

Βιοχημικοί δείκτες πρόγνωσης της προεκλαμψίας

Γραμματικάκης Ιωάννης, Ευαγγελινάκης Νικόλαος, Σαλαμαλέκης Γεώργιος, Κασσάνος Δημήτριος

Γ' Μαιευτική - Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Π.Γ.Ν. «Αττικόν».

Αλληλογραφία: Γραμματικάκης Ι., Επιμελητής Β'
Λυκούργου 105, Καλλιθέα 176 72, Αθήνα
E-mail: gramjh@yahoo.gr

Περίληψη

Η προεκλαμψία είναι μία διαταραχή που παρατηρείται στη διάρκεια της κύησης και σχετίζεται με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα τόσο για τη μητέρα όσο και για το έμβρυο. Τα τελευταία χρόνια έχει μελετηθεί ένας σημαντικός αριθμός βιοχημικών δεικτών όσον αφορά την προγνωστική τους ικανότητα στη διάγνωση της προεκλαμψίας, χωρίς όμως να έχει εφαρμοστεί κανείς στην κλινική πράξη. Ιδιαίτερη προσπάθεια έχει καταβληθεί στην ανακάλυψη νέων βιοχημικών δεικτών και στις δυνατότητες συνδυασμού αυτών με άλλες μεθόδους ανίχνευσης, όπως είναι η Doppler υπερηχοτομογραφία. Σκοπός της παρούσας ανασκόπησης είναι να συγκεντρωθούν τα σύγχρονα δεδομένα ως προς τους πιθανούς προγνωστικούς βιοχημικούς δείκτες. Οι προγνωστικοί δείκτες που φαίνεται μέχρι στιγμής να έχουν κάποια κλινική αξία (υψηλή θετική προγνωστική αξία, διάγνωση σε πρώιμο στάδιο της κύησης, ύπαρξη μελετών συνδυασμού τους με Doppler υπερηχοτομογραφία) είναι η πλακουντιακή πρωτεΐνη 13 (PP-13), η διαλυτή τυροσινική κινάση 1 μορφής fms (sFlt-1), ο παράγοντας αύξησης του πλακούντα (PLGF) και η διαλυτή ενδογλίνη (sEng). Ωστόσο, απαιτούνται μεγάλης κλίμακας προοπτικές μελέτες, οι οποίες θα επιβεβαιώσουν τα ερευνητικά δεδομένα και θα αποδείξουν την προγνωστική τους αξία στη διάγνωση των κυήσεων που θα επιπλακούν με προεκλαμψία.

Λέξεις κλειδιά: προεκλαμψία, πρόγνωση, βιοχημικοί δείκτες

Εισαγωγή

Η προεκλαμψία αποτελεί επιπλοκή της κύησης και εμφανίζεται σε ποσοστό 8% στο σύνολο των κυήσεων (Walker, 2000; Sibai et al., 2005). Ορίζεται ως η εμφάνιση υπέρτασης και πρωτεϊνουρίας με αποτέλεσμα τη δημιουργία οιδήματος και ενδομήτριας

καθυστερήσης ανάπτυξης. Πρόκειται για επιπλοκή η οποία αυξάνει σημαντικά το ποσοστό νοσηρότητας και θνησιμότητας, τόσο της μητέρας όσο και του νεογνού. Η παθογένεια της επιπλοκής αυτής παραμένει ακόμη ασαφής. Ωστόσο, είναι πλέον

αποδεκτό ότι στην παθογένεια της νόσου συμμετέχουν μηχανισμοί, όπως η διήθηση της τροφοβλάστης με αγγεία, η ελάττωση της πλακουντιακής διάχυσης, η πλακουντιακή ισχαιμία, το οξειδωτικό στρες αλλά και άλλοι ανεξάρτητοι μηχανισμοί (διαταραχή αγγειογενετικών και θρομβωτικών παραγόντων). Το αποτέλεσμα όλων αυτών των μηχανισμών είναι η γενικευμένη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία των αγγείων της μητέρας (Redman and Sargent, 2005).

Η πρόωμη διάγνωση και η έγκαιρη αποπεράτωση της κύησης είναι καθοριστικής σημασίας ώστε να μειωθεί η περιγεννητική νοσηρότητα. Έτσι, είναι πολύ σημαντικό να γίνεται έγκαιρη διάγνωση των γυναικών εκείνων οι οποίες έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης προεκλαμψίας.

Μέχρι σήμερα η πρόωμη διάγνωση στηρίζεται στο ιστορικό της μητέρας, στην ανεύρεση υπέρτασης και στην ύπαρξη πρωτεϊνουρίας και οιδήματος. Ακόμη, μέχρι σήμερα έχουν προταθεί και άλλες εξετάσεις προκειμένου να εντοπιστούν οι γυναίκες εκείνες με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου. Έτσι, ενώ αρχικά το ενδιαφέρον εστιάστηκε σε μη βιοχημικούς δείκτες, σήμερα το ενδιαφέρον μετατοπίστηκε σε βιοχημικούς δείκτες. Η ακρίβεια και η χρησιμότητα των νέων αυτών δεικτών είναι ακόμη αντικείμενο αναζήτησης και έρευνας.

Αρχικά έρευνες έγιναν σχετικά με την ευαισθησία των αγγείων στην αγγειοσυστατική αγγειοτασίνη II, δεδομένου ότι στην προεκλαμψία εμφανίζονται τέτοιες δράσεις (Talledo, 1966). Αργότερα το ενδιαφέρον στράφηκε στη μέτρηση της ΑΠ στο δεύτερο τρίμηνο της κύησης (Kyle et al., 1995).

Ωστόσο, κανένα από αυτά τα τεστ δεν αποδείχτηκε ότι έχει κλινική σημασία. Η ειδικότητα ήταν μικρή, ενώ η διάγνωση γινόταν σε στάδιο τέτοιο που η προληπτική θεραπεία δεν είχε καμία επίπτωση στο περιγεννητικό αποτέλεσμα. Τελευταία ερευνάται η χρήση του Doppler υπερηχογραφήματος, ενώ γίνεται προσπάθεια να εντοπιστούν βιοχημικοί δείκτες σε ασυμπτωματικές έγκυες γυναίκες, οι οποίες πρόκειται να αναπτύξουν προεκλαμψία.

Ανασταλτίνη A και ακτιβίνη A

Πρόκειται για γλυκοπρωτεϊνικές ορμόνες που ανήκουν στην οικογένεια του TGF-β (Transforming Growth Factor-β). Κατά την εγκυμοσύνη εκκρίνονται κυρίως στον πλακούντα. Σε φυσιολογικές κύσεις οι συγκεντρώσεις των ουσιών αυτών στο πλάσμα αυξάνουν κατά το τρίτο τρίμηνο. Αξιοσημείω-

τα υψηλά επίπεδα παρατηρήθηκαν σε προεκλαμπτικές γυναίκες συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (Muttukrishna et al., 1997; Fraser et al., 1998). Παρά ταύτα δεν κατέσκει δυνατή η συσχέτιση του ύψους των τιμών με τη βαρύτητα της προεκλαμπτικής νόσου. Άγνωστος παραμένει ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο αυξάνουν τα επίπεδα της ανασταλτίνης A και της ακτιβίνης A. In vitro μελέτες έδειξαν ότι η ακτιβίνη A αυξάνει την έκκριση της β-χοριακής γοναδοτροπίνης (Petraglia et al., 1989), η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί την έκκριση της ακτιβίνης A (Bandivdekar et al., 1985). Επίσης, η ακτιβίνη A εκκρίνεται από κυκλοφορούντα φλεγμονώδη κύτταρα (Yu et al., 1996), τα οποία είναι ενεργοποιημένα στο ευρύτερο φλεγμονώδες πλαίσιο της προεκλαμψίας (Sargent et al., 2003). Μελέτες που έγιναν δείχνουν ότι τα επίπεδα της ακτιβίνης A και της ανασταλτίνης A είναι αυξημένα σε μετρήσεις περί τη 12η εβδομάδα κύησης (7-13) γεγονός που μπορεί να αξιοποιηθεί σε προγνωστικό και διαγνωστικό έλεγχο για την προεκλαμπτική νόσο (Zwahlen et al., 2006). Ωστόσο, χρειάζονται περισσότερες προοπτικές μελέτες ώστε να γίνει αποδεκτή η κλινική αξία των μετρούμενων ουσιών.

Σύμφωνα με άλλες μελέτες σχετικά με την προγνωστική αξία της ανασταλτίνης και της ακτιβίνης A, φαίνεται ότι τα επίπεδα των ουσιών αυτών είναι επίσης αυξημένα και σε μεγαλύτερες εβδομάδες κύησης (15-19, 21-25). Ωστόσο, η διαγνωστική ευαισθησία στο 2ο τρίμηνο είναι χαμηλή (16-59%) και συγκρίνεται με τη μέτρηση της ΑΠ στο 2ο τρίμηνο (Caritis et al., 1998). Πρέπει να σημειωθεί ότι σύμφωνα με τα αποτελέσματα των μελετών που προαναφέρθηκαν η διαγνωστική ευαισθησία της ακτιβίνης A και της ανασταλτίνης A είναι μεγαλύτερη στα πρώιμα στάδια της κύησης παρά στα προχωρημένα στάδια.

Πλακουντιακός αυξητικός παράγοντας (PLGF), αγγειακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), υποδοχέας 1 του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (SVEGFR-1) και διαλυτή κινάση της τυροσίνης (sFLT-1)

Η διαφοροποίηση της τροφοβλάστης και ειδικότερα η αγγειογένεση στα πρώιμα στάδια της κύησης είναι εξαιρετικά σημαντική για τη φυσιολογική πλακουντοποίηση και για την καλή λειτουργία της μητροπλακουντιακής μονάδας (Zhou et al., 1997; Red-Horse et al., 2004). Στην προεκλαμψία η τρο-

φοβλάστη διηθείται από σπιροειδείς αρτηρίες. Παράγοντες που ευνοούν αυτή την αγγειογένεση είναι ο PLGF και ο VEGF, οι οποίοι εμφανίζονται και παρόμοια αλληλουχία αμινοξέων. Οι παράγοντες αυτοί καταστέλλονται από τον SVEGFR-1, ο οποίος εκκρίνεται ενδογενώς. Ο SVEGFR-1 προλαμβάνει τη σύνδεση των PLGF-VEGF με το δραστικό αδιάλυτο παράγοντα FLT-1 στο ενδοθηλίο των αγγείων με αποτέλεσμα την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (Autiero et al., 2003). Τόσο η διαλυτή όσο και η αδιάλυτη μορφή του VEGFR-1 καθώς και οι PLGF-VEGF εκφράζονται από την τροφοβλάστη. Έτσι, σύμφωνα με μελέτες ο PLGF εμφανίζεται σε χαμηλότερα επίπεδα σε προεκλαμψία (Clark et al., 1998; Zhou et al., 2002), ενώ αντίθετα ο sFLT-1 είναι αυξημένος και μάλιστα σε συσχέτιση με τη βαρύτητα της νόσου (Chaiworapongsa et al., 2004). Αξίζει να σημειωθεί ότι σε πειράματα με ποντίκια, η αυξημένη παρουσία του sFLT-1 φαίνεται ότι προκάλεσε εικόνα παρόμοια με προεκλαμψία (Maynard et al., 2005). Ωστόσο, για να γίνει αυτή η παρατήρηση αποδεκτή και για τους ανθρώπους, περαιτέρω έρευνες είναι απαραίτητες.

Συμπερασματικά, αυξημένα επίπεδα sFLT-1 και κατά συνέπεια χαμηλά επίπεδα VEGF και PLGF φαίνεται ότι συμμετέχουν σε παθογενετικούς μηχανισμούς με αποτέλεσμα την ανάπτυξη προεκλαμψίας.

Πλακουντιακή πρωτεΐνη 13 (PP-13)

Πρόκειται για μία από τις πάνω από 50 πρωτεΐνες που συντίθενται στον πλακούντα. Η λειτουργία της PP-13 στη φυσιολογική κύηση και η συμμετοχή της στην παθογένεση της προεκλαμψίας είναι ακόμη ασαφής. Πάντως, μειωμένα επίπεδα PP-13 ανιχνεύονται σε γυναίκες που αργότερα αναπτύσσουν προεκλαμψία (Burger et al., 2004; Papageorghiou and Campbell, 2006). Ο δείκτης αυτός σε συνδυασμό με υπερηχογράφημα Doppler στο 1ο τρίμηνο της κύησης φαίνεται να αποτελεί πολλά υποσχόμενη μέθοδο.

Πρωτεΐνη πλάσματος Α της εγκυμοσύνης (PAPP-A)

Πρόκειται για μεγαλομοριακή γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται κυρίως από τον πλακούντα. Η πρωτεΐνη PAPP-A μοιάζει με τον παράγοντα IGFBP-4 και 5 (insulin growth factor binding protein) έτσι ώστε να ενεργοποιεί τη δράση των παραγόντων IGF-1 και 2 (Laursen et al., 2001). Επίσης, φαίνεται ότι η πρω-

τεΐνη PAPP-A παίζει ρόλο στην εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου. Τα επίπεδα της πρωτεΐνης αυτής εμφανίζονται αυξημένα μετά την εμφάνιση προεκλαμψίας (Toop and Klopfer, 1981; Bersinger et al., 2003). Ιδιαίτερα ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι τα επίπεδα της PAPP-A στα πρώιμα στάδια της κύησης φαίνεται ότι είναι μειωμένα σε γυναίκες που πρόκειται να αναπτύξουν προεκλαμψία (Smith et al., 2002). Η PAPP-A στα πρώτα στάδια της κύησης αποτελεί ένα καλό δείκτη πρόγνωσης παθολογικών καταστάσεων (π.χ. σύνδρομο Down), αλλά και άλλων επιπλοκών της κύησης που εμφανίζονται αργότερα (π.χ. προεκλαμψία).

Ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη

Αρχικά μελέτες κατέδειξαν αύξηση της βhCG στο πλάσμα γυναικών με προεκλαμψία. Ακολούθησε με την πάροδο των ετών σειρά αναδρομικών μελετών όπου επίσης διαπιστώθηκαν αυξημένα επίπεδα βhCG σε έγκυες γυναίκες που εμφάνισαν προεκλαμψία. Σε σχετική έρευνα 5776 εγκύων γυναικών έγινε ανάλυση των επιπέδων της βhCG στο πλάσμα γυναικών κατά την 15η εβδομάδα κύησης. Τα παρατηρηθέντα αυξημένα επίπεδα της βhCG συσχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης προεκλαμψίας (Muller et al., 1996), γεγονός το οποίο περιγράφεται και από άλλες ερευνητικές ομάδες (Audibert et al., 2005). Δυστυχώς, η χαμηλή ευαισθησία και η χαμηλή προγνωστική αξία (~15%) καθιστούν τη μέτρηση της βhCG μέθοδο με ελάχιστη αξία σχετικά με την έγκαιρη πρόγνωση της προεκλαμπτικής νόσου.

Διαλυτή μορφή της ενδογλίνης (sEng)

Τελευταία ένας νέος παράγοντας, η διαλυτή μορφή της ενδογλίνης (sEng) συσχετίστηκε με την αιτιοπαθογένεια της προεκλαμψίας (Venkatesha et al., 2006). Ειδικότερα, η ενδογλίνη αποτελεί ενεργό υποδοχέα για τον υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα β1 και β3 και ανευρίσκεται στην τροφοβλάστη. Ο ρόλος του στην εγκυμοσύνη αποτελεί μέρος της παρούσης ανασκόπησης και περιγράφεται ακολούθως. Στην προεκλαμψία παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα στον sEng. Ακόμη, σε πειραματικό επίπεδο σε ποντίκια, η μεγάλη ανεύρεση του παράγοντα αυτού συνδυάστηκε με αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων και υπέρταση. Τα συμπτώματα αυτά επιδεινώθηκαν δραματικά σε περιπτώσεις

όπου συνυπήρχε και μεγαλύτερη παρουσία της διαλυτής κινάσης της τυροσίνης, με αποτέλεσμα την εμφάνιση σοβαρής προεκλαμψίας με πρωτεϊνουρία και εκδηλώσεις συνδρόμου HELLP (Haemolysis, elevated liver enzymes, low platelets).

Άλφα φετοπρωτεΐνη (AFP)

Αρχικά η AFP συνδυάστηκε με αυξημένο κίνδυνο ύπαρξης δισχιδούς ράχης. Έτσι, εξετάστηκε αργότερα το κατά πόσο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης προεκλαμψίας. Ωστόσο, τα στοιχεία παραμένουν αντιφατικά. Ερευνητές περιγράφουν αύξηση των επιπέδων της AFP σε εγκύους που εμφανίζουν αργότερα προεκλαμψία (Audibert et al., 2005), ενώ αντίθετα άλλοι δεν αναφέρουν οιαδήποτε μεταβολή στα επίπεδα της AFP (Wald et al., 2006). Έτσι, η AFP αποτελεί δεικτη με σημαντικά περιορισμένη κλινική αξία.

Corticotropin-releasing factor (CRF) και CRF-binding protein (CRF-BP)

Πρόκειται για νευροορμόνες που παράγονται στον πλακούντα. Ο CRF ασκεί χάλαση στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και κατά συνέπεια αγγειοδιαστολή (Clifton et al., 2002). Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ο παράγοντας αυτός παράγεται κυρίως στον πλακούντα με αποτέλεσμα να παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα του εμβρύου και της μητέρας (Florio et al., 2002). Δεδομένου ότι τα αγγεία του πλακούντα δεν διαθέτουν μηχανισμούς αυτορρυθμισμού, ο CRF θεωρήθηκε ότι αποτελεί τοπικό ρυθμιστικό παράγοντα του τόνου των αγγείων στον πλακούντα. Έτσι, σε μελέτες που έγιναν τόσο ο CRF όσο και ο CRF-BP βρέθηκε να έχουν διαφορετικά επίπεδα συγκέντρωσης σε γυναίκες εγκύους που εμφάνισαν επιπλοκή με υπέρταση (Petraglia et al., 1996). Ειδικότερα, ο CRF βρέθηκε σε αυξημένα επίπεδα και ο CRF-BP σε χαμηλότερα επίπεδα σε εγκύους με υπέρταση της κύησης συγκριτικά με άλλες χωρίς την επιπλοκή αυτή (Florio et al., 2004). Ωστόσο, το εάν οι μεταβολές αυτές αποτελούν αίτιο ή αποτέλεσμα της προεκλαμψίας είναι αντικείμενο προς διερεύνηση. Τέλος, σχετικά με την προγνωστική αξία των συγκεκριμένων δεικτών για την εμφάνιση προεκλαμψίας απαιτείται περαιτέρω έρευνα.

Λεπτίνη

Πρόκειται για κυτταροκίνη που παράγεται από τα λιποκύτταρα. Συμμετέχει μέσω δράσεων στο ΚΝΣ στους μηχανισμούς ρύθμισης του σωματικού βάρους. Κατά την εγκυμοσύνη, τα επίπεδα της λεπτίνης στο πλάσμα των γυναικών επηρεάζονται και από την πλακουντιακή λειτουργία. Σύμφωνα με μελέτες το BMI στο 2ο τρίμηνο της κύησης συσχετίζεται σημαντικά με τα επίπεδα της λεπτίνης στο αίμα της εγκύου (Williams et al., 1999). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι γυναίκες με προεκλαμψία και BMI <25 kg/m² είχαν υψηλότερα επίπεδα λεπτίνης, ενώ άλλες με προεκλαμψία και BMI >25 kg/m² είχαν χαμηλότερα επίπεδα λεπτίνης συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (Williams et al., 1999). Ωστόσο, ενώ κάποιοι ερευνητές θεωρούν ότι όντως τα επίπεδα λεπτίνης είναι αυξημένα σε προεκλαμπτικές γυναίκες (Chappell et al., 2002), άλλοι δεν αναφέρουν διαφορές (Martinez-Abundis et al., 2000). Σχετικά τώρα με τα επίπεδα της λεπτίνης πριν την εκδήλωση προεκλαμψίας τα μέχρι σήμερα δεδομένα είναι αντιφατικά. Έτσι, έρευνες περιγράφουν αύξηση των επιπέδων μεταξύ 20-36 εβδομάδων (Anim-Nyane et al., 2000a; Chappell et al., 2002), ενώ αντίθετα άλλοι ερευνητές δεν αναφέρουν μεταβολή στα επίπεδα της λεπτίνης μεταξύ 7-13 εβδομάδων κύησης σε γυναίκες με ή χωρίς προεκλαμψία (Salomon et al., 2003).

IGF-1 και IGFBP-1

Ο παράγοντας IGFBP-1 θεωρείται ότι συμμετέχει στους μηχανισμούς εμφύτευσης του γονιμοποιημένου ωαρίου (Irwin et al., 2001). Η δυνατότητα του παράγοντα αυτού να καταστέλει αγγείωση της τροφοβλάστης έχει αποδειχθεί in vitro (Irwin and Giudice, 1998). Έτσι, σύμφωνα με μελέτες τα χαμηλά επίπεδα πλάσματος του IGF και του IGFBP-1 κατά τη 13η εβδομάδα κύησης συσχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης προεκλαμψίας (Ning et al., 2003). Σε άλλες τώρα μελέτες συγκρίθηκαν τα επίπεδα του IGFBP-1 στις 16, 20, 24, 28, 32 και στις 36 εβδομάδες κύησης τόσο σε γυναίκες χωρίς προεκλαμψία όσο και σε γυναίκες με προεκλαμψία. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τα επίπεδα του IGFBP-1 ήταν χαμηλότερα κατά την 16η, την 20η και την 24η εβδομάδα της κύησης σε γυναίκες που ανέπτυξαν προεκλαμψία (Bersinger and Odegard, 2004). Ακόμη, κατά την 28η και κατά την 32η εβδομάδα κύησης δεν παρατηρήθηκαν ουσια-

στικές μεταβολές των τιμών του IGFBP-1, ενώ τέλος κατά την 36η εβδομάδα τα επίπεδα ήταν αυξημένα (Anim-Nyane et al., 200b). Τα στοιχεία αυτά καταδεικνύουν ότι και στο πρώτο τρίμηνο της κύησης τα επίπεδα του IGFBP-1 είναι ελαττωμένα στις γυναίκες που θα αναπτύξουν προεκλαμψία, απαιτείται ωστόσο περαιτέρω έρευνα ώστε ο συγκεκριμένος δείκτης να αποτελέσει προγνωστικό παράγοντα της προεκλαμπτικής νόσου.

Ομοκυστεΐνη

Συμμετέχει σε μηχανισμούς οξειδωσης των λιπιδίων και οξειδωτικού στρες. Αρχικά παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης κατά τη διάρκεια της κύησης (Murphy et al., 2002). Ωστόσο, τα στοιχεία για το τι ακριβώς συμβαίνει είναι και στην περίπτωση αυτή αντιφατικά. Έτσι, κατά ορισμένους συγγραφείς τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης στα αρχικά στάδια του δεύτερου τριμήνου της κύησης φαίνεται να είναι αυξημένα σε γυναίκες που θα αναπτύξουν προεκλαμψία (Cotter et al., 2003). Αντίθετα, άλλοι μελετητές υποστηρίζουν ότι η προεκλαμψία δεν συσχετίζεται με καμία μεταβολή των επιπέδων της ομοκυστεΐνης στο ίδιο χρονικό διάστημα της κύησης (Yu et al., 2004; Onalan et al., 2006). Συμπερασματικά, τα αντιφατικά στοιχεία περιορίζουν σημαντικά την αξία της ομοκυστεΐνης ως πρώιμου δείκτη προεκλαμψίας.

Ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (ADMA)

Πρόκειται για ενδογενή αναστολέα της συνθετάσης του νιτρικού οξειδίου. Η συνθετάση αυτή παράγει νιτρικό οξείδιο από το αμινοξύ L-αργινίνη (Moncada and Higgs, 1993). Το οξείδιο του αζώτου αποτελεί ένα δυναμικά ενδογενή αγγειοδιασταλτικό παράγοντα, ο οποίος κατά την κύηση φέρεται να έχει ρόλο στη ρύθμιση της ΑΠ και της αιματικής ροής. Επιπρόσθετα, το οξείδιο του αζώτου αναστέλλει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο των αγγείων καθώς επίσης και την ανάπτυξη των λείων μυϊκών ινών. Ο ADMA συσχετίστηκε με αγγειοπάθεια και δυσλειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου (Kielstein et al., 2004). Έτσι, σύμφωνα με ορισμένους μελετητές τα επίπεδα το ADMA ανευρίσκονται αυξημένα στο πλάσμα ασθενών με υπέρταση, υπερχοληστερολαιμία, αθηρωμάτωση και διαβήτη. Ακόμη, πιστεύεται ότι αποτελεί και μέρος του παθογενετικού μηχανισμού της υπέρτασης. Σε εθελοντές όπου έγινε χορήγηση ADMA παρατηρήθηκε δυσλειτουργία στη διαστολή των αγγείων, αύξησης της συστηματικής και νεφρικής αγγειακής αντίστασης και τέλος μείωση της καρδιακής παροχής. Τα στοιχεία αυτά συνηγορούν υπέρ του γεγονότος ότι η χρόνια αύξηση των επιπέδων του ADMA συσχετίζεται άμεσα με την παθογένεια της αγγειακής νόσου. Τα επίπεδα του ADMA μειώνονται στη φυσιολογική κύηση, ενώ αντίθετα αυξάνουν στις περιπτώσεις προεκλαμψίας. Ειδικότερα, τα επίπεδα του ADMA στις γυναίκες με φυσιολογική κύηση είναι ακόμη χαμηλότερα από ό,τι σε μη εγκύους και παραμένουν χαμηλά καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης, ενώ ενίοτε αυξάνουν κατά το 3ο τρίμηνο. Αντίθετα, σε περιπτώσεις προεκλαμψίας τα επίπεδα του ADMA κατά το τρίτο τρίμηνο είναι αυξημένα. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι τα επίπεδα του ADMA αυξάνουν και πριν την εκδήλωση προεκλαμψίας και IUGR εμβρύων, έτσι ώστε να πιστεύεται ότι αποτελεί ιδανικό δείκτη σχετικά με την πρώιμη διάγνωση της προεκλαμπτικής νόσου σε γυναίκες με αυξημένο κίνδυνο (Savvidou et al., 2003).

Εμβρυϊκοί ερυθροβλάστες και ελεύθερο εμβρυϊκό DNA στο πλάσμα της μητέρας

Φυσιολογικά τα εμβρυϊκά κύτταρα διαπερνούν τον πλακούντα κατά τη διάρκεια της κύησης και εισέρχονται στη μητρική κυκλοφορία. Η εμβρυομητρική αυτή επικοινωνία θεωρήθηκε ότι αποτελεί μέρος του παθογενετικού μηχανισμού της προεκλαμψίας δεδομένου ότι ανευρίσκεται αυξημένη σε ανωμαλίες του πλακούντα (Holzgreve et al., 1998). Ειδικότερα, η μεταφορά αλλογενών ανοσολογικών διεγερτών στο μητρικό αίμα παρατηρήθηκε ότι είναι αυξημένη και κατά συνέπεια ότι συσχετίζεται με την παθογένεια της νόσου. Έτσι, η υπόθεση αυτή μελετήθηκε και όντως επιβεβαιώθηκε (Al-Mufti et al., 2000; Holzgreve et al., 2001). Ακόμη, σύμφωνα με παλαιότερες μελέτες το ελεύθερο εμβρυϊκό DNA ανευρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στο πλάσμα γυναικών με προεκλαμψία, συγκριτικά νορμοτασικές κύσεις (Lo et al., 1999). Επίσης, σύμφωνα με άλλους ερευνητές τα επίπεδα του ελεύθερου εμβρυϊκού DNA ανευρίσκονται αυξημένα και σε γυναίκες που θα αναπτύξουν προεκλαμψία (Zhong et al., 2002). Η αύξηση αυτή αποδίδεται σε πλακουντιακή νέκρωση και απόπτωση καθώς και σε κατεστραμμένο υλικό DNA. Παρά ταύτα η πολυπλοκότητα και το κόστος

της μεθόδου δεν επέτρεψαν την πραγματοποίηση περαιτέρω μελετών ώστε να επιβεβαιωθεί η αρχική υπόθεση.

Συνδυασμός βιοχημικών δεικτών και Doppler υπερηχογραφήματος των μητριάων αρτηριών

Μέχρι σήμερα μεγάλος αριθμός βιοχημικών δεικτών έχει προταθεί για την πρόωμη διάγνωση της προεκλαμψίας. Ωστόσο, η κλινική χρησιμότητα αυτών των δεικτών παραμένει περιορισμένη. Πρώτον, διότι τα μέχρι σήμερα στοιχεία για τους δείκτες αυτούς παραμένουν περιορισμένα αλλά και αντιφατικά. Δεύτερον, διότι η διαγνωστική ευαισθησία και αξία των δεικτών αυτών είναι συχνά πτωχή. Έτσι, έγιναν περαιτέρω προσπάθειες ώστε οι δείκτες αυτοί να συνδυαστούν και με άλλους ποικίλους δείκτες ώστε να αυξηθεί το ποσοστό της προγνωστικής τους αξίας. Ως γνωστόν, η προεκλαμψία αποτελεί πολυπαραγοντική νόσο, η οποία εκδηλώνεται με διάφορους παθογενετικούς μηχανισμούς. Έτσι, στην προεκλαμψία παρατηρούνται ανωμαλίες του πλακούντα, οι οποίες χαρακτηρίζονται από αυξημένες αγγειακές αντιστάσεις στη μητροπλακουντιακή μονάδα.

Η παθολογική κυματομορφή του Doppler της μητριάας αρτηρίας (εμφάνιση notches-εγκοπών) συνδυάζεται στο δεύτερο τρίμηνο με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης προεκλαμψίας. Επίσης, ο δείκτης των αγγειακών αντιστάσεων εμφανίζεται αυξημένος (Chien et al., 2000; Conde-Agudelo et al., 2004).

Σε περιπτώσεις με παθολογικό Doppler στο 2ο τρίμηνο της κύησης χορηγήθηκε από διάφορους ερευνητές ασπιρίνη προκειμένου να βελτιωθεί το περιγεννητικό αποτέλεσμα (Chien et al., 2000). Ακόμη, σύμφωνα με μεγάλη ανασκόπηση 27 μελετών το screening με Doppler των μητριάων αρτηριών και η χορήγηση ασπιρίνης στο 2ο τρίμηνο της κύησης αποτελεί ήδη καθυστερημένη ενέργεια για την πρόληψη της προεκλαμψίας.

Άλλοι τώρα ερευνητές συνέκριναν τον όγκο του πλακούντα μεταξύ 11-15ης εβδομάδας κύησης με το Doppler της μητριάας αρτηρίας την 22η εβδομάδα (Hafner et al., 2006). Η διαγνωστική ευαισθησία των δύο μεθόδων ήταν παρόμοια (39% και 45% αντίστοιχα). Επιπλέον, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα στατιστικά δεδομένα δεν είναι επαρκή προκειμένου να αποδειχθεί η προγνωστική αξία της μεθόδου σε πληθυσμό με χαμηλό κίνδυνο ανάπτυξης προεκλαμψίας.

Προκειμένου, λοιπόν, να αυξηθεί η διαγνωστική ευαισθησία των μεθόδων, προτάθηκε ο συνδυασμός Doppler υπερηχογραφήματος με βιοχημικούς δείκτες κατά το 2ο τρίμηνο της κύησης. Έτσι, συνδυάστηκε το Doppler υπερηχογράφημα με τα επίπεδα της ανασταλίνης A στο πλάσμα της μητέρας (Aquilina et al., 2001) ή με το PAPP-A (Spencer et al., 2005). Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν τη δυνατότητα πρόγνωσης της προεκλαμψίας. Σε άλλη έρευνα συνδυάστηκε το Doppler υπερηχογράφημα της μητριάας αρτηρίας με τα επίπεδα πλάσματος της PAPP-A, της βhCG, της ακτιβίνης A και της ανασταλίνης A κατά τη 22η-25η εβδομάδα κύησης (Spencer et al., 2006). Και εδώ οι δείκτες αυτοί ήταν αυξημένοι σε γυναίκες που ανέπτυξαν αργότερα προεκλαμψία, συγκριτικά με άλλες χωρίς προεκλαμψική νόσο. Ο συνδυασμός της Doppler υπερηχογραφίας των μητριάων αρτηριών με τα επίπεδα της ακτιβίνης A και της ανασταλίνης A αυξάνει τη διαγνωστική ακρίβεια στο 75%, με ποσοστό ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων στο 5%.

Σε άλλες μελέτες συνδυάστηκε το Doppler υπερηχογράφημα με τα επίπεδα της χοριακής γοναδοτροπίνης ή της AFP στο πλάσμα της μητέρας. Η διαγνωστική αξία κυμαίνεται στο 25% και στο 21% αντίστοιχα (Audibert et al., 2005).

Ακόμη μελετήθηκε ο συνδυασμός του Doppler υπερηχογραφήματος με τα επίπεδα των sFLT-1 και PLGF χωρίς όμως να διαφανεί μεταβολή των επιπέδων αυτών στις γυναίκες με παθολογικό Doppler (Muller et al., 2006). Αντίθετα, παθολογικό Doppler συνδυάζεται με αυξημένα επίπεδα sFLT-1 και ελαττωμένα επίπεδα VEGF, καθώς και με FGR (Savvidou et al., 2006). Εάν δεν συνυπάρχει και FGR, τα επίπεδα του sFLT-1 δεν διαφέρουν στις γυναίκες που ανέπτυσαν προεκλαμψία συγκριτικά με τις φυσιολογικές κύσεις.

Τέλος, η μέτρηση της ομοκυστεΐνης και το Doppler υπερηχογράφημα κατά το 2ο τρίμηνο φέρονται να έχουν προγνωστική αξία που φτάνει το 60% με ποσοστό ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων 3% (Onalan et al., 2006). Η μέτρηση της AFP, της μη συζευγμένης οιστριόλης, της βhCG και της ανασταλίνης A έχει προγνωστική αξία μέχρι 42% (Wald et al., 2006).

Τελευταία, η πλακουντιακή πρωτεΐνη 13 προτάθηκε ως δείκτης πρόγνωσης της προεκλαμψίας κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης. Έτσι, σε μελέτες που έγιναν ο συνδυασμός του Doppler υπερηχογραφήματος και των επιπέδων στο πλάσμα της μητέρας μεταξύ 11-13ης εβδομάδας αναφέρεται ότι έχει διαγνωστική ακρίβεια έως και 90% με ποσοστό

ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων που φτάνει το 9% (Nicolaides et al., 2006).

Biochemical prognostic markers of pre-eclampsia

Grammatikakis I., Evagelinakis N., Salamalekis G., Kassanos D.

3rd Dept. of Obstetrics and Gynecology Clinic University of Athens, «Attikon» Hospital

Correspondence: Grammatikakis I.,
105 Likourgou str., 176 72 Kalithea, Athens
E-mail: gramjh@yahoo.gr

Summary

Pre-eclampsia, a pregnancy-specific disorder, contributes substantially to perinatal morbidity and mortality of both mother and newborn. An increasing number of biochemical agents has been evaluated as markers for predicting pre-eclampsia the last two decades, but no-one has been proved to be of clinical value yet. Much effort has been put into assessing novel potential markers and their combination with other screening methods such as Doppler sonography. The purpose of this review is to reflect the current knowledge of serum markers for predicting pre-eclampsia. So far, the most promising serum markers (relatively high predictive value, screening at a relatively early stage of pregnancy, improved diagnostic performance if combined with first trimester Doppler sonography) are placental protein 13 (PP-13), as well as soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1), placental growth factor (PLGF) and soluble endoglin (sEng). Large-scale prospective studies, assessing these markers are important to justify their clinical use in view of early intervention to prevent pre-eclampsia in the future.

Key words: preeclampsia, prediction, serum markers

Βιβλιογραφία

Al-Mufti, R., Hambley, H., Albaiges, G. et al. (2000) Increased fetal erythroblasts in women who subsequently develop pre-eclampsia. *Hum. Reprod.* 15, 1624-1628
Anim-Nyame, N., Sooranna, S.R., Steer, P.J. et al. (2000) a.

Longitudinal analysis of maternal plasma leptin concentrations during normal pregnancy and pre-eclampsia. *Hum. Reprod.* 15, 2033-2036.

Anim-Nyame, N., Hills, F.A., Sooranna, S.R. et al. (2000)b. A longitudinal study of maternal plasma insulin-like growth factor binding protein-1 concentrations during normal pregnancy and pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Hum. Reprod.* 15, 2215-2219.

Aquilina, J., Thompson, O., Thilaganathan, B. et al. (2001). Improved early prediction of pre-eclampsia by combining second-trimester maternal serum inhibin-A and uterine artery Doppler. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 17, 477-484.

Audibert, F., Benchimol, Y., Benattar, C. et al. (2005). Prediction of preeclampsia or intrauterine growth restriction by second trimester serum screening and uterine Doppler velocimetry. *Fetal Diagn. Ther.* 20, 48-53.

Autiero, M., Lutun, A., Tjwa, M. et al. (2003). Placental growth factor and its receptor, vascular endothelial growth factor receptor-1: novel targets for stimulation of ischemic tissue revascularization and inhibition of angiogenic and inflammatory disorders. *J. Thromb. Haemost.* 1, 1356-1370.

Bandivdekar, A.H., Varadkar, A.M. and Sheth, A.R. (1985). Endocrine control of inhibin biosynthesis by human placenta. *Biol. Res. Pregnancy, Perinatol.* 6, 128-132.

Bersinger, N.A. and Odegard, R.A. (2004) a. Second- and third-trimester serum levels of placental proteins in preeclampsia and small-for-gestational age pregnancies. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 83, 37-45.

Bersinger, N.A., Smarason, A.K., Muttukrishna, S. et al. (2003). Women with preeclampsia have increased serum levels of pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A), inhibin A, activin A and soluble E-selectin. *Hypertens. Pregnancy*, 22, 45-55.

Burger, O., Pick, E., Zwickel, J. et al. (2004). Placental protein 13 (PP-13): effects on cultured trophoblasts, and its detection in human body fluids in normal and pathological pregnancies. *Placenta*, 25, 608-622.

Caritis, S., Sibai, B., Hauth, J. et al. (1998). Predictors of pre-eclampsia in women at high risk. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 179, 946-951.

Chaiworapongsa, T., Romero, R., Espinoza, J. et al. (2004). Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. *Young Investigator Award. Am. J. Obstet. Gynecol.* 190, 1541-1547, discussion 1547-1550, 2004.

Chappell, L.C., Seed, P.T., Briley, A. et al. (2002). A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 187, 127-136.

Chien, P.F., Arnott, N., Gordon, A. et al. (2000). How useful is uterine artery Doppler flow velocimetry in the prediction of pre-eclampsia, intrauterine growth retardation and perinatal death? An overview. *BJOG*, 107, 196-208.

Clark, D.E., Smith, S.K., He, Y. et al. (1998). A vascular endothelial growth factor antagonist is produced by the human placenta and released into the maternal circula-

- tion. *Biol. Reprod.* 59, 1540-1548.
- Clifton, V.L., Crompton, R., Smith, R. et al. (2002). Microvascular effects of CRH in human skin vary in relation to gender. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 267-270.
- Conde-Agudelo, A., Villar, J. and Lindheimer, M. (2004). World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet. Gynecol.* 104, 1367-1391.
- Cotter, A.M., Molloy, A.M., Scott, J.M. et al. (2003). Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: a risk factor for the development of nonsevere preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 189, 391-394, discussion 394-396.
- Florio, P., Imperatore, A., Sanseverino, F. et al. (2004). The measurement of maternal plasma corticotropin-releasing factor (CRF) and CRF-binding protein improves the early prediction of preeclampsia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 4673-4677.
- Florio, P., Severi, F.M., Ciarmela, P. et al. (2002). Placental stress factors and maternal-fetal adaptive response: the corticotropin-releasing factor family. *Endocrine*, 19, 91-102.
- Fraser II, R.F., McAsey, M.E. and Coney, P. (1998). Inhibin-A and pro-alpha C are elevated in preeclamptic pregnancy and correlate with human chorionic gonadotropin. *Am. J. Reprod. Immunol.* 40, 37-42.
- Hafner, E., Metzenbauer, M., Hofinger, D. et al. (2006). Comparison between three-dimensional placental volume at 12 weeks and uterine artery impedance/notching at 22 weeks in screening for pregnancy-induced hypertension, pre-eclampsia and fetal growth restriction in a low-risk population. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 27, 652-657
- Holzgreve, W., Li, J.J., Steinborn, A. et al. (2001). Elevation in erythroblast count in maternal blood before the onset of preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 184, 165-168.
- Irwin, J.C. and Giudice, L.C. (1998). Insulin-like growth factor binding protein-1 binds to placental cytotrophoblast alpha5beta1 integrin and inhibits cytotrophoblast invasion into decidualized endometrial stromal cultures. *Growth Horm. IGF Res.* 8, 21-31.
- Irwin, J.C., Suen, L.F., Faessen, G.H. et al. (2001). Insulin-like growth factor (IGF)-II inhibition of endometrial stromal cell tissue inhibitor of metalloproteinase-3 and IGF-binding protein-1 suggests paracrine interactions at the decidua:trophoblast interface during human implantation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 2060-2064.
- Kielstein, J.T., Impraim, B., Simmel, S. et al. (2004). Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation*, 109, 172-177.
- Kyle, P.M., Buckley, D., Kissane, J. et al. (1995). The angiotensin sensitivity test and low-dose aspirin are ineffective methods to predict and prevent hypertensive disorders in nulliparous pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 173, 865-872.
- Laursen, L.S., Overgaard, M.T., Soe, R. et al. (2001). Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) cleaves insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-5 independent of IGF. implications for the mechanism of IGFBP-4 proteolysis by PAPP-A. *FEBS Lett.* 504, 36-40.
- Lo, Y.M., Leung, T.N., Tein, M.S. et al. (1999). Quantitative abnormalities of fetal DNA in maternal serum in preeclampsia. *Clin. Chem.* 45, 184-188.
- Martinez-Abundis, E., Gonzalez-Ortiz, M., Pascoe-Gonzalez, S. (2000). Serum leptin levels and the severity of preeclampsia. *Arch. Gynecol. Obstet.* 264, 71-73.
- Maynard, S.E., Venkatesha, S., Thadhani, R. et al. (2005). Soluble fms-like tyrosine kinase 1 and endothelial dysfunction in the pathogenesis of preeclampsia. *Pediatr. Res.* 57, 1R-7R.
- Moncada, S. and Higgs, A. (1993). The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.* 329, 2002-2012.
- Muller, F., Savey, L., Le Fiblec, B. et al. (1996). Maternal serum human chorionic gonadotropin level at fifteen weeks is a predictor for preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 175, 37-40.
- Muller, P.R., James, A.H., Murtha, A.P. et al. (2006). Circulating angiogenic factors and abnormal uterine artery Doppler velocimetry in the second trimester. *Hypertens. Pregnancy*, 25, 183-192.
- Murphy, M.M., Scott, J.M., McPartlin, J.M. et al. (2002). The pregnancy-related decrease in fasting plasma homocysteine is not explained by folic acid supplementation, hemodilution, or a decrease in albumin in a longitudinal study. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 614-619.
- Muttukrishna, S., Knight, P.G., Groome, N.P. et al. (1997). Activin A and inhibin A as possible endocrine markers for pre-eclampsia. *Lancet*, 349, 1285-1288.
- Nicolaides, K.H., Bindra, R., Turan, O.M. et al. (2006). A novel approach to first-trimester screening for early pre-eclampsia combining serum PP-13 and Doppler ultrasound. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 27, 13-17.
- Ning, Y., Williams, M.A., Vadachkoria, S. et al. (2004). Maternal plasma concentrations of insulinlike growth factor-1 and insulinlike growth factor-binding protein-1 in early pregnancy and subsequent risk of preeclampsia. *Clin. Biochem.* 37, 968-973.
- Onalan, R., Onalan, G., Gunenc, Z. et al. (2006). Combining 2nd-trimester maternal serum homocysteine levels and uterine artery Doppler for prediction of preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. *Gynecol. Obstet. Invest.* 61, 142-148.
- Papageorghiou, A.T. and Campbell, S. (2006). First trimester screening for preeclampsia. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 18, 594-600.
- Petraglia, F., Florio, P., Benedetto, C. et al. (1996). High levels of corticotropin-releasing factor (CRF) are inversely correlated with low levels of maternal CRF-binding protein in pregnant women with pregnancy-induced hypertension. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81, 852-856.
- Petraglia, F., Vaughan, J. and Vale, W. (1989). Inhibin and activin modulate the release of gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone from cultured human placental cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 5114-5117.
- Red-Horse, K., Zhou, Y., Genbacev, O. et al. (2004). Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. *J. Clin. Invest.* 114, 744-754.

- Redman, C.W. and Sargent, I.L. (2005). Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*, 308, 1592-1594.
- Salomon, L.J., Benattar, C., Audibert, F. et al. (2003). Severe preeclampsia is associated with high inhibin A levels and normal leptin levels at 7 to 13 weeks into pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 189, 1517-1522.
- Sargent, I.L., Germain, S.J., Sacks, G.P. et al. (2003). Trophoblast deportation and the maternal inflammatory response in pre-eclampsia. *J. Reprod. Immunol.* 59, 153-160.
- Savvidou, M.D., Hingorani, A.D., Tsikas, D. et al. (2003). Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop preeclampsia. *Lancet*, 361, 1511-1517.
- Savvidou, M.D., Yu, C.K., Harland, L.C. et al. (2006). Maternal serum concentration of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and vascular endothelial growth factor in women with abnormal uterine artery Doppler and in those with fetal growth restriction. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 195, 1668-1673.
- Sibai, B., Dekker, G. and Kupferminc, M. (2005). Preeclampsia. *Lancet*, 365, 785-799.
- Smith, G.C., Stenhouse, E.J., Crossley, J.A. et al. (2002). Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein a and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 1762-1767.
- Spencer, K., Yu, C.K., Cowans, N.J. et al. (2005). Prediction of pregnancy complications by first-trimester maternal serum PAPP-A and free beta-hCG and with second-trimester uterine artery Doppler. *Prenat. Diagn.* 25, 949-953.
- Spencer, K., Yu, C.K., Savvidou, M. et al. (2006). Prediction of pre-eclampsia by uterine artery Doppler ultrasonography and maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A, free beta-human chorionic gonadotropin, activin A and inhibin A at 22 + 0 to 24 + 6 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 27, 658-663
- Talledo, O.E. (1966). Renin-angiotensin system in normal and toxemic pregnancies. I. Angiotensin infusion test. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 96, 141-143.
- Toop, K. and Klopper, A. (1981). Concentration of pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) in patients with pre-eclamptic toxemia. *Placenta, Suppl.* 3, 167-173.
- Venkatesha, S., Toporsian, M., Lam, C. et al. (2006). Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat. Med.* 12, 642-649.
- Wald, N.J., Morris, J.K., Iqbal, J. et al. (2006). Screening in early pregnancy for pre-eclampsia using Down syndrome quadruple test markers. *Prenat. Diagn.* 26, 559-564.
- Walker, J.J. (2000). Pre-eclampsia. *Lancet*, 356, 1260-1265.
- Williams, M.A., Havel, P.J., Schwartz, M.W. et al. (1999). Pre-eclampsia disrupts the normal relationship between serum leptin concentrations and adiposity in pregnant women. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* 13, 190-204.
- Yu, C.K., Lakasing, L., Papageorgiou, A.T. et al. (2004). Uterine artery Doppler and mid-trimester maternal plasma homocysteine in subsequent pre-eclampsia. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 16, 134-139.
- Yu, J., Shao, L.E., Frigon Jr., N.L. et al. (1996). Induced expression of the new cytokine, activin A, in human monocytes: inhibition by glucocorticoids and retinoic acid. *Immunology*, 88, 368-374.
- Zhong, X.Y., Holzgreve, W. and Hahn, S. (2002). The levels of circulatory cell free fetal DNA in maternal plasma are elevated prior to the onset of preeclampsia. *Hypertens. Pregnancy*, 21, 77-83.
- Zhou, Y., Fisher, S.J., Janatpour, M. et al. (1997). Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J. Clin. Invest.* 99, 2139-2151.
- Zhou, Y., McMaster, M., Woo, K. et al. (2002). Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Am. J. Pathol.* 160, 1405-1423.
- Zwahlen, M., Gerber, S. and Bersinger, N.A. (2006). First trimester markers for pre-eclampsia: placental vs. non-placental protein serum levels. *Gynecol. Obstet. Invest.* 63, 15-21.

ΚΑΤΑΤΕΘΗΚΕ 17/11/2009 ΕΓΙΝΕ ΑΠΟΔΕΚΤΗ 9/12/2009