-135.
16. **Dasgupta S, Ghosh D, Seal SL et al.** “Randomized controlled study comparing effect of magnesium sulfate with placebo on fetal umbilical artery and middle cerebral artery blood flow in mild preeclampsia at  $\geq 34$  weeks gestational age.” *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 2012;38(5):763-771.
17. **Donker RB, Mouillet JF, Nelson DM and Sadovsky Y.** “The expression of Argonaute2 and related microRNA biogenesis proteins in normal and hypoxic trophoblasts.” *Mol. Hum. Reprod.*, 2007;13(4):273-279.
18. **Du WW, Zhang C, Yang W et al.** “Identifying and characterizing circRNA-protein interaction.” *Theranostics*, 2017;7(17):4183-4191.
19. **Eiland E, Nzerue C and Faulkner M** “Preeclampsia 2012” *Journal of Pregnancy*, 2012; 1-7.
20. **Fasanaro P, D'Alessandra Y, Di Stefano V et al.** “MicroRNA-210 Modulates Endothelial Cell Response to Hypoxia and Inhibits the Receptor Tyrosine Kinase Ligand Ephrin-A3.” *J Biol Chem*, 2008;283(23):15878-15883.
21. **Fink JC, Schwartz SM, Benedetti TJ and Stehman-Breen CO.** “Increased risk of adverse maternal and infant outcomes among women with renal disease.” *Paediatr Perinat Epidemiol*, 1998;12(3):277-287.

22. **Fu G, Ye G, Nadeem L et al.** “MicroRNA-376c impairs transforming growth factor-beta and nodal signaling to promote trophoblast cell proliferation and invasion.” *Hypertension*, 2013;61(4):864-872.
23. **George EM and Granger JP.** “Endothelin: key mediator of hypertension in preeclampsia.” *American Journal of Hypertension*, 2011;24:964-969.
24. **Glueck CJ, Kupferminc MJ, Fontaine RN et al.** “Genetic hypofibrinolysis in complicated pregnancies.” *Obstet Gynecol*, 2001;97:44-48.
25. **Haneklaus M, Gerlic M, O’Neill L et al.** “miR-223:infection, inflammation and cancer.” *J Intern Med*, 2013;274(3):215-226.
26. **Jia N και Li J** “Role of Circular RNAs in Preeclampsia” *Disease Markers*, 2019; 1-7.
27. **Karumanchi SA, Maynard SE, Stillman IE et al.** “Preeclampsia: a renal perspective.” *Kidney Int*, 2005; 67(6):2101-2113.
28. **Kronborg CS, Gjedsted J, Vittinghus E et al.** “Longitudinal measurement of cytokines in pre-eclamptic and normotensive pregnancies.” *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 2011;90(7):791-796.
29. **Laasanen J, Romppanen EL, Hiltunen M et al.** “Two exonic single nucleotide polymorphisms in the microsomal epoxide hydrolase gene are jointly associated with preeclampsia.” *Eur J Hum Genet*, 2002;10:569-573.
30. **Lévésque S, Moutquin JM, Lindsay C et al.** “Implication of an AGT haplotype in a multigene association study with pregnancy hypertension.” *Hypertension*, 2004;43:41-78.
31. **Li F, Hagaman JR, Kim S et al.** “eNOS deficiency acts through endothelin to aggravate sFlt-1-induced preeclampsia-like phenotype.” *Journal of the American Society of Nephrology*, 2012;23(4):652-660.
32. **Li Z, Huang C, Bao C et al.** “Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus.” *Nature Structural & Molecular Biology*, 2015;22(3):256-264.

33. **Lim JE, Kim T, Lee NW et al.** “CD14 receptor gene promoter polymorphism: awakening maternal immunity during pregnancy.” *J Int Med Res*, 2006;34:176-182.
34. **Lockwood CJ, Yen C-F, Basar M et al.** “Preeclampsia-Related Inflammatory Cytokines Regulate Interleukin-6 Expression in Human Decidual Cells.” *Am J Pathol*, 2008;172(6):1571-1579.
35. **Maccani MA, Anissar-Whiting M, Banister CE et al.** “Maternal cigarette smoking during pregnancy is associated with downregulation of miR-16, miR-21 and miR-146a in the placenta.” *Epigenetics*, 2010; 5(7):583-589.
36. **Manaster I, Goldman-Wohl D, Greenfield C et al.** “MiRNA-mediated control of HLA-G expression and function.” *PLoS ONE*, 2012;7:e33395.
37. **Mc Donnold M, Dunn H, Hester A et al.** “High risk human papillomavirus at entry to prenatal care and risk of preeclampsia” *Am J Obstet Gynecol*, 2014;210:138.e1-5.
38. **Meister J, Schmidt MH** “MiR-126 and miR-126\*: new players in cancer.” *ScientificWorldJournal*, 2010;10:2090-2100.
39. **Mendell JT and Olson EN** “MicroRNAs in stress signaling and human disease.” *Cell*, 2012;148(6):1172-1187.
40. **Morales-Prieto DM, Schleussner E, Markert UR.** “Reduction in miR-141 is induced by leukemia inhibitory factor and inhibits proliferation in choriocarcinoma cell line JEG-3.” *Am J Reprod Immunol*, 2011;66:57-62.
41. **Morgan L, Crawshaw S, Baker PN et al.** “Distortion of maternal-fetal angiotensin II type 1 receptor allele transmission in preeclampsia.” *J Med Genet*, 1998;35:632-636.
42. **Morgan T, Craven C, Lalouel JM et al.** “Angiotensinogen Thr235 variant is associated with abnormal physiologic change of the uterine spiral arteries in first-trimester decidua.” *Am J Obstet Gynecol*, 1999;180:95-102.
43. **Muralimanoharan S, Maloyan A, Mele J et al.** “MIR-210 modulates mitochondrial respiration in placenta with preeclampsia” *Placenta*, 2012;33:816-823.



44. **Mütze S, Rudnik-Schöneborn S, Zerres K et al.** “Genes and the preeclampsia syndrome.” *J Perinat Med*, 2008;36:38-58.
45. **Nagy B, Rigo J Jr, Fintor L et al.** “Apolipoprotein E alleles in women with severe pre-eclampsia.” *J Clin Pathol*, 1998;51:324-325.
46. **North RA, Taylor RS, Schellenberg J-C** “Evaluation of a definition of preeclampsia” *Br J Obstet Gynaecol*, 1999;106(8):767-773.
47. **Nothnick WB, Healy C, Hong X.** “Steroidal regulation of uterine miRNAs is associated with modulation of the miRNA biogenesis components Exportin-5 and Dicer1.” *Endocrine*, 2010;37(2):265-273.
48. **O’Shaughnessy KM, Fu B, Downing S et al.** “Thrombophilic polymorphisms in pre-eclampsia: altered frequency of the functional 98C>T polymorphism of glycoprotein IIIa.” *J Med Genet*, 2001;38:775-777.
49. **Ohta K, Kobashi G, Hata A et al.** “Association between a variant of the glutathione S-transferase P1 gene (GSTP1) and hypertension in pregnancy in Japanese: interaction with parity, age and genetic factors.” *Semin Thromb Hemost*, 2003;29:653-659.
50. **Papazoglou D, Galazios G, Koukourakis MI et al.** “Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and pre-eclampsia.” *Mol Hum Reprod*, 2004;10:321-324.
51. **Petkovic S and Muller S.** “RNA circularization strategies in vivo and in vitro.” *Nucleic Acids Research*, 2015;43(4):2454-2465.
52. **Poliseno L, Tuccoli A, Mariani L et al.** “MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs” *Blood*, 2006;108(9):3068-3071.
53. **Qian Y, Lu Y, Rui C et al.** “Potential significance of circular RNA in human placental tissue for patients with preeclampsia.” *Physiology and Biochemistry*, 2016; 39(4):1380-1390.
54. **Redman CWG, Sacks GR, Sargent IL.** “Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy” *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1999; 180(2):499-506.

55. **Roberts JM, Davidge ST, Silver RK and Caplan MS** “Plasma nitrites as an indicator of nitric oxide production: unchanged production or reduced renal clearance in preeclampsia?” *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1997;176(4):954-955.
56. **Roberts JM, Myatt L, Spong Y et al.** “Vitamins C and E to prevent complications of pregnancy-associated hypertension” *New England Journal of Medicine*, 2010;362(14):1282-1291.
57. **Rolnik DL, Wright D, Poon LC et al.** “Aspirin versus Placebo in Pregnancies at High Risk for Preterm Preeclampsia.” *New England Journal of Medicine*, 2017;377(7):613-622.
58. **Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ et al.** “Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease.” *Ann Intern Med*, 2004;141(12):929-937.
59. **Sagen N, Haram K, Nilsen ST.** “Serum urate as a predictor of fetal outcome in severe pre-eclampsia.” *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1984;63(1):71-75.
60. **Salles AMR, Galvao TF, Silna MT et al.** “Antioxidants for preventing preeclampsia: a systematic review” *The Scientific World Journal*, 2012.
61. **Sandrim VC, Palei ACT, Metzger IF et al.** “Nitric oxide formation is inversely related to serum levels of antiangiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endogline in preeclampsia.” *Hypertension*, 2008;104(3):342-345.
62. **Schaffer N, Dill L, Cadden J.** “Uric acid clearance in normal pregnancy and preeclampsia.” *J Clin Invest*, 2003;22:201-206.
63. **Schwartz RB, Feske SK, Polak JF et al.** “Preeclampsia-eclampsia: clinical and neuroradiographic correlates and insights into the pathogenesis of hypertensive encephalopathy.” *Radiology*, 2000;217(2):371-376.
64. **Serrano NC, Casas JP, Diaz LA et al.** “Endothelial NO synthase genotype and risk of preeclampsia: a multicenter case-control study.” *Hypertension*, 2004;44:702-707.
65. **Sharma A, Satyam A and Sharma JB.** “Leptin, IL-10 and inflammatory markers (TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-8) in preeclamptic, normotensive pregnant and healthy non-

pregnant women.” American Journal of Reproductive Immunology, 2007; 58(1):21-30.

66. **Skalis G, Katsi V et al.** “MicroRNAs in Preeclampsia” MicroRNA, 2019;8:1-8.
67. **Song X, Luo X, Gao Y et al.** “Dysregulation of LncRNAs in placenta and pathogenesis of preeclampsia” Current Drug Targets, 2017; 18(10):1165-1170.
68. **Spargo BH, Lichtig C, Luger AM et al.** “ The renal lesion in preeclampsia.” Perspect Nephrol Hypertens, 1976;5:129-137.
69. **Strevens H, Wide-Svensson D, Hansen A et al.** “Glomerular endotheliosis in normal pregnancy and pre-eclampsia.” BJOG, 2003;110(9):831-836.
70. **Villar J, Purwar M, Merialdi M et al.** “World Health Organisation multicentre randomized trial of supplementation with vitamins C and E among pregnant women at high risk for pre-eclampsia in populations of low nutritional status from developing countries” British Journal of Obstetrics and Gynaecology, 2009;116(6):780-788.
71. **Wang A, Rana S, Karumanchi SA.** “Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis.” Physiology, 2009;24:147-158.
72. **Wilson BJ, Watson MS, Prescott GJ et al.** “Hypertensive diseases of pregnancy and risk of hypertension and stroke in later life: results from cohort study.” BMJ, 2003;326(7394):845.
73. **Wilson ML, Goodwin TM, Pan VL et al.** “Molecular epidemiology of preeclampsia.” Obstet Gynecol Surv, 2003;58:39-66.
74. **Witkin SS, Gerber S, Ledger WJ.** “Influence of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism on disease.” Clin Infect Dis, 2002;34:204-209.
75. **Wolf M, Hubel CA, Lam C et al.** “Preeclampsia and future cardiovascular disease: potential role of altered angiogenesis and insulin resistance.” J Clin Endocrinol Metab, 2004;89(12):6239-6243.
76. **Yong HEJ, Murthi P, Brennecke SP et al.** “Genetic Approaches in Preeclampsia.” Methods in Molecular Biology, 2017:1710:53-72.

- 77. Yu CK, Papageorgiou AT, Parra M et al.** “Fetal Medicine Foundation second trimester screening group. Randomized controlled trial using low-dose aspirin in the prevention of pre-eclampsia in women with abnormal uterine artery Doppler at 23 weeks’ gestation.” *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2003;22:233-239.
- 78. Zhang Y, Zhang XO, Chen T et al.** “Circular intronic long noncoding RNAs.” *Molecular Cell*, 2013;51(6):792-806.
- 79. Zhou W, Wang H, Wu X et al.** “The profile analysis of circular RNAs in human placenta in preeclampsia.” *Experimental Biology and Medicine*, 2018;243(18):1109-1117.
- 80. Zusterzeel PL, Visser W, Peters WH et al.** “Polymorphism in the glutathione S-transferase P1 gene and risk for preeclampsia.” *Obstet Gynecol*, 2000;96:50-54.
- 81. Κρυελέση Β** «Οι μεταβολές της αρτηριακής πίεσης-προεκλαμψία και οι ιστολογικές μεταβολές του πλακούντα.» Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2012.
- 82. Μπάκα Α** «Συσχέτιση πολυμορφισμών των γονιδίων AGT1R (A1166C, rs5186) AGT2R (C3123A, rs11091046) με την προεκλαμψία.» Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 2018.
- 83. Μπουχλαριώτου Σ και συν.** «Προεκλαμψία – σύγχρονα δεδομένα» Ελληνική νεφρολογία, 2011;23(4):231-251.
- 84. Φεγγά Α** «Πολυμορφισμοί γονιδίου TLR και προεκλαμψία.» Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 2016.