



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
“*Ιατρική Γενετική: Κλινική και Εργαστηριακή Κατεύθυνση*”

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**“ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΡΩΙΜΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΕΓΚΥΟΥ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ
ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ ”**

Βασιλική Τζουβάρα

A.M.: 20180147

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Τζέτη Μαρία (Επιβλέπουσα καθηγήτρια)
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γενετικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Traeger-Συνοδινού Ιωάννα-Ραχήλ
Καθηγήτρια Γενετικής, Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ

Φρυσίρα Ελένη
Ομ. Καθηγήτρια Κλινικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Αγγελική Κολιαλέξη (Επιστημονικός συνεργάτης)
Βιοπαθολόγος PhD, ΕΚΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2020**



HELLENIC REPUBLIC
**National and Kapodistrian
University of Athens**
EST. 1837

School of Health Sciences

Department of Medicine

MASTER PROGRAM IN

“Medical Genetics: Clinic & Laboratory Direction”

MASTER THESIS

**“BIOMARKERS FOR THE EARLY IDENTIFICATION OF WOMEN
AT RISK FOR PREECLAMPSIA”**

Vasiliky Tzouvara

Register Number: 20180147

Examining Board Members

Tzetis Maria (Supervisor)

Associate Professor of Genetics, Medical School, NKUA

Traeger-Sinodinos Joanne-Rachel

Professor of Genetics Medical School NKUA

Frisira Eleni

*Emeritus Professor of Clinical-Medical Genetics, Medical School
NKUA*

Kolialexi Aggeliki (Research fellow)

Biopathologist PhD, NKUA

Athens

2020

© 2020

Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ)

Βασιλική Τζουβάρα, Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων

Η παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, η οποία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Π.Μ.Σ. "ΙΑΤΡΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ: ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ" αποτελεί συνιδιοκτησία του ΕΚΠΑ και του/της φοιτητή/τριας, ο/η καθένας/μια από τους/τις οποίους/ες έχει το δικαίωμα ανεξάρτητης χρήσης και αναπαραγωγής τους (στο σύνολο ή τμηματικά) για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, σε κάθε περίπτωση αναφέροντας τον τίτλο και τον/την συγγραφέα και το ΕΚΠΑ όπου εκπονήθηκε η Διπλωματική Εργασία καθώς και τον Επιβλέποντα και την άλλα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής.



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΒΕΒΑΙΩΣΗ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

«Δηλώνω υπεύθυνα ότι η συγκεκριμένη Διπλωματική Εργασία με τίτλο:

**«ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΡΩΙΜΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΕΓΚΥΟΥ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ
ΠΡΟΕΚΛΑΜΨΙΑΣ»**

για τη λήψη του μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών του Π.Μ.Σ. **“ΙΑΤΡΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ:ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ”**, της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, έχει συγγραφεί από εμένα προσωπικά και δεν έχει υποβληθεί ούτε έχει εγκριθεί στο πλαίσιο κάποιου άλλου μεταπτυχιακού ή προπτυχιακού τίτλου σπουδών, στην Ελλάδα ή στο εξωτερικό.

Η εργασία αυτή αντιπροσωπεύει τις προσωπικές μου απόψεις επί του θέματος.

Κατά τη συγγραφή, ακολούθησα την πρόπουσα ακαδημαϊκή δεοντολογία. Οι πηγές στις οποίες ανέτρεξα για την εκπόνηση της συγκεκριμένης διπλωματικής αναφέρονται στο σύνολό τους, δίνοντας πλήρεις αναφορές στους συγγραφείς, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Έχω επίσης αποφύγει οποιαδήποτε ενέργεια που συνιστά παράπτωμα λογοκλοπής. Γνωρίζω ότι η λογοκλοπή μπορεί να επισύρει ποινή ανάκλησης του πτυχίου μου.

Σε κάθε περίπτωση, αναληθούς ή ανακριβούς δηλώσεως, υπόκειμαι στις συνέπειες που προβλέπονται στον Κανονισμό Σπουδών του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Ιατρική Γενετική: Κλινική και Εργαστηριακή Κατεύθυνση», και στις διατάξεις που προβλέπει η Ελληνική και Κοινοτική Νομοθεσία περί πνευματικής ιδιοκτησίας».

Ο/Η ΔΗΛΩΝ/ΟΥΣΑ

Υπογραφή:

Όνοματεπώνυμο: Βασιλική Τζουβάρα

Αριθμός Μητρώου:20180147

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Δείκτες πρώιμης ανίχνευσης εγκύου υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΠΕ.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Η Προεκλαμψία (ΠΕ) αποτελεί επιπλοκή της κύησης που εμφανίζεται σε ποσοστό 2-5 % των εγκύων με σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία τόσο της γυναίκας όσο και του εμβρύου. Εάν η ΠΕ δεν διαγνωστεί στα αρχικά στάδια της και δεν αντιμετωπιστεί εγκαίρως, μπορεί να οδηγήσει μέχρι και στο θάνατο. Είναι απαραίτητη λοιπόν η ανακάλυψη νέων δεικτών αλλά και η περαιτέρω μελέτη των ήδη υπάρχοντων, ώστε να αναγνωρίζεται η διαταραχή όσο το δυνατόν γρηγορότερα στα αρχικά στάδια.

ΣΚΟΠΟΣ: Ο σκοπός της μελέτης είναι η ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας όσον αφορά τους δείκτες πρώιμης ανίχνευσης εγκύων υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΠΕ και η δυνατότητα χρησιμοποίησής τους ως διαγνωστικό και προβλεπτικό μέσο. Παρουσιάζονται επίσης τα αποτελέσματα ερευνητικών προσπαθειών για τη ταυτοποίηση νέων βιοδεικτών πρόβλεψης της ΠΕ με έμφαση στα miRNAs.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Η καλύτερη συνδυασμένη εξέταση είναι αυτή που περιλαμβάνει τους μητρικούς παράγοντες κινδύνου, τις μετρήσεις της MAP, το PlGF και την UtPI. Όταν δεν είναι εφικτή η μέτρηση του PlGF και / ή της UtPI, ο βασικός έλεγχος θα πρέπει να είναι ένας συνδυασμός μητρικών παραγόντων κινδύνου με τη MAP και όχι μόνο οι παράγοντες κινδύνου και το ιστορικό της μητέρας. Εάν η πρωτεΐνη PAPP-A που σχετίζεται με την εγκυμοσύνη του μητρικού ορού μετριέται στα πλαίσια του προγεννητικού ελέγχου του πρώτου τριμήνου για εμβρυϊκές ανευπλοειδίες, το αποτέλεσμα δύναται να συμπεριληφθεί για την εκτίμηση κινδύνου ΠΕ. Μια γυναίκα θεωρείται υψηλού κινδύνου όταν ο κίνδυνος είναι 1% ή περισσότερος βάσει της συνδυασμένης δοκιμής του πρώτου τριμήνου με τους μητρικούς παράγοντες κινδύνου, τη μέτρηση της MAP, της UtPI και του PlGF στο μητρικό ορό. Η ΠΕ αποτελεί μια απειλητική διαταραχή που θα πρέπει να αντιμετωπίζεται ταχύτατα πριν εκδηλωθούν τα συμπτώματά της. Αυτό θα καταστεί δυνατό μόνο με την περαιτέρω μελέτη των δεικτών που μπορούν να βοηθήσουν στην έγκαιρη πρόβλεψή της.

Λέξεις κλειδιά: Προεκλαμψία, βιοδείκτες, βιοχημικοί δείκτες, πρωτεΐνες, microRNAs

Αθήνα 2020

ABSTRACT

Biomarkers for the early identification of women at risk for preeclampsia

Background: Preeclampsia (PE) is a complication of pregnancy that affects 2-5% of women during pregnancy, causing serious health effects for both the woman and the fetus. If PE is not diagnosed in its early stages and treated promptly, it can lead to death. Therefore, it is necessary to discover new markers and to study further the already existing ones, in order to detect the disorder in its early stages.

Aim: The aim of this thesis is to review the international literature on early detection markers in high risk pregnancies to develop PE and their potential use as diagnostic and predictive tool. The results of research which identify new markers for PE prediction emphasizing on miRNAs are also analyzed.

Conclusions: The best combined tests include maternal risk factors, MAP, PIGF and UtPI. If it is not possible to measure PIGF and/or UtPI, the tests should be a combination of maternal risk factors with MAP and, not only maternal risk factors and her medical history. If PAPP-A is measured as part of 1st trimester prenatal screening for fetal aneuploidy, the test results may be included for PE risk assessment. A pregnant woman is considered in high risk if the risk is 1% or more, based on the 1st trimester combined with maternal risk factors, MPA, UtPI and PIGF in mother's serum. PE is a life-threatening disorder that needs to be dealt early on, before its symptoms become noticeable. This will only be possible by further studying the biomarkers that can help identify the disorder early.

Key words: preeclampsia, biomarkers, biochemical markers, proteins, microRNAs

Athens 2020

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	σελ ν
ABSTRACT.....	σελ νί
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	σελ vii
ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ.....	σελ x
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ.....	σελ χί
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	σελ xiii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	σελ xiv
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑ.....	σελ 1
1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ.....	σελ 1
1.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ.....	σελ 2
1.3 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ	σελ 2
1.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ.....	σελ 4
1.4.1 ΗΛΙΚΙΑ ΤΗΣ ΜΗΤΕΡΑΣ.....	σελ 5
1.4.2 ΠΡΩΤΟΤΟΚΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ	σελ 5
1.4.3 ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ.....	σελ 5
1.4.4 ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΜΕΤΑΞΥ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΩΝ.....	σελ 5
1.4.5 ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	σελ 5
1.4.6 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ.....	σελ 6
1.4.7 ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ.....	σελ 6
1.4.8 ΦΥΛΗ ΚΑΙ ΕΘΝΙΚΟΤΗΤΑ.....	σελ 6
1.4.9 ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΛΛΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ.....	σελ 6
1.4.10 ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	σελ 6
1.5 ΜΗΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑ.....	σελ 7
1.5.1 ΜΗΤΡΙΚΗ ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ.....	σελ 7
1.5.2 ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ.....	σελ 7
1.6 ΤΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ ΚΑΙ ΟΙ ΨΥΧΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ.....	σελ 7
1.7 ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ.....	σελ 8
1.8 ΠΡΟΛΗΨΗ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ.....	σελ 8
ΣΚΟΠΟΣ	σελ 10

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΡΩΙΜΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΥΗΣΕΩΝ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΠΡΟΕΚΛΑΜΨΙΑΣ (ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ).....σελ 11

2.1 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΤΟΜΙΚΟΥ ΚΑΙ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟΥ ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ.....σελ 11

2.2. ΒΙΟΦΥΣΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣσελ 11

2.2.1 Μέση Αρτηριακή Πίεσησελ 11

2.2.2 Υπερηχογράφημα Doppler των μητριάων αρτηριών.....σελ 12

2.3 ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣσελ 13

2.3.1. PAPP-A/ β-hCGσελ 13

2.3.2 PIGF.....σελ 14

2.3.2.1. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ PIGF ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΠΛΑΚΟΥΝΤΑ.....σελ 14

2.3.3 sFlt-1σελ 15

2.3.3.1 ΛΟΓΟΣ sFlt-1: PIGFσελ 16

2.3.4 VEGFσελ 17

2.3.5 ΠΛΑΚΟΥΝΤΙΑΚΗ ΠΡΩΤΕΙΝΗ 13 (PP13)σελ 17

2.3.6 sEng /PTX3/P-selectin/ inhibin-A / activin-A.....σελ 17

2.3.7 ΕΛΕΥΘΕΡΟ DNA ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΕΓΚΥΟΥ (cell free DNA-cfDNA)σελ 18

2.3.8 ΛΙΠΙΔΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣσελ 18

2.3.9 ΓΛΥΚΟΖΗ ΚΑΙ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ.....σελ 18

2.3.10 ΛΟΙΠΟΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ.....σελ 19

2.4 ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΥ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΠΡΩΤΕΩΜΙΚΗΣσελ 20

2.5 ΕΛΕΓΧΟΣ ΔΙΑΛΟΓΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΠΕ.....σελ 21

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΝΕΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ: microRNAs/miRNAsσελ 24

3.1. ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....σελ 24

3.2. ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ.....σελ 26

3.3 Η ΠΑΡΟΥΣΪΑ ΤΩΝ miRNAs ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΓΡΑ.....σελ 26

3.4. ΤΑ miRNAs ΩΣ ΥΠΟΨΗΦΙΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ.....σελ 27

3.5 ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ miRNAs ΣΕ ΥΛΙΚΟ ΒΙΟΨΙΑΣ ΠΛΑΚΟΥΝΤΑσελ 28

3.5.1 miR-431σελ 29

3.5.2. miR-195.....σελ 30

3.5.3. miR-221-3p.....σελ 30

3.5.4.miR-411 και miR-376cσελ 31

5.6 ΛΟΙΠΑ miRNAs.....σελ 32	σελ 32
3.8 ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ miRNAs ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΕΓΚΥΩΝ ΜΕ ΠΕ	σελ 34
3.8.1. miR-155 και miR-210.....σελ 34	σελ 34
3.8.2 miR-31, miR-21 και miR-16.....σελ 35	σελ 35
3.8.3. ΛΟΙΠΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΓΙΑ ΤΑ miRNAs ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΕΓΚΥΩΝ.....σελ 36	σελ 36
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....σελ 37	σελ 37
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....σελ 38	σελ 38

ΟΡΟΛΟΓΙΑ

Preterm preeclampsia: Πρόωρη ΠΕ

term preeclampsia: ΠΕ στο τέλος της εγκυμοσύνης

EOPE: Early on set preeclampsia, ΕΟΡΕ ΠΕ

LOPE: Late on set preeclampsia, Καθυστερημένη έναρξη Πες

HLA (Human Lymphocyte Antigens)

κύτταρων φυσικών φονέων (natural-killers, NK-cells

killer-cell immunoglobulin-like receptors (KIRs

HDP: Hypertensive disorders of pregnancy, Υπερτασικές διαταραχές της εγκυμοσύνης

LMWH: Low- molecular- weight heparin, Ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους

ΔΜΣ: Δείκτη μάζας σώματος

MAP: Mean arterial pressure, Μέση Αρτηριακή Πίεση

UTPI: Uterine Artery Pulsatility Index, Δείκτης παλμικότητας της μητριάας αρτηρίας

PAPP-A: Pregnancy Associated Plasma Protein, Σχετιζόμενη με την εγκυμοσύνη α-πρωτεΐνη ορού

PLGF: serum Placental Growth Factor, Αυξητικός παράγοντας του πλακούντα στον ορό της μητέρας

IGF: insulin-like growth factor, Ινσουλινο-μιμητικός αυξητικός παράγοντας

β-hCG: Βήτα ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη

sFlt-1: soluble FMS-like tyrosine kinase

CRL: crown-rump length, περίμετρος κεφαλής του εμβρύου

MoM: multiple of median, μέση τιμή

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ISSHP: International Society for the study of Hypertension in Pregnancy

FGR: fetal growth restriction, Περιορισμένη ανάπτυξη εμβρύου

PTSD: post-traumatic stress disorder, μετατραυματικής διαταραχής stress

EOPE: Early on set preeclampsia, ΕΟΠΕ ΠΕ

LOPE: Late on set preeclampsia, Καθυστερημένη έναρξη ΠΕ

HELLP: Haemolysis Elevated Liver Enzymes and Lowblood level of Plateles

FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics

HDP: Hypertensive disorders of pregnancy, Υπερτασικές διαταραχές της εγκυμοσύνης

LMWH: Low- molecular- weight heparin, Ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους

MAP: Mean arterial pressure, Μέση Αρτηριακή Πίεση

UTPI: Uterine Artery Pulsatility Index, Δείκτης παλμικότητας της μητριάας αρτηρίας

PAPP-A: Pregnancy Associated Plasma Protein, Σχετιζόμενη με την εγκυμοσύνη α-πρωτεΐνη ορού

PLGF: serum Placental Growth Factor, Αυξητικός παράγοντας του πλακούντα στον ορό της μητέρας

IGF: insulin-like growth factor, Ινσουλινο-μιμητικός αυξητικός παράγοντας

β-hCG: Βήτα ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη

sFlt-1: soluble FMS-like tyrosine kinase

IDL: ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνη

LDL: χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη

HDL: υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη

TC: ολική χοληστερόλη

TG: τριγλυκερίδια

Glu: γλυκόζη

HbA1c: Γλυκοζιωμένη αιμοσφαιρίνη

CREA: κρεατινίνη

SGOT ή AST: οξαλική τρανσαμινάση

SGPT ή ALT: πυροσταφυλική τρανσαμινάση

LDH: Γαλακτική δεϋδρογονάση

PT: Χρόνος προθρομβίνης

CRP: C αντιδρώσα πρωτεΐνη

PLTs: αιμοπετάλια

CRL: crown-rump length, περίμετρος κεφαλής του εμβρύου

MoM: multiple of median, μέση τιμή

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.....	σελ 5
Πίνακας 2.....	σελ 13
Πίνακας 3.....	σελ 22
Πίνακας 4.....	σελ 33
Πίνακας 5.....	σελ 36

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1	σελ 3
Εικόνα 2	σελ 4
Εικόνα 3	σελ 12
Εικόνα 4	σελ 13
Εικόνα 5	σελ 20
Εικόνα 6	σελ 28
Εικόνα 7	σελ 29
Εικόνα 8	σελ 32

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΠΡΟΕΚΛΑΜΨΙΑ

1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Η Προεκλαμψία (ΠΕ) είναι πολυσυστηματική επιπλοκή της εγκυμοσύνης που επιπλέκει 2-5 % των κυήσεων¹. Χαρακτηρίζεται από *de novo* υπέρταση, μετά την 20^η εβδομάδα κύησης, και συμπτώματα από άλλα συστήματα. Γυναίκες που έχουν εμφανίσει ΠΕ σε κάποια εγκυμοσύνη, μπορεί να αντιμετωπίσουν προβλήματα υγείας στο μέλλον, καθώς η διαταραχή σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακές παθήσεις, υπέρταση, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, νεφρική δυσλειτουργία, μεταβολικό σύνδρομο και σακχαρώδη διαβήτη. Επίσης, το προσδόκιμο ζωής των γυναικών αυτών είναι μειωμένο κατά δέκα έτη από τον κοινό πληθυσμό. Η ΠΕ αποτελεί μία από τις κυριότερες αιτίες μητρικής και νεογνικής νοσηρότητας και θνησιμότητας. Παγκοσμίως, 76.000 γυναίκες και 500.000 βρέφη πεθαίνουν κάθε χρόνο εξαιτίας της ΠΕ. Επιπλέον, γυναίκες στις αναπτυσσόμενες χώρες φαίνεται να διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν ΠΕ σε σχέση με εκείνες που ζουν σε αναπτυγμένες χώρες¹.

Ο παθογενετικός μηχανισμός της ΠΕ περιλαμβάνει δύο στάδια: το πρώτο στάδιο χαρακτηρίζεται από ατελή διείσδυση της τροφοβλάστης, με αποτέλεσμα ανεπαρκή διαμόρφωση των σπειροειδών αρτηριών και υποξία του πλακούντα. Στο δεύτερο στάδιο χαρακτηρίζεται από τις συνέπειες της απελευθέρωσης στη μητρική κυκλοφορία παραγόντων από τον ισχαιμικό πλακούντα και της ανισορροπίας που δημιουργείται μεταξύ αγγειογενετικών και αντι-αγγειογενετικών παραγόντων¹.

Σύμφωνα με τον αναθεωρημένο ορισμό από τη Διεθνή Εταιρεία Μελέτης της Υπέρτασης στην Εγκυμοσύνη (International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy - ISSHP)¹ η ΠΕ εκδηλώνεται με *de novo* υπέρταση (συστολική αρτηριακή πίεση > 140 mm Hg ή διαστολική αρτηριακή πίεση > 90 mm Hg) μετά την 20^η εβδομάδα κύησης η οποία συνυπάρχει με μια από τις παρακάτω νεοεμφανιζόμενες καταστάσεις².

1. **Πρωτεΐνουρία** [πρωτεΐνη/κρεατινίνη ούρων $\geq 30\text{mg} / \text{mmol}$ (0,3 mg / mg) ή $\geq 300\text{mg}$ ημερησίως ή τουλάχιστον 2+ με δοκιμαστική ταινία
2. **Δυσλειτουργία οργάνων της μητέρας:**
 - Νεφρική ανεπάρκεια (κρεατινίνη $\geq 90 \mu\text{mol} / \text{L}$ ή 1,02 mg /dL)
 - Ηπατική συμμετοχή (αυξημένες τρανσαμινάσες-τουλάχιστον δύο φορές πάνω από τα ανώτερα φυσιολογικά όρια, με ή χωρίς κοιλιακό άλγος στο άνω δεξί τεταρτημόριο ή στο επιγάστριο)
 - Εκδηλώσεις από το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (κεφαλαλγίες που συνοδεύονται από αύξηση των αντανεκλαστικών, μεταβολή της νοητικής κατάστασης, αλλοιωμένη ψυχική κατάσταση, έντονους πονοκεφάλους, διαταραχές όρασης, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, σπασμοί)
 - Αιματολογικές επιπλοκές (θρομβοκυτταροπενία-αιμοπετάλια <150.000/dL, διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη –ΔΕΠ-, αιμόλυση)

3. **Μητροπλακουντιακή δυσλειτουργία** – Περιορισμένη ανάπτυξη του εμβρύου (FGR: fetal growth restriction)

1.2 Ταξινόμηση ΠΕ

Ανάλογα με τον χρόνο έναρξης ή διάγνωσης της επιπλοκής περιγράφονται δύο υπότυποι: η **πρώιμης** έναρξης ΠΕ (Early on set preeclampsia: **EOPE**) και η **όψιμης** έναρξης (Late on set preeclampsia: **LOPE**). Στην LOPE, τα συμπτώματα εμφανίζονται την 34^η εβδομάδα κύησης ή αργότερα και αφορά ποσοστό >80% των περιπτώσεων. Στην EOPE, τα κλινικά συμπτώματα εμφανίζονται πριν από την 33^η εβδομάδα κύησης και είναι υπεύθυνη για υψηλότερα ποσοστά μητρικής και εμβρυικής θνησιμότητας και νοσηρότητας¹.

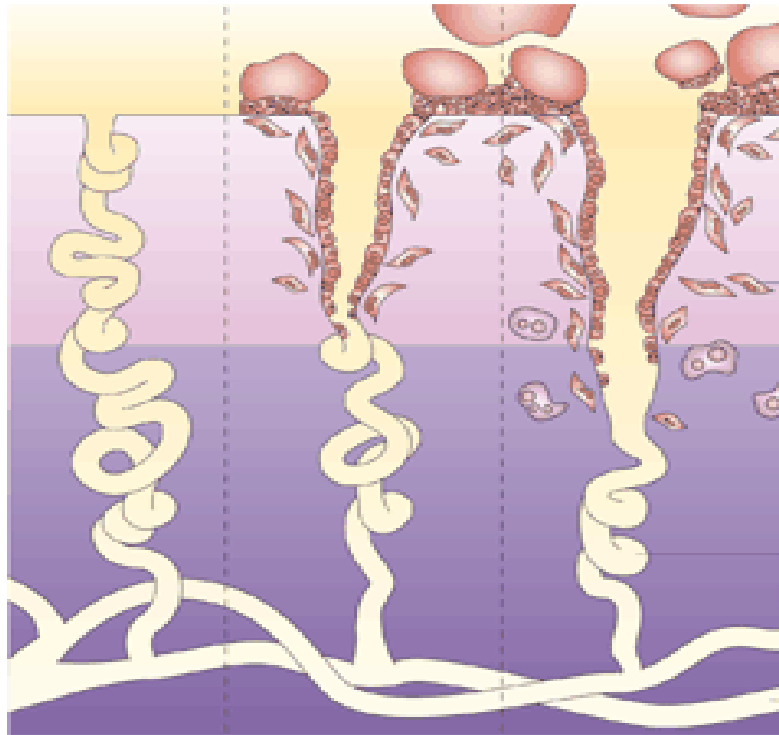
Ανάλογα με τη βαρύτητα των συμπτωμάτων, η ΠΕ ταξινομείται σε ήπια ή βαριά. Η ΠΕ θεωρείται βαριά όταν παρατηρείται σοβαρή αρτηριακή υπέρταση (συστολική αρτηριακή πίεση ≥ 160 mm Hg ή διαστολική ≥ 110 mm Hg, σε τουλάχιστον δύο μετρήσεις μετά από τουλάχιστον 6 ώρες ανάπαυση του ασθενή στο κρεβάτι) σε συνδυασμό με πρωτεϊνουρία, ή όταν ήπια υπέρταση συνοδεύεται από μεγάλου βαθμού λευκωματουρία (≥ 5 g σε συλλογή ούρων 24ώρου). Η βαριά μορφή συνοδεύεται από οίδημα των άνω και κάτω άκρων καθώς και του προσώπου¹.

Η **εκλαμψία** είναι σοβαρή υπερτασική διαταραχή που εμφανίζεται σε 1 στις 200 γυναίκες με ΠΕ, και χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση σπασμών ή και επιληπτικών κρίσεων¹.

Το σύνδρομο **HELLP** (Haemolysis Elevated Liver Enzymes and Lowblood level of Plateles) είναι η συνδυασμένη διαταραχή του ήπατος και του συστήματος πήξης, με εμφάνιση αιμόλυσης, αυξημένα ηπατικά ένζυμα και χαμηλά επίπεδα αιμοπεταλίων¹.

1.3 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΠΡΟΕΚΛΑΜΨΙΑΣ

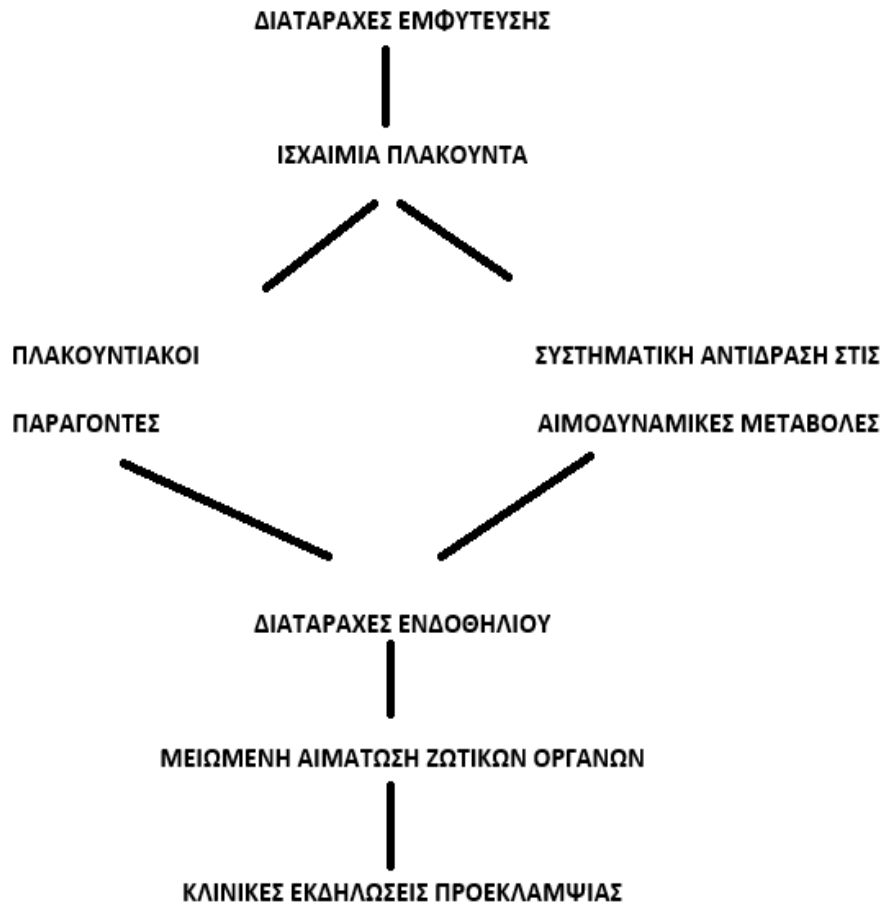
Η ΠΕ τους πρώτους μήνες της εγκυμοσύνης χαρακτηρίζεται από ατελή αναδιαμόρφωση των σπειροειδών αρτηριών και ατελή πλακουντοποίηση, που οδηγούν σε ισχαιμικό πλακούντα. Κατά το 2^ο τρίμηνο, εμφανίζεται το κλινικό σύνδρομο της ΠΕ που αποτελεί μέρος σοβαρής και συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης με συμμετοχή λευκοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων.



Εικόνα 1. Αναδιαμόρφωση των σπειροειδών αρτηριών του πλακούντα σε **ατελή πλακουντοποίηση** και σε φυσιολογικές κήσεις³.

Οι κλινικές εκδηλώσεις της επιπλοκής είναι αποτέλεσμα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας με αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου των αγγείων και συσσώρευση αιμοπεταλίων. Στις περισσότερες περιπτώσεις η ατελής πλακουντοποίηση αποδίδεται σε αγγειακή νόσο της μητέρας (χρόνια υπέρταση, σακχαρώδη διαβήτη τύπου Ι), διάταση του μυομητρίου λόγω πολύδυμης κύησης ή αδυναμία προσαρμογής του ανοσολογικού συστήματος της μητέρας στα πατρικής προέλευσης αντιγόνα του εμβρύου. Ο ισχαιμικός πλακούντας απελευθερώνει στη μητρική κυκλοφορία αγγειοδραστικούς παράγοντες με αποτέλεσμα αγγειόσπασμο και βλάβη του ενδοθηλίου των αγγείων γεγονός που ερμηνεύει την κλινική εικόνα της επιπλοκής και την αγγειακή δυσλειτουργία⁴.

Μελέτες υποστηρίζουν την άποψη ότι η ατελής πλακουντοποίηση οφείλεται σε ελαττωματική ανοσολογική ανοχή της μητέρας στα πατρικής προέλευσης αντιγόνα του εμβρύου. Κεντρικό ρόλο έχει το σύστημα ιστοσυμβατότητας HLA (Human Lymphocyte Antigens) και ειδικότερα ο συνδυασμός HLA-C, HLA-G και HLA-E αντιγόνων⁵. Τα HLA-G αντιγόνα προστατεύουν τα τροφωβλαστικά κύτταρα από την κυτταροτοξική δράση των κύτταρων φυσικών φονέων (natural-killers, NK-cells). Αντίθετα, τα HLA-C αντιγόνα εκφράζουν πατρικά αλλοαντιγόνα και αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς killer-cell immunoglobulin-like receptors (KIRs) των NK κυττάρων. Στη ΠΕ παρατηρείται αλληλεπίδραση μεταξύ των NK κυττάρων της μητέρας και των HLA-C αντιγόνων του πατέρα, αυξημένη ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων και παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτοκίνων, όπως IL-1b, IL-6 και IL-8⁶.



Εικόνα 2: Σχηματικά η διαδικασία εμφύτευσης στη ΠΕ⁷.

1.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΠΡΟΕΚΛΑΜΨΙΑΣ

Παράγοντες της μητέρας αλλά και παράγοντες του εμβρύου έχουν συνδεθεί με τον κίνδυνο εμφάνισης της επιπλοκής (Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΠΕ

Πρώτη κύηση
Ηλικία μητέρας κάτω από 20 και άνω των 35 ετών
Πολύδυμη κύηση
Περιορισμένη έκθεση στο σπέρμα
ΠΕ σε προηγούμενη κύηση
Παχυσαρκία
Σακχαρώδης Διαβήτης/Νοσήματα Κολλαγόνου/ Λοιμώξεις/Θρομβοφιλία
Γενετικοί παράγοντες μητέρας
Οικογενειακό ιστορικό ΠΕ

1.4.1 ΗΛΙΚΙΑ ΤΗΣ ΜΗΤΕΡΑΣ

Οι *Roon et al*² το 2010 αξιολόγησαν τη συσχέτιση του κινδύνου εμφάνισης με την ηλικία της μητέρας και τη σοβαρότητα της ΠΕ και διαπίστωσαν ότι γυναίκες ηλικίας **≥35 έτη**, έχουν **1.2 - 3 φορές** μεγαλύτερο κίνδυνο για εμφάνιση ΠΕ¹. Επίσης ο κίνδυνος εμφάνισης ΛΟΡΕ αυξάνει κατά **4%** κάθε έτος μετά την ηλικία των 32 ετών. Ωστόσο, η ηλικία της μητέρας δεν φαίνεται ότι σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΕΟΡΕ.

1.4.2. ΠΡΩΤΟΤΟΚΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ

Πρωτότοκες γυναίκες ή γυναίκες που γέννησαν νεογνά που δεν επιβίωσαν, έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΠΕ. Αναφέρεται πως ο κίνδυνος είναι **τρεις φορές** μεγαλύτερος από αυτόν σε πολύτοκες⁸.

1.4.3 ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ

Σε μελέτη που περιλαμβάνει 763.795 γυναίκες στη πρώτη τους εγκυμοσύνη, διαπιστώθηκε ότι η επίπτωση της ΠΕ ήταν 4.1% ενώ σε επόμενη κύηση 1.7%. Ωστόσο, οι ήταν **14.7%** στη 2^η κύηση γυναικών με ιστορικό ΠΕ στην 1^η εγκυμοσύνη και **31.9%** εάν είχαν εμφανίσει ΠΕ σε δύο προηγούμενες κυήσεις. Ο κίνδυνος σε γυναίκες χωρίς ατομικό ιστορικό ΠΕ ήταν 1.1⁹. Σε εγκύους με ιστορικό ΕΟΡΕ ο κίνδυνος επανεμφάνισης είναι 5%-17%¹⁰.

1.4.4. ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΜΕΤΑΞΥ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΩΝ

Τόσο τα πολύ μικρά όσο και μεγάλα σε διάρκεια διαστήματα μεταξύ δύο διαδοχικών κυήσεων έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΠΕ. Εγκυμοσύνη σε λιγότερο από 12 μήνες ή περισσότερο από 72 μήνες από την προηγούμενη, συνδέονται με υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης ΠΕ σε σχέση με διαστήματα 12-23 μηνών πιθανώς λόγω προχωρημένης ηλικίας της εγκύου, παρουσίας χρόνιων νοσημάτων ή και ανοσολογικών παραγόντων¹.

1.4.5. ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Κυήσεις που έχουν επιτευχθεί με χρήση τεχνολογιών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής έχουν διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης ΠΕ¹¹. Γυναίκες που εκτίθενται σε φάρμακα διέγερσης των ωοθηκών, ανεξάρτητα από τη μέθοδο υποβοηθούμενης αναπαραγωγής που χρησιμοποιούν, έχουν αυξημένο κίνδυνο να παρουσιάσουν ΠΕ, σε σχέση

με αυτές που έχουν φυσιολογική σύλληψη¹². Από την άλλη, λήψη φαρμάκων με μη-υπεροιστρογονικές ιδιότητες δεν έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ΠΕ¹². Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι τα υψηλά επίπεδα οιστρογόνων κατά την διάρκεια της εμφύτευσης πιθανώς οδηγούν σε διαταραχή της ανάπτυξης του πλακούντα. Επίσης, οι περιπτώσεις ενδομήτριας σπερματέγχυσης ιδίως με σπέρμα δότη, σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της επιπλοκής¹³.

1.4.6 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΠΡΟΕΚΛΑΜΨΙΑΣ

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει αυξημένη συχνότητα ΠΕ μέσα στην ίδια οικογένεια. Συγκεκριμένα, οι κόρες ή οι αδερφές γυναικών με ΠΕ έχουν 3 - 4 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να εκδηλώσουν την επιπλοκή σε σχέση με γυναίκες χωρίς οικογενειακό ιστορικό¹⁴.

1.4.7. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Γυναίκες με Δείκτη Μάζας Σώματος $\geq 30 \text{ kg/m}^2$, έχουν 2-4 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΠΕ με προς το παρόν αδιευκρίνιστο μηχανισμό¹⁵.

1.4.8. ΦΥΛΗ ΚΑΙ ΕΘΝΙΚΟΤΗΤΑ

Η καταγωγή της εγκύου έχει επίσης συσχετιστεί με τον κίνδυνο εμφάνισης της επιπλοκής¹⁶. Μεγαλύτερο κίνδυνο διατρέχουν οι Άφρο-Αμερικάνες (20%-50%) και γυναίκες από τη Νότια Ασία σε σχέση με τις μη-ισπανόφωνες λευκές γυναίκες.

1.4.9 ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΧΡΟΝΙΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΜΗΤΕΡΑ

Χρόνια νοσήματα της μητέρας όπως Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1 και 2, Σακχαρώδης Διαβήτης της κύησης και Σακχαρώδης Διαβήτης κύησης που απαιτεί θεραπεία με ινσουλίνη συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της επιπλοκής. Επιπλέον γυναίκες με χρόνια υπέρταση, προϋπάρχουσα νεφρική νόσο και αυτοάνοσα νοσήματα όπως ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος θεωρούνται υψηλού κινδύνου για ΠΕ στην εγκυμοσύνη¹⁷.

1.4.10 ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Γενετικοί παράγοντες όπως πολυμορφισμοί του γονιδίου της ενδοθηλιακής NO συνθετάσης (eNOS) αποτελούν παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΠΕ. Η eNOS πρωτεΐνη έχει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση αγγειόσπασμου στην ΠΕ και είναι υπεύθυνη για την αιμοδυναμική κατάσταση της εγκύου στο 1ο τρίμηνο της κύησης. Η επιπλοκή εμφανίζεται συχνότερα σε ομόζυγες γυναίκες με το αλληλίο Asp298 του eNOS από ότι σε ετερόζυγες ή από φορείς του αλληλίου Glu298¹⁸.

1.5 ΜΗΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑ

1.5.1 ΜΗΤΡΙΚΗ ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ

Η πιο συχνή αιτία μητρικής θνητότητας σε εγκύους με ΠΕ είναι η ενδοκρανιακή αιμορραγία. Οι έγκυες με την επιπλοκή έχουν αυξημένο κίνδυνο για αποκόλληση του πλακούντα, σύνδρομο HELLP, δύσπνοια, οξύ πνευμονικό οίδημα και οξεία νεφρική ανεπάρκεια¹⁹. Επίσης έχουν αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση αργότερα καρδιαγγειακών νοσημάτων και Σακχαρώδη Διαβήτη δεδομένου ότι υπάρχουν κοινοί προδιαθεσικοί παράγοντες για τα δύο αυτά χρόνια νοσήματα. Επίσης, σε γυναίκες που εμφάνισαν ΠΕ, η παρουσία λευκωματινουρίας 3-5 χρόνια μετά τον τοκετό σχετίζεται με χρόνια νεφρική βλάβη. Και για το λόγο αυτό συνιστάται στενή ιατρική παρακολούθηση^{20 21}.

1.5.2 ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ

Η ΠΕ σχετίζεται με άμεσες αλλά και μακροχρόνιες επιπλοκές στα νεογνά/παιδιά. Η πιο άμεση επιπλοκή είναι ο πρόωρος τοκετός με αφαίρεση του πλακούντα που απαιτείται για την αντιμετώπιση της του προβλήματος με συνέπεια τη γέννηση πρόωρου νεογνού με χαμηλό βάρος γέννησης που απαιτεί νοσηλεία σε Μονάδα Εντατικής (MEN), ειδικά σε περιπτώσεις με ΕΟΡΕ²².

1.6 ΤΟ STRESS ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ ΚΑΙ ΟΙ ΨΥΧΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ

Μελέτες αναφέρουν ότι γυναίκες που εμφανίζουν ΠΕ κατά την εγκυμοσύνη έχουν περισσότερο σε σχέση με αυτές χωρίς την επιπλοκή. Η σχέση μεταξύ stress και αύξησης της αρτηριακής πίεσης έχει αποδειχθεί στατιστικά σημαντική. Επιπλέον είναι γενικά αποδεκτό ότι η κοινωνική υποστήριξη αποτελεί κύριο προληπτικό μέσο για την ψυχική και σωματική υγεία στις γυναίκες στην περίοδο της εγκυμοσύνης και γυναίκες με υψηλότερο βαθμό κοινωνικοποίησης είναι λιγότερο ευάλωτες στο stress²³. Ακόμα, διαπιστώθηκε ότι γυναίκες με διαταραχές υπέρτασης στην κύηση (HDP: Hypertensive disorders of pregnancy) έχουν μεγάλο κίνδυνο εμφάνισης άγχους, μετατραυματικής διαταραχής stress (PTSD: post-traumatic stress disorder) και κατάθλιψης μετά τον τοκετό. Οι συνέπειες αυτές δημιουργούν την ανάγκη ευαισθητοποίησης ως προς τις ψυχικές διαταραχές μετά τον τοκετό ώστε να προτρέπονται οι γυναίκες σε σχετική ιατρική παρακολούθηση²⁴.

Η περίοδος της εγκυμοσύνης έχει ενδιαφέρον, ως περίοδος με μακροπρόθεσμη επίδραση στην ψυχική υγεία των απογόνων. Μελέτες υποστηρίζουν την άποψη ότι οι επιπλοκές στην κύηση ευθύνονται για συναισθηματικά προβλήματα και προβλήματα συμπεριφοράς στα παιδιά²⁵. Ιδιαίτερα η ΠΕ, μπορεί να επηρεάσει την νευροαναπτυξιακή διαδικασία μέσω της ασυνήθιστης παροχής αίματος και τροφής στο αναπτυσσόμενο έμβρυο, με αποτέλεσμα τα παιδιά αυτά να αποκτούν μαθησιακές, γνωστικές και κοινωνικές δυσκολίες στην μετέπειτα ζωή τους^{26,27}.

Τα διαθέσιμα στοιχεία στη διεθνή βιβλιογραφία σχετικά με τα συναισθηματικά προβλήματα και τα προβλήματα συμπεριφοράς στους απογόνους εγκύων με ΠΕ είναι πολύ περιορισμένα. Οι Dachew et al²⁸ χρησιμοποίησαν δεδομένα για τη συμπεριφορά παιδιών ηλικίας 11 ετών με καταγραφή δεδομένων από τους γονείς και τους δασκάλους. Απέδειξαν ότι οι συνθήκες κατά την εμβρυική ζωή και η έκθεση σε υπερτασικό περιβάλλον παίζει σημαντικό ρόλο στην μετέπειτα ψυχική υγεία του παιδιού. Παρόλο που οι αναφορές των εκπαιδευτικών δεν ταυτίζονται απόλυτα με αυτές των γονέων, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα συναισθηματικά προβλήματα και τα προβλήματα συμπεριφοράς είναι δύσκολο να χαρακτηριστούν και χρειάζονται περαιτέρω ευρείας κλίμακας μελέτες ώστε να διευκρινιστούν οι επιπτώσεις της ΠΕ στην νευροαναπτυξιακή και ψυχική υγεία των απογόνων.

1.7 ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Η θεραπευτική αντιμετώπιση της ΠΕ είναι προληπτική και περιλαμβάνει τον έλεγχο της υπέρτασης, τη πρόληψη ή και καταστολή των σπασμών και την ανάταξη της οξεοβασικής ισορροπίας και των αιματολογικών διαταραχών.

Στην ΠΕ, η αντιυπερτασική αγωγή πρέπει να ξεκινάει όταν υπάρχει επίμονη διαστολική αρτηριακή πίεση της τάξης των 105-110 mm Hg ή υψηλότερη για τον έλεγχο της υπέρτασης και της αιμάτωσης του πλακούντα και των ζωτικών οργάνων της μητέρας. Ως καταλληλότερες αντιυπερτασικές θεραπείες θεωρούνται η μεθυλντόπα, η λαβεταλόλη, οι β-αναστολείς και η νιφεδιπίνη βραδείας αποδέσμευσης. Το Αμερικανικό Κολλέγιο Μαιευτήρων-Γυναικολόγων (ACOG) χαρακτηρίζει την μεθυλντόπα και την λαβεταλόλη ως θεραπεία πρώτης γραμμής, ενώ δεν συνιστά τους β-αναστολείς και τους αναστολείς μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης²⁹.

Η χορήγηση θειϊκού μαγνησίου προτείνεται για τη πρόληψη εμφάνισης ή υποτροπής των σπασμών και σε σπάνιες περιπτώσεις για αντιμετώπιση τους. Επιπλέον, σε κάποιες περιπτώσεις εκτός από ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης απαραίτητη είναι η αύξηση του όγκου πλάσματος και η αντιθρομβωτική αγωγή²⁹.

Η μοναδική άμεση θεραπεία της ΠΕ παραμένει ο τερματισμός της κύησης και η αφαίρεση του πλακούντα. Η απόφαση για τον τοκετό βασίζεται στην εξισορρόπηση των κινδύνων για την μητέρα και το έμβρυο από τη συνέχιση της εγκυμοσύνης με τους κινδύνους για το νεογνό λόγω προωρότητας. Ενδείξεις για άμεσο τοκετό αποτελούν η τελειόμηνη κύηση (> 37η εβδομάδα κύησης), η ανάπτυξη σοβαρών επιπλοκών από την μητέρα, ο ενδομήτριος θάνατος ή η εμβρυική δυσπραγία. Το ίδιο συστήνεται και σε εγκύους με σοβαρή ΠΕ, ανεξάρτητα από την ηλικία κύησης²⁹. Μελέτη των Broekhuijsen et al³⁰ αναφέρει ότι επιπλοκές στην μητέρα μπορούν να μειωθούν με άμεσο τοκετό παρ' ότι συντηρητική αγωγή με σκοπό την παράταση της κύησης μόλις για πέντε ημέρες μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο νεογνικής αναπνευστικής δυσχέρειας.

1.8 ΠΡΟΛΗΨΗ ΠΡΟΕΚΛΑΜΨΙΑΣ

Για την πρόληψη της ΠΕ έχουν προταθεί διατροφικοί και φαρμακευτικοί μέθοδοι. Υπάρχουν επίσης κάποιες διαιτητικές μέθοδοι που όμως δεν φαίνεται να είναι κλινικά

αποτελεσματικές και περιλαμβάνουν τη κατανάλωση τροφών με μικρή περιεκτικότητα σε αλάτι, τη χρησιμοποίηση συμπληρωμάτων ασβεστίου και καρδιοπροστατευτικών λιπαρών οξέων καθώς και αντιοξειδωτικών παραγόντων (βιταμίνες C και E)¹.

Στις φαρμακευτικές μεθόδους περιλαμβάνονται αντιυπερτασική αγωγή και τα αντιπηκτικά, όπως η ασπιρίνη η ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους αντίστοιχα.

Η **ασπιρίνη** αποτελεί ευρέως χρησιμοποιούμενο φάρμακο και πρόσφατα δεδομένα έδειξαν ότι η καθημερινή χορήγηση μικρής δόσης ασπιρίνης (75mg) πριν από τις 16 εβδομάδες κύησης σε εγκύους με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΠΕ δρα προστατευτικά και σχεδόν εκμηδενίζει την πιθανότητα πρώιμης εμφάνισης της επιπλοκής. Αντίθετα, η χορήγηση ασπιρίνης μετά από την 16^η εβδομάδα της κύησης δεν είναι αποτελεσματική και δεν μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης της επιπλοκής σε εγκύους υψηλού κινδύνου³¹.

Η χρήση της **ηπαρίνης** χαμηλού μοριακού βάρους (LMWH, low- molecular- weight heparin) για τη πρόληψη της ΠΕ είναι ακόμα αμφιλεγόμενη. Ευρήματα μελετών δείχνουν ότι η προφυλακτική χρήση ηπαρίνης μειώνει τη νεογνική θνησιμότητα, τον πρόωρο τοκετό (<34 εβδ. κύησης) και τη γέννηση μικρών για την ηλικία κύησης νεογνών. Από την άλλη η χορήγηση LMWH κατά τη κύηση σχετίζεται με ποσοστό 7.7% σοβαρών αιμορραγικών επεισοδίων. Για το λόγο αυτό, προς το παρόν τουλάχιστον δεν θεωρείται ότι τα στοιχεία είναι επαρκή για να θεωρηθεί ότι οι LMWH μπορούν να αποτρέψουν τη ΠΕ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, ειδικά όταν το όφελός τους αντισταθμίζεται από τους κινδύνους που συνδέονται με την χρήση τους³².

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της μελέτης είναι η ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας όσον αφορά τους δείκτες πρώιμης ανίχνευσης εγκύων υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΠΕ και η δυνατότητα χρησιμοποίησής τους ως διαγνωστικό και προβλεπτικό μέσο. Παρουσιάζονται επίσης τα αποτελέσματα ερευνητικών προσπαθειών για τη ταυτοποίηση νέων βιοδεικτών πρόβλεψης της ΠΕ με έμφαση στα miRNAs δεδομένου ότι μελέτες που τα συσχετίζουν με τη πρόβλεψη και τη θεραπεία έχουν επιστημονικό ενδιαφέρον.

Η έρευνα στο πεδίο της πρόβλεψης και πρόληψης της ΠΕ επιδιώκει τη ταυτοποίηση προβλεπτικών και θεραπευτικών βιοδεικτών που θα καλύψουν εξατομικευμένες ανάγκες και ιδιαιτερότητες κάθε εγκύου. Οι βιοδείκτες που αναζητούνται πρέπει να έχουν δυνατότητα ανίχνευσης κυήσεων υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση της επιπλοκής, με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, σε πρώιμο στάδιο της κύησης καθώς η έγκαιρη ανίχνευση αποτελεί σημαντικό παράγοντα αποτελεσματικής πρόληψης. Επιπλέον, οι νέοι βιοδείκτες θα πρέπει να ανιχνεύονται σε βιολογικά υλικά που συλλέγονται με μη επεμβατικές μεθόδους, η ποσοτικοποίηση τους σε κλινικό επίπεδο να είναι εύκολη και οικονομική, χωρίς να απαιτείται ιδιαίτερος εξοπλισμός, και τα αποτελέσματα των μετρήσεων να αντανακλούν με αξιοπιστία τη παρουσία ή όχι της επιπλοκής καθώς και την εξέλιξη της.

Μεταξύ των επιπλοκών της κύησης, ίσως η πλέον σοβαρή είναι η ΠΕ η οποία, θεωρείται η κυριότερη αιτία μητρικής και περιγεννητικής νοσηρότητας και θνητότητας. Σύμφωνα με στοιχεία της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας 700.000 νεογνά χάνονται διεθνώς κάθε χρόνο από την επιπλοκή. Επειδή ο μόνος τρόπος αντιμετώπισης της ΠΕ είναι ο τοκετός το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στη πρώιμη ανίχνευση των κυήσεων υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΠΕ και την πρόληψη εμφάνισής της.

Μελετήθηκαν ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων όπως, Pubmed, Medline, Google scholar.

Χρησιμοποιήθηκαν λέξεις κλειδιά όπως ΠΕ, β-Hcg, PAPP-A, PLGF, SFLT1, cffDNA, proteomics, miRNAs.

Από την ανασκόπηση προέκυψαν 56 βιβλιογραφικές αναφορές.

Μελετήθηκαν τέλος, βιβλιογραφικές πηγές και συγγράμματα στην ελληνική και αγγλική γλώσσα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΡΩΙΜΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΥΗΣΕΩΝ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ (ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ)

Οι μέθοδοι πληθυσμιακού ελέγχου (screening) για τη πρώιμη, ανίχνευση κυήσεων υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΠΕ περιλαμβάνουν στοιχεία από το ατομικό και οικογενειακό ιστορικό των εγκύων, μέτρηση βιοφυσικών δεικτών και ποσοτικοποίηση βιοχημικών δεικτών στο περιφερικό αίμα των εγκύων

2.1. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΤΟΜΙΚΟΥ ΚΑΙ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟΥ ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ

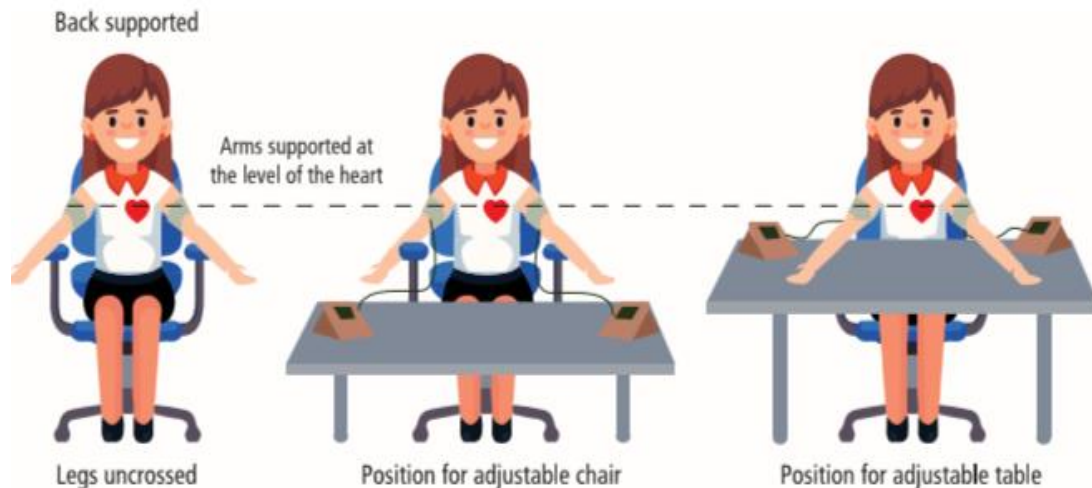
Η συλλογή στοιχείων του ατομικού και οικογενειακού ιστορικού των εγκύων είναι καθοριστικής σημασίας στα πρώτα στάδια της κύησης, για την εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης της επιπλοκής. Γυναίκες πρωτότοκες, καπνίστριες, με ατομικό/οικογενειακό ιστορικό ΠΕ καθώς και αυτές με μεγάλο Δείκτη μάζας σώματος(ΔΜΣ) εμφανίζουν μεγαλύτερο κίνδυνο για ΠΕ¹.

2.2 . ΒΙΟΦΥΣΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

2.2.1 Μέση Αρτηριακή Πίεση

Η μέτρηση της Μέσης Αρτηριακής Πίεσης (MAP:mean arterial pressure) πραγματοποιείται κατά τον προγεννητικό έλεγχο του 1^ο τρίμηνο της κύησης και τα αποτελέσματα της αξιολογούνται σε συνδυασμό με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά κάθε εγκύου¹.

Στην μέτρηση της μέσης αρτηριακής πίεσης οι έγκυες είναι σε καθιστή θέση, με τα χέρια τους να υποστηρίζονται καλά στο επίπεδο της καρδιάς τους και ανάλογα την περίμετρο του βραχίονα τους, χρησιμοποιείται η κατάλληλη περιχειρίδα. (Εικόνα 3). Μετά από ανάπαυση 5 λεπτών, προσδιορίζεται η αρτηριακή πίεση και στους δύο βραχίονες ταυτόχρονα, τουλάχιστον 2 φορές σε διάστημα ενός λεπτού. Με τον τρόπο αυτό, λαμβάνονται σταθερές τιμές στις επαναλαμβανόμενες μετρήσεις χωρίς να υπάρχει απόκλιση στην συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση. Καταγράφονται οι τιμές των δύο τελευταίων μετρήσεων από κάθε χέρι και η μέση τιμή υπολογίζεται από τον τύπο $MAP = \text{συστολική} + (\text{διαστολική} - \text{συστολική})/3$ ¹.

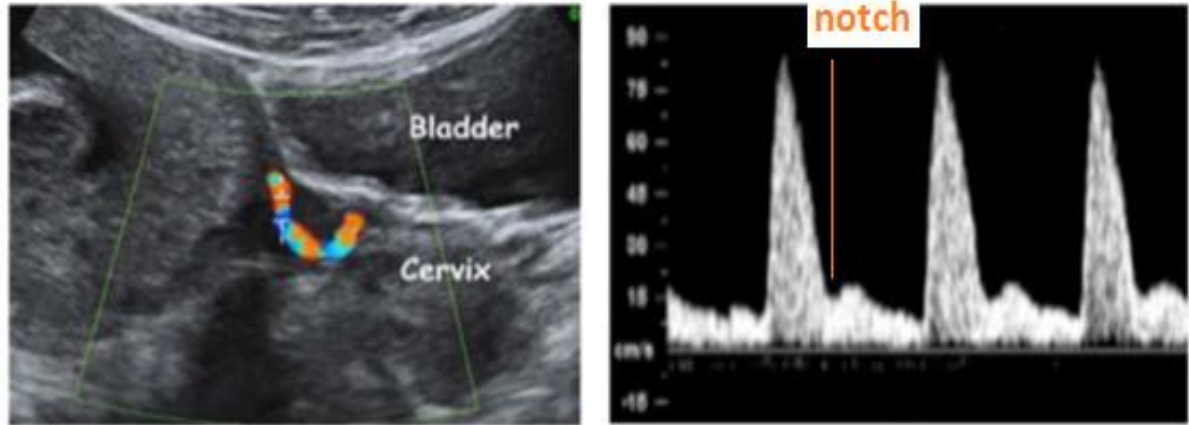


ΕΙΚΟΝΑ 3: Σωστή τοποθέτηση της γυναίκας για την μέτρηση της Μέσης Αρτηριακής Πίεσης¹.

2.2.2 Υπερηχογράφημα Doppler των Μητριάων Αρτηριών

Ο έλεγχος παλμικότητας της αιματικής ροής των μητριάων αρτηριών της μητέρας με την υπερηχογράφημα Doppler (**UtPI**), πραγματοποιείται την 11^η -13^η (+6) εβδομάδα της κύησης. Χρησιμοποιείται για την μελέτη της αιματικής ροής στις μητριάες αρτηρίες και αντιστακτά την ποιότητα της τροφοβλαστικής διείσδυσης. Κατά τον έλεγχο γίνεται αντιστοίχιση των τιμών με την εβδομάδας της κύησης όπως αυτή προσδιορίζεται με το μήκος της περιμέτρου της κεφαλής του εμβρύου (CRL: crown-rump length). Η μέθοδος μέτρησης της ροής του αίματος στις μητριάες αρτηρίες ελέγχει αν το έμβρυο αιματώνεται επαρκώς από την μητέρα, και χαρτογραφεί στην οθόνη του υπερηχογράφου «κύμα» ροής χρωμάτων, κόκκινου και μπλε, τα οποία είναι χαρακτηριστικά της αιματικής ροής¹.

Τιμές UtPI MoM (multiple of median) 1.0-1.49 θεωρούνται εντός των φυσιολογικών ορίων. Αυξημένες τιμές UtPI στο 1^ο τρίμηνο της κύησης έχουν συνδεθεί με μη επιθυμητή περιγεννητική έκβαση της κύησης ενώ η παρουσία εγχοπών (notch) αντιστακτά τη ποιότητα της τροφοβλαστικής διείσδυσης και συνδέεται με 30% πιθανότητα εμφάνισης ΠΕ.^{33,34,35}. Σύμφωνα με μελέτη των Demers et al³⁶ σε γυναίκες με ιστορικό ΠΕ η τιμή του UtPI στην 11^η -13^η εβδομάδα της κύησης είναι σημαντικός προγνωστικός δείκτης για την ΕΟΠΕ αλλά όχι για την ΛΟΠΕ.



ΕΙΚΟΝΑ 4: Κύματα των μητριαίων αρτηριών με υπερηχογράφημα Doppler το 1^ο τρίμηνο της εγκυμοσύνης και η παρουσία των εγκοπών (notch)¹.

2.3 ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης η εξέταση της εγκύου μέσω της λήψης αίματος, αποτελεί έναν από τους πιο γρήγορους και εύκολους τρόπους για μια πρώτη εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης ΠΕ. Το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στο 1^ο τρίμηνο της κύησης βιοχημικοί δείκτες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παρακολούθηση της εγκύου που πρόκειται ή έχει εμφανίσει ΠΕ αναφέρονται αναλυτικά στον πίνακα 2.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Συγκεντρωτικός πίνακας δεικτών πρώιμης ανίχνευσης εγκύων υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΠΕ και οι μεταβολές στην συγκέντρωσή τους στο περιφερικό αίμα και τα ούρα τους.

ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΩΣΗΣ	ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ
ΑΥΞΗΣΗ	β-hCG, sEng, PTX3, inhibin-A, activin-A, Cystatin-C, sFlt-1, sFlt-1: PIGF VCAM-1, TC, TG, LDL, CREA, ALT, AST, LDH, CRP, ΙΝΩΔΟΓΟΝΟ, CIS, AMBP, Clusterin, Fibrinogen, Fibronectin ΛΕΥΚΩΜΑ ΣΤΑ ΟΥΡΑ, SEPRINA 1 ΣΤΑ ΟΥΡΑ, ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ ΣΤΑ ΟΥΡΑ
ΜΕΙΩΣΗ	PAPP-A, PIGF (ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΚΑΙ ΣΤΑ ΟΥΡΑ), VEGF PP13, Pappalysin-A HDL, Glu, PT, PLTs, ινσουλίνη

2.3.1 PAPP-A/ β-hCG

Η ινσουλινο-σχετιζόμενη με την εγκυμοσύνη α-πρωτεΐνη ορού (**PAPP-A:** Pregnancy Associated Plasma Protein) είναι μμητικός αυξητικός παράγοντας (IGF: insulin-like growth

factor) με σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του πλακούντα. Αποτελεί καλά εδραιωμένο βιοχημικό δείκτη για την πρόωμη ανίχνευση κυήσεων υψηλού κινδύνου για T21, T18 και T13 στο 1^ο τρίμηνο της εγκυμοσύνης. Έχει αποδειχθεί ότι η ΠΕ σχετίζεται με χαμηλά επίπεδα PAPP-A στο περιφερικό αίμα εγκύου. Η μέτρηση της βήτα ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (**β-hCG**), πραγματοποιείται επίσης στο 1^ο τρίμηνο της εγκυμοσύνης και χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με την PAPP-A στην ανίχνευση κυήσεων υψηλού κινδύνου για ανευπλοειδίες του εμβρύου¹.

Μελέτες έχουν δείξει ότι έγκυες στο 1^ο τρίμηνο, με συγκέντρωση PAPP-A κάτω από το 5^ο εκατοστημόριο, κινδυνεύουν περισσότερο να αναπτύξουν ΠΕ σε σχέση με αυτές με φυσιολογικά επίπεδα¹. Σε μελέτη στον Ιρανικό πληθυσμό διαπιστώθηκε ότι χαμηλά επίπεδα PAPP-A και υψηλά επίπεδα β-hCG συνδέονται με 5.65 και 2.09, αντίστοιχα, για αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΠΕ στο γενικό πληθυσμό³⁷. Παρόλα αυτά το PAPP-A και η β-hCG δεν αποτελούν μεμονωμένους δείκτες για την πρόγνωση της ΠΕ άλλα αξιολογούνται συνολικά σε συνδυασμό με το ατομικό και οικογενειακό ιστορικό κάθε εγκύου.

2.3.2 PIGF

Ο αυξητικός παράγοντας του πλακούντα (**PIGF**: serum Placental Growth Factor) είναι γλυκοπρωτεΐνη η οποία εκκρίνεται από τα τροφοβλαστικά κύτταρα και ανήκει στην οικογένεια VEGF: Vascular endothelial growth factor (Αυξητικός παράγοντας αγγειακού ενδοθηλίου). Έχει αγγειογενετικές ιδιότητες και τα μειωμένα επίπεδα PLGF στο αίμα της εγκύου έχουν συνδεθεί με πλακουντιακή ανεπάρκεια και κατ' επέκταση αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΠΕ¹.

Ο ρόλος του PIGF στην αναπαραγωγή δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί. Το ενδομήτριο, κατά τη διάρκεια της εκκριτικής φάσης του ανθρώπινου εμμηνορροϊκού κύκλου εκκρίνει τη συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Η παρουσία του παράγοντα, στη συγκεκριμένη φάση του κύκλου, ερμηνεύει ότι ο PIGF διαδραματίζει ορισμένο ρόλο στην εμφύτευση του εμβρύου, αλλά αυτός δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί. Εξάλλου, πρώιμες έρευνες σε παιδιά των προεκλαμπτικών γυναικών υποστηρίζουν ορισμένες διαφορές στην αγγειακή ανάπτυξη του εγκεφάλου, οι οποίες σχετίζονται με τα ενδομήτρια συμβάματα³⁸.

Συνεπώς, καθίσταται σαφές ότι ο παράγοντας, συμμετέχοντας στις διαδικασίες ανάπτυξης του ενδομητρίου και εμφύτευσης του εμβρύου, διαδραματίζει κάποιο ρόλο και στην αναπαραγωγή, ο οποίος στο μέλλον θα αποτελέσει αντικείμενο εντατικών ερευνών.

2.3.2.1. Ο ρόλος του PIGF στη λειτουργία του πλακούντα

Ο κυκλοφορών PIGF είναι εμφανώς αυξημένος στην κύηση. Παράγεται στον πλακούντα και συμβάλλει στην ανάπτυξη και την ωρίμανση του αγγειακού συστήματός του. Η έκφρασή του αντιστοιχεί σε διαφορετικά στάδια της ανάπτυξης του πλακούντα. Η έκφραση του PIGF στον πλακούντα κορυφώνεται στο δεύτερο τρίμηνο μη την ανάπτυξη της μητροπλακουντιακής κυκλοφορίας και την αναδιαμόρφωση των σπειροειδών αρτηριών του μυομητρίου ήδη από τις 16-18 εβδομάδες κύησης³⁹.

Επίσης, ο PIGF συνεισφέρει και στην διείσδυση της τροφοβλάστης⁴⁰. Η τροφοβλάστη αναπτύσσει διεισδυτικά χαρακτηριστικά σε απόκριση της αυξημένης τάσης οξυγόνου και η έκφραση του PIGF αυξάνει επίσης με τη βελτιωμένη οξυγόνωση του πλακούντα, αλλά είναι αβέβαιο εάν αυτά τα δύο συμβάντα έχουν έναν άμεσα συνδεδεμένο ρυθμιστικό μηχανισμό. Η διαφοροποίηση των κυττάρων φυσικού φονέα της μήτρας επηρεάζεται από τον PIGF και αυτά τα κύτταρα μπορούν με τη σειρά τους να μεσολαβούν στην εισβολή των τροφοβλαστών⁴⁰.

Ο PIGF αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των τροφοβλαστικών κυττάρων. Μειώνει επίσης, την απόπτωση των τροφοβλαστικών κυττάρων, όχι όμως όταν αυτά εκτίθενται σε φλεγμονώδεις κυτοκίνες. Αυτό μπορεί να εκδηλωθεί ως αυξημένα θραύσματα τροφοβλαστών που κυκλοφορούν σε περιπτώσεις ΠΕ, αλλά δεν είναι σαφής ο ακριβής ρόλος της μεσολαβούμενης από PIGF μείωσης της απόπτωσης στην ανάπτυξη του πλακούντα⁴⁰.

Σε μετα-ανάλυση, συμπεριλήφθηκαν 40 μελέτες με συνολικό αριθμό 92.687 εγκύων γυναικών, εκ των οποίων 3.189 εμφάνισαν ΠΕ και 89.498 γυναίκες παρέμειναν ασυμπτωματικές ως το πέρας της κύησης⁴¹. Υπήρξε σημαντική ετερογένεια στα αποτελέσματα. Έτσι, η ευαισθησία και η ειδικότητα κυμαίνονταν ευρέως από 7% έως 93% και από 51% έως 97%, αντίστοιχα. Οι τιμές "cut off" για το PIGF κυμαίνονταν από 41,84 έως 382,5 pg / mL.⁴¹

Η ευαισθησία αυξήθηκε σημαντικά (51% -67%), χωρίς αξιοσημείωτη μείωση της ειδικότητας (89% -83%), όταν η δοκιμή διεξήχθη στις ή μετά τις 14 εβδομάδες κύησης, σε σύγκριση με τις κύσεις στις οποίες η δοκιμή πραγματοποιήθηκε σε πιο πρώιμο στάδιο της κύησης. Όταν η δοκιμή γίνεται την ή μετά από 19 εβδομάδες κύησης, η ακρίβεια αυξήθηκε περαιτέρω. Κατόπιν τούτων, υπάρχει ολοένα αυξανόμενη τάση η δοκιμασία να διεξάγεται στο δεύτερο τρίμηνο της εγκυμοσύνης, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο καταλληλότερος χρόνος για την πρόβλεψη της ΠΕ είναι μετά την 14^η εβδομάδα. Η δοκιμασία στην ΕΟΡΕ αποτελεί ανώτερο δείκτη από ότι στην ΛΟΡΕ, επιδεικνύοντας καλύτερες επιδόσεις.

Σε μελέτη Πολυκεντρική μελέτη του 2019 με συμμετοχή 14.207 εγκύων, αποδείχθηκε ότι η μέτρηση της μέσης αρτηριακής πίεσης του πρώτου τριμήνου και του παράγοντα PIGF στο μητρικό ορό, αποτελούν δείκτες πρόγνωσης ΕΟΡΕ⁴².

Συνοψίζοντας, όλες οι άνωθι μελέτες καταδεικνύουν την αξία του παράγοντα PIGF ως προγνωστικό δείκτη για την εκδήλωση της ΠΕ. Παρόλο που η διάγνωση και η θεραπεία της νόσου θα πρέπει να βασίζεται στην εκδήλωση σημείων και συμπτωμάτων και όχι σε αποτελέσματα δοκιμών, η δοκιμή αυτή στην κλινική πράξη είναι πολύτιμη για τον εντοπισμό των συμπτωματικών γυναικών που θα αναπτύξουν ΠΕ με την πρόοδο της κύησης. Ως εκ τούτου, θα ωφεληθούν από τη στενή παρακολούθηση. Γυναίκες με φυσιολογικά επίπεδα του PIGF δεν είναι πιθανό να εκδηλώσουν ΠΕ, συνεπώς δεν απαιτείται περαιτέρω συστηματικός έλεγχος⁴³.

2.3.3 sFlt-1

Η **sFlt-1** (soluble FMS-like tyrosine kinase 1) είναι κινάση της τυροσίνης με αγγειογενετικές ιδιότητες. Ο παράγοντας sFlt-1 κωδικοποιείται από γονίδιο που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 13, για αυτό και έγκυες που κυοφορούν έμβρυο με τρισωμία 13, παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα sFlt-1 και έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΠΕ.

Τα επίπεδα του βιοδείκτη sFlt-1 είναι αυξημένα στον ορό των εγκύων με ΠΕ περίπου πέντε εβδομάδες πριν από την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων της επιπλοκής και σχετίζονται με την βαρύτητα των συμπτωμάτων. Επίσης, είναι σημαντικά υψηλότερα στην ΕΟΡΕ και παραμένουν υψηλά στην κυκλοφορία της εγκύου έως και την 33^η-36^η εβδομάδα της κύησης^{44, 45, 46}.

2.3.3.1 Λόγος sFlt-1 : PlGF

Τα τελευταία έτη εφαρμόζεται κι ο λόγος sFlt-1:PlGF. Ως γνωστό, στις γυναίκες που εκδηλώνουν ΠΕ τα επίπεδα των τιμών του sFlt-1 αυξάνονται, ενώ στον PlGF μειώνονται, ως αποτέλεσμα ο λόγος τους, επίσης, να αυξάνεται.

Ασθενείς που εμφανίζουν ΠΕ ή σύνδρομο HELLP πριν και μετά την 34^η εβδομάδα ο λόγος sFlt-1:PlGF>400 σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο κατά 3,35 φορές για άμεση διεκπεραίωση τοκετού. Ειδικότερα, στις κύσεις μικρότερες της 34^{ης} εβδομάδας ο λόγος sFlt-1 / PlGF>655,2 σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο κατά 2,69 φορές για άμεση διεκπεραίωση τοκετού, ενώ στις κύσεις ίσες ή μεγαλύτερες της 34^{ης} εβδομάδας ο λόγος sFlt-1 / PlGF>201 σχετίζεται με ένα 3,5 φορές αυξημένο κίνδυνο αντίστοιχα⁴⁷.

Ωστόσο, ο λόγος sFlt-1: PlGF>655 δεν αποτελεί αξιόπιστο δείκτη πρόβλεψης των περιγεννητικών επιπλοκών και των αποτελεσμάτων σε περιπτώσεις με κλινικά σημεία ΠΕ. Ένας εξαιρετικά υψηλός λόγος sFlt-1: PlGF>1000, ίσως αποδειχθεί πιο χρήσιμος.⁴⁸

Εξάλλου, συγκριτική μελέτη Πολυκεντρική μελέτη, που έλαβε χώρα στην Κίνα και συμμετείχαν 82 έγκυες γυναίκες εκ των οποίων οι 34 ήταν γυναίκες ελέγχου και οι 48 ασθενείς με ΠΕ. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ένας λόγος sFlt-1: PlGF>32, ανεξάρτητα από την ηλικία κύησης δύναται να χρησιμοποιηθεί ως "cut off". Όμως, έχει περιορισμένη διαγνωστική ακρίβεια για την πρόγνωση της ΛΟΡΕ. Συνεπώς, πολλαπλές τιμές "cut off", σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα της κύησης, πρέπει να εστιάζουν στην υψηλή ευαισθησία και στην υψηλή ειδικότητα, προκειμένου να ενισχύουν της απόδοση του λόγου sFlt-1:PlGF ως διαγνωστικού εργαλείου για την ΠΕ και να συμβάλλουν στην ταυτοποίηση των γυναικών που κινδυνεύουν από ΠΕ.⁴⁹

Τέλος, βιβλιογραφικά περιγράφεται η χρήση ενός μοντέλου, που περιλαμβάνει τον υπολογισμό του εκτιμώμενου σωματικού βάρους του εμβρύου και την αναλογία sFlt-1:PlGF, για την πρόγνωση του περιγεννητικού αποτελέσματος και της συνολικής επιβίωσης σε ΕΟΡΕ σε περιορισμένη ενδομήτρια ανάπτυξη. Το εκτιμώμενο σωματικό βάρος ήταν ένας σταθερός προγνωστικός δείκτης για όλα τα αποτελέσματα έκτος από την εκτιμώμενη ημερομηνία τοκετού, ενώ ο λόγος sFlt-1:PlGF ήταν σταθερός προγνωστικός παράγοντας για όλα τα αποτελέσματα, εκτός της νεογνικής νοσηρότητας. Ωστόσο, το συγκεκριμένο μοντέλο απαιτεί επικύρωση των συμπερασμάτων με τη συμμετοχή μεγαλύτερης πληθυσμιακής ομάδας, αλλά μπορεί να επιτρέψει τη λήψη τεκμηριωμένων αποφάσεων σχετικά με τη διαχείριση της κύησης.⁵⁰

Συνοψίζοντας, ο λόγος sFlt-1:PlGF δύναται να χρησιμοποιηθεί με ικανοποιητικά αποτελέσματα ως προγνωστικός δείκτης για την ΠΕ και κυρίως για την ΕΟΡΕ, την πιθανότητα άμεσης διεκπεραίωσης τοκετού και του περιγεννητικού αποτελέσματος. Όμως, περισσότερες μελέτες πρέπει να πραγματοποιηθούν, προκειμένου να οριστούν τα "cut off"

του λόγου, ανάλογα με το στάδιο της κύησης, για την επίτευξη της βέλτιστης ευαισθησίας και ειδικότητας.

2.3.4 VEGF

Ο αυξητικός παράγοντας αγγειακού ενδοθηλίου VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) αποτελεί υποδοχέα της κινάσης της τυροσίνης, με ενεργό ρόλο στην αγγειογένεση. Υψηλά επίπεδα VEGF έχουν παρατηρηθεί σε συνθήκες αυξημένης αγγειογένεσης όπως το αναπτυσσόμενο έμβρυο, ο πλακούντας και το ωχρό σωματίο καθώς και σε καρκινικούς όγκους. Στο ορό εγκύων υψηλού κινδύνου για την εκδήλωση ΠΕ αναφέρονται μειωμένα επίπεδα του παράγοντα VEGF³⁵.

2.3.5 Πλακουντιακή Πρωτεΐνη 13 (PP13)

Η Πλακουντιακή πρωτεΐνη 13 (PP13) ανήκει στην υπερικογενεία των γαλεκτινών και παράγεται αποκλειστικά στον πλακούντα. Ο ρόλος της στην κύηση αλλά και στον παθογενετικό μηχανισμό της ΠΕ είναι ασαφής. Παλαιότερες μελέτες αναφέρουν μειωμένα επίπεδα PP13 στο περιφερικό αίμα εγκύων, το 1^ο τρίμηνο της κύησης, που αργότερα ανέπτυξαν ΠΕ ενώ σε πρόσφατη μελέτη δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση των τιμών της πρωτεΐνης στον ορό γυναικών στην 11^η-13^η εβδομάδα με τον κίνδυνο εμφάνισης της επιπλοκής⁵¹.

2.3.6. sEng /PTX3/P-selectin/ inhibin-A / activin-A

Έχει διαπιστωθεί ότι η διαλυτή ενδογλίνη (soluble endoglin -sEng), η πεντραξίνη (PTX3), η ινχιπίνη-A (inhibin-A) και η ακτιβίνη-A (activin-A) μπορούν να βοηθήσουν στην πρόβλεψη κυήσεων υψηλού κινδύνου ΠΕ. Συγκεκριμένα κατά την 11^η -13^η εβδομάδα της κύησης η sEng, η PTX3, η inhibin-A και η activin-A παρουσιάζουν αυξημένες συγκεντρώσεις στο αίμα των εγκύων. Παρόλα αυτά δεν χρησιμοποιούνται ευρέως στην κλινική πράξη διότι έχουν χαμηλή ευαισθησία και ειδικότητα και θα πρέπει να γίνουν περαιτέρω έρευνες για να καταστεί δυνατή η χρήση τους στην κλινική πράξη⁵². Συγκεκριμένα:

- i. Η **sEng** είναι αντι-αγγειογεννητική πρωτεΐνη η οποία απελευθερώνεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις από πλακούντες σε συνθήκες υποξείας. Αυξημένες συγκεντρώσεις της διαλυτής ενδογλίνης έχουν βρεθεί στον ορό εγκύων κατά το 1^ο τρίμηνο της κύησης, που αργότερα εμφάνισαν LOPE. Όμως απαιτούνται κι άλλες μελέτες προκειμένου να αξιολογηθεί η δυνατότητα χρησιμοποίησης του δείκτη στην κλινική πράξη⁵³.
- ii. Η **PTX3** είναι δείκτης φλεγμονής που παράγεται από πολλά κύτταρα. Τα υψηλά επίπεδα στο αίμα συνδέονται με καθ' έξιν αποβολές, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι γυναίκες με ΠΕ και υψηλά επίπεδα PTX3 έχουν αυξημένο κίνδυνο αποβολής⁵⁴.
- iii. Η **ακτιβίνη-A** είναι γλυκοπρωτεϊνική ορμόνη η οποία παράγεται σε πολλούς ιστούς. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης η κύρια πηγή παραγωγής είναι ο πλακούντας. Έχει παρατηρηθεί ότι η ακτιβίνη-A αυξάνεται στη ΠΕ ειδικά στο 1^ο τρίμηνο της εγκυμοσύνης. Για την πρόβλεψη της ΠΕ είναι απαραίτητο να

γίνουν κι άλλες μελέτες και πρέπει να εκτιμάται σε συνδυασμό και με άλλους βιοδείκτες⁵².

- iv. Η **ινχιμπίνη-Α** είναι και αυτή μια γλυκοπρωτεϊνική ορμόνη η οποία παράγεται κυρίως από τον πλακούντα. Επίσης, παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα της στο αίμα της εγκύου με ΠΕ το 1^ο τρίμηνο της κύησης. Ο συγκεκριμένος βιοδείκτης όταν συνδυάζεται με τη μέτρηση UtA PI έχει αυξημένα ποσοστά επιτυχίας πρόβλεψης της ΠΕ⁵².

2.3.7 Ελεύθερο DNA στο πλάσμα εγκύου (cell free DNA-cfDNA)

Σε μελέτη των Parantoniou et al το 2013⁵⁵ βρέθηκε αυξημένη συγκέντρωση cfDNA στο πλάσμα εγκύων το 1^ο τρίμηνο της κύησης που αργότερα εμφάνισαν ΠΕ και πρότειναν το cfDNA ως δείκτη πρώιμης ανίχνευσης κινδύνου εμφάνισης ΠΕ. Αργότερα το 2016, οι Abdel Halim et al⁵⁶ επιβεβαίωσαν τα ανωτέρω ευρήματα και έδειξαν ότι ο συνδυασμός cfDNA, cffDNA και sEng παρουσιάζει ευαισθησία 81.2% για την ανίχνευση κυήσεων υψηλού κινδύνου για ΠΕ.

2.3.8 Λιπιδικοί δείκτες

Η χοληστερίνη, τα τριγλυκερίδια και τα φωσφολιπίδια αποτελούν λιπίδια του ανθρώπινου οργανισμού, που διασφαλίζουν τη μεταφορά τους στη συστηματική κυκλοφορία και τη διανομή στους ιστούς των λιπιδίων. Ανάλογα με το μέγεθός τους διακρίνονται σε 5 κατηγορίες: τα χυλομικρά, η πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL), ενδιάμεσης (IDL), χαμηλής (LDL) και υψηλής (HDL). Η μέτρηση της ολικής χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων, της LDL και της HDL αποτελούν τον αρχικό εργαστηριακό έλεγχο για όλες τις ομάδες του πληθυσμού. Οι γυναίκες κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης επαναλαμβάνουν τις παραπάνω μετρήσεις σε τακτά χρονικά διαστήματα⁵⁷.

Η **ολική χοληστερόλη (TC)** (Φυσιολογική Τιμή <200mg/dL), τα **τριγλυκερίδια (TG)** (ΦΤ <150 mg/dL) και η **LDL** (ΦΤ <100 mg/dL) παρουσιάζουν αυξημένη σε γυναίκες που έχουν εμφανίσει ΠΕ σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Αντιθέτως, η **HDL** (ΦΤ >60 mg/dL) παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση⁵⁸.

2.3.9 Γλυκόζη και Ινσουλίνη

Η γλυκόζη (Glu) αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας του οργανισμού. Σχηματίζεται από το μεταβολισμό των υδατανθράκων και τη μετατροπή του γλυκογόνου σε γλυκόζη στο ήπαρ. Η συγκέντρωση της στο αίμα διατηρείται σε στενά φυσιολογικά όρια, ρυθμιζόμενη κυρίως από την ινσουλίνη. Η γλυκοζυωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c) είναι αποτέλεσμα της συγκέντρωσης της γλυκόζης στην οποία εκτίθενται τα ερυθρά αιμοσφαίρια, μέσω μιας αργής μη ενζυματικής διαδικασίας, που συμβαίνει κατά τη διάρκεια των 120 ημερών της ζωής τους. Τέλος, η ινσουλίνη έχει συσχετιστεί με τη ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης και τη χρησιμοποίησή της ως κύριο καύσιμο του οργανισμού, με παράλληλη διατήρηση των εφεδρικών ενεργειακών του αποθεμάτων. Η έκκριση της ινσουλίνης επηρεάζεται από τη συγκέντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα μετά από ένα γεύμα⁵⁶.

Έχει βρεθεί ότι η **γλυκόζη** (ΦΤ <100mg/dL) και η **ινσουλίνη** (ΦΤ 0-17 μIU/mL) είναι υψηλότερη στον ορό των γυναικών με ΠΕ κατά την εγκυμοσύνη σε σχέση με γυναίκες που διανύουν μια υγιή εγκυμοσύνη. Παρόλα αυτά η **HbA1c** (ΦΤ <5.7%) φαίνεται να μην επηρεάζεται, καθώς η τιμή της δεν αλλάζει⁵⁶.

2.3.10 Λοιποί βιοχημικοί δείκτες

Η κρεατινίνη (CREA) είναι ένα μεταβολικό προϊόν της φωσφοκρεατίνης των γραμμωτών μυών και μέρος της απορροφάται και από την πέψη του κρέατος της τροφής. (ΦΤ γυναικών 0.6-1.1 mg/dL). Οι αμινοτρανσφεράσες ή τρανσαμινάσες είναι βιοχημικές εξετάσεις που περιλαμβάνονται στη διαφορική διάγνωση των νόσων του ηπατοχολικού συστήματος και του παγκρέατος. Ανάμεσα σε αυτές είναι δύο τρανσαμινάσες, η οξαλική (SGOT ή AST) και η πυροσταφυλική (SGPT ή ALT), (ALT: ΦΤ Γυναίκες: 7-30 IU/L και AST: ΦΤ Γυναίκες: 9-32 IU/L). Η Γαλακτική δεϋδρογονάση (LDH) είναι μεταλλοένζυμο κατανεμημένο σε ολόκληρο σχεδόν το σώμα. Λαμβάνει μέρος στην αναερόβια οξείδωση της γλυκόζης. (ΦΤ 140–280 U/L). Ο χρόνος προθρομβίνης (PT) (ΦΤ 11.0-13.0 sec) είναι από τις πιο σημαντικές εξετάσεις διερεύνησης προβλημάτων αιμόστασης. Άλλες εργαστηριακές εξετάσεις που χρησιμεύουν στην διερεύνηση των διαταραχών της αιμόστασης είναι και τα προϊόντα αποδομής ινωδογόνου. Τέλος, η C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) είναι από τις κυριότερες πρωτεΐνες οξείας φάσης που συνθέτει ο οργανισμός μας όταν βρίσκεται αντιμέτωπος με μια φλεγμονώδη κατάσταση. (ΦΤ <5 mg/L)⁵⁶.

Έρευνες έχουν δείξει ότι η **κρεατινίνη**, η **ALT**, η **AST**, η **LDH**, το **ινωδογόνο** και η **CRP** ανιχνεύονται με αυξημένες συγκεντρώσεις στον ορό των γυναικών που πάσχουν από ΠΕ κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης τους σε σχέση πάντα με γυναίκες που διανύουν μια υγιή εγκυμοσύνη. Αντιθέτως, ο **χρόνος προθρομβίνης** ανιχνεύεται σε χαμηλή συγκέντρωση^{56, 59, 60}.

Επιπρόσθετα, να σημειωθεί ότι το **ουρικό οξύ** δεν είναι διαγνωστικό κριτήριο για την ΠΕ, όμως αυξημένες τιμές στο ορό των εγκύων έχει συσχετιστεί με δυσμενή πρόγνωση⁶¹.

2.4 ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΥ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΠΡΩΤΕΩΜΙΚΗΣ

2.4.1 ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΥ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΠΡΩΤΕΩΜΙΚΗΣ

Μετά τη χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος το ερευνητικό ενδιαφέρον για την ανίχνευση βιοδεικτών έχει στραφεί στη χρήση των μεθόδων πρωτεωμικής που στηρίζονται στη φασματογραφία μάζας. Η πρωτεωμική συμπληρώνει τη γενωμική στη μελέτη των βιολογικών συστημάτων και έχει τη δυνατότητα να συμβάλλει στη ταυτοποίηση βιοδεικτών που σχετίζονται με συγκεκριμένα νοσήματα και στη διευκρίνιση παθογενετικών μηχανισμών. Η πρωτεωμική έχει χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη επιπλοκών της κύησης και την ανίχνευση βιοδεικτών με ανάλυση περιφερικού αίματος, τραχηλικών επιχρισμάτων, αμνιακού υγρού και τροφοβλαστικών κυττάρων. Παρ' ότι τα ευρήματα των μελετών αυτών πρέπει να αξιολογηθούν σε ευρείας κλίμακας πολυκεντρικές μελέτες, φαίνεται ότι η πρωτεωμική είναι ένα ισχυρό όπλο για την ανίχνευση βιοδεικτών που συνδέονται άμεσα με την πιθανότητα εμφάνισης ΠΕ.

Οι ερευνητές Blankley et al⁶² το 2013 κατόρθωσαν να προσδιορίσουν 113 πρωτεΐνες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για την ΠΕ το 2^ο τρίμηνο της κύησης. Αργότερα το 2015 οι Kim et al⁶³ χρησιμοποιώντας δείγματα αίματος από 13 γυναίκες στη 16^η εβδομάδα της κύησης που αργότερα εμφάνισαν ΠΕ, ανίχνευσαν 38 πρωτεΐνες με διαφορετική συγκέντρωση από ότι σε υγιής κύησης. Μεταξύ αυτών η πρωτεΐνη **C1s subcomponent** (C1S) και η πρωτεΐνη **AMBP** (Alpha-1-microglobulin/bikunin precursor) βρέθηκαν υπερεκφρασμένες⁶⁴.

Σε μελέτη των Kolialexi et al 2014⁶⁵ αναλύθηκαν τα επίπεδα Cystatin-C, VCAM-1 (vascular cell adhesion protein-1) και Pappalysin-A στον ορό των εγκύων το 1^ο τρίμηνο της κύησης που στη συνέχεια ανέπτυξαν ΠΕ. Τα ευρήματα έδειξαν ότι τα επίπεδα της VCAM-1 αυξήθηκαν σε περιπτώσεις με ΠΕ. Αντιθέτως, τα επίπεδα της Pappalysin-A μειώθηκαν στον ορό γυναικών με ΕΟΡΕ, παρόλα αυτά η κλινική χρησιμότητα αυτού του δείκτη παραμένει αναξίοπιστα. Τέλος, διαπίστωσαν ότι η Cystatin-C μπορεί να αποτελέσει αξιόπιστο δείκτη στο 1^ο τρίμηνο της εγκυμοσύνης. Η Cystatin-C είναι αναστολέας πρωτεάσης και αυξημένα επίπεδα της αποδίδεται σε αυξημένη παραγωγή της από τον πλακούντα. Δεδομένου ότι η ΠΕ είναι μια πολυσυστηματική επιπλοκή της κύησης οι δείκτες αυτοί δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεμονωμένα για τον εντοπισμό γυναικών που διατρέχουν κίνδυνο εμφάνισης ΕΟΡΕ, και απαιτείται συνδυασμός των βιοδεικτών.

Πρωτεΐνες στα ούρα

Η ΠΕ έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση σπειραματικής ενδοθηλίωσης στα νεφρά της εγκύου, δημιουργώντας έναν διευρυμένο σπειραματικό όγκο με διόγκωση των ενδοθηλιακών κυττάρων και την απόφραξη των τριχοειδών αυλών. Αυτές οι αλλοιώσεις, οι οποίες είναι μοναδικές για την ΠΕ, έχουν ως αποτέλεσμα πρωτεϊνουρία σημαντικής

σημασίας για την πρόβλεψη της διαταραχής. Επιπλέον, τα ούρα είναι ένα βιολογικό υγρό που μπορεί να ληφθεί μη επεμβατικά.

Οι Buhimschi et al⁶⁶ το 2008, μελέτησαν τις πρωτεΐνες στα ούρα εγκύων και τακτοποίησαν δύο πρωτεΐνες με διαφοροποιημένη έκφραση στη ΠΕ σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, τον αναστολέα πεπτιδάσης Serpin (**SERPINA 1**: serpin peptidase inhibitor 1) και θραύσμα αλβουμίνης. Ο πρώτος βιοδείκτης εμπλέκεται στην αναστολή της ελαστάσης των ουδετεροφίλων, της παγκρεατικής ελαστάσης και της τρυψίνης ενώ διαφοροποιεί την νόσο σε ήπια ή σοβαρή. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η SERPINA 1 ενώ υπερεκφράζεται στα ούρα εγκύων με ΠΕ, είναι μειωμένη σε εγκύους με υπέρταση κύησης. Αυτό υποδηλώνει ότι ο βιοδείκτης αυτός μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την διαφοροποίηση των υπερτασικών διαταραχών κατά την εγκυμοσύνη⁶⁷. Έκτοτε έχουν πραγματοποιηθεί κι άλλες μελέτες στις οποίες έχουν βρεθεί άλλοι τέσσερις βιοδείκτες που διαφοροποιούν την βαριά από την ήπια ΠΕ⁶⁸ και πενήντα πεπτιδία που βοηθούν στην ανίχνευση της διαταραχής⁶⁹. Μεταξύ των βιοδεικτών αυτών είναι τα α-αλυσίδα ινωδογόνου (fibrinogen alpha chain), α-αλυσίδα κολλαγόνου (collagen alpha chain) και τα θραύσματα uromodulin.

2.5 ΈΛΕΓΧΟΣ ΔΙΑΛΟΓΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΠΕ

Δεν υπάρχει ακόμη, ομοφωνία στην παγκόσμια επιστημονική κοινότητα για μία κοινή εξέταση διαλογής και πρόβλεψης της ΠΕ. Σύμφωνα με το Αμερικάνικο Κολέγιο Μαιευτήρων Γυναικολόγων (ACOG) (Committee Opinion 2015)⁷⁰ δε συνιστάται κάποια εξειδικευμένη εξέταση για την πρόγνωση της ΠΕ πέρα από την λήψη κατάλληλου ιατρικού ιστορικού για την αναγνώριση κι εκτίμηση των παραγόντων κινδύνου. Οποιοδήποτε όφελος προκύπτει από την προσθήκη βιοφυσικών δοκιμασιών, συμπεριλαμβανομένων του ελέγχου UtPI και τη μέτρηση δεικτών στο μητρικό ορό, σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου, θα πρέπει πρώτα να δικαιολογήσει το επιπλέον κόστος και τις δυσμενείς επιπτώσεις της αναγνώρισης των γυναικών ως υψηλού κινδύνου εκδήλωσης ΠΕ, συμπεριλαμβανομένων του γονικού άγχους, της αυξημένης συχνότητας προγεννητικών εξετάσεων και τις πρόσθετες δοκιμές επιτήρησης.

Στον αντίποδα αυτής της θεώρησης το Fetal Medicine Foundation⁷¹ έχει προχωρήσει στη δημιουργία μοντέλων, με τα οποία εκτιμάται ο κίνδυνος για εκδήλωση ΠΕ σε κάθε έγκυο γυναίκα στο πρώτο τρίμηνο της κύησης. Τα μοντέλα αυτά χρησιμοποιούν σωματομετρικά χαρακτηριστικά της εγκύου, στοιχεία από το ιστορικό της, επίπεδα MAP, μετρήσεις UtPI και βιοδείκτες στο μητρικό ορό, τα οποία μέσω ενός σύνθετου αλγορίθμου υπολογίζουν το κίνδυνο για την εκδήλωση της νόσου (πίνακας 3).

Η πρόβλεψη εκδήλωσης της νόσου, εφαρμόζοντας το συγκεκριμένο αλγόριθμο, στην EOPF φτάνει το 76%. Ανάλογα ήταν και τα αποτελέσματα μίας μεγάλης πολυκεντρικής μελέτης της ASPRE⁷², στην οποία ο πληθυσμός της μελέτης 25.797 κυήσεων, περιλάμβανε 180 (0,7%) περιπτώσεις EOPF, 450 (1,7%) LOPE και 25.167 (97,6%) ανεπίπλεκτες κυήσεις. Στη συνδυασμένη εξέταση πρώτου τριμήνου, που περιλάμβανε το ιστορικό των εγκύων, τη MAP, βιοφυσικούς και βιοχημικούς δείκτες ανιχνεύθηκαν το 76,6% των περιπτώσεων EOPF και το 38,3% των περιπτώσεων LOPE. Εξάλλου, αυτό επιβεβαιώνεται κι από την πρόσφατη πολυκεντρική μελέτη των Chaemsaitong et al⁷³, σύμφωνα με την οποία, χρησιμοποιώντας τη συνδυασμένη εξέταση πρώτου τριμήνου το ποσοστό πρόγνωσης της EOPF ανέρχεται στο

75,8%, ενώ ακολουθώντας τις οδηγίες του ACOG το αντίστοιχο ποσοστό περιορίστηκε στο 54,6%.

Συνοψίζοντας τα άνωθι, η καλύτερη συνδυασμένη εξέταση είναι αυτή που περιλαμβάνει τους μητρικούς παράγοντες κινδύνου, τις μετρήσεις της MAP, το PIGF και την UtPI. Όταν δεν είναι εφικτή η μέτρηση του PIGF και / ή της UtPI, ο βασικός έλεγχος θα πρέπει να είναι ένας συνδυασμός μητρικών παραγόντων κινδύνου με τη MAP και όχι μόνο οι παράγοντες κινδύνου και το ιστορικό της μητέρας. Εάν η πρωτεΐνη PAPP-A που σχετίζεται με την εγκυμοσύνη του μητρικού ορού μετριέται στα πλαίσια του προγεννητικού ελέγχου του πρώτου τριμήνου για εμβρυϊκές ανευπλοειδίες, το αποτέλεσμα δύναται να συμπεριληφθεί για την εκτίμηση κινδύνου ΠΕ. Μια γυναίκα θεωρείται υψηλού κινδύνου όταν ο κίνδυνος είναι 1% ή περισσότερος βάσει της συνδυασμένης δοκιμής του πρώτου τριμήνου με τους μητρικούς παράγοντες κινδύνους, τη μέτρηση της MAP, της UtPI και του PIGF στο μητρικό ορό. Ωστόσο, όταν οι οικονομικοί πόροι είναι περιορισμένοι, συνίσταται ο έλεγχος ρουτίνας για ΕΟΡΕ από μητρικούς παράγοντες και η μέτρηση της MAP σε όλες τις κύσεις και επιπλέον, οι μετρήσεις του PIGF και της UtPI για μια υποομάδα του πληθυσμού (επιλεγμένη με βάση τον κίνδυνο που προκύπτει από τους μητρικούς παράγοντες και τη MAP)¹.

Μετά τη συνδυασμένη εξέταση του πρώτου τριμήνου για ΕΟΡΕ, οι γυναίκες που εντοπίζονται με υψηλό κίνδυνο θα πρέπει να λαμβάνουν προφύλαξη με ασπιρίνη, που αρχίζει στις 11-14 + 6 εβδομάδες κύησης σε δοσολογία των 150 mg, που λαμβάνεται κάθε βράδυ μέχρι τις 36 εβδομάδες κύησης, όταν λάβει χώρα ο τοκετός, ή όταν διαγνωσθεί με ΠΕ. Η χαμηλή δόση ασπιρίνης δεν πρέπει να χορηγείται σε όλες τις έγκυες γυναίκες, ανεξαρτήτως κινδύνου. Σε γυναίκες με χαμηλή πρόσληψη ασβεστίου (<800 mg / d), είτε η αντικατάσταση του ασβεστίου (≤1 g στοιχειακού ασβεστίου / d) είτε η συμπλήρωση του ασβεστίου (1,5-2 g στοιχειακού ασβεστίου / d) μπορεί να ελαττώσουν τη βαρύτητα, τόσο της ΕΟΡΕ όσο και της ΛΟΡΕ.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Πρόγραμμα για την εκτίμηση του κινδύνου ΠΕ (The Fetal Medicine Foundation)⁷⁰.

Χαρακτηριστικά μητέρας
Ηλικία Ύψος Βάρος Φυλή Μέθοδος σύλληψης Κάπνισμα στην κύηση Ιστορικό ΠΕ
Ηλικία κύησης
Ιατρικό ιστορικό
Χρόνια υπέρταση Σακχαρώδης διαβήτης τύπου I Σακχαρώδης διαβήτης τύπου II Συστηματικός ερυθηματώσης λύκος Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο

Μαιευτικό ιστορικό
Πρωτοτοκία Πολυτοκία
Βιοφυσικοί δείκτες
ΜΑΡ UtPI
Βιοχημικοί δείκτες
PAPP-A PIGF

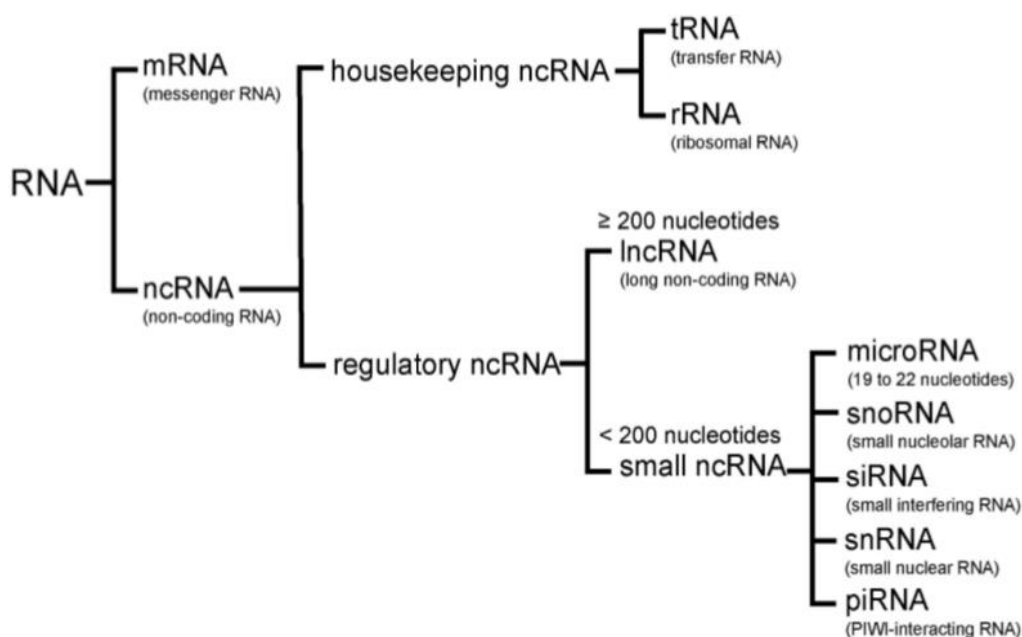
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΝΕΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

microRNAs/miRNAs

3.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Τα **MicroRNAs** ή **miRNAs** είναι μικρά ενδογενή μονοκλωνικά μόρια RNA της οικογένειας των small non coding RNA (μικρών μη-κωδικών RNA- small ncRNA). Εντοπίζονται στα ευκαρυωτικά κύτταρα και ρυθμίζουν μεταγραφικά την έκφραση διαφόρων γονιδίων – στόχων. Το 1993, το πρώτο miRNA, το lin-4, το οποίο αποτελούνταν από 22 νουκλεοτιδία, βρέθηκε να ρυθμίζει τον χρόνο της μετα-εμβρυονικής ανάπτυξης με καταστολή της έκφρασης της πρωτεΐνης lin-14 στο νηματώδη σκώληκα *Caenorhabditis elegans*. Το δεύτερο miRNA που ανακαλύφθηκε, το let-7, εντοπίστηκε επίσης στα νηματώδη. Και τα δύο miRNAs διαπιστώθηκε ότι λειτουργούσαν με παρόμοιο τρόπο, συνδέοντας με μερική συμπληρωματικότητα την 3'-αμετάφραστη περιοχή(UTR) των γονιδίων στόχων τους^{74,75}.



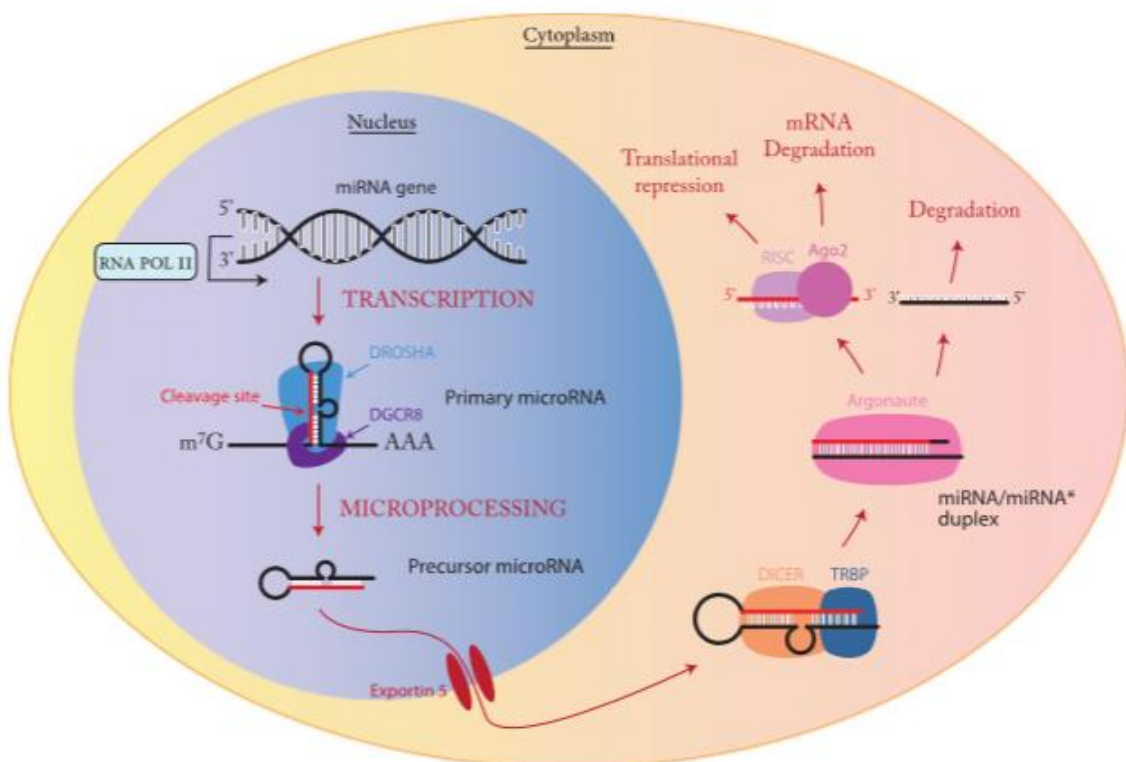
ΕΙΚΟΝΑ 5: Αναλυτικά η οικογένεια των RNAs⁷⁶.

Τα **miRNA** αποτελούνται από μονόκλωνες μικρές αλληλουχίες RNA τελικού μήκους περίπου 19 με 22 νουκλεοτιδίων, 50 φωσφοδιεστερικούς δεσμούς και 30 υδροξυλομάδες. Δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες, στοχεύοντας σε αλληλουχίες της 3' αμετάφραστης περιοχής (3'UTR) των γονιδίων. Έχουν εκτιμηθεί περίπου 1.900 μέλη miRNA στο γονιδίωμα του

ανθρώπου (σύμφωνα με την λίστα του miRBase του πανεπιστημίου Manchester)⁷⁷, η οποία συνεχώς αυξάνεται. Τα miRNAs ελέγχουν την έκφραση ή την καταστολή άλλων γονιδίων κατά την ανάπτυξή τους και ρυθμίζουν την έκφραση και την μετάφραση πολλών περιοχών στο γονιδίωμα του ανθρώπου έχοντας την δυνατότητα να προσδένονται σε έως και 200 γονίδια. Υπολογίζεται ότι πάνω από το 30% των ανθρωπίνων γονιδίων ρυθμίζεται από miRNAs. Υπάρχουν ορισμένοι παράγοντες που ρυθμίζουν την έκφραση των miRNAs, για παράδειγμα οι μεταγραφικοί παράγοντες, οι Πολυμορφισμοί (SNPs), οι χρωμοσωμικές ανακατατάξεις και η μεθυλίωση του DNA⁷⁴.

ΒΙΟΓΕΝΕΣΗ

Αρχικά, το μόριο που παράγεται είναι ένα πρόδρομο μόριο RNA μεγαλύτερου μήκους (>100bp), που ονομάζεται pri-miRNA. Στην συνέχεια, το ένζυμο Drosha με δράση νουκλεάσης RNase III, κόβει το pri-miRNA και παράγεται το pre-miRNA μήκους περίπου 70 νουκλεοτιδίων. Το pre-miRNA εξέρχεται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα. Στο κυτταρόπλασμα, το pre-miRNA υφιστάμενο της δράσης του ενζύμου Dicer μετατρέπεται σε miRNA μήκους περίπου 22 νουκλεοτιδίων. Η Dicer ανήκει στις RNase III και δρα ως ενδοριβονουκλεάση, παράγοντας το δίκλωνο miRNA. Τέλος, το δίκλωνο miRNA αλληλοεπιδρά με το σύμπλοκο RISC και μετατρέπεται στην τελική ενεργή μορφή του ως μονόκλωνο miRNA, το οποίο είναι συμπληρωματικό ως προς το mRNA του γονιδίου-στόχου^{74,75}.



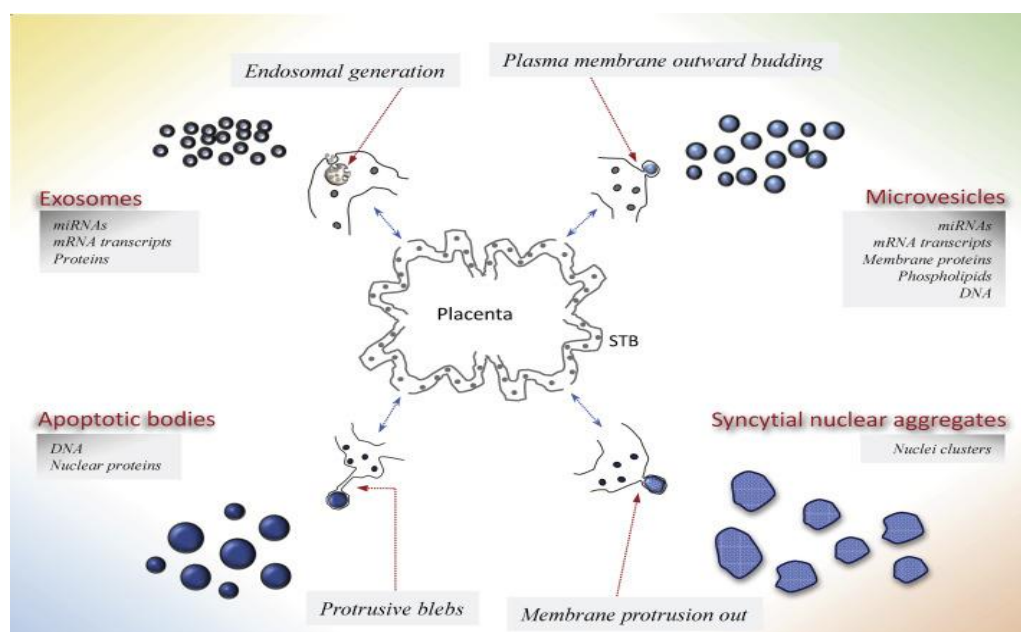
ΕΙΚΟΝΑ 6: Η βιογένεση των miRNAs⁷⁴.

3.2. Ονοματολογία

Προτού ξεκινήσουμε την ανάλυση των miRNAs, είναι σκόπιμο να αναλύσουμε τον τρόπο με τον οποίο συμβολίζονται τα miRNA. Ένα **πρόδρομο microRNA** (precursor miRNA ή pre-miRNA) συμβολίζεται με το πρόθεμα “**mir**” το οποίο ακολουθείται από μία παύλα και έναν αριθμό, με τον τελευταίο να υποδεικνύει τη χρονική σειρά της ονομασίας του. Παραδείγματος χάριν, το mir-123 έχει ονομαστεί και είναι πιθανό να έχει ανακαλυφθεί πριν από το mir-456. Ένα **ώριμο miRNA** συμβολίζεται με το πρόθεμα “**miR**”. Τα miRNAs με σχεδόν ταυτόσημες ακολουθίες πλην ενός ή δύο νουκλεοτιδίων συμβολίζονται με ένα επιπλέον πεζό γράμμα, π.χ. miR-133a και miR-133b. Τα πρόδρομα miRNAs από τα οποία προκύπτουν ταυτόσημα miRNAs αλλά εντοπίζονται σε διαφορετικές τοποθεσίες του γονιδιώματος συμβολίζονται με μία παύλα και ένα αριθμητικό επίθεμα επιπλέον. Για παράδειγμα, τα miRNAs hsa-mir-133a-1 και hsa-mir-133a-2 παράγουν και τα δύο το hsa-miR133a miRNA. Το είδος προέλευσης του miRNA συμβολίζεται με ένα πρόθεμα τριών γραμμάτων. Π.χ. το hsa-miR-133a είναι ένα ανθρώπινο miRNA. Δύο miRNAs που προέρχονται από τα αντίθετα άκρα του ίδιου pre-miRNA συμβολίζονται επιπροσθέτως με τα επιθέματα 3p και 5p⁷⁸.

3.3 Η παρουσία των miRNAs στα βιολογικά υγρά

Ένας σημαντικός αριθμός miRNAs απελευθερώνονται από τα κύτταρα και ανιχνεύονται στον εξωκυττάριο χώρο, σε διάφορους τύπους βιολογικών υγρών, στα οποία συμπεριλαμβάνονται ο ορός, το πλάσμα, τα ούρα και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Τα miRNA αυτά, γνωστά ως ελεύθερα ή κυκλοφορούντα miRNAs, μπορούν να αναγνωρισθούν, να προσληφθούν και να χρησιμοποιηθούν από ένα άλλο κύτταρο. Αυτά τα miRNAs εμφανίζουν συγκεκριμένο πρότυπο έκφρασης μεταξύ διαφορετικών τύπων βιολογικών υγρών που σχετίζεται άμεσα με διάφορες παθολογικές καταστάσεις⁷⁴.



ΕΙΚΟΝΑ 7: Μηχανισμός έκκρισης και μεταφοράς των miRNAs σε βιολογικά υγρά⁷⁴.

3.4. Τα miRNAs ως υποψήφιοι βιοδείκτες

Τα microRNAs είναι γνωστά ως δυνητικοί βιοδείκτες, αφού είναι βιομόρια τα οποία εκτελούν σημαντικές λειτουργίες σε υγιή ή/και μη κύτταρα. Συμμετέχουν στην επικοινωνία των κυττάρων και εντοπίζονται στον οργανισμό στο εσωτερικό αυτών κατά τη σύνδεση τους με mRNA στόχους και στη ρύθμιση της έκφρασης του. Δημοσιευμένες μελέτες καταδεικνύουν ότι η απορρύθμιση του προτύπου έκφρασης του miRNA σχετίζεται με σοβαρές ασθένειες του ανθρώπου όπως ο καρκίνος, νευρολογικές διαταραχές, καρδιαγγειακές διαταραχές, διαβήτης, ανοσοποιητικές διαταραχές και επιπλοκές της κύησης. Σε αντίθεση με το mRNA, τα miRNAs εντοπίζονται στα υγρά και τους ιστούς του σώματος, όπως στον ορό του αίματος, στο αρθρικό υγρό, στον πλακούντα κλπ, αποτελώντας έτσι βιομόριο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για διάφορα νοσήματα, όπως και την ΠΕ^{74,76}.

Τα ελεύθερα miRNAs διαθέτουν ορισμένα βασικά χαρακτηριστικά από αυτά που απαιτούνται να έχει ένα μόριο για να αξιοποιηθεί ως βιοδείκτης. Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι τα εξής:

- i. είναι σταθερά και ανθεκτικά μόρια και εντοπίζονται στο πλάσμα και τον ορό (καθώς και σε άλλα βιολογικά υγρά)
- ii. η απόκτηση του υλικού πραγματοποιείται με μη επεμβατικές μεθόδους
- iii. οι αλληλουχίες των περισσοτέρων miRNAs είναι συντηρημένες μεταξύ διαφορετικών ειδών
- iv. η έκφραση ορισμένων miRNAs είναι ειδική ως προς τα κύτταρα ή τους ιστούς από τα οποία προέρχονται και η αλλαγή των επιπέδων έκφρασής τους στην κυκλοφορία αντανακλά διάφορες βιολογικές ή παθολογικές καταστάσεις
- v. τα επίπεδα έκφρασής τους ανιχνεύονται με ποικίλες μεθόδους σχετικά εύκολα χωρίς να απαιτείται ειδικός εργαστηριακός εξοπλισμός⁷⁴.

Τα τελευταία χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες για την διερεύνηση του προτύπου έκφρασης των miRNAs στους ιστούς και βιολογικά υγρά ασθενών και φυσιολογικών ατόμων με αρκετά ενθαρρυντικά ευρήματα. Οι έρευνες στοχεύουν στην διαφοροποιημένη έκφραση των miRNAs σε ασθενείς με καρκίνο ενώ σταδιακά στρέφονται σε άλλες παθολογικές καταστάσεις όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα αλλά και επιπλοκές της κύησης. Οι ερευνητικές μελέτες όσον αφορά την ΠΕ είναι σχετικά λίγες και περιορίζονται σε μικρό αριθμό δειγμάτων, ωστόσο είναι πολλά υποσχόμενες⁷⁴.

Τα μικροσκοπικά miRNAs λειτουργούν ως σημαντικοί ρυθμιστές γονιδίων για τον έλεγχο διαφόρων φυσιολογικών διαδικασιών, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης του πλακούντα. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης εμπλέκονται σε ένα ευρύ φάσμα διαδικασιών, όπως στην προετοιμασία του ενδομητρίου για εμφύτευση, στην ρύθμιση των γονιδίων που σχετίζονται με την ανοσολογική απόκριση, στην ανάπτυξη του πλακούντα και στην αγγειογένεση. Τα υψηλά επίπεδα πλακουντιακών RNA και DNA στο πλάσμα της γυναίκας σχετίζονται με διαταραχές λειτουργίας του πλακούντα, όπως η ΠΕ. Στον ορό η έκφραση των miRNAs αλλάζει ανάλογα με την κατάσταση του πλακούντα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης^{79, 80}.

Είναι σκόπιμο λοιπόν σε αυτή την εργασία να αναπτυχθούν miRNAs τα οποία έχουν βρεθεί ότι σχετίζονται με το σύνδρομο της ΠΕ και να αναλυθεί η έκφραση τους σε σχέση με αυτή, ώστε να αξιολογηθεί κατά πόσο μπορούν να βοηθήσουν στην πρόβλεψη της επιπλοκής.

3.5 Μέθοδοι ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης των miRNAs

Χρησιμοποιούνται διάφοροι τρόποι για την ταυτοποίηση και τη ποσοτικοποίηση των miRNAs όπως κλωνοποίηση από cDNA, ευθεία γενετική διαλογή (forward genetic screen), υπολογιστικοί αλγόριθμοι οι οποίοι με βάση τη δομή προβλέπουν miRNAs στο γονιδίωμα, η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης αντίστροφης μεταγραφής μερικής ποσοτικοποίησης (RT-qPCR), η τεχνολογία cDNA μικροσυστοιχιών και η μαζική παράλληλη αλληλούχηση (Deep sequencing-miSeq).

Η μέθοδος RT-qPCR παρουσιάζει αυξημένη ευαισθησία και αξιοπιστία για τη μελέτη συγκεκριμένων αλληλουχιών⁸¹. Για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται ευρέως για την επιβεβαίωση αποτελεσμάτων που έχουν προέλθει από τη χρήση τεχνικών μαζικής ανάλυσης των miRNA, όπως οι μικροσυστοιχίες και η τεχνολογία miSeq. Αποτελεί μια τροποποιημένη μορφή της αλυσιδωτής αντίδρασης, κατά την οποία αρχικά πραγματοποιείται η σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας DNA (complementary DNA - cDNA) έχοντας ως εκμαγείο την αλληλουχία RNA. Η αντίδραση πραγματοποιείται από το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση, τα dNTPs και ειδικούς εκκινητές (primers) για τις υπό μελέτη αλληλουχίες.

Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών εκμεταλλεύεται την αρχή της συμπληρωματικότητας μεταξύ νουκλεϊκών οξέων DNA-DNA ή DNA-RNA κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας και τη χρήση φθορίζουσων ουσιών⁸¹. Οι cDNA μικροσυστοιχίες ουσιαστικά είναι μια διάταξη χιλιάδων μικροσκοπικών σημείων που αντιπροσωπεύουν DNA αλληλουχίες με τη μορφή ολιγονουκλεοτιδίων που ονομάζονται ανιχνευτές (probes) που ακινητοποιούνται με ομοιοπολικούς δεσμούς σε μία στερεή επιφάνεια και μπορούν να υβριδοποιηθούν με cDNA ή RNA δείγματα. Η ανίχνευση και η ποσοτικοποίηση του υβριδισμού πραγματοποιείται με τη χρήση φθορισμού και ειδικά σχεδιασμένων συστημάτων βιοπληροφορικής.

Την τελευταία δεκαετία η τεχνολογία της μαζικής παράλληλης αλληλούχησης miSeq η οποία επιτρέπει την ταυτόχρονη αλληλούχηση εκατομμυρίων μορίων RNA χρησιμοποιείται για τη μελέτη του προτύπου έκφρασης των miRNAs σε ιστούς και βιολογικά υγρά⁸². Συγκρινόμενη με τις μικροσυστοιχίες, η τεχνική miSeq παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία και ακρίβεια, μπορεί και ανιχνεύει ακόμη και μόρια που εκφράζονται σε χαμηλά επίπεδα και να αποκαλύπτει νέα miRNAs που δεν είναι καταχωρημένα στις βάσεις δεδομένων⁸².

3.6 Ο ρόλος των miRNAs στην ΠΕ

Την τελευταία δεκαετία έχει δημοσιευθεί σημαντικός αριθμός ερευνητικών εργασιών, οι οποίες αποσκοπούν στη μελέτη του προτύπου έκφρασης των miRNAs σε ιστούς

και βιολογικά υγρά ασθενών και υγιή ατόμων με αρκετά ενθαρρυντικά ευρήματα, με τις ερευνητικές προσπάθειες να εντοπίζονται στη διερεύνηση της διαφοροποιημένης έκφρασης των miRNAs σε ασθενείς με καρκίνο ενώ σταδιακά η έρευνα έχει αρχίσει να στρέφεται σε όλο και περισσότερες παθολογικές καταστάσεις όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και οι επιπλοκές της κύησης^{83 84 85}.

Οι ερευνητικές μελέτες όσον αφορά τη ΠΕ είναι σχετικά λίγες και περιορίζονται σε μικρό αριθμό δειγμάτων, ωστόσο είναι πολλά υποσχόμενες.

3.7 Μελέτη του προτύπου έκφρασης των miRNAs σε υλικό βιοψίας πλακούντα

Λόγω του κεντρικού ρόλου που διαδραματίζει ο πλακούντας στην παθογένεση της ΠΕ, αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει την έκφραση των miRNAs σε υλικό βιοψίας πλακούντα και έχουν οδηγήσει στη ταυτοποίηση ενός σημαντικού αριθμού miRNAs με διαφοροποιημένη έκφραση σε κυήσεις με την επιπλοκή. Παρακάτω θα αναφερθούν miRNAs που εξετάζονται σε δείγματα πλακούντα.

3.7.1 miR-431

Το **miR-431** έχει συνδεθεί με την ανάπτυξη των αγγείων του πλακούντα. Στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα έχει τη δυνατότητα να εμποδίζει την ανάπτυξη του καρκινώματος στοχεύοντας στην έκφραση της πρωτεΐνης ZEB1 (Zinc finger E-box-binding homeobox 1), όπου είναι η σημαντικότερη λειτουργία του. Ωστόσο, η αλληλεπίδραση μεταξύ των **miR-431**, **ZEB-1** και **ΠΕ** δεν είναι πλήρως γνωστή. Στην έρευνα των Xiuhua Yang et al (2018)⁸⁶, η έκφραση του **miR-431** αυξήθηκε στους πλακούντες με ΠΕ. Επιπροσθέτως, το miR-431 ανέστειλε τη μετανάστευση, αλλά και την εισβολή των τροφοβλαστικών κυττάρων. Επίσης, ανέστειλε την έκφραση της ZEB1 πρωτεΐνης και την μεταεγχυματική μετάπτωση του επιθηλίου (EMT) εντός των τροφοβλαστικών κυττάρων, γεγονός τα οποία μπορούν να προκαλέσουν την εμφάνιση της ΠΕ.

Στην έρευνα αυτή εξετάστηκαν ιστοί από τους πλακούντες εξήντα (60) γυναικών που υπεβλήθησαν σε καισαρική τομή, εκ των οποίων οι τριάντα (30) είχαν διαγνωστεί με ΠΕ. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι σε σύγκριση με τις γυναίκες που διένυαν φυσιολογική κύηση (n=30), η έκφραση του **miR-431** είχε σημαντική αύξηση στους ιστούς του πλακούντα με ΠΕ. Ακόμα, στους πλακούντες με ΠΕ εμφανίστηκαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές έκφρασης του mRNA του γονιδίου ZEB1 (σε σχέση με την ομάδα ελέγχου), και αξιοσημείωτα χαμηλότερη έκφραση της πρωτεΐνης του.

Φαίνεται, λοιπόν, πιθανό ότι το **miR-431** σχετίζεται με τη σοβαρότητα της νόσου και τα κλινικά συμπτώματα της ΠΕ, επομένως θα πρέπει να ερευνηθεί κι άλλο σε επόμενες μελέτες.

3.7.2 miR-195

Το **miR-195** ανήκει στην οικογένεια των γονιδίων miR-15, η οποία βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17p13.1. Το miR-195 λέγεται ότι έχει ως γονιδιακή λειτουργία την καταστολή όγκων⁸⁷. Ο αυξητικός παράγοντας αγγειακού ενδοθηλίου A (VEGF-A) έχει ενεργό ρόλο στην αγγειογένεση και είναι επίσης σημαντικός για την ανάπτυξη της παθολογίας στην ΠΕ. Συγκεκριμένα, οι Hu et al. ανέφεραν ότι το VEGF-A είναι ένας πιθανός στόχος του miR-195.⁸⁸

Στην έρευνα των Hu et al⁸⁸, λοιπόν, ελήφθησαν συνολικά σαράντα (40) δείγματα, είκοσι (20) πλάσματος και είκοσι (20) πλακούντα. Συγκεκριμένα, ελήφθησαν δείγματα πλάσματος (n=10) και πλακούντα (n=10) με σοβαρή ΠΕ από γυναίκες στην 30^η-34^η εβδομάδα της κύησης, και αντίστοιχα (πλάσματος n=10 και πλακούντα n=10) από γυναίκες 37^{ης} -40^{ης} εβδομάδας φυσιολογικής κύησης.

Βρέθηκε ότι το **miR-195** είχε ελαττωμένη έκφραση σε **πλακούντες** από προ-εκλαμπτωτικές εγκυμοσύνες σε σύγκριση με τους πλακούντες από υγιείς. Ωστόσο, το miR-195 δεν ανιχνεύθηκε στο πλάσμα ούτε εγκύων με ΠΕ ούτε φυσιολογικών.

Συνεπώς, το **miR-195** προτείνεται από τους ερευνητές να χρησιμοποιείται για να ρυθμίζει την ΠΕ μέσω των γονιδίων-στόχων του που ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό του πλακούντα, την απόπτωση και την αγγειογένεσή του. Ακόμα, η μειωμένη ανίχνευση του σε πλακούντες εγκύων με ΠΕ θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την αποσαφήνιση της παθοφυσιολογίας της ΠΕ.

3.7.3 miR-221-3p

Πρόσφατα, το **miR-221-3p** βρέθηκε να εκφράζεται σε μικρότερες ποσότητες στο αίμα του ομφάλιου λώρου που προέρχονταν από ασθενείς με ΠΕ σε σχέση με γυναίκες που διένυαν μια φυσιολογική εγκυμοσύνη⁸⁹. Ταυτόχρονα, η έκφραση του miR-221-3p έχει αποδειχθεί ότι είναι μειωμένη στο πλάσμα ασθενών με ΠΕ^{90,91}. Από την άλλη μεριά, το miR221-3p υπερεκφράζεται στα μεσεγγυματικά βλαστοκύτταρα που προέρχονταν από το φθαρτό υμένα της μήτρας γυναικών που έχουν γεννήσει και κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης έπασχαν από ΠΕ⁹². Λόγω αυτών των δυσανάλογων συμπερασμάτων μεταξύ των διαφόρων μελετών, οι Yang Y. et al⁹³ θεώρησαν σκόπιμο να διερευνήσουν περαιτέρω τους πιθανούς ρόλους του miR-221-3p στην παθολογία της ΠΕ.

Οι ερευνητές διερεύνησαν την έκφραση του **miR-221-3p** σε ιστούς πλακούντα από ασθενείς με ΠΕ και διεξήγαγαν *in vitro* λειτουργικές δοκιμασίες για να διερευνήσουν τις επιδράσεις του miR-221-3p στην ανάπτυξη τροφοβλάστης, την εισβολή και τη μετανάστευσή του. Εξέτασαν ογδόντα (80) γυναίκες, σαράντα (40) εκ των οποίων έπασχαν από ΠΕ, ενώ οι

υπόλοιπες σαράντα (40) διένυαν μια φυσιολογική εγκυμοσύνη. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι γυναίκες με ΠΕ είχαν πολύ μικρότερη έκφραση του **miR-221-3p** στον πλακούντα τους σε σχέση με τις υγιείς.

Περαιτέρω πειράματα κυτταρομετρίας ροής έδειξαν ότι η υπερέκφραση του miR-221-3p ανέστειλε την απόπτωση, τον αυξημένο κυτταρικό πληθυσμό στη φάση S και τον μειωμένο κυτταρικό πληθυσμό στη φάση G0 / G1 στην ανθρώπινη κυτταροτροφοβλαστική κυτταρική σειρά HTR8 / SVneo (θρομβοβλαστικά κύτταρα). Παρόλα αυτά βάση των αποτελεσμάτων της έρευνας, η μείωση του miR-221-3p άσκησε τα αντίθετα αποτελέσματα στα κύτταρα. Αυτό συνέβη διότι, το miR-221-3p έχει βρεθεί ότι στοχεύει στην 3' αμετάφραστη περιοχή του γονιδίου THBS2 και η υπερέκφραση αυτού του γονιδίου επιδρά αντίστροφα στην έκφραση του miRNA, στην εισβολή και τη μετανάστευση στα θρομβοβλαστικά κύτταρα. Η ανάλυση κλινικού δείγματος έδειξε ότι τα επίπεδα έκφρασης του mRNA του THBS2 αυξήθηκαν σημαντικά σε ιστούς πλακούντα από ασθενείς με ΠΕ και συσχετίστηκαν αντιστρόφως ανάλογα με τα επίπεδα έκφρασης του miR-221-3p στους ιστούς αυτούς.

Συνοπτικά, τα αποτελέσματά έδειξαν ότι το **miR-221-3p** υποεκφράστηκε σε ιστούς πλακούντων με ΠΕ και οι εργαστηριακές δοκιμασίες in vitro αποκάλυψαν ότι το miR-221-3p προήγαγε την ανάπτυξη της τροφοβλάστης, την εισβολή και τη μετανάστευση εν μέρει μέσω στόχευσης του γονιδίου THBS2.

3.7.4 miR-411 και miR-376c

Έχει αποδειχθεί ότι τα επίπεδα του **miR-376c** μειώνονται στον πλακούντα των ασθενών με ΠΕ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και αυτή η μείωση μπορεί να παρατηρηθεί στο πλάσμα τους ήδη από το δεύτερο τρίμηνο⁹⁴. Ωστόσο, δεν είναι γνωστό γιατί η μείωση των επιπέδων στο πλάσμα δεν υφίσταται και στον πλακούντα αυτών των ασθενών. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να ανακαλυφθούν επιπλέον miRNAs, τα οποία μειώνονται στο πλάσμα αλλά ταυτόχρονα και στον πλακούντα των ασθενών με ΠΕ πριν γίνει εμφανής η νόσος.

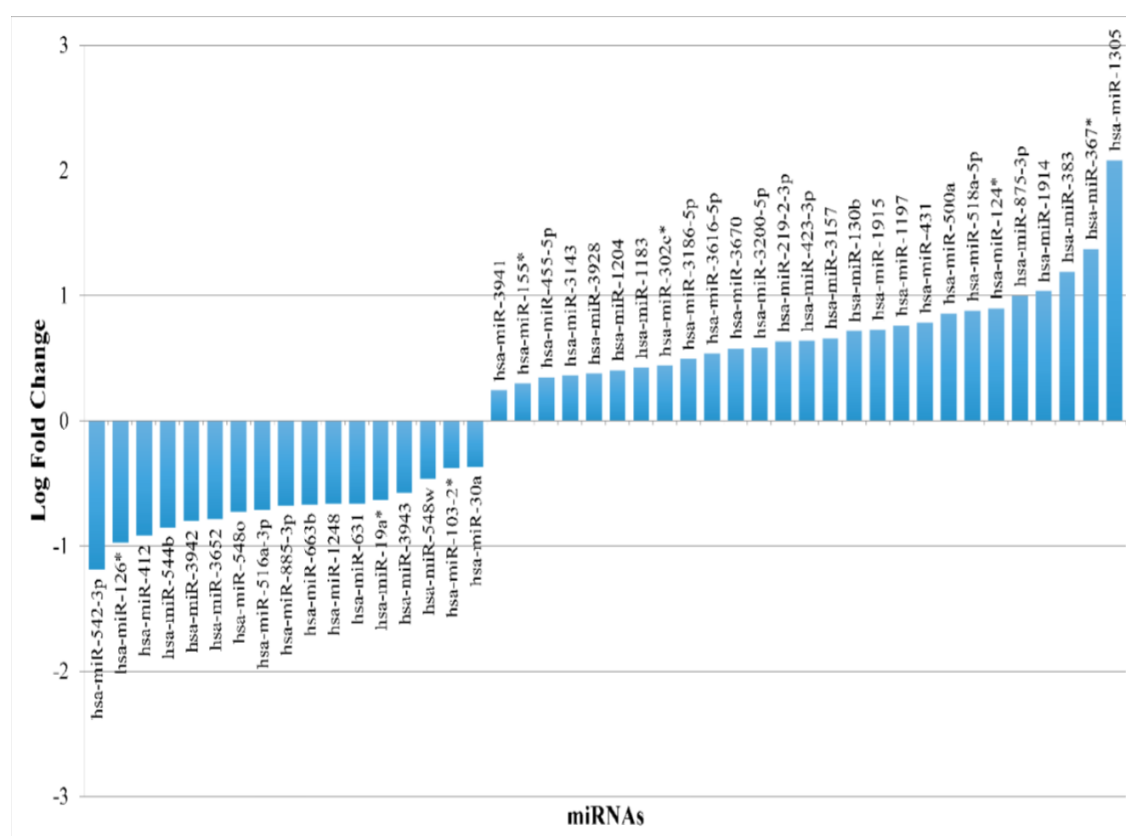
Οι ερευνητές Hui-li Y et al⁹⁵ εξέτασαν δείγματα πλάσματος και πλακούντα από έγκυες γυναίκες. Οι πλακούντες του 1^{ου} τριμήνου συλλέχθηκαν από ασθενείς που υπεβλήθησαν σε τερματισμό κύησης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι εκτός από το **miR-376c**, τα επίπεδα του **miR-441** επίσης **ελλατώθηκαν** στον πλακούντα των ασθενών με ΠΕ και αυτή η μείωση παρατηρήθηκε τόσο σε αρχικές όσο και σε τελικές εβδομάδες της κύησης. Αυτή η μείωση παρατηρήθηκε ακόμα και στα επίπεδα του πλάσματος, τόσο στις πρώιμες όσο και στις τελευταίες εβδομάδες της εγκυμοσύνης, υπογραμμίζοντας ότι τα επίπεδα miR-441 μπορούν να χρησιμεύσουν ως διαγνωστικοί δείκτες πρόβλεψης κινδύνου της ΠΕ σε έγκυες γυναίκες.

Η υπερέκφραση του **miR-441**, καθώς και του **miR-376c**, προήγαγε την κυτταρική βιωσιμότητα, τη μετανάστευση και την εισβολή στην ανθρώπινη κυτταροτροφοβλαστική κυτταρική σειρά HTR8 / SVneo, υποδεικνύοντας ότι η **ελλάτωση** των δύο miRNAs σε εγκύους θα οδηγούσε σε ανώμαλη απόπτωση και λειτουργική ανισορροπία, πρόωρη αποβολή και άλλες επιπλοκές. Το miR-441 μπορεί, λοιπόν να χρησιμεύσει ως διαγνωστικός δείκτης της ΠΕ σε έγκυες γυναίκες.

3.7.5 Λοιπά miRNAs

Οι Lykoudi A. et al⁹⁶ το 2017 ερεύνησαν πλήθος miRNAs, προσδιορίζοντας την έκφραση τους σε πλακούντες που συνδέονται με ΠΕ. Για την έρευνα ελέγχθηκαν δεκαέξι (16) γυναίκες με ΠΕ, έντεκα (n=11) εκ των οποίων με ΕΟΠΕ, και πέντε (n=5) με ΛΟΠΕ. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν οχτώ (n=8) πλακούντες που προέρχονταν από καισαρικές τομές κυήσεων που τερματίστηκαν πρόωρα, οι οποίοι πλακούντες χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνα ως ομάδα ελέγχου. Τα δείγματα ελήφθησαν από το 3^ο τμήμα της Μαιευτικής και γυναικολογικής κλινικής του ΕΚΠΑ. Ανάμεσα στις εγκυμοσύνες με ΠΕ, υπήρχαν οχτώ που κυοφορούσαν έμβρυα περιορισμένης ανάπτυξης (FGR: fetal growth restriction).

Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι υπήρχαν 44 απορρυθμισμένα miRNAs στους προεκλαμπτικούς πλακούντες, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Τα περισσότερα, είκοσι επτά (27) στο σύνολο (61.4%) από τα miRNAs, υπερεκφράστηκαν, ενώ τα υπόλοιπα δεκαεπτά (17) (38.6%) υποεκφράστηκαν. Οι ερευνητές σύγκριναν την έκφραση των miRNA στα δείγματα που ελήφθησαν από τις γυναίκες στις 3 κατηγορίες (ΕΟΠΕ, ΛΟΠΕ και ομάδα ελέγχου) και βρέθηκε ότι σε εννέα miRNA σχετιζόταν η έκφραση με τη φάση που βρισκόταν η ΠΕ, δηλαδή αν ήταν στην ΕΟΠΕ ή στην ΛΟΠΕ.



ΕΙΚΟΝΑ 8: Παρουσιάζεται το ιστόγραμμα των 44 άρων απορρυθμισμένων miRNAs σε προεκλαμπτικούς πλακούντες όπως συμπεραίνεται συγκριτικά με τους μάρτυρες ($p < 0,05$ και $FDR \leq 0,05$). Τα υπερεκφραζόμενα miRNAs υποδεικνύονται με τις ράβδους προς τα πάνω, ενώ τα υποεκφραζόμενα προς τα κάτω. Οι τιμές του άξονα Y αντιπροσωπεύουν το πλήθος των σταθερών (fold change) που αναφέρεται η έκφραση των miRNAs (οι σταθερές που παρουσιάζονται περιλαμβάνουν την ΕΟΠΕ (n = 11) και τη ΛΟΠΕ (n = 5)⁹⁶.

Συγκεκριμένα, σε πλακούντες με ΕΟΡΕ, τα **miR-431**, **miR-518a-5p**, **miR-124**, **miR-130b** και **miR-423-3p** βρέθηκαν υπερ-εκφρασμένα, συγκριτικά με τους μάρτυρες, ενώ το **miR-544b** ήταν σημαντικά υπο-εκφρασμένο, και το **miR-3942** οριακά. Επίσης, οριακά υπερ-εκφρασμένο σε ΕΟΡΕ ήταν το **miR-383** αλλά σημαντικά αυξημένο σε δείγματα ΛΟΡΕ. Το **miR-1183** ήταν οριακά υπερ-εκφρασμένο σε δείγματα με ΛΟΡΕ, και μη αξιοσημείωτα σε ΕΟΡΕ, σε σύγκριση πάντα με τους μάρτυρες (ΕΙΚΟΝΑ 8). Επιπρόσθετα, μεταξύ ΠΕ και ΠΕ-FGR (ΠΕ-FGR), δύο miRNA, τα **miR-431** και **miR-518a-5p**, βρέθηκαν υπερ-εκφρασμένα στους πλακούντες ΠΕ-FGR.

Οι Pineles et al⁹⁷ μελέτησαν το πρότυπο έκφρασης των miRNAs σε υλικό βιοψίας πλακούντα εγκύων με ΠΕ και εγκύων με φυσιολογική κύηση με RT-qPCR. Βρέθηκαν υπερεκφρασμένα στην ΠΕ 7 miRNAs (miR-210, miR-155, miR181b, miR-182, miR-200b, miR-154 και miR-183).

Οι Zhu et al⁹⁸ επιβεβαίωσαν με τη χρήση μικροσυστοιχιών την υπερέκφραση του miR-210 σε πλακούντες εγκύων με ΠΕ. Επίσης, εντόπισαν άλλα 34 miRNAs που σχετίζονται με την ΠΕ, 11 τα οποία υπερεκφράζονται και 23 που υποεκφράζονται.

Οι Enquobahrie et al⁹⁹ χρησιμοποίησαν μικροσυστοιχίες με 1295 miRNAs ανιχνευτές εντοπίζοντας σε πλακούντες με ΠΕ, υποεκφραση των miR-328, miR-584, miR-139-5p, miR-500, miR-1247, miR-34c-5p και miR-1.

Οι Mayor-Lynn et al¹⁰⁰ ανέλυσαν με μικροσυστοιχίες 21 δείγματα βιοψίας πλακούντα από εγκύους με ΠΕ και βρήκαν υποέκφραση των miR-15b και του miR-210.

Οι Wang et al¹⁰¹ χρησιμοποιώντας το ανεπτυγμένο σύστημα μικροσυστοιχιών που καλύπτει όλα τα miRNAs της βάσης δεδομένων miRBase (εκδοση 14.0), διαπίστωσαν υπερέκφραση των miR-17, miR-20a και miR-20b.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4: Μελέτες έκφρασης των miRNAs του πλακούντα στην ΠΕ.

ΜΕΛΕΤΗ	Υπερ-εκφρασμένα miRNAs	Υπο-εκφρασμένα miRNAs
Xiuhua Yang et al⁸⁶	miR-431	-
Hu et al⁸⁸	-	miR-195
Yang Y. et al⁹³	-	miR-221-3p
Hui-Li-Y et al⁹⁵	-	miR-441, miR-376c
Lykoudi et al⁹⁶	27 miRNAs	17 miRNAs
Wang et al¹⁰¹	miR-17, miR-20a, miR-20b	-
Mayor-Lynn et al¹⁰⁰	-	miR-15b, miR-210
Enquobahrie et al⁹⁹	-	miR-328, miR-584, miR-139-5p, miR-500, miR-1247, miR-34c-5p, miR-1.
Zhu et al⁹⁸	11 miRNAs	23 miRNAs
Pineles et al⁹⁷	miR-210, miR-155, miR181b, miR-182, miR-200b, miR-154 και miR-183)	-

3.8.Μελέτη του προτύπου έκφρασης των miRNAs στο πλάσμα εγκύων με ΠΕ

Η μελέτη του προτύπου έκφρασης miRNA του πλακούντα σε εγκύους με ΠΕ έχει τη δυνατότητα να συμβάλλει στη κατανόηση του παθογενετικού μηχανισμού που εμπλέκεται στην εμφάνιση της επιπλοκής αλλά για διαγνωστικούς λόγους ο ορός ή το πλάσμα αποτελούν δείγματα επιλογής για την ανίχνευση βιοδεικτών. Πρόσφατα, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ένα μεγάλο αριθμό miRNAs στο περιφερικό αίμα εγκύων που παρουσιάζουν διαφοροποιημένη έκφραση μεταξύ προεκλαμπτικών και εγκύων χωρίς την επιπλοκή με τις περισσότερες από αυτές να έχουν πραγματοποιηθεί με τη χρήση δειγμάτων εγκύων στο 3^ο τρίμηνο της κύησης.

3.8.1 miR-155 και miR-210

Τα **miR-155** και **miR-210** είναι τα πιο καλά μελετημένα miRNAs. Μελέτες αναφέρουν την ύπαρξη miRNAs που προέρχονται από τον πλακούντα στο πλάσμα της μητέρας, τα οποία έχουν την δυνατότητα να ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων σε αυτή¹⁰².

Αρχικά, το **miR-210** ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά στα τροφοβλαστικά κύτταρα, στα οποία ρυθμίζει το μεταβολισμό του σιδήρου σε απόκριση του οξειδωτικού στρες και αντιπροσωπεύει τον ελαττωματικό πλακούντα. Επιπροσθέτως, έχει αποδειχθεί ότι η υπερέκφραση του miR-210 στην ΠΕ οδηγεί σε μειωμένη μετανάστευση και εισβολή των κυττάρων των τροφοβλαστών και συνδέεται με την επαγωγή της δραστηριότητας αρκετών ενδοκυτταρικών παραγόντων μεταγραφής.¹⁰³ Ως επακόλουθο, το miRNA-210 αποτελεί έναν πιθανό βιοδείκτη ορού για την ΠΕ^{104,105}. Η ανώμαλη έκφραση του miR-210 συμβάλλει στην εμφάνιση της ΠΕ ρυθμίζοντας την εισβολή των κυττάρων τροφοβλάστης μέσω της σηματοδότησης διαμεσολαβητικού παράγοντα-1 διαύλου καλίου στον ανθρώπινο πλακούντα¹⁰⁶.

Το **miR-155** συμβάλλει στην παθογένεση της ΠΕ στον προ-εκλαμπτικό ιστό του πλακούντα, στοχεύοντας στην μείωση των αγγειογενετικών παραγόντων. Οι ερευνητές κατέδειξαν ότι η υπερέκφραση του miR-155 συνέβαλε στην ΠΕ μέσω της υπο-έκφρασης του πλούσιου σε κυστεΐνη αγγειογόνου επαγωγέα 61 (CYR61) (cysteine-rich angiogenic inducer 61), ο οποίος είναι ένας πρώιμος αγγειογόνος ρυθμιστικός παράγοντας κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης που μειώνει τη σταθερότητα του mRNA του CYR61, που οδηγεί σε τοπικό ισχαιμικό σοκ¹⁰⁷. Επιπροσθέτως, τα παθολογικά χαρακτηριστικά, όπως η μειωμένη αγγειογένεση, η εισβολή και η διαφοροποίηση των τροφοβλαστικών κυττάρων έχουν συνδεθεί με το miR-155, γεγονότα που μπορούν να έχουν σαν αποτέλεσμα την ΠΕ¹⁰⁸.

Στην έρευνα των Hanan M. και Elham S.¹⁰⁹ το 2019 μελετήθηκαν τριάντα (30) γυναίκες που κιοφορούσαν με διαπιστωμένη ΠΕ και είκοσι (20) υγιείς έγκυες γυναίκες. Οι γυναίκες με ΠΕ χωρίστηκαν σε δυο υποκατηγορίες, σε ήπια ΠΕ και βαριά, σύμφωνα με τα επίπεδα της

αρτηριακής πίεσης τους, την παρουσία ή μη θρομβοπενίας, την εξασθένηση της λειτουργίας του ήπατος, την προοδευτική νεφρική ανεπάρκεια, την ύπαρξη πνευμονικού οιδήματος και εγκεφαλική ή οπτική διαταραχή. Τα miRNA-210 και miRNA-155 εκτιμήθηκαν με qRT-PCR από τον ορό αίματος των εγκύων. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής έδειξαν ότι τα επίπεδα έκφρασης των **miRNA-210** και **miRNA-155** που ανιχνεύθηκαν στην ομάδα με την ΠΕ, είναι σημαντικά υψηλότερα από ότι στην ομάδα ελέγχου. Επίσης, τα επίπεδα του **miRNA-210** έδειξαν σημαντική αύξηση στην βαριά ΠΕ σε σύγκριση με τις γυναίκες στην ήπια ΠΕ. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα του miRNA-155 μεταξύ των δύο υποκατηγοριών ΠΕ. Συνεπώς, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα πως το **miR-210** παίζει σημαντικό ρόλο στην ταξινόμηση της ΠΕ, σε ήπια και βαριά, και συνδέεται στενά με την σοβαρότητα της νόσου της ΠΕ.

3.8.2 miR-31, miR-21 και miR-16

Παρόλο που αυξάνεται ο αριθμός των μελετών σχετικά με τα miRNAs στη βιβλιογραφία, λίγες μελέτες έχουν αξιολογήσει τα επίπεδα των miR31, miR-21 και miR-16 στο πλάσμα ως δείκτες για την ΠΕ. Αυτά τα τρία miRNA ρυθμίζουν ποικίλες κυτταρικές και αναπτυξιακές διεργασίες στοχεύοντας γονίδια που εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό, την απόπτωση, την εισβολή, την αγγειογένεση και την ανοσολογική ανοχή¹¹⁰.

Οι Dong K. et al (2019)¹¹⁰ σύγκριναν τα επίπεδα των τριών miRNAs στην κυκλοφορία του αίματος εγκύων και μη, προκειμένου να εντοπιστούν οι μη επεμβατικοί βιοδείκτες miRNA για την ΠΕ. Συγκεκριμένα, ανίχνευσαν τα επίπεδα αυτών των miRNAs στο πλάσμα ενενήντα (90) γυναικών που α) δεν εγκυμονούσαν (n=10), β) εγκυμονούσαν στην 20^η με 34^η εβδομάδα φυσιολογικής κύησης (n=20), γ) εγκυμονούσαν με EOPE (n=20), δ) εγκυμονούσαν στην 34^η με 41^η εβδομάδα φυσιολογικής κύησης (n=20) και τέλος ε) εγκυμονούσαν με LOPE (n=20).

Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της ποσοτικής RT-PCR, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα των miR-31, miR-21 και miR-16 στο πλάσμα αλλάζουν στα διάφορα στάδια της εγκυμοσύνης. Λαμβάνοντας ως ομάδα ελέγχου την ομάδα των γυναικών που δεν εγκυμονούσαν, τα επίπεδα του **miR-31** στο πλάσμα ήταν χαμηλότερα στην EOPE σε σχέση με τις γυναίκες που διένυαν φυσιολογική κύηση 20^{ης} -34^{ης} εβδομάδας. Ωστόσο, δεν βρέθηκε εμφανή διαφορά μεταξύ γυναικών 34^{ης} - 41^{ης} εβδομάδας κύησης με την LOPE. Επίσης, τα επίπεδα του miR-31 ήταν πιο αυξημένα στις γυναίκες φυσιολογικής κύησης και των δύο κατηγοριών σε σχέση με τις γυναίκες μη κύησης. Το **miR-21** ήταν εμφανώς υπο-εκφρασμένο σε LOPE σε σχέση με γυναίκες 34^{ης} - 41^{ης} εβδομάδας κύησης. Στις γυναίκες με EOPE ήταν επίσης χαμηλότερη η έκφραση σε σχέση με εκείνες με φυσιολογική κύηση 20^{ης} -34^{ης} εβδομάδας αλλά δεν υπήρχε σημαντική διαφορά. Διαφορά που αξίζει να σημειωθεί είναι ότι το miR-21 ήταν υπερεκφρασμένο και στις δύο κατηγορίες φυσιολογικής κύησης σε σύγκριση με μη κύηση. Η έκφραση του **miR-16** ήταν σε παρόμοια επίπεδα μεταξύ της ΠΕ με τη φυσιολογική κύηση. Τέλος, τα επίπεδα των **miR-31**, **miR-21** και **miR-16** ήταν αξιοσημείωτα χαμηλότερα στις γυναίκες με EOPE σε σύγκριση με LOPE.

Συνεπώς, το **miR-31** μπορεί να χρησιμεύσει ως διαγνωστικός βιοδείκτης για την EOPE και το **miR-21** για τη LOPE. Προτείνεται η έκφραση των miRNAs να συγκρίνεται και να ελέγχεται σε σχέση με την εβδομάδα κύησης που διανύει η εγκυμονούσα διότι τα επίπεδα

έκφρασης αλλάζουν σημαντικά στη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Τέλος, απαιτούνται κι άλλες μελέτες για να διασαφηνιστεί πλήρως η έκφρασή των τριών αυτών miRNAs κατά την κύηση και την ΠΕ

3.8.3. Λοιπές μελέτες για τα miRNAs στο πλάσμα εγκύων

Στην μελέτη των Yang et al το 2015¹¹¹ βρέθηκε στο πλάσμα των εγκύων στο 3^ο τρίμηνο της εγκυμοσύνης **υπερέκφραση** των miR521, miR520h, miR517c, miR519d, miR520g, miR517b, miR542-3p, miR136, let7f1*, miR518e, let7a*, miR125b, miR125a-5p, miR519a και miR29a και **ελαττωμένη έκφραση** των let7f, miR223, miR1260, let7d, miR320c, miR185 και miR1272.

Οι Li et al¹¹², με τη χρήση της ίδιας τεχνικής αναφέρουν αξιοσημείωτη συσχέτιση της υπερέκφρασης των miR-29-1 και miR-141 με τον ήπιο τύπο της ΠΕ και συσχέτιση της ελαττωμένης έκφρασης του miR-144 με τον βαρύτερο τύπο της επιπλοκής.

Οι Wu et al¹¹³ χρησιμοποίησαν μικροσυστοιχίες σε συνδυασμό με RT-qPCR και παρατήρησαν υπερέκφραση στο πλάσμα των εγκύων με ΠΕ των miR574-5p, miR-26a, miR-181a, miR130b, miR-103, miR-342-3p και miR-24.

Οι Gunel et al¹¹⁴ διαπίστωσαν στο πλάσμα των εγκύων με ΠΕ, αυξημένη έκφραση των hsa-let-7b*, hsa-let-7f-1*, hsa-miR-1539, hsa-miR-191*, hsa-miR-23c, και μειωμένη έκφραση των hsa-miR-33b*, hsa-miR-4313, hsa-miR-425*, hsa-miR-550a, hsa-miR-93.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5: Μελέτες έκφρασης των ελεύθερων miRNAs στο πλάσμα εγκύων με ΠΕ.

ΜΕΛΕΤΗ	Υπερ-εκφρασμένα miRNAs	Υπο-εκφρασμένα miRNAs
Zhang et al ¹⁰³ και HanamM & Ehham ¹⁰⁹	miR-210, miR-155	-
Dong et al ¹¹⁰	-	miR-31(EOPE), miR-21 (EOPE+LOPE)
Yang et al ¹¹¹	miR521, miR520h, miR517c, miR519d, miR520g, miR517b, miR542-3p, miR136, let7f1*, miR518e, let7a*, miR125b, miR125a-5p, miR519a, miR29a	let7f, miR223, miR1260, let7d, miR320c, miR185, miR1272
Li et al ¹¹²	miR-29a, miR-141	miR-144
Wu et al ¹¹³	miR574-5p, miR-26a, miR-181a, miR130b, miR-103, miR-342-3p, miR-24.	-
Gunel et al ¹¹⁴	hsa-let-7b*, hsa-let-7f-1*, hsa-miR-1539, hsa-miR-191*, hsa-miR-23c	hsa-miR-33b*, hsa-miR-4313, hsa-miR-425*, hsa-miR-550a, hsa-miR-93

Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη γίνεται ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας στο πλαίσιο της παγκόσμιας προσπάθειας για την ταυτοποίηση δεικτών πρώιμης ανίχνευσης κυήσεων υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση της ΠΕ, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν με αξιοπιστία, έγκαιρα, ήδη από το 1^ο τρίμηνο της κύησης, από όλες της εγκύους, ανεξαρτήτως των κινδύνων που προκύπτουν από το ατομικό ή οικογενειακό ιστορικό.

Η ΠΕ είναι η πιο σοβαρή και συχνή πολυσυστηματική επιπλοκή της κύησης, η οποία επιπλέκει το 2-5 % των κυήσεων και θεωρείται η κυριότερη αιτία μητρικής και περιγεννητικής νοσηρότητας και θνητότητας. Δυστυχώς, ο μόνος τρόπος αντιμετώπισης της ΠΕ είναι έως και σήμερα ο τοκετός και το μέσω πρόληψης αυτού η καθημερινή χορήγηση μικρής δόσης ασπιρίνης, πριν από τις 16 εβδομάδες κύησης, σε εγκύους με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης προεκλαμψίας. Είναι λοιπόν αναγκαία η έρευνα στο πεδίο της πρόβλεψης της ΠΕ, ώστε να ταυτοποιηθούν οι προβλεπτικοί βιοδείκτες που θα καλύψουν εξατομικευμένες ανάγκες και τις ιδιαιτερότητες κάθε εγκύου.

Σήμερα, για την πρόβλεψη της νόσου, πραγματοποιείται η αξιολόγηση των ατομικών και οικογενειακών χαρακτηριστικών της μητέρας σε συνδυασμό με τις μετρήσεις της MAP, του UtPI, της PAPP-A και του PIGF. Η συγκέντρωση PIGF στο περιφερικό αίμα της εγκύου το 1^ο τρίμηνο της κύησης παρουσιάζει στατιστικώς σημαντική μείωση, και η ποσοτικοποίηση του έχει τη δυνατότητα να αποτελέσει αξιόπιστο δείκτη πρώιμης ανίχνευσης κυήσεων υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΠΕ. Με τη χρήση του συγκεκριμένου αλγορίθμου ανιχνεύεται ποσοστό 76% των κυήσεων υψηλού κινδύνου για ΕΟΡΕ έναντι του ποσοστού 47% που ανιχνεύεται μόνο με την αξιολόγηση των ατομικών/οικογενειακών χαρακτηριστικών της μητέρας ενώ το ποσοστό αυτό είναι πολύ μικρότερο για τις περιπτώσεις ΛΟΡΕ που αποτελούν και τη πλειονότητα των περιστατικών

Τα microRNAs, είναι μόρια που ανακαλύφθηκαν πρόσφατα, έρευνες έχουν αποδείξει ότι είναι σε θέση να επηρεάσουν σχεδόν κάθε πτυχή της κυτταρικής λειτουργίας, και ως επακόλουθο και της ΠΕ. Οι νέοι αυτοί βιοδείκτες θα πρέπει να ανιχνεύονται σε βιολογικά υλικά που συλλέγονται με μη επεμβατικές μεθόδους, η ποσοτικοποίηση τους σε κλινικό επίπεδο να είναι εύκολη και οικονομική, χωρίς να απαιτείται ιδιαίτερος εξοπλισμός και τα αποτελέσματα των μετρήσεων να αντανακλούν με αξιοπιστία τη παρουσία ή όχι της επιπλοκής καθώς και την εξέλιξη της. Συνεπώς, χρειάζονται κι άλλες μελέτες προκειμένου να αυξηθεί η ειδικότητα και η ευαισθησία τους, έτσι ώστε να χρησιμοποιηθούν στην κλινική πράξη για την ανίχνευση εγκύων υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΠΕ.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ¹ Poon, L. C., Shennan, A., Hyett, J. A., Kapur, A., Hadar, E., Divakar, H., ... Hod, M. (2019). Erratum to “The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: A pragmatic guide for first-trimester screening and prevention” [Int J Gynecol Obstet 145 Suppl. 1 (2019) 1-33]. International Journal of Gynecology & Obstetrics. doi:10.1002/ijgo.12892
- ² Poon LC, Kametas NA, Chelemen T, Leal A, Nicolaides KH. Maternal risk factors for hypertensive disorders in pregnancy: A multivariate approach J Hum Hypertens. 2010;24:104–110.
- ³ E. Bell, A bad combination, Nature Reviews Immunology 4(12) (2004) 927-927
- ⁴ S. Bouchlariotou, V. Liakopoulos, S. Dovas, M. Giannopoulou, T. Kiropoulos, S. Zarogiannis, G. Gatselos, T. Zachopoulos, D.S. Kyriakou, A. Kallitsaris, I. Messinis, I. Stefanidis, Nocturnal hypertension is associated with an exacerbation of the endothelial damage in preeclampsia, Am J Nephrol 28(3) (2008) 424-30.
- ⁵ B.Sibai, G. Dekker, M. Kupferminc, Pre-eclampsia, Lancet 365 (9461) (2005) 785-99
- ⁶ C.W. Redman, G.P. Sacks, I.L. Sargent, Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy, Am J Obstet Gynecol 180(2 Pt 1) (1999) 499-506
- ⁷ Walker J. Preeclampsia. The Lancet 2000,356:1260-65
- ⁸ Luo Z-C, An N, Xu H-R, Larante A, Audibert F, Fraser WD. The effects and mechanisms of primiparity on the risk of pre- eclampsia: A systematic review. Paediatr Perinat Epidemiol. 2007;21(Suppl.1):36–45
- ⁹ Hernandez-Diaz S, Toh S, Cnattingius S. Risk of pre- eclampsia in first and subsequent pregnancies: Prospective πολυκεντρική μελέτη study. BMJ. 2009;338:b2255
- ¹⁰ Van Rijn BB, Hoeks LB, Bots ML, Franx A, Bruinse HW. Outcomes of subsequent pregnancy after first pregnancy with early- onset preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2006;195:723–728.
- ¹¹ Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S, Maheshwari A. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from IVF/ICSI: A systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update. 2012;18:485–503
- ¹² Martin AS, Monsour M, Kawwass JF, Boulet SL, Kissin DM, Jamieson DJ. Risk of preeclampsia in pregnancies after assisted reproductive technology and ovarian stimulation. Matern Child Health J. 2016;20:2050–2056.
- ¹³ Simeone S, Serena C, Rambaldi MP, Marchi L, Mello G, Mecacci F. Risk of preeclampsia and obstetric outcome in donor oocyte and autologous in vitro fertilization pregnancies. Minerva Ginecol. 2016;68:9–14
- ¹⁴ Williams PJ, Broughton PF. The genetics of pre- eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. Best Prac Res Clin Obstet Gynaecol. 2011;25:405–417.

-
- ¹⁵ Wei YM, Yang HX, Zhu WW, Liu XY, Meng WY, Wang YQ, Shang LX, Cai ZY, Ji LP, Wang YF, Sun Y, Liu JX, Wei L, Sun YF, Zhang XY, Luo TX, Chen HX, Yu LJ. Risk of adverse pregnancy outcomes stratified for pre- pregnancy body mass index. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29:2205–2209.
- ¹⁶ Khalil A, Rezende J, Akolekar R, Syngelaki A, Nicolaides KH. Maternal racial origin and adverse pregnancy outcome: A πολυκεντρική μελέτη study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41:278–285.
- ¹⁷ Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, Ray JG. Clinical risk factors for pre- eclampsia determined in early pregnancy: Systematic review and meta- analysis of large πολυκεντρική μελέτη studies. *BMJ.* 2016;353:i1753.
- ¹⁸ Gomma AH, Elrayess MA, Knight CJ, Hawe E, Fox KM, Humphries SE. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (Glu298Asp) and development of pre-eclampsia: a case-control study and a meta-analysis. *Eur Heart J.* 2002 Dec;23(24):1955-62
- ¹⁹ Zhang J, Meikle S, Trumble A. Severe maternal morbidity associated with hypertensive disorders in pregnancy in the United States. *Hypertens Pregnancy.* 2003;22:203–212.
- ²⁰ Reddy M, Wright L, Rolnik DL, Li W, Mol BW, La Gerche A, da SilvaCosta F, Wallace EM, Palmer K, Evaluation of Cardiac Function in Women With a History of Preeclampsia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc.* 2019 Nov 19;8(22):e013545.
- ²¹ McDonald SD, Han Z, Walsh MW, Gerstein HC, Devereaux PJ. Kidney disease after preeclampsia: A systematic review and meta- analysis. *Am J Kidney Dis.* 2010;55:1026–1039
- ²² Yucesoy G, Ozkan S, Bodur H, Tan T, Caliskan E, Vunal B, Corakci A. Maternal and perinatal outcome in pregnancies complicated with hypertensive disorder of pregnancy: A seven year experience of a tertiary care center. *Arch Gynecol Obstet.* 2005;273:43–49.
- ²³ Sarmasti N, Ayoubi SH, Mahmoudi G, Heydarpour S, Comparing Perceived Social Support and Perceived Stress in Healthy Pregnant Women and Pregnant Women with Preeclampsia, *Ethiop J Health Sci.* Vol. 29, No. 3, 2019
- ²⁴ L. Roberts, G. K. Davis, and C. S. E. Homer, Depression, Anxiety, and Post-traumatic Stress Disorder Following a Hypertensive Disorder of Pregnancy: A Narrative Literature Review, *Front. Cardiovasc. Med.*, <https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00147>, 2019

²⁵ Schlotz W, Phillips DI Fetal origins of mental health: evidence and mechanisms. *Brain Behav Immun* 23(7):905–916, 2009

²⁶ Roberts JM, August PA, Bakris G, Barton JR, Bernstein IM, Druzin M, Gaiser RR, Granger JP, Jeyabalan A, Johnson DD, Karumanchi S, Lindheimer M, Owens MY, Saade GR, Sibai BM, Spong CY, Tsigas E, Joseph GF, O'Reilly N, Politzer A, Son S, Ngaiza K Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 122(5):1122–1131, 2013

²⁷ Dachew BA, Mamun A, Maravilla JC, Alati R, Pre-eclampsia and the risk of autism-spectrum disorder in offspring: metaanalysis. *Br J Psychiatry* 212(3):142–147, 2018

²⁸ Dachew BA, Scott JG, Mamun A, Alati R, Hypertensive disorders of pregnancy and emotional and behavioural problems in children: a longitudinal population-based study Springer-Verlag GmbH Germany, doi.org/10.1007/s0078 7-019-01443 -0, 2019

²⁹ K. Broekhuijsen, A.C. Ravelli, J. Langenveld, M.G. van Pampus, P.P. van den Berg, B.W. Mol, M.T. Franssen, Maternal and neonatal outcomes of pregnancy in women with chronic hypertension: a retrospective analysis of a national register, *Acta Obstet Gynecol Scand* 94(12) (2015) 1337-45.

³⁰ Broekhuijsen K, Ravelli AC, Langenveld J, van Pampus MG, van den Berg PP, Mol BW, Franssen MT. Maternal and neonatal outcomes of pregnancy in women with chronic hypertension: a retrospective analysis of a national register. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2015 Dec;94(12):1337-45

³¹. Hoffman MK, Goudar SS, Kodkany BS, Metgud M, Somannavar M, Okitawutshu J, Lokangaka A, Tshetu A, Bose CL, Mwapule A, Mwenechanya M, Chomba E, Carlo WA, Chicuy J, Figueroa L, Garces A, Krebs NF, Jessani S, Zehra F, Saleem S, Goldenberg RL, Kurhe K, Das P, Patel A, Hibberd PL, Achieng E, Nyongesa P, Esamai F, Liechty EA, Goco N, Hemingway-Foday J, Moore J, Nolen TL, McClure EM, Koso-Thomas M, Miodovnik M, Silver R, Derman RJ; ASPIRIN Study Group, Low-dose aspirin for the prevention of preterm delivery in nulliparous women with a singleton pregnancy (ASPIRIN): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2020 Jan 25;395(10220):285-293

³². Papadakis E, Pouliakis A, Aktypi A, Christoforidou A, Kotsi P, Anagnostou G, Foifa A, Grouzi E. Low molecular weight heparins use in pregnancy: a practice survey from Greece and a review of the literature. *Thromb J*. 2019 Dec 4;17:23.

³³ B. Fatemeh Nobakht M. Gh, Application of metabolomics to preeclampsia diagnosis, *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 2018 DOI: 10.1080/19396368.2018.1482968

³⁴ Tsiakkas A, Saiid Y, Wright A, Wright D, Nicolaides KH, Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 30-34 weeks' gestation, *American Journal of Obstetrics and Gynecology* (2016), doi: 10.1016/j.ajog.2016.02.016.

³⁵ Min Yi Tan, Argyro Syngelaki, Liona C Poon, Daniel L. Rolnik, Neil O'Gorman, Juan Luis Delgado, Ranjit Akolekar, Liountmila Konstantinidou, Maria Tsavdaridou, Slavyana Galeva, Ursula Ajdacka, Francisca S. Molina, Nicola Persico, Jacques C. Jani, Walter Plasencia, Elena Greco, George Papaioannou, Alan Wright, David Wright, Kypros H Nicolaides, Screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11–13 weeks' gestation, *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, Volume 52, Issue 2, 2018

³⁶ Demers S, Bujold E, Arenas E, Castro A, Nicolaides KH. Prediction of recurrent preeclampsia using first-trimester uterine artery Doppler. *Am J Perinatol*. 2014 Feb;31(2):99-104.

³⁷ Maryam Honarjoo, Shahnaz Kohan, Elahe Zarean and Mohammad Javad Tarrahi, Assessment of β -human-derived chorionic gonadotrophic hormone (β hCG) and pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) levels as predictive factors of preeclampsia in the first trimester among Iranian women: a πολυκεντρική μελέτη study, Honarjoo et al. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 19:464, 2019

³⁸ Zhong Y, Zhu F, Ding Y. Serum screening in first trimester to predict pre-eclampsia, small for gestational age and preterm delivery: Systematic review and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2015;15:191.

³⁹ K.Chau, A. Hennessy, A. Makris, Placental growth factor and pre-eclampsia, *J Hum Hypertens* 31(12) (2017) 782-786

⁴⁰ Knuth A, Liu L, Nielsen H, Merrill D, Torry DS, Arroyo JA. Placenta growth factor induces invasion and activates p70 during rapamycin treatment in trophoblast cells. *Am J Reprod Immunol*. 2015 Apr;73(4):330-40

⁴¹ Tsiakkas A, Duvdevani N, Wright A, Wright D, Nicolaides KH, Serum placental growth factor in the three trimesters of pregnancy: effects of maternal characteristics and medical history. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015 May;45(5):591-8

⁴² Pihl K, Sørensen S, Stener, Jørgensen F, Prediction of Preeclampsia in Nulliparous Women according to First Trimester Maternal Factors and Serum Markers. *Fetal Diagn Ther*. 2019 Oct 17:1-7.

⁴³ Agrawal, S., Shinar, S., Cerdeira, A. S., Redman, C., & Vatish, M. (2019). Predictive Performance of PIGF (Placental Growth Factor) for Screening Preeclampsia in Asymptomatic Women. *Hypertension*. doi:10.1161/hypertensionaha.119.13360

⁴⁴ Kelly-Ann Eastwood, Alyson J Hunter, Christopher C Patterson, David R Mc Cance, Ian S Young, Valerie A Holmes, The role of biomarkers in predicting pre-eclampsia in high-risk women, *Annals of Clinical Biochemistry*, 2019, DOI: 10.1177/0004563219894022

⁴⁵ RI Neuman, ERM Hesselink, L Saleh, AH van den Meiracker, AHJ Danser, W Visser, Angiogenic markers are elevated in women with acute fatty liver of pregnancy, *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, 2019, doi: 10.1002/uog.21912

⁴⁶ Kasper Pihl, Steen Sørensen, Finn Stener Jørgensen, Prediction of Preeclampsia in Nulliparous Women according to First Trimester Maternal Factors and Serum Markers, *Fetal Diagn Ther* 2019, DOI: 10.1159/000503229

⁴⁷ Verlohren, S., Herraiz, I., Lapaire, O., Schlembach, D., Moertl, M., Zeisler, H., ... Stepan, H. (2012). The sFlt-1/PIGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 206(1), 58.e1–58.e8.

⁴⁸ Stolz, M., Zeisler, H., Heinzl, F., Binder, J., & Farr, A. (2018). An sFlt-1:PIGF ratio of 655 is not a reliable cut-off value for predicting perinatal outcomes in women with preeclampsia. *Pregnancy Hypertension*, 11, 54–60.

⁴⁹ Chuah, T. T., Tey, W. S., Ng, M. J., Tan, E. T. H., Chern, B., & Tan, K. H. (2018). Serum sFlt-1/PIGF ratio has better diagnostic ability in early- compared to late-onset pre-eclampsia. *Journal of Perinatal Medicine*, 0(0). doi:10.1515/jpm-2017-0288

⁵⁰ Sharp A, Jackson R, Cornforth C, Harrold J, Turner MA, Kenny L, Baker PN, Johnstone ED, Khalil A, von Dadelszen P, Papageorghiou AT, Alfirevic Z., A prediction model for short-term neonatal outcomes in severe early-onset fetal growth restriction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2019 Oct;241:109-118.

⁵¹ Cowans NJ, Stamatopoulou A, Jaakohuhta S, Hentunen S, Spencer K PP13 stability in first trimester maternal serum and whole blood.. *Prenat Diagn*. 2010 Jun;30(6):582-5

⁵² Ranjit Akolekar, Argyro Syngelaki, Rita Sarquis, Mona Zvanca and Kypros H. Nicolaides, Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11–13 weeks, *Prenat Diagn* 2011; 31: 66–74

⁵³ Beatrice Mosimann, Sofia K. Amyliidi-Mohr, Daniel Surbek & Luigi Raio, First trimester screening for preeclampsia – a systematic review, *hypertension in pregnancy*, 2019, DOI: 10.1080/10641955.2019.

⁵⁴ P. Garg, A. K. Jaryal, G. Kachhawa, K. K. Deepak, A. Kriplani, Estimation of asymmetric dimethylarginine (ADMA), placental growth factor (PLGF) and pentraxin 3 (PTX 3) in women with preeclampsia, *Pregnancy Hypertens*. 2018 Oct;14:245-251

-
- ⁵⁵ Papantoniou N1, Bagiokos V, Agiannitopoulos K, Kolialexi A, Destouni A, Tounta G, Kanavakis E, Antsaklis A, Mavrou A RASSF1A in maternal plasma as a molecular marker of preeclampsia. *Prenat Diagn.* 2013 Jul;33 (7):682-7.
- ⁵⁶ . AbdelHalim RM, Ramadan DI, Zeyada R, Nasr AS, Mandour IA. Circulating Maternal Total Cell-Free DNA, Cell-Free Fetal DNA and Soluble Endoglin Levels in Preeclampsia: Predictors of Adverse Fetal Outcome? A Πολυκεντρική μελέτη Study. *Mol Diagn Ther.* 2016 Apr;20(2):135-49
- ⁵⁷ Γ. Α. ΚΑΡΙΚΑΣ, Εφηρμοσμένη Βιοχημεία Θεωρία – Ασκήσεις, Εκδόσεις ΟΔΥΣΣΕΑΣ, 2012
- ⁵⁸ Vanesa Alonso-Ventura, Yangzhou Li, Vinay Pasupuleti, Yuani M. Roman, Adrian V. Hernandez, Faustino R. Pérez-López, Effects of preeclampsia and eclampsia on maternal metabolic and biochemical outcomes in later life: a systematic review and meta-analysis, *Metabolism Clinical and Experimental* 102, 154012, 2020
- ⁵⁹ Vartika Tripathi, S. P. Jaiswar, Sujata Deo, Pushplata Shankhwar, Association of 2-Methoxyestradiol (2ME) Plasma Levels with Clinical Severity Indices and Biomarkers of Preeclampsia, *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*, <https://doi.org/10.1007/s13224-018-1154-0>, 2018
- ⁶⁰ Luyan Zhang, Xuechun Li, Chengcheng Zhou, Zhengming You, Jianwei Zhang, Guomei Cao, The diagnosis values of serum STAT4 and sEng in preeclampsia, *J Clin Lab Anal.* 2019;00:e23073
- ⁶¹ J.R. Livingston, B. Payne, M. Brown, J.M. Roberts, A.M. Côté, L.A. Magee, P. von DadelszenPIERS Study Group, Uric acid as a predictor of adverse maternal and perinatal outcomes in women hospitalized with preeclampsia, *J. Obstetr. Gynaecol. Canada* 36 (2014) 870–877.
- ⁶² Blankley RT, Fisher C, Westwood M, et al. A label-free selected reaction monitoring workflow identifies a subset of pregnancy specific glycoproteins as potential predictive markers of early-onset pre-eclampsia. *Mol Cell Proteomics.* 2013;12: 3148-59
- ⁶³ Kim SM, Cho BK, Kang MJ, et al. Expression changes of proteins associated with the development of preeclampsia in maternal plasma: A case-control study. *Proteomics.* 2016; 16:1581-9.
- ⁶⁴ Aggeliki Kolialexi, Danaï Mavreli & Nikolas Papantoniou (2016): Proteomics for early prenatal screening of pregnancy complications: a 2017 perspective, *Expert Review of Proteomics*, DOI: 10.1080/14789450.2017.1275574

⁶⁵ Kolialexi, A., Gourgiotis, D., Daskalakis, G., Marmarinos, A., Lykoudi, A., Mavreli, D., ... Papantoniou, N. (2015). Validation of Serum Biomarkers Derived from Proteomic Analysis for the Early Screening of Preeclampsia. *Disease Markers*, 2015, 1–7. doi:10.1155/2015/121848

⁶⁶ Buhimschi, I. A., Zhao, G., Funai, E. F., Harris, N. et al., Proteomic profiling of urine identifies specific fragments of SERPINA1 and albumin as biomarkers of preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2008, 199, 551.e1–551.e16

⁶⁷ Aggeliki Kolialexi, Danai Mavreli, Georgia Tounta, Ariadni Mavrou and Nikolas Papantoniou, Urine proteomic studies in preeclampsia, *Proteomics Clin. Appl.* 2015, 9, 501–506

⁶⁸ Lee, S. M., Park, J. S., Norwitz, E. R., Kim, S. M. et al., Characterization of discriminatory urinary proteomic biomarkers for severe preeclampsia using SELDI-TOF mass spectrometry. *J. Perinat. Med.* 2011, 39, 391–396

⁶⁹ Carty, D. M., Siwy, J., Brennand, J. E., Zurbig, P. et al., Urinary proteomics for prediction of preeclampsia. *Hypertension* 2011, 57, 561–569

⁷⁰ Committee Opinion No. 638: First-Trimester Risk Assessment for Early-Onset Preeclampsia., *Obstet Gynecol.* 2015 Sep;126(3):e25-7. doi: 10.1097/AOG.0000000000001049.

⁷¹ <https://fetalmedicine.org/education/preeclampsia-screening>

⁷² O'Gorman N, Wright D, Rolnik DL, Nicolaides KH, Poon LC. Study protocol for the randomised controlled trial: combined multimarker screening and randomised patient treatment with Aspirin for evidence based PREEclampsia prevention (ASPRE). *BMJ Open.* 2016 Jun 28;6(6):e011801

⁷³ Chaemsaitong, P., Sahota, D., Pooh, R. K., Zheng, M., Ma, R., Chaiyasit, N., ... Poon, L. C. (2019). First-trimester pre-eclampsia biomarker profiles in Asian population: a multicenter πολυκεντρική μελέτη study. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.* doi:10.1002/uog.21905

⁷⁴. James D. Watson, Amy A.Caudy, Richard M. Myers, Jan A. Witkowski, Ανασυνδυασμένο DNA Γονίδια και γονιδιώματα- Μια συνοπτική παρουσίαση, 1η Ελληνική Έκδοση, Ακαδημαϊκές Εκδόσεις, 2007

⁷⁵.R.I Nussbaum, R.R. McInnes, H.F. Willard, Thompson & Thompson Ιατρική Γενετική, 2η Ελληνική έκδοση, Π.Χ. Πασχαλίδης, 2011

⁷⁶. Kentaro Inamura, Major Tumor Suppressor and Oncogenic Non-CodingRNAs: Clinical Relevance in Lung Cancer, *Cells* 6 12,2017

⁷⁷. [Homo sapiens miRNAs in the miRBase](#) at [Manchester University](#)

⁷⁸. ΔΗΜΟΡΑΓΚΑ Π., Ανάλυση Μικροσυστοιχιών miRNA και mRNA του Πολυσταδιακού Μοντέλου Δερματικής Καρκινογένεσης του Ποντικίου, ΕΚΠΑ Τμημά Βιολογίας, 2015

⁷⁹. Pan Q and Chegini N., MicroRNAsignature and regulatory functions in the endometrium during normal and disease states. *Semin Reprod Med* 26:479-93, 2008

⁵⁴. Fu G, Brkic J, Hayder H, et al. MicroRNAs in Human Placental Development and Pregnancy Complications. *Int J MolSci* 14:5519-44, 2013

⁸¹ F. Leti , j.K.DiStefano, miRNA quantification method using quantitative polymerase chain reaction in conjunction with c Q Method, *Methods Mol Biol* 1706 (2018) 257-265

⁸² R. Verma, P.C. Sharma, next generation sequencing-based emerging trends in molecular biology of gastric cancer, *Am J Cancer Res* 8(2) (2018) 207-225

⁸³ H. Osada, T. Takahashi, MicroRNAs in biological processes and carcinogenesis, *Carcinogenesis* 28 (1) (2007) 2-12

⁸⁴ F. Sato, S. Tsuchiya, SJ Meltzer, K Shimizu, MicroRNAs and epigenetics, *FEBS J* 278(10) (2011) 1598-609

⁸⁵ M.Fabbri, G.A.Calin, Beyond genomics: interpreting the 93% of the human genome that does not encodes proteins, *Curr Opin Drug Discov Devel* 13(3) (2010) 350-8

⁸⁶. Xiuhua Yang, Tao Meng, MicroRNA-431 affects trophoblast migration and invasion by targeting ZEB1 in preeclampsia, *GENE* S0378-1119 31049-7, 2018

⁸⁷. Flavin RJ, Smyth PC, Laios A, et al. Potentially important microRNA cluster on chromosome 17p13.1 in primary peritonea lcarcinoma. *ModPathol.* 22(2):197-205, 2009

⁸⁸. Hu Y, Li P, Hao S, et al. Differential expression of microRNAs in the placenta of Chinese patients with severe pre-eclampsia. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 47(8):923, 2009

⁸⁹. I. Hromadnikova, K. Kotlabova, K.Ivankova, Y. Vedmetskaya, L. Krofta, Profiling of cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNA expression in umbilical cord blood in gestational hypertension, preeclampsia and fetal growth restriction, *Int. J. Cardiol.* 249, 402–409, 2017

-
- ⁹⁰. H. Li, Q. Ge, L. Guo, Z. Lu, Maternal plasma miRNAs expression in preeclamptic pregnancies, *Biomed Res. Int.* 2013 (2013) 970265.
- ⁹¹A. Luque, A. Farwati, F. Croveto, F. Crispi, F. Figueras, E. Gratacos, J.M. Aran, Usefulness of circulating microRNAs for the prediction of early preeclampsia at first-trimester of pregnancy, *Sci. Rep.* 4 (2014) 4882.
- ⁹². G. Zhao, X. Zhou, S. Chen, H. Miao, H. Fan, Z. Wang, Y. Hu, Y. Hou, Differential expression of microRNAs in decidua-derived mesenchymal stem cells from patients with pre-eclampsia, *J. Biomed. Sci.* 21 (2014) 81.
- ⁹³. Yang Y., HuirongLi, YuanMa, XiaomingZhu, ShaohuaZhang, JingLi, MiR-221-3p is down-regulated in preeclampsia and affects trophoblast growth, invasion and migration partly via targeting thrombospondin 2, *Biomedicine & Pharmacotherapy* 109 (2019) 127–134
- ⁹⁴. Fu G, Ye G, Nadeem L, Ji L, Manchanda T, Wang Y, et al. MicroRNA-376c impairs transforming growth factor- β and nodal signaling to promote trophoblast cell proliferation and invasion. *Hypertension* 2013; 6: 864–872, doi: 10.1161/ HYPERTENSIONAHA.111.203489.
- ⁹⁵. Hui-liYang, Hong-zhiZhang, Fan-rongMeng, Shu-yiHan and MiaoZhang, Differential expression of microRNA-411 and 376c is associated with hypertension in pregnancy, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* (2019) 52(4): e7546
- ⁹⁶. Lykoudi A, Kolialexi A, Lambrou GI, Braoudaki M, Siristatidis C, Papaioanou GK, Tzetis M, Mavrou A, Papantoniou N, Dysregulated placental microRNAs in early and late on set Preeclampsia, *Placenta*, S0143-4004:31196-7, 2017
- ⁹⁷ Pineles BL, Romero R, Montenegro D, et al. Distinct subsets of microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:261.e1-261.e6
- ⁹⁸ Zhu X-M, Han T, Sargent IL, Yin G-W, Yao Y-Q. Differential expression profile of microRNAs in human placentas from preeclamptic pregnancies vs normal pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:661.e1-661.e7.
- ⁹⁹ Enquobahrie, D. A., Hensley, M., Qiu, C., Abetew, D. F., Hevner, K., Tadesse, M. G., & Williams, M. A. (2015). Candidate Gene and MicroRNA Expression in Fetal Membranes and Preterm Delivery Risk. *Reproductive Sciences*, 23(6), 731–737. doi:10.1177/1933719115612925
- ¹⁰⁰ Mayor-Lynn, K., Toloubeydokhti, T., Cruz, A. C., & Chegini, N. (2010). Expression Profile of MicroRNAs and mRNAs in Human Placentas From Pregnancies Complicated by Preeclampsia and Preterm Labor. *Reproductive Sciences*, 18(1), 46–56. doi:10.1177/1933719110374115

-
- ¹⁰¹ Wang, W., Feng, L., Zhang, H., Hachy, S., Satohisa, S., Laurent, L. C., ... Chen, D. (2012). Preeclampsia Up-Regulates Angiogenesis-Associated MicroRNA (i.e., miR-17, -20a, and -20b) That Target Ephrin-B2 and EPHB4 in Human Placenta. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(6), E1051–E1059. doi:10.1210/jc.2011-3131
- ¹⁰².S.Chim,T.Shing,E.Hung,T.Leung,etal.,Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma, *Clin.Chem.*54482–490, 2008
- ¹⁰³. Y. Zhang, M. Fei, G. Xue, Q. Zhou, Y. Jia, L. Li, H. Xin, S. Sun, Elevated levels of hypoxia-inducible microRNA-210 in pre-eclampsia: New insights into molecular mechanisms for the disease, *J.Cell.Mol.Med.*16 249–259, 2012
- ¹⁰⁴. Y.Chan,J.Banerjee,S.Choi,C.Sen,MiR-210:themasterhypoxamir, *Microcirculation*19 215–22, 2012
- ¹⁰⁵.Xu,Y.Zhao,M.Liu,Y.Wang,H.Wang,Y.Li,X.Zhu,etal.,Variations of microRNAs in human placentas and plasma from preeclamptic pregnancy, *Hypertension*63 1276–1284, 2014
- ¹⁰⁶. R.Luo, X.Shao, P.Xu, Y.Liu ,Y.Wang, Y.Zhao, et al., MicroRNA-210 contributestopreeclampsibydownregulatingpotassiumchannelmodulatoryfactor 1, *Hypertension* 64 839–845, 2014
- ¹⁰⁷. Y.Zhang, Z.Diao, L.Su, H.Sun, R.Li, H.Cui, Y.Hu, MicroRNA-155 contributestopreeclampsibydown-regulatingCYR61, *Am.J.Obstet.Gynecol.* 202466–472, 2010
- ¹⁰⁸. Dai, Y., Diao, Z., Sun, H., Li, R., Qiu, Z., &Hu, Y. MicroRNA-155 is involved in the remodelling of human-trophoblast-derived HTR-8/ SV neocells induced by lipopolysaccharides. *Human Reproduction*, 26(7), 1882–1891, 2011
- ¹⁰⁹. Hanan M., Elham S., Association of MicroRNA-210 and MicroRNA-155 with severity of preeclampsia, *Pregnancy Hypertension*, 17, 49-53, 2019
- ¹¹⁰. Kun Dong, Xiangli Zhang, Lijuan Mac, Na Gao, Haiyang Tang, Feng Jian, Yuyan Ma, Down regulations of circulating miR-31 and miR-21 are associated with preeclampsia *Pregnancy Hypertension* 17 59–63, 2019

¹¹¹ SHENG YANG1, HAILING LI2, QINYU GE3, LI GUO1 and FENG CHEN, Deregulated microRNA species in the plasma and placenta of patients with preeclampsia MOLECULAR MEDICINE REPORTS 12: 527-534, 2015

¹¹²Li, R., Wang, N., Xue, M., Long, W., Cheng, C., Mi, C., & Gao, Z. (2018). A potential regulatory network among WDR86-AS1, miR-10b-3p, and LITAF is possibly involved in preeclampsia pathogenesis. Cellular Signalling. doi:10.1016/j.cellsig.2018.12.006

¹¹³ L. Wu, H. Zhou, H. Lin, J. Qi, C. Zhu, Z. Gao, H. Wang, Circulating microRNAs are elevated in plasma from severe preeclamptic pregnancies, Reproduction 143(3) (2012) 389-97

¹¹⁴ Gunel T, Kazem Hosseini M, Gumusoglu E, Ibrahim Kisakesen H, Benian A, Aydinli K, Expression profiling of maternal plasma and placenta microRNAs in preeclamptic pregnancies by microarray technology, Placenta (2017)