



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ
ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ-ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΜΟΝΤΕΛΛΟ ΜΑΖΙΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΑΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ
ΣΤΗΝ ΠΡΟ-ΕΚΚΛΑΜΨΙΑ

ΚΟΣΜΑΣ ΙΩΑΝΝΗΣ
ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2008



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000304426



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΚΩΔΙΚΟΣ ΒΙΒΛΙΟΥ
026000304426



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



Ημερομηνία αίτησης του κ. Κοσμά Ιωάννη: 18-5-2001

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 450^α/2-10-2001

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Λώλης Δημήτριος Καθηγητής Μαιευτικής –Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Γεωργίου Ιωάννης Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής –Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ντούσιας Βασίλειος Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής –Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 13-12-2001

«Μοντέλο μαζικού γονιδιακού ελέγχου στη Μαιευτική -Γυναικολογία»

Ημερομηνία Ανασυγκρότησης Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 560^α/21-6-2005

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

Επιβλέπων

Ζηκόπουλος Κωνσταντίνος Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής –Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

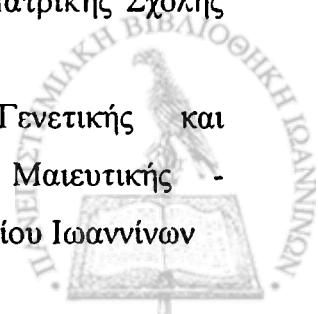
Μέλη

Παρασκευαΐδης Ευάγγελος Καθηγητής Μαιευτικής –Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Γεωργίου Ιωάννης Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Γενετικής και Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής Γυναικολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 638^α/3-6-2008

Ιωαννίδης Ιωάννης	Καθηγητής Υγιεινής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Παρασκευαΐδης Ευάγγελος	Καθηγητής Μαιευτικής -Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Σοφικίτης Νικόλαος	Καθηγητής Ουρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τσατσούλης Αγαθοκλής	Καθηγητής Παθολογίας -Ενδοκρινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γεωργίου Ιωάννης	Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Γενετικής και Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής - Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων



Ζηκόπουλος Κωνσταντίνος

Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής -Γυναικολογίας
Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μακρυδήμας Γεώργιος

Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής -Γυναικολογίας
Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 30-9-2008

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Ιωάννης Γουδέβενος

Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας



Γραμματέας της Σχολής

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΤΣΑΓΓΑΛΑ



Στους Γονείς μου

Στον καθ Επιδημιολογίας κων Ιωαννίδη Ιωάννη

Στη Λέκτορα Γενικής Ιατρικής Αθηνά Τατσιώνη



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Αυτή η διατριβή εστιάστηκε στην διερεύνηση του ρόλου των πολυμορφισμών V Leiden και MTHFR στην παθογένεση της προ-εκλαμψίας. Ο θρομβωτικός παράγοντας είναι έντονος στην προ-εκλαμψία και είχε διατυπωθεί η υπόθεση ότι οι πολυμορφισμοί αυτοί μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την πρόγνωση της νόσου στο γενικό πληθυσμό. Παρόλα αυτά, η μικρή επικράτηση αυτών των πολυμορφισμών, διαφορετική σε διαφορετικές πληθυσμιακές εθνικές ομάδες, η ετερογενής φύση της προ-εκλαμψίας και η τροποποίηση της παθοφυσιολογίας της νόσου από την συνύπαρξη διατροφικών και εμβρυικών παραγόντων, δημιουργούσε ετερογένεια στα αποτελέσματα των μελετών. Οι μετα-ανάλυσεις για τους πολυμορφισμούς αυτούς απέτυχαν να δείξουν μια σταθερή, μεγάλη επίδραση της μεταλλάξης V Leiden στον κίνδυνο υπερτασικής νόσου της εγκυμοσύνης ενώ για τον πολυμορφισμό MTHFR διαπιστώθηκε η παρουσία μιας πολύ μέτριας σχέσης με την ήπια υπέρταση κύησης. Και στις δυο μετα-ανάλυσεις, διαπιστώθηκαν σφάλματα χρονικής καθυστέρησης και δημοσίευσης. Σάν συνέπεια δεν συστήνεται ο μαζικός έλεγχος του πληθυσμού για τα γονίδια αυτά για την πρόγνωση της προ-εκλαμψίας.



Περιεχόμενα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1:ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
ΠΗΞΗ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	3
ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΑΙΜΑΤΟΣ	3
ΕΞΩΓΕΝΗΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ /ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΙΣΤΟΥ.....	4
ΠΡΟΔΡΟΜΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΗΞΗΣ	5
ΕΝΔΟΓΕΝΗΣ ΚΑΙ ΕΞΩΓΕΝΗΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ	5
ΦΥΣΙΚΟ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	5
ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΙΣ ΠΡΟΔΡΟΜΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΗΞΗΣ (PROCOAGULANTS) ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ	6
ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΟ ΦΥΣΙΚΟ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΣΤΗΝ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ	7
ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ ΣΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ	8
Η ΜΗΤΡΟΠΛΑΚΟΥΝΤΙΑΙΑ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ	9
ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΠΛΑΚΟΥΝΤΑ.....	11
ΚΛΗΡΟΝΟΜΟΥΜΕΝΕΣ ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΕΣ.....	12
ΠΡΟ-ΕΚΚΛΑΜΨΙΑ.....	12
ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟ-ΕΚΚΛΑΜΨΙΑΣ	13
ΤΡΙΑΔΑ ΤΟΥ VIRCHOW, ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ.....	14
ΥΠΕΡΟΜΟΚΥΣΤΙΝΑΙΜΙΑ, ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΜΤΗFR ΚΑΙ ΠΡΟ-ΕΚΚΛΑΜΨΙΑ.....	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 :ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	25
ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	25
ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟ V LEIDEN.....	25
ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟ ΜΤΗFR.....	26
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟ V LEIDEN	27
ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΕΛΕΓΧΟΥΣ	29
ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ: ΚΥΡΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ	29
ΠΙΘΑΝΑ ΣΦΑΛΜΑΤΑ.....	29
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟ ΜΤΗFR.....	30
ΚΑΤΑΛΛΗΛΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ	30
ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΤΙΣ ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ	31
ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ: ΚΥΡΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ	32
ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΥΠΟΟΜΑΔΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΟΒΑΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΤΑΣΗΣ	32
ΠΙΘΑΝΑ ΣΦΑΛΜΑΤΑ.....	32
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	33
ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ V LAIDEN.....	33
ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΜΤΗFR	35
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	39



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1:ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Πήξη του Αίματος

Σε ένα υγιές άτομο, το αίμα κυκλοφορεί ως υγρό, εντούτοις, σε ένα περιστατικό αγγειακής βλάβης, το αίμα για να πήξει γρήγορα, απαιτείται να διαμορφώσει έναν θρόμβο προκειμένου να αποτραπεί η αιμορραγία.

Όταν το ενδοθήλιο καταστρέφεται, τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στο υπενδοθήλιο και η ενεργοποίηση του καταρράκτη πήξης προκαλεί την παραγωγή του ινωδογόνου, με το οποίο διαμορφώνεται ένα πλέγμα εκ αιμοπεταλίων επί του βύσματος που σφραγίζει την περιοχή του τραυματισμού. Επιπλέον, οι κυτοκινες διευκολύνουν την έλξη των λευκοκυττάρων στην περιοχή, τα οποία προλαμβάνουν τη μόλυνση και βοηθούν στη θεραπεία των πληγών.

Αν και απαιτείται, μια σχεδόν στιγμιαία και εκρηκτική ενεργοποίηση του αιμοστατικού μηχανισμού για να αποτραπεί η απώλεια αίματος, η δυνατότητα του αίματος να δημιουργήσει θρόμβους, πρέπει να είναι προσεκτικά ρυθμισμένη, επειδή ο ακατάλληλος σχηματισμός θρόμβων μπορεί να οδηγήσει σε θρομβωτικές επιπλοκές.

Για να επιτευχθεί αυτό το κανονικό υγιές ενδοθήλιο ενεργεί ως αντιθρομβωτική επιφάνεια.

Η ενεργοποίηση του καταρράκτη πήξης προκαλείται από την απελευθέρωση του παράγοντα ιστού (ιστικού παράγοντα) από η περιοχή του τραυματισμού και με την παρουσία των προ-πηκτικών κυτταρικών επιφανειών, η παραγωγή του ινωδογόνου μπορεί να επιτευχθεί σε δευτερόλεπτα. Η εκρηκτική ενεργοποίηση του αιμοστατικού συστήματος συμβαίνει λόγω του αποκαλούμενου καταρράκτη της πήξης, στον οποίο ανενεργές πρόδρομες μορφές (zymogens) και συμπαραγοντες ενεργοποιούνται διαδοχικά από τον πρωτεολυτικό καταρράκτη (photolytic cleavage). Σχεδόν αμέσως, το ινωδηλυτικό σύστημα υποκινείται - περιορίζοντας την εναπόθεση ινωδογόνου στην περιοχή του τραυματισμού - και ξεκινά η ανατροφοδότηση ενός συστήματος φυσικά ανατροφοδοτούμενων αντιπηκτικών τα οποία παρεμποδίζουν την περαιτέρω ενεργοποίηση του καταρράκτη πήξης.

Αν και η θρόμβωση είναι μια πολυπαραγοντική νόσος, κακή ρύθμιση των αιμοστατικών μηχανισμών συνεισφέρει τα μέγιστα στο σχηματισμό του θρόμβου. Ένας αριθμός γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων μπορούν να προκαλέσουν την υπερβολική υπερ-ενεργοποίηση (up regulation) των ενζύμων της πήξης. Αυτή η υπερ-ανατροφοδότηση μπορεί να υπερκεράσει την αντιπηκτική απάντηση - ιδιαίτερα στα άτομα τα οποία ένας ή περισσότεροι από τους βασικούς μηχανισμούς πήξης είναι επηρεασμένοι.

ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΑΙΜΑΤΟΣ

Παραδοσιακά, δύο κύριοι μηχανισμοί έχουν περιγραφεί για την πήξη αίματος:

Ο ενδογενής μηχανισμός ή μηχανισμός επαφής και ο εξωγενής μηχανισμός ή μηχανισμός παράγοντα ιστού.

Αν και αρχικά αυτοί οι μηχανισμοί θεωρούνταν πιθανά αμοιβαίοι και ίσης σημασίας, πρόσφατα στοιχεία το αμφισβητούν αυτό. Ο ενδογενής μηχανισμός μπορεί να ενεργοποιηθεί όταν το αίμα έρχεται σε επαφή με μια αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια, με συνέπεια την ενεργοποίηση του παράγοντα XII σε XIIa. Εντούτοις, ανεπάρκειες στον παράγοντα XII δεν συνδέονται με αιμορραγία και μπορεί ακόμη να συνδέονται και με θρόμβωση.¹ Επιπλέον, η ενεργοποίηση του παράγοντα IX μπορεί να επιτυγχάνεται και από τον εξωγενή και τον ενδογενή μηχανισμό. Η κύρια λειτουργία του ενδογενούς μηχανισμού είναι να ενισχυθεί η ενεργοποίηση πήξης που προκαλείται από τον παράγοντα ιστού.



Εξωγενής μηχανισμός /παράγοντα ιστού

Ο μηχανισμός παράγοντα ιστού ενεργοποιείται όταν ο μεμβρανικά συνδεδεμένος πρωτεϊνικός ιστικός παράγοντας (TF) έρχεται σε επαφή με το πλάσμα που περιέχει τον παράγοντα VII ή VIIa. Αντίθετα από άλλους παράγοντες του μηχανισμού της πήξης, ο παράγοντας ιστού είναι πάντα παρών ως ενεργός συμπάροντας (cofactor) και θεωρείται ουσιαστικός για τη ζωή². Κανονικά ο παράγοντας ιστού δεν εκφράζεται στα κύτταρα που έρχονται σε επαφή με το πλάσμα, εντούτοις, σε αγγειακή βλάβη, τα κύτταρα που εκφράζουν το συνδεδεμένο παράγοντα ιστού εκτίθενται στο πλάσμα και μπορούν να δεσμεύσουν τον παράγοντα VII. Επιπλέον, τα μονοκύτταρα και οι λείες μυικές ίνες μπορούν να ενεργοποιηθούν για να παραχθεί ο παράγοντας ιστού από τις κυτοκίνες και άλλους φλεγμονώδεις ενεργοποιητές.³ Η σύνδεση του παράγοντα VII στον παράγοντα ιστού οδηγεί στο σχηματισμό TF- VIIa ο οποίος όταν συνδέεται με την κυτταρική μεμβράνη, γίνεται ο πιο ισχυρός ενεργοποιητής του καταρράκτη πήξης

Η πήξη περιλαμβάνει μια σύνθετη αλληλεπίδραση διαλυτών ενζύμων και των υποστρωμάτων που οδηγούν τελικά στην παραγωγή θρομβίνης που καταλύει τη μετατροπή του ινωδογόνου σε ινική. Η ινική ενεργεί τοπικά στο μέρος της αγγειακής διάσπασης (τραυματισμού) για να σταθεροποιήσει τον αιμοπεταλιακό θρόμβο. Όταν συμβεί τραυματισμός των αγγείων, τα αιμοπετάλια συγκολλώνται αρχικά σε μακρομόρια, στους υποενοδοθηλιακούς ιστούς και έπειτα συγκολλώνται για να διαμορφώσουν τον αρχικό αιμοστατικό θρόμβο. Τα αιμοπετάλια υποκινούν την τοπική ενεργοποίηση των παραγόντων πήξης πλάσματος.

Σύνοψη

Το πήκτικό σύστημα έχει διαιρεθεί κλασικά σε δύο μηχανισμούς, τον ενδογενή και εξωγενή μηχανισμό (που μοιράζονται έναν αριθμό από συμπαραγοντες και ρυθμιστικούς μηχανισμούς της πήξης), ενεργοποιεί ένα σύστημα από καταρράκτες έτσι ώστε το προϊόν κάθε αντίδρασης ενεργεί ως ένζυμο σε μια επόμενη αντίδραση. Κλινικά, αυτοί οι δύο μηχανισμοί εξετάζονται χωριστά με τον ενεργοποιημένο χρόνο μερικής θρομβοπλαστικής (APTT) και το χρόνο προθρομβίνης(PT). Αργότερα, καθώς προχωράει η αποθεραπεία της πληγής, τα αιμοπετάλια συγκολλώνται και ο θρόμβος ινικής διασπάται με την διαδικασία της ινωδόλυσης. Μηχανισμοί που περιορίζουν το σχηματισμό των συμπλόκων ινικής και των αιμοπεταλίων που συγκολλώνται στις περιοχές του τραυματισμού είναι απαραίτητοι για να διατηρήσουν τη ρευστότητα του αίματος. Αυτός ο καταρράκτης ρυθμίζεται στενά από ένα σύνθετο σύστημα ανατροφοδότησης πληροφοριών μέσω μακρομορίων, τα οποία αποτελούν το φυσικό αντιπηκτικό σύστημα του σώματος.



Προδρομες μορφές παραγόντων πήξης

Ενδογενής και εξωγενής μηχανισμοί

Ο αρχικός αναρκτής της πήξης είναι ο παράγοντας ιστού (TF). Ο παράγοντας ιστού είναι μια συνδεδεμένη μη ενζυματική πρωτεΐνη που εκφράζεται διαδοχικά στην επιφάνεια των κυττάρων που κανονικά δεν είναι σε επαφή με το πλάσμα αίματος (π.χ. ινοβλάστες και μακροφάγα). Η έκθεση αυτών των κύτταρων στο πλάσμα, οδηγεί στην έναρξη της πήξης σε τοποθεσίες εκτός του κατεστραμμένου ενδοθηλίου ενός αγγείου. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν επίσης τον παράγοντα ιστού όταν διεγείρονται από ενδοτοξίνη, τον παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF), ή την ιντερλευκίνη-1 (IL-1), και μπορούν έτσι να συμμετέχουν στο σχηματισμό θρόμβων σε παθολογικές καταστάσεις. Μετά από τον τραυματισμό των αγγείων, όταν το ενδοθήλιο παραβιάζεται (διαπερνάται), ο συνδεδεμένος με την κυτταρική μεμβράνη παράγοντας ιστού δημιουργεί ένα σύμπλοκο με τον παράγοντα VII (που προέρχεται από το πλάσμα). Το σύμπλοκο του παράγοντα ιστού και του παράγοντα VII δεσμεύεται στα φωσφολιπίδια παρουσία του ασβεστίου και αρχίζει μια σειρά διαδοχικών πρωτεολυτικών βημάτων που οδηγεί στο σχηματισμό της θρομβίνης με την επακόλουθη μετατροπή του ινωδογόνου στη ινικη. Ο παράγοντας VII είναι η μόνη ζυμογόνος (δηλ. πρόδρομος) μορφή ενός πηκτικού παράγοντα που δείχνει τη δραστηριότητα και επιτρέπει "την πήξη κατόπιν παραγγελίας". Μόλις αρχίσει η πήξη, ο παράγοντας VII ενεργοποιείται πλήρως από τη θρομβίνη και άλλους ενεργοποιημένους πηκτικούς παράγοντες για να διαμορφώσει τον παράγοντα VIIa, ο οποίος είναι 100 φορές πιο ενεργός από τον πρόδρομο παράγοντα. Ο παράγοντας TF/ VIIa επίσης μετατρέπει τον παράγοντα X σε Xa (εξωγενής μηχανισμός), ή έμμεσα παράγει Xa με τη μετατροπή IX σε IXa, που, στη συνέχεια, δημιουργεί ένα σύμπλοκο με το συμπάραγοντα του, τον παράγοντα VIIIa, μετατρέποντας το X σε Xa (εγγενής μηχανισμός). Οι παράγοντες Xa και IXa δεσμεύονται σε συγκεκριμένους αιμοπεταλιακούς υποδοχείς και προκαλούν την ενίσχυση του καταρράκτη πήξης. Οι παράγοντες V και VIII που ενεργοποιούνται από τη θρομβίνη (Va και VIIIa) επίσης δεσμεύονται σε συγκεκριμένους αιμοπεταλιακούς υποδοχείς. Ο ενδογενής μηχανισμός εμφανίζεται να διαδραματίζει έναν δευτερεύων ρόλο στην παραγωγή θρομβίνης.

Η αρχική παραγωγή θρόμβου αναστέλλεται γρήγορα από τον ανασταλτικό παράγοντα του μηχανισμού παράγοντα ιστού, ο οποίος συνδέεται στο TF/VIIa/Xa σύμπλοκο (αρχικό βήμα) για να σταματήσει άμεσα την κατευθυνόμενη από τον TF θρόμβωση. Εντούτοις, η θρομβίνη και ο παράγοντας XIa (ενεργοποιημένος από τον παράγοντα XIIa) διατηρούν την θρομβωτική αντίδραση με το να χρησιμεύουν ως εναλλακτικός ενεργοποιητής του παράγοντα IX στην επιφάνεια των πρόσφατα συγκολλημένων αιμοπεταλίων. Σε κάθε περίπτωση, ο παράγοντας Xa, μόλις παραχθεί, δημιουργεί ένα σύμπλοκο με τον συμπάραγοντα του Va, (σύμπλοκο προθρομβινάσης) για να μετατρέψει την προθρομβίνη (παράγοντας II) σε θρομβίνη (IIa).

Η θρομβίνη διασπά έπειτα το ινοπεπίδιο A από τις α-αλυσίδες του ινωδογόνου και το ινοπεπίδιο B από τις β-αλυσίδες του ινωδογόνου για να παραγάγει τα μονομερή ινικής, τα οποία πολυμερίζονται αυθόρμητα και συνδέονται με τον παράγοντα IXa (που ενεργοποιείται από την θρομβίνη) για να διαμορφώσουν έναν σταθερό αδιάλυτο θρόμβο.

ΦΥΣΙΚΟ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Προκειμένου να ρυθμιστεί στενά ο σχηματισμός θρόμβων, ένα ρυθμιστικό δίκτυο έχει εξελιχθεί με την πρωτεΐνη C/μηχανισμό πρωτεΐνης S ως κεντρικό συστατικό. Αυτός ο συγκεκριμένος μηχανισμός ανατροφοδότησης απαιτείται επειδή τα αντιπηκτικά αποτελέσματα του ανασταλτικού παράγοντα του μηχανισμού παράγοντα ιστού μπορούν να έχουν σύντομη δράση, εξαιτίας του παράγοντα XIa. Η αποτελεσματική παρεμπόδιση του



καταρράκτη θρόμβωσης επομένως απαιτεί την παρεμπόδιση της δραστηριότητας του IXa και του Xa παράγοντα. Αυτός ο μηχανισμός ενεργοποιείται όταν η θρομβομοντουλίνη συνδέεται στη θρομβίνη για να διαμορφώσει ένα σύμπλοκο που, στη συνέχεια, ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C στην αποκαλούμενη μορφή της, ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC). Η πρωτεΐνη S ενεργεί ως ένας καταλύτης για την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C. Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C αδρανοποιεί τη δραστηριότητα του παράγοντα Va και του παράγοντα VIIIa.

Και η πρωτεΐνη C και η πρωτεΐνη S είναι ηπατοκυτταρικά προϊόντα που εξαρτώνται από το βιταμινό K-εξαρτώμενο ένζυμο γ-καρβοξυλάση και από τις γλουταμίνη-πλούσιες περιοχές σύνδεσης του κυτταροπλάσματος τους. Η πρωτεΐνη C και η πρωτεΐνη S έχουν ημιζωή στο πλάσμα 6–8 και 42 ωρών, αντίστοιχα. Η κυκλοφορούσα πρωτεΐνη S υπάρχει και σε ελεύθερη (40%) και συνδεδεμένη (60%) μορφή. Η 4b-δεσμευτική πρωτεΐνη του συμπληρώματος χρησιμεύει ως μια μεταφορική πρωτεΐνη για την πρωτεΐνη S. Μόνο η ελεύθερη πρωτεΐνη S δημιουργεί σύμπλοκο με APC επομένως, οποιαδήποτε κατάσταση (π.χ. εγκυμοσύνη, λοίμωξη, και χειρουργικό stress) που αυξάνει την πρωτεΐνη του συμπληρώματος 4b-δεσμευτική πρωτεΐνη, θα μειώσει την πρωτεϊνική δραστηριότητα του S. Μια σημειακή μετάλλαξη στο γονίδιο του παράγοντα V (παράγοντας V Leiden) είναι ο κύριος ελλοχεύων μοριακός μηχανισμός που οδηγεί στην αντίσταση του APC¹⁴. Αυτή η μετάλλαξη επιβραδύνει την APC κατευθυνόμενη αδρανοποίηση και οδηγεί στον υπερβολικό σχηματισμό θρομβίνης.

Κλινικά, η ενεργοποιημένη πρωτεϊνική δραστηριότητα C μετρείται από τη δοκιμή αντίστασης APC-APTT. Σε αυτήν την δοκιμή παράγεται μια αναλογία του APTT που λαμβάνεται παρουσία προστιθέμενου APC και του APTT που λαμβάνεται χωρίς προστιθέμενο APC. Με αυτήν την APC αναλογία ευαισθησίας (APCsr), μια χαμηλή αναλογία δείχνει υψηλή αντίσταση.

Ένα άλλο σημαντικό συστατικό του ενδογενούς αντιπηκτικού συστήματος είναι η αντιθρομβίνη, η οποία ενεργεί ως ανασταλτικός παράγοντας της θρομβίνης. Η αντιθρομβίνη συνδέεται με τη θρομβίνη για να διαμορφώσει το σταθερό σύμπλοκο αντιθρομβίνης-θρομβίνης, αποτρέποντας με αυτόν τον τρόπο τη μετατροπή του ινωδογόνου σε ινική από τη θρομβίνη. Η παραγωγή του συμπλόκου αντιθρομβίνης – θρομβίνης είναι ένας δείκτης της *in vivo* παραγωγής θρομβίνης. Η αντιθρομβίνη έχει δύο περιοχές σύνδεσης: μια δεσμευτική περιοχή για την θρομβίνη-και μια δεσμευτική περιοχή για την ηπαρίνη. Η σύνδεση της ηπαρίνης στην αντιθρομβίνη αυξάνει την αντιπηκτική της δραστηριότητα μέχρι 1000 φορές. Εκτός από τις ανασταλτικές ιδιότητές της επί της θρομβίνης, η αντιθρομβίνη μπορεί επίσης να αδρανοποιήσει τους παράγοντες Xa, IXa και VIIIa. Η ανεπάρκεια αντιθρομβίνης είναι μια καλά αναγνωρισμένη αιτία κληρονομούμενης θρομβοφιλίας, που παρόλο που η επίπτωσή της είναι χαμηλή (0,02%) συνδέεται με μια αύξηση 50 φορές στον κίνδυνο φλεβικής θρομβοεμβολής κατά τη διάρκεια της ζωής. Υπάρχει ένας πολύ μεγάλος αριθμός μεταλλαγών πιθανά στο γονίδιο της αντιθρομβίνης και επομένως οι λειτουργικές δοκιμές βασισμένες στον θρόμβο μπορούν να χρησιμοποιούνται για να αξιολογούν την ανεπάρκεια αντιθρομβίνης.

Αλλαγές στις προδρομες μορφές των παραγόντων πήξης (procoagulants) κατά την εγκυμοσύνη

Οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα των προδρομών μορφών των παραγόντων πήξης (procoagulants) αλλάζουν σημαντικά κατά τη διάρκεια μιας φυσιολογικής εγκυμοσύνης. Υπάρχουν αυξήσεις στην προθρομβίνη (παράγοντας II)⁴, στον παράγοντα VII^{4,5}, στον παράγοντα X^{4,6,7}, στον παράγοντα XII^{6,7} και στον παράγοντα VIII.⁷ Τα επίπεδα προκαλικρεΐνης (Prekallikrein) παρουσιάζουν μια άνοδο κατά τη διάρκεια της κανονικής εγκυμοσύνης όπως έχει δείχτει από τον Sayama και συνεργάτες⁸ αλλά κατά την αρχή του τοκετού τα επίπε-



δα προκαλικρεϊνης (prekallikrein) πέφτουν⁸ και εκείνα της καλλικρεϊνης (kallikrein) ανεβαίνουν⁹. Οι πρώτες μελέτες στον παράγοντα XII⁶ δεν παρουσίασαν καμία αλλαγή κατά τη διάρκεια φυσιολογικής εγκυμοσύνης, αλλά στις πιο πρόσφατες μελέτες τα επίπεδα⁷ αποδείχθηκε να αυξάνονται στο τρίτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης.

Τα επίπεδα του υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνου (kininogen) έχουν αποδειχθεί επίσης να αυξάνονται στην εγκυμοσύνη.

Αναφέρονται αντικρουόμενα αποτελέσματα για τον παράγοντα XI: Ο Philips και συνεργάτες⁹ και οι Beller και Ebert¹⁰ ανεφέρουν ότι τα επίπεδα του παράγοντα XI πέφτουν βαθμιαία, φθάνοντας σε επίπεδα μεταξύ 60 και 70% κατά μέσο όρο - αυτά τα αποτελέσματα συγκρούονται έτσι με τα ευρήματα του Condie⁶, ο οποίος ανέφερε ότι τα επίπεδα του παράγοντα XI παραμένουν στάσιμα ή παρουσιάζουν μια μικρή αύξηση κατά την διάρκεια της .

Προεξέχουσες αλλαγές εμφανίζονται στην εγκυμοσύνη μέσα στο σύμπλοκο του παράγοντα VIII, με τους παράγοντες VIII, τον συμπαράγοντα von Willebrand και τον συμπαράγοντα ristocetin να αυξάνουν σημαντικά^{4,11}. Αρχικά, ο παράγοντας VIII και ο παράγοντας Von Willebrand αυξάνουν παράλληλα αλλά η αναλογία του παράγοντα Von Willebrand ως προς τον παράγοντα VIII αλλάζει στο τελευταίο τρίμηνο. Αυτή η απόκλιση μπορεί να απεικονίζει την εκλεκτική επίδραση της θρομβίνης επί του παράγοντα VIII στην πηκτική δραστηριότητα¹².

Ο παράγοντας VII παρουσίασε μια σημαντική άνοδο (74%)⁸ αλλά κανένας από το άλλους βιταμίνω-Κ-εξαρτωμένους παράγοντες (προθρομβίνη, παράγοντας IX ή παράγοντας X) παρουσίασαν στο ίδιο μέγεθος άνοδο. Διάφορες μελέτες έχουν παρουσιάσει χαρακτηριστικές αυξήσεις στα επίπεδα ινωδογόνου^{4,13} σε φυσιολογική εγκυμοσύνη. Συνυπολογίζοντας την αύξηση του όγκου πλάσματος, η συνολική ποσότητα του ινωδογόνου στην κυκλοφορία της εγκυμονούσας είναι δύο φορές από την μη εγκυμονούσα. Μελέτες σε πειραματόζωα δείχνουν ότι η άνοδος αυτή οφείλεται σε αυξανόμενη σύνθεση¹⁴. Οι ορμονικές αλλαγές της εγκυμοσύνης από μόνες τους δεν δείχνουν να είναι επαρκείς για να προκαλέσουν την πλήρη αύξηση του ινωδογόνου. Ο παράγοντας XIII έχει αναφερθεί ότι πέφτει στην φυσιολογική εγκυμοσύνη¹².

Αλλαγές στο φυσικό αντιπηκτικό σύστημα στην εγκυμοσύνη

Στην εγκυμοσύνη, τα επίπεδα της πρωτεΐνης C έχουν αναφερθεί να είναι σταθερά ή ελαφρώς αυξημένα¹⁵, με σημαντική ανύψωση στη δραστηριότητα της μόνο στην πρώτη μετά τον τοκετό περίοδο. Υπάρχει μια προοδευτική μείωση στα επίπεδα ελεύθερης και συνολικής πρωτεΐνης S μέσα στην εγκυμοσύνη.¹⁶ Αυτό οφείλεται πιθανά στη μείωση της συνολικής πρωτεΐνης S¹⁵ παρά σε μια αλλαγή στην C4b-δεσμευτική πρωτεΐνης. Ενεργοποιημένη αντίσταση στην πρωτεΐνη C παρουσιάζει προοδευτική αύξηση στην εγκυμοσύνη^{15,17}, με 38% των ασθενών να παρουσιάζουν αλλαγές που δεν εμπίπτουν στο κανονικό εύρος τιμών. Αυτή η αύξηση στην APC αντίσταση στην εγκυμοσύνη έχει συσχετιστεί θετικά με τις αλλαγές στον παράγοντα VIII¹⁵, στον παράγοντα V¹⁵, στον παράγοντα IX¹⁸, στον παράγοντα X¹⁹ και παράγοντα XI¹⁹. Φαίνεται να υπάρχει μια αντίστροφη σχέση με τις αλλαγές στην πρωτεΐνη S στην εγκυμοσύνη¹⁵. Υψηλότερη αντίσταση σημειώνεται σε ασθενείς με ανεπάρκεια πρωτεΐνης S-²⁰. Τα αυξανόμενα επίπεδα αντιθρομβίνης συνδέονται με την αυξανόμενη αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C^{18,21}.

Από τις πρώτες μελέτες της αντιθρομβίνης στην εγκυμοσύνη προτείνεται ότι τα επίπεδα της μειώνονται. Εντούτοις, οι πιο πρόσφατες μελέτες δεν έχουν δείξει καμία αλλαγή κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης²²



—εκτός από το ότι μπορούν να αυξηθούν μετά τον τοκετό⁷. Τα επίπεδα του σύμπλοκου αντιθρομβίνης-θρομβίνης έχουν παρουσιαστεί να αυξάνουν σημαντικά από τις 28 εβδομάδες κύησης και μετά, σε σύγκριση με τις 18 και 24 εβδομάδες κύησης²³. Τα μετά τον τοκετό επίπεδα του συμπλόκου αντιθρομβίνης-θρομβίνης ήταν χαμηλότερα απ' ό,τι σε οποιοδήποτε στάδιο κατά τη διάρκεια της κύησης.

Ινωδόλυση στην κανονική εγκυμοσύνη

Οι πρώτες μελέτες από τους Biezenski και Moore έδειξαν μια βαθμιαία μείωση στη ινωδόλυση κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, με τις χαμηλότερες τιμές να εμφανίζονται στο τρίτο τρίμηνο²⁴.

Έρευνες που χρησιμοποιούν τις τεχνικές θρόμβου-λύσης έδειξαν επίσης την πτώση της ινωδόλυσης κατά τη διάρκεια της κανονικής εγκυμοσύνης^{25,26}. Οι πιο πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η συγκέντρωση των ενεργοποιητών του πλασμινογονου, ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογονου (τ-PA)²⁷ και ο ουρικός ενεργοποιητής του πλασμινογονου (u-PA)²⁸ αυξάνουν στην εγκυμοσύνη. Αυτές οι αλλαγές εξισορροπούνται από μια μεγάλη αύξηση στα επίπεδα του παράγοντα ενεργοποιητή του πλασμινογονου -1 (PAI-1)^{11,27} και στην παραγωγή από τον πλακούντα μεγάλων ποσοτήτων ενός ανενεργοποιητή παρόμοιου με τον PAI-1, που ονομάζεται PAI-2²⁹. Οι δύο ανασταλτικοί παράγοντες των ενεργοποιητών πλασμινογονου (plasminogen) επιτυχώς καταπιέζουν την ινωδολυτική δραστηριότητα στην εγκυμοσύνη, αλλά μετά από την αποκόλληση του πλακούντα η μητρική ινωδολυτική δραστηριότητα αυξάνεται γρήγορα.

Τα επίπεδα TAFI-αντιγόνου αυξάνονται επίσης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης²⁹.

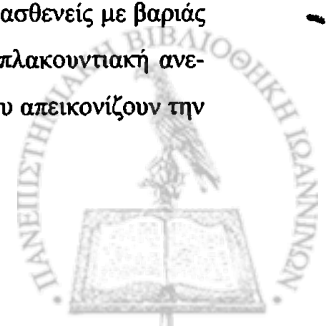
Τα υψηλά επίπεδα προϊόντων²³ αποδήμησης ινωδογόνου παρουσιάζονται στο τελευταίο τμήμα της εγκυμοσύνης και φαίνεται ότι δρουν αντίθετα ως προς το πλαίσιο της πίεσης της ινωδόλυσης. Τα δ-διμερή τώρα ευρέως χρησιμοποιούνται μέσα στην κλινική πρακτική ως δείκτης της δραστηριότητας μέσα στο σύστημα πήξης. Κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής εγκυμοσύνης τα επίπεδα από τα δ-διμερή αυξάνονται με την κύηση και βελτιώνονται περαιτέρω στην άμεση μετά τον τοκετό περίοδο³⁰. Κατά την εγκυμοσύνη και τη λοχεία με ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να εφαρμόζονται στην κλινική πράξη, τα επίπεδα των δ-διμερών.

Αιμόσταση στην μητροπλακουντιαία κυκλοφορία στην φυσιολογική και παθολογική εγκυμοσύνη

Η πιθανή συμβολή της κληρονομούμενης θρομβοφιλίας στην παθοφυσιολογία

σημαντικών επιπλοκών της εγκυμοσύνης, συμπεριλαμβανομένης της πρεεκλαμψίας (pre-eclampsia), της ενδομητριάς καθυστέρησης της αναπτυξης, του ενδομήτριο θάνατο και την πλακουντιακή αποκόλληση, μας επικεντρώνουν εκ νέου την προσοχή στο ρόλο της αιμοστατικής διαταραχής στην ανώμαλη εγκυμοσύνη. Η σχέση μεταξύ προ-εκλαμψίας και αιμοστατικής διαταραχής έχει μελετηθεί ευρύτατα.

Στην προ-εκλαμψία ο σχηματισμός μικροθρομβών και η υπερβολική εναπόθεση ινωδογόνου έχουν επιπτώσεις σε πολλαπλά μητρικά όργανα και συμβάλλουν στην πολυσυστηματική δυσλειτουργία που χαρακτηρίζει αυτό το κλινικό σύνδρομο. Στην προ-εκλαμψία υπάρχουν στοιχεία αυξημένης κατανάλωσης παράγοντα VIII³¹, και μια σημαντική αύξηση στους δείκτες της δραστηριότητας θρομβίνης, συμπεριλαμβανομένου του συμπλόκου TAT^{28,32}, των παραγόντων προθρομβίνης 1+2³², δ-διμερών³² και διαλυτού ινωδογόνου³². Αυτό καταδεικνύει η σημαντική υπερ-ενεργοποίηση (upregulation) του ενδοαγγειακού συστήματος πήξης στην προ-εκλαμψία. Από ινωδολυτικής πλευράς ο Roes και συνεργάτες ανέφεραν ότι, στους ασθενείς με βαριάς μορφής προ-εκλαμψία, υπήρξε μια σημαντική μείωση του PAI-2, απεικονίζοντας την πλακουντιακή ανεπάρκεια, και μια σημαντική αύξηση στα επίπεδα των ενεργοποιητών πλασμινογονου, που απεικονίζουν την



ενδοθηλιακή δυσλειτουργία³³. Μια αρχική μελέτη για τα επίπεδα TAFI σε εγκυμοσύνες είτε με προεκλαμψία είτε με ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης δεν έδειξε καμία σημαντική αλλαγή σε αυτούς τους πληθυσμούς ασθενών³⁴. Δυστυχώς, σχεδόν όλα τα διαθέσιμα στοιχεία όσον αφορά την αιμόσταση είτε στην φυσιολογική είτε στην επιπλεγμένη εγκυμοσύνη έχουν ληφθεί από μελέτες στην απομακρυσμένη περιφερική κυκλοφορία παρά στην ενδεχομένως σημαντικότερη μητροπλακουντιαία κυκλοφορία.

Η μητροπλακουντιαία κυκλοφορία

Μέσα στη μητροπλακουντιαία κυκλοφορία, το αιμοστατικό σύστημα έχει να αντιμετωπίζει δυο αντικρουόμενες φυσιολογικές προκλήσεις: την διατήρηση της ρευστότητας του μητρικού αίματος στην εμβρυική – μητρική διεπαφή και από την άλλη να προετοιμάζεται για την αιμοστατική πρόκληση του τοκετού.

Οι δομικές (ultrastructural) μελέτες του πλακουντιακού εδάφους έχουν δείξει ότι το ενδοθήλιο των σπειροειδών αρτηριών αντικαθίσταται κατά ένα μεγάλο μέρος από ένα στρώμα των κυτταροτροφοβλαστών, ενώ οι εσωτερικές ελαστικές ίνες (internal elastic laminae) αντικαθίστανται από ένα άμορφο πλαίσιο που περιέχει κυτταροτροφοβλάστες και ποικίλα ποσά ινωδογόνου. Αυτή η διαδικασία επεκτείνεται³⁵ από το φθαρτό μέχρι το μυομητρικό τμήμα των μητροπλακουντιαίων αρτηριών. Αυτές οι αλλαγές στις μητροπλακουντιαίες αρτηρίες επιτρέπουν την επέκταση του εσωτερικού χιτώνα για να προσαρμοστούν στην αυξανόμενη ροή αίματος καθώς προοδεύει η εγκυμοσύνη. Η αυξανόμενη εναπόθεση ινωδογόνου μπορεί να οφείλεται στην εξασθετισμένη ινωδηλυτική δραστηριότητα των κυτταροτροφοβλαστών έναντι των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Στις παθολογικές εγκυμοσύνες η αιμοστατική ισορροπία εμφανίζεται να είναι διαταραγμένη. Ο αριθμός των αγγείων που παρουσιάζουν στοιχεία της τροφοβλαστικής εισβολής μειώνεται³⁶.

Επιπλέον, η τροφοβλαστική εισβολή είναι επιφανειακή και μερίδα των σπειροειδών αρτηριών δεν προχωρά πέρα από τον φθαρτό. Η μητροπλακουντιαία ροή αίματος είναι εξασθετισμένη, και αυτό απεικονίζεται σε μελέτες με Doppler, δηλαδή ανώμαλη μητροπλακουντιαία ροής ταχύτητα σε προ-εκλαμπτικές εγκυμοσύνες και εγκυμοσύνες με ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης³⁷. Το κλασσικό παθολογοανατομικό εύρημα είναι αυτό της οξείας αθηρωμάτωσης που χαρακτηρίζεται από ινώδη νέκρωση, συσσώρευση των λιποκυττάρων στα κατεστραμμένα αρτηριακά τοιχώματα και πλακών στην εσωτερική επιφάνεια των αγγείων που εμπεριέχουν μεγάλα ποσά λιπιδίων, λειών μυικών κυττάρων και ινωδογόνου³⁸.

Η ανώμαλη μορφολογία δεν είναι περιορισμένη (confined) στις σπειροειδείς αρτηρίες. Οι Shanklin και Sibai³⁹ περιέγραψαν αλλαγές στα μικρά φλεβίδια στα όρια μητρικού ιστού και πλακούντα. Μελέτες με ηλεκτρονική μικροσκοπηση κατέδειξαν οιδηματώδες, διαβρωμένο ενδοθήλιο.

Η διαταραγμένη αιμόσταση μέσα στη μητροπλακουντιαία κυκλοφορία η οποία οδηγεί σε υπερβολική εναπόθεση ινωδογόνου δεν έχει κατανοηθεί επαρκώς. Μελέτες σε ιστούς έχουν δείξει ότι ο πλακούντας και το φθαρτο είναι πλούσιοι σε παράγοντα ιστού που ενεργοποιεί το σύστημα πήξης⁴⁰. Ο Shimada και συνεργάτες⁴¹ έχουν δείξει ότι ο πλακούντας είναι η πηγή u-PA. Ο Lecander και ο Astedt κατέδειξαν ότι ο πλακούντας ήταν η πηγή για τον ειδικό για την εγκυμοσύνη-ανασταλτικό παράγοντα PAI-2⁴². Ο Feinberg και συνεργάτες έχουν δείξει ότι ο παράγοντας PAI-1 παράγεται από τους τροφοβλαστες του ανθρώπινου πλακούντα⁴³.

Μελέτες της αιμόστασης στη μητρική κυκλοφορία περιορίζονται από το γεγονός ότι υπάρχει δυσκολία στη λήψη των σχετικών δειγμάτων. Οι Bonnar και συνεργάτες εκτέλεσαν λεπτομερή μελέτη της πήξης αίματος



και των ινωδηλυτικών μηχανισμών στη μητρική κυκλοφορία και αναφέρουν ότι στο αίμα των μητρικών φλεβών που φεύγει από τη πλακουντιακή περιοχή ενώ ο πλακούντας αποχωρίζεται, παρουσιάστηκε μια έντονη ελάττωση του συνολικού χρόνου πήξης του αίματος, και μια ισχυρή αύξηση στην δραστηριότητα του παράγοντα VIII⁴⁴. Αυτές οι αλλαγές ήταν παροδικές. Υπήρξε επίσης μια έντονη αύξηση στην δραστηριότητα λύσης της ευγλομπουλίνης κατά τη διάρκεια και αμέσως μετά από τον πλακουντιακό αποχωρισμό, με επίπεδο δραστηριότητας αρκετά υψηλότερο από αυτό που καταγράφηκε συγχρόνως στην περιφερειακή φλέβα. Τα επίπεδα των προϊόντων αποδόμησης ινώδους/ινωδογόνου αυξήθηκαν ελαφρά στο μητρικό αίμα κατά τη διάρκεια του πλακουντιακού χωρισμού. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι διαφορές μεταξύ του μητρικού αίματος και του αίματος στην απομακρυσμένη κυκλοφορία, που έλεγξαν ταυτόχρονα, *in vivo*, έδειξαν μια έντονη τοπική ενεργοποίηση της πήξης.

Οι Hahn και Koisan-Bengtson εξέτασαν τις παραμέτρους της πήξης και της ινωδόλυσης στην περιφέρεια και στο αίμα της μήτρας κατά τη διάρκεια προγραμματισμένης καισαρικής τομής⁴⁵. Πριν από την επέμβαση υπήρχαν χαμηλότερα επίπεδα ινωδολυτικών ανασταλτικών παραγόντων στο αίμα της μήτρας σε σύγκριση με το περιφερειακό αίμα. Μετά από τον πλακουντιακό αποχωρισμό υπήρξαν χαμηλότερα επίπεδα πλασμινογόνου (plasminogen) μέσα στο αίμα της μήτρας έναντι του απομακρυσμένου αίματος. Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της επέμβασης υπήρξε μια ελάττωση του ενεργοποιημένου χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης μέσα στο περιφερειακό αίμα και το αίμα της μήτρας. Ο αριθμός των αιμοπεταλίων και η δραστηριότητα του παράγοντα VIII αυξάνεται μέσα στο αίμα της μήτρας, και εμφανίζει μια αυξητική τάση στην απομακρυσμένη κυκλοφορία. Οι Bonnar και Sheppard διερεύνησαν σχετικά με τα επίπεδα των ανασταλτικών παραγόντων των ενεργοποιητών πλασμινογόνου στις φλέβες της μήτρας και τις περιφερικές φλέβες κατά την διάρκεια καισαρικής τομής, και σε φυσιολογική εγκυμοσύνη και εγκυμοσύνη που περιπλέκεται από προ-εκλαμψία⁴⁶. Τα επίπεδα PAI-1 ήταν υψηλότερα στις εγκυμοσύνες που περιπλέκονται από προ-εκλαμψία και στο απομακρυσμένο και στο αίμα των φλεβών της μήτρας. Τα επίπεδα του πλακουντιακού ανασταλτικού παράγοντα PAI-2 ήταν πολύ χαμηλότερα στις εγκυμοσύνες περιπλεγμένες από προ-εκλαμψία στο αίμα των περιφερικών φλεβών και των φλεβών της μήτρας. Δεν υπήρχαν διαφορές στα επίπεδα μεταξύ της μητριάας και συστηματικής κυκλοφορίας.

Σε μια προσπάθεια αξιολόγησης της ισορροπίας μεταξύ των δυο αντιτιθέμενων δυνάμεων της πήξης και της ινωδόλυσης, και στην περιφερειακή και στην μητροπλακουντιαία κυκλοφορία, σε υγιείς και προ-εκλαμπτικές εγκυμοσύνες, ο Higgins και οι συνεργάτες²³ μετρήσανε ταυτόχρονα τα τελικά προϊόντα της πήξης (διαλυτό ινωδογόνο και σύμπλοκο αντιθρομβίνης-θρομβίνης (TAT)) και της ινωδόλυσης (σύμπλοκο πλασμίνης -α 2 - αντιπλασμίνης (PAP)) και τα προϊόντα αποδόμησης ινωδογόνου- (δ-διμερή) [FDPd]) σε δείγματα που ελήφθησαν από τις μητριάες φλέβες. Τα επίπεδα του συμπλόκου διαλυτού ινωδογόνου-αντιθρομβίνης, της θρομβίνης, των προϊόντων αποδόμησης ινωδογόνου δ-διμερών και του συμπλόκου πλασμίνης 2 - αντιπλασμίνης ήταν όλα υψηλότερα στη μητριάα φλέβα απ'ό,τι στην απομακρυσμένη φλέβα²³. Εντούτοις, όλες οι τιμές δεν δείξαν στατιστικά σημαντική διαφορά.

Στις ασθενείς με κανονική πίεση (normotensive), τα επίπεδα των διαλυτού ινωδογόνου και TAT ήταν σημαντικά υψηλότερα στην μητριάα φλέβα σε σύγκριση με την περιφερική φλέβα. Στις προ-εκλαμπτικές ασθενείς, το TAT και το FDPd ήταν σημαντικά υψηλότερα στη μητριάα φλέβα έναντι της περιφερικής φλέβας.



Στην μητροπλακουντιαία κυκλοφορία στους προ-εκλαμπτικούς ασθενείς σε σύγκριση με ασθενείς με κανονική ΑΠ (normotensive) υπήρξαν πιο υψηλά επίπεδα του FDPd και χαμηλότερα επίπεδα διαλυτού ινωδογόνου.

Δεδομένου ότι μια μητρική ροή αίματος μέχρι 700 μλ ανά λεπτό (ml/min) πρέπει να σταματήσει σχεδόν αμέσως κατά την αποκολληση του πλακούντα, είναι φανερό ότι είναι σημαντικό το σύστημα πήξης να είναι προετοιμασμένο για τον τοκετό. Επομένως η αύξηση στην ινωδολυτική δραστηριότητα είναι μια σημαντική απάντηση για να αποτραπεί η υπερβολική εναπόθεση ινωδογόνου και η εξασθένιση της πλακουντιακής ροής αίματος μετά τον τοκετό (antenatally).

Από αιμοστατικής απόψεως, κάποιος θα μπορούσε να υποθέσει ότι το σύστημα πήξης στην μητροπλακουντιαία κυκλοφορία στην προ-εκλαμψία χρειάζεται να ενεργοποιηθεί πολύ. Και παρόλο που μια αντιδραστική αύξηση στη ινωδόλυση μπορεί να πραγματοποιηθεί, η αιμοστατική ισορροπία μεταφέρεται προς την πήξη. Με βάση αυτήν την υπόθεση είναι δύσκολο να εξηγηθούν τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης. Η εύρεση αυξημένων επιπέδων FDPd και PAP πρέπει να ειπωθεί στο πλαίσιο μιας αντιδραστικής αύξησης στην ινωδόλυση. Εντούτοις, τα επίπεδα του TAT δεν παρουσίασαν καμία αύξηση, και τα επίπεδα του διαλυτού ινωδογόνου ήταν στην πραγματικότητα χαμηλότερα. Τα επίπεδα στο πλάσμα του TAT είναι ένα μέτρο της παραγωγής θρομβίνης *in vivo*.

Η δραστηριότητα της θρομβίνης εντοπίζεται στην περιοχή της πήξης σε συγκεκριμένες περιοχές σύνδεσης για την θρομβίνη. Είναι αποδεκτό γενικά ότι τα επίπεδα αντιθρομβίνης δεν αλλάζουν στην κανονική εγκυμοσύνη⁴⁷. Εντούτοις, έχει αναφερθεί ότι τα επίπεδα αντιθρομβίνης μειώνονται στην προ-εκλαμψία και αυτό πιθανά να συμβαίνει δευτερογενώς από την κατανάλωση αντιθρομβίνης⁴⁸. Πιθανά επομένως, λόγω της χρόνιας ενεργοποίησης της πήξης στην μητροπλακουντιαία κυκλοφορία, τα επίπεδα αντιθρομβίνης, είναι ανεπαρκή να δεσμεύσουν όλη τη παραχθείσα θρομβίνη. Κατά συνέπεια, αν και μπορεί να υπάρξει ενισχυμένη δραστηριότητα στην παραγωγή θρομβίνης αυτή δεν απεικονίζεται στα μετρήσιμα επίπεδα του συμπλόκου TAT.

Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ένα ανώμαλο αιμοστατικό σχέδιο εμφανίζεται μέσα στην μητροπλακουντιακή κυκλοφορία, στην προ-εκλαμψία. Τα μειωμένα επίπεδα του διαλυτού ινωδογόνου είναι σύμφωνα με την επιταχυνόμενη μετατροπή σε ινωδογόνο και με μια αντιδραστική αύξηση στη ινωδόλυση. Αυτά τα στοιχεία είναι σύμφωνα με την έννοια ότι μητροπλακουντιακή αιμόσταση είναι τρωτή σε μια περαιτέρω ανεπάρκεια όπως η παρουσία μιας κληρονομούμενης θρομβοφιλίας.

Ιστοπαθολογία Πλακούντα

Υπάρχει ακόμη διαμάχη για την κλινική σημασία και την ερμηνεία των θρομβωτικών περιοχών του πλακούντα. Οι αγγειακές αλλαγές στην μητροπλακουντιαία κυκλοφορία κατά την εγκυμοσύνη είναι μοναδικές ως προς την προσαρμογή τους στην αυξανόμενη παροχή αίματος που απαιτείται ώστε να διατηρείται η ανάπτυξη του πλακούντα και του εμβρύου. Μια από τις σημαντικότερες μορφολογικές αλλαγές που δείχθηκε από τους Sheppard και Bonnar σε πρώιμη εργασία τους³⁵, είναι η απουσία εσωτερικών ελαστικών χιτώνων στις βασικές, σπειροειδείς, και ακτινωτών αρτηριών στην έγκυο μήτρα. Ο εσωτερικός ελαστικός χιτώνας και οι λείες μυϊκές ίνες εμφανίζονται να αντικαθίστανται με κυτταροτροφοβλαστικό ιστός που υποστηρίζεται με το ινωδογόνο. Αυτή η προσαρμογή έχει ως σκοπό να μειώσει τις μεταβολές, λόγω παλμού, στον ανεφοδιασμό του αίματος στον πλακούντα και επιτρέπει την ταχεία σύγκλιση και απόφραξη των αγ-



γείων κατά την διάρκεια του τοκετού. Τα εσωτερικά στρώματα σε αυτά τα αγγεία αντικαθίστανται επίσης από κυτταροτροφοβλαστικό ιστό αλλά φαίνεται ότι διατηρούν τα θρόμβο-προστατευτικά αποτελέσματα του κανονικού ενδοθηλιακού ιστού. Παρόλα αυτά, η πλήρης προστασία από τους θρόμβους δεν είναι δυνατή, με ενδοτοιχωματικούς θρόμβους να είναι ένα αναγνωρίσιμο χαρακτηριστικό γνώρισμα, αργότερα, σε κανονικές εγκυμοσύνες.

Αγγειακοί θρόμβοι στα αγγεία του ομφαλού και τα χοριονικά αγγεία είναι τεκμηριωμένο ότι παρουσιάζονται στο 3–5% από τις κανονικές εγκυμοσύνες⁴⁹. Εάν οι κληρονομούμενες θρομβοφιλίες προκαλούν αυξανόμενη ενδιάμεση θρόμβωση στην μητροπλακουντιαία κυκλοφορία αυτό πρέπει να είναι προφανές στην ιστολογική εξέταση. Ο Many και οι συνεργάτες⁵⁰ εξέτασαν τους πλακούντες γυναικών με σοβαρή παθολογία κυήσεως (βαριά μορφής προ-εκλαμψία, ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης, βαριά πλακουντιακή αποκόλληση, ή ακόμα και εμβρυϊκός θάνατος). Ερεύνησαν για θρομβοφιλία και συνέκριναν τα συμπεράσματα από πλακούντες με θρομβοφιλία με πλακούντες χωρίς. Υπήρξε ένας σημαντικά υψηλότερος αριθμός εμφράκτων ($P < 0,01$), πολλαπλάσια εμφρακτα ($P < 0,05$) και μια υψηλότερη συχνότητα από πλακούντες με ινώδη νέκρωση στα αγγεία του φθαρτου ($P < 0,05$) σε γυναίκες με θρομβοφιλία. Κλινικά, η θρομβοφιλική ομάδα είχε μικρότερα μωρά σε πιο πρώιμη ηλικία κυήσεως. Αντίθετα, οι Mouse και Alfievic⁵¹ εξέτασαν με παρόμοια ομαδοποίηση αλλά βρήκαν φτωχή συσχέτιση μεταξύ της θρομβοφιλικής καταστάσεως και παθολογικών αλλαγών στον πλακούντα, και προτείνουν ότι οι πλακουντιακές αλλαγές μπορεί να μην είναι ο μόνος υπεύθυνος παράγοντας για τις δυσμενείς εκβάσεις εγκυμοσύνης.

Κληρονομούμενες θρομβοφιλίες

Οι κλινικά σημαντικές κληρονομημένες θρομβοφιλικές μεταλλάξεις, δηλαδή, η αντιθρομβίνη (AT), η ανεπάρκεια της πρωτεΐνης C και S, ενεργοποιημένη πρωτεϊνική αντίσταση C/παράγοντας V Leiden και η μετάλλαξη της προθρομβίνης G20210A, έχουν μεταβλητή συχνότητα (prevalence) στο γενικό πληθυσμό.

Ο παράγοντας V Leiden είναι η πιο κοινή ατέλεια, με μια επικράτηση (prevalence) περίπου 2–15%,¹⁰.

Η επικράτηση (prevalence) της μεταλλαγής προθρομβίνης G20210A είναι 2% στον γενικό καυκάσιο πληθυσμό¹¹, ενώ οι άλλες θρομβοφιλικές καταστάσεις είναι λιγότερο κοινές. Θα εστιαστούμε στα δυο πρώτα γονίδια και τις κύριες μεταλλάξεις τους.

ΠΡΟ-ΕΚΛΑΜΨΙΑ

Η προ-εκλαμψία είναι μια κατάσταση μοναδική στην ανθρώπινη εγκυμοσύνη. Εμφανίζεται σε ποσοστό 5–7% επί συνόλου κυήσεων, έχει σημαντική επίδραση στην περιγενετική και μητρική νοσηρότητα και είναι μια από τις κύριες αιτίες άμεσου μητρικού θανάτου σε όλο τον κόσμο^{52–53}. Παρά τη σημασία της και από την πλευρά της επικράτησης (prevalence) και των συνεπειών, οι γνώσεις της ακριβούς αιτιολογίας, της πρόληψης και της θεραπείας της παραμένουν ανεπαρκείς. Ο κύριος άξονας της θεραπευτικής προσέγγισης παραμένει η γέννηση του εμβρύου. Διάφοροι παράγοντες κινδύνου μπορούν να προδιαθέσουν τις γυναίκες να αναπτύξουν προ-εκλαμψία^{54,55}. Οι παράγοντες κινδύνου παρατίθενται στον σχημα 1. Αναγνώριση και προσδιορισμός τέτοιων παραγόντων κινδύνου μπορούν να επιτρέψουν την καλύτερη πρόβλεψη των γυναικών σε κίνδυνο για προ-εκλαμψία και να επιτρέψουν έτσι πιο έγκαιρη εγκαθίδρυση κατάλληλων μέτρων επατήρησης και των αποτελεσματικών θεραπειών κατευθυνόμενες προς την παρεμπόδιση ή την καθυστέρηση της αρχής της



προ-εκλαμψίας. Ενώ ο προσδιορισμός τέτοιων παραγόντων κινδύνου είναι δυνατός, μέχρι σήμερα πολύ λίγα είναι γνωστά για το ποιες θεραπείες μπορούν να αλλάξουν την πορεία της προ-εκλαμψίας

σχημα 1	Παράγοντες κινδύνου για προ-εκλαμψία
Σχετικοί με την ασθενή παράγοντες	Πρωτότοκος
	Ηλικία
	Οικογενειακό ιστορικό προ-εκλαμψίας
	προηγούμενο ιστορικό -προ-εκλαμψίας
	Συγκεκριμένες μητρικές νόσοι
	Βασική υπέρταση
	νεφρικές ασθένειες
	παχυσαρκία
	Αντίσταση στην ινσουλίνη/διαβήτης
	θρομβοφιλία
	Αυτοάνοσες διαταραχές (π.χ. SLE)
Παράγοντες σχετικοί με το σύντροφο	Πατρότητα 1 ^η φορά
	Εξωσωματική γονιμοποίηση (δωρεά ωοκυττάρων, σπερματέγχυση)
	Σύντροφος που είχε μια προ-εκλαμπτική εγκυμοσύνη με μια άλλη γυναίκα
Παράγοντες κινδύνου συνδεδεμένοι με την εγκυμοσύνη	Πολυδημη κύηση Χρωμοσωμικές ανωμαλίες (τρισωμία 13, τριπλοειδισμός) Εμβρυικός ύδρωπας

ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟ-ΕΚΛΑΜΨΙΑΣ

Η προ-εκλαμψία έχει περιγραφεί ως η ασθένεια των θεωριών⁵⁶. Αυτό απεικονίζει τη φτωχή κατανόηση της ακριβούς αιτιολογίας που οδηγεί σε αυτήν την κατάσταση. Η προ-εκλαμψία είναι μια πολυσυστηματική διαταραχή που προκαλείται από την ενδοθηλιακή βλάβη και την ισχαιμία των ιστών. Η αιτιολογία αυτής της ενδοθηλιακής βλάβης και η παθοφυσιολογική ακολουθία γεγονότων δεν έχουν ξεκαθαριστεί επαρκώς, εντούτοις, ο πλακούντας εμπλέκεται συχνά στην έναρξη αυτής της κατάστασης. Ο πλακούντας είναι το κρίσιμο σημείο επαφής μεταξύ της μητρικής και εμβρυικής κυκλοφορίας. Η ανώμαλη πλακουντοποίηση που χαρακτηρίζεται από τη μειωμένη ενδοαγγειακή εισβολή από τον τροφοβλαστικό ιστό και η φτωχή αναδιαμόρφωση (remodelling) των σπειροειδών αρτηριών αναφέρεται συχνά ως χαρακτηριστικό γνώρισμα στην προ-εκλαμψία⁵⁷. Αυτές οι αγγειακές αλλαγές εμφανίζονται νωρίς στην εγκυμοσύνη (αργά στο πρώτο και νωρίς στα δεύτερο τρίμηνο) και μπορεί να οδηγήσουν σε πλακουντιακή ισχαιμία μέσω ελαττωμένης διάχυσης του αίματος⁵⁷.

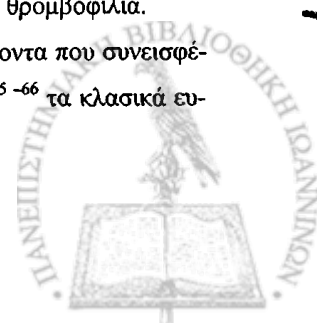
Ένδειξη για ενδοθηλιακή δυσλειτουργία έχει καταδειχθεί στην προ-εκλαμψία και αυτό πιστεύεται ότι είναι πιθανά μια συνέπεια της πλακουντιακής ισχαιμίας ή/και ως ανοσολογικής παθολογικής προσαρμογής^{58,59}. Έχει προταθεί ότι σε μια υπερβολική ανοσολογική απάντηση Th-1 κυτοκίνες και στη συνέχεια το οξειδωτικό στρες είναι ο τελικός κοινός παθοφυσιολογικός μηχανισμός στην αιτιολογία της ακατάλληλης ενδοθηλιακής ενεργοποίησης



των κυττάρων καταστροφής⁶⁰. Σε μια κατάσταση μειωμένης πλακουντιακής διάχυσης, οι χαμηλού μοριακού βάρους λιποπρωτεΐνες (LDLs) οξειδώνονται εύκολα και προστατεύονται από τα κυκλοφορούντα αντιοξειδωτικά και κατά προτίμηση έχουν πρόσβαση στο υποενδοθηλιακό διάστημα⁶¹. Μόλις οξειδωθούν, οι LDLs αλλάζουν τις μεμβρανικές πρωτεΐνες και τα φωσφολιπίδια, και με αυτόν τον τρόπο αλλάζουν την ακεραιότητα των ενδοθηλιακών μεμβρανών και την λειτουργία τους. Οι οξειδωμένες LDLs μπορεί επίσης να εξασθενίσουν την αγγειοδιαστολή που επιτυγχάνεται από το νιτρικό οξείδιο⁶¹. Η μεταφορά αυτού του οξειδωτικού stress στη συστηματική κυκλοφορία της μητέρας από τα αγγεία του φθαρτου, εξηγείται από την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων (neutrophils) και των μονοκυττάρων στα μεσαγγειακά διαστήματα, τα οποία παράγουν έπειτα τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου κατά την επαφή με το ενδοθήλιο⁶². Και άλλες θεωρίες για την εξήγηση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας έχουν προταθεί και αυτές περιλαμβάνουν (I) την απελευθέρωση των οξειδωμένων τμημάτων συγκλητιστροφοβλαστών (syncytiotrophoblast) στη μητρική κυκλοφορία και (II) την πλακουντιακή παραγωγή κυτοκινών, οι οποίες μπορούν να παραγάγουν οξειδωτικό stress⁶². Οποιοσδήποτε και να είναι η αιτία, υπάρχουν τώρα αρκετά στοιχεία για την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία ως βασικό παθογενετικό μηχανισμό που προκαλεί το σύνδρομο της προ-εκλαμψίας..

ΤΡΙΑΔΑ ΤΟΥ VIRCHOW, ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ

Ο Virchow⁶³ περιέγραψε την τριάδα των χαρακτηριστικών γνωρισμάτων που οδηγούν στην ενδοαγγειακή θρόμβωση: ανωμαλίες στη ροή του αίματος (στάση-stasis), ανωμαλίες στο τοίχωμα των αγγείων (ενδοθηλιακή βλάβη) και ανωμαλίες των συστατικών του αίματος (υπερπηκτικότητα-hypercoagulability). Η στάση εμφανίζεται αναμφισβήτητα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ως αποτέλεσμα της διάτασης λόγω διευρυνσης της έγκυμονος μήτρας που συμπιέζει τα κατώτερα άκρα και τις πυελικές φλέβες. Η στάση επίσης θα συμβεί σε περιοχές φτωχής διάχυσης του αίματος συνεπεία της υψηλής αντίστασης ροής εξαιτίας της ελαττωμένης αγγείωσης —όπως όταν έχουμε ανώμαλη αναδιαμόρφωση σπειροειδών αρτηριών στην προ-εκλαμψία⁵⁷. Η ενδοθηλιακή βλάβη τώρα έχει τεκμηριωθεί καλά στα μητροπλακουντιακά/φθαρτου αγγεία από προ-εκλαμπτικές εγκυμοσύνες^{58,59}. Υπερπηκτικότητα εμφανίζεται επίσης στην κανονική εγκυμοσύνη⁶⁴ και θεωρείται ότι αντιπροσωπεύει μια εξελικτική προσαρμογή για να αποτρέψει την απώλεια αίματος μετά τον τοκετό—παραδοσιακά ένας σημαντικός παράγοντας που συνεισφέρει στη μητρική θνησιμότητα. Αυτή η ίδια προσαρμοστική απάντηση εκθέτει τώρα τις σύγχρονες γυναίκες των αναπτυγμένων κοινωνιών σε σοβαρούς κινδύνους νοσηρότητας και θνησιμότητας από την θρομβοεμβολική νόσο και τις συνέπειές της. Λαμβάνοντας υπόψη αυτήν την τριάδα, η πρόσθετη επιβάρυνση λόγω κληρονομημένης ή επίκτητης θρομβοφιλίας μπορεί να μεταφέρει την αιμοστατική ισορροπία περισσότερο προς την πλευρά μιας προ-πηκτικής κατάστασης που μπορεί να φανερώνεται στη μητροπλακουντιακή κυκλοφορία στην περιοχή της ενδοθηλιακής βλάβης. Ο σχηματισμός τοπικά θρόμβων σε αυτήν την περιοχή, επιτρέπει την ανάπτυξη ενός θετικού μηχανισμού ανατροφοδότησης που σε περαιτέρω ελάττωση της διάχυσης οδηγεί σε αυξανόμενη ισχαιμία, περαιτέρω οξειδωτικό stress με ενδοθηλιακή βλάβη υποκινώντας έτσι περαιτέρω την πρόοδο της θρόμβωσης. Είναι έτσι βιολογικά εύλογο ότι οι κληρονομημένες θρομβοφιλίες μπορούν να συμβάλουν στην ανάπτυξη προ-εκλαμψίας στις γυναίκες με κίνδυνο. Παρομοίως, η ανάπτυξη μιας αυστηρότερης φαινοτυπικής έκφρασης της προ-εκλαμψίας μπορεί να φανεί σε γυναίκες με θρομβοφιλία έναντι εκείνων χωρίς θρομβοφιλία. Παραπάνω στοιχεία για το ρόλο της ενδοαγγειακής θρόμβωσης ως ένα σημαντικό παράγοντα που συνεισφέρει στην παθογένεση της προ-εκλαμψίας προέρχονται από παθολογοανατομικές μελέτες⁶⁵⁻⁶⁶ τα κλασικά ευ-



ρήματα της ινώδους νέκρωσης και της οξείας αθηρωμάτωσης, μαζί με θρομβους και πλακουντιακα εμφρακτα, εμπλέκουν την διαταραγμένη πήξη στην συνολική ακολουθία των γεγονότων⁵⁹. Έχει επίσης παρουσιαστεί ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης στην μητροπλακουντιακή κυκλοφορία προ-εκλαμπτικών ασθενών⁶⁷.

ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟ-ΕΚΛΑΜΨΙΑ

Η συσχέτιση μεταξύ προ-εκλαμψίας και κληρονομημένης θρομβοφιλίας αναφέρθηκε αρχικά από τους Dekker και συνεργάτες το 1995⁶⁸ σε μια μελέτη που περιλαμβάνει 101 ασθενείς με πρόωρη έναρξη προ-εκλαμψίας. Η επικράτηση (prevalence) των διαφορετικών θρομβοφιλιών συγκρίθηκε με την επίπτωση αυτών των θρομβοφιλιών στον ολλανδικό πληθυσμό και δημοσιεύθηκε από την ομάδα μελέτης του Leiden Thrombophilia. 24,7% των προ-εκλαμπτικών ασθενών είχε την πρωτεϊνική ανεπάρκεια του S, 16% είχε ενεργοποιημένη πρωτεϊνική αντίσταση C (APCR) 17,7% είχε υπερομοκυστειναιμία, και 29,4% είχε αντισώματα αντικαρδιολιπίνης, IgG ή IgM. Όλες αυτές οι θρομβοφιλίες ήταν σημαντικά πιο επικρατούσες στις προ-εκλαμπτικές ασθενείς από,τι στο γενικό ολλανδικό πληθυσμό. Μια άλλη μελέτη δημοσιεύθηκε από τον Kurfermijn και συνεργάτες⁶⁹ —η οποία έγινε προκειμένου να καθοριστεί εάν οι μαιευτικές επιπλοκές συνδέονται με τις γενετικές μεταλλάξεις θρομβοφιλιών. 110 υγιείς γυναίκες με ιστορικό δυσμενούς έκβασης εγκυμοσύνης — συμπεριλαμβανομένης και σοβαρής προ-εκλαμψίας, βάρους γέννησης νεογνού κάτω από το 5 εκατοστημόριο για την ηλικία κύησης, σοβαρή αποκόλληση πλακούντα και ενδομήτριος εμβρυϊκός θάνατος μετά από κύηση 23 εβδομάδων — συμμετείχαν στη μελέτη. Η ομάδα ελέγχου συμπεριέλαβε 110 υγιείς ασθενείς που είχαν μια ή περισσότερες κανονικές εγκυμοσύνες. Συνολικά, 52% των ασθενών με δυσμενή έκβαση εγκυμοσύνης είχαν μια γενετική θρομβοφιλική μετάλλαξη έναντι 17% στην ομάδα ελέγχου. Επιπλέον, 13% των ασθενών της μελέτης είχε τις ανεπάρκειες πρωτεΐνης S, της πρωτεΐνης C, της αντιθρομβίνης III ή ανιχνεύσιμων αντισωμάτων αντικαρδιολιπίνης. Κατά συνέπεια η συνολική επικράτηση (prevalence) της θρομβοφιλίας σε γυναίκες με προ-εκλαμψία ήταν 65% έναντι 18% των γυναικών στην ομάδα ελέγχου. Η μεγαλύτερη ομάδα προ-εκλαμπτικών ασθενών που μελετηθήκαν αναφέρθηκε από τον Van-Ramrus και συνεργάτες⁷⁰. Οι ερευνητές αυτοί περιέγραψαν 345 γυναίκες με ένα ιστορικό σοβαρής προ-εκλαμψίας, που διαγνώστηκε πριν από τις 34 εβδομάδες κύησης, οι οποίες και ερευνήθηκαν μετά τον τοκετό για την παρουσία θρομβοφιλιών. Οι γυναίκες με προ-εκλαμψία διαιρέθηκαν περαιτέρω σε κάτω από ή πάνω από 28 εβδομάδων κύησης κατά τη στιγμή του τοκετού. Και στις δύο υποομάδες και σε όλες τις γυναίκες που συγκεντρώθηκαν μαζί, βρέθηκε μια υψηλότερη επικράτηση του APCR έναντι μιας προσεκτικά επιλεγμένης ομάδας 65 γυναικών που δεν χρησιμοποιούσαν από του στόματος αντισυλληπτικά ή οποιοδήποτε συμπλήρωμα βιταμινών. Ο APCR (αλλά όχι η μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden) και η υπερομοκυστειναιμία ήταν σημαντικά πιο επικρατώντες στις γυναίκες με σοβαρή νόσο, ώστε να απαιτείται τοκετός πριν από την 28 εβδομάδα κύησης, ενώ στις γυναίκες που απαιτείται τοκετός πέρα από την κύηση 28 εβδομάδων μόνο το APCR βρέθηκε για να είναι πιο επικρατών (prevalence). Αυτή η μελέτη σαφώς εμφάνισε την διαφορετική παρουσία των θρομβοφιλιών στις γυναίκες με την πολύ-πρόωρης-έναρξης ασθένεια (τοκετός στις 28 εβδομάδες) έναντι των γυναικών στις οποίες ο τοκετός γίνεται στο 3ο τρίμηνο —ακόμα κι αν είχαν τοκετό και πριν από την 36 εβδομάδες κύησης. Μετα από αυτές τις αρχικές εργασίες έχουν υπάρξει πολλές μελέτες δείκτου – ελέγχου (case control)^{71,72} και προοπτικές⁷³ μελέτες που επιβεβαιώνουν την συσχέτιση μεταξύ προ-εκλαμψίας και θρομβοφιλίας. Πιο πρόσφατα, εντούτοις, έχει υπάρξει μια αύξηση στον αριθμό των εργασιών που είναι δεν είναι ικανές να αναπαραγάγουν αυτά τα αποτελέσματα^{74,75}.



Δύο συστηματικές ανασκοπήσεις από τους Alfíreñic και συνεργάτες⁷⁶ και τους McLintock και συνεργάτες⁷⁷ στην συσχέτιση μεταξύ θρομβοφιλίας και δυσμενούς έκβασης της εγκυμοσύνης βρήκαν ένα συνολικά υψηλότερο ποσοστό θρομβοφιλίας στις γυναίκες με προ-εκλαμψίας έναντι των γυναικών στις ομάδες ελέγχου. Και οι δύο αναθεωρήσεις περιέλαβαν τις μελέτες μέχρι τον Ιούνιο 2000. Η διαμάχη αυτή φαίνεται ότι απεικονίζει την ετερογενή φύση της προ-εκλαμψίας καθώς επίσης και την ετερογένεια των ασθενών που μελετήθηκαν. Οι διαφορετικές πληθυσμιακές εθνικές ομάδες μπορούν να έχουν μη αναγνωρισμένες μέχρι τώρα θρομβοφιλίες, οι οποίες μπορούν να μεταβιβάσουν έναν μεγαλύτερο κίνδυνο σε αυτό το υποσύνολο πληθυσμού. Ομοίως, όλες οι μελέτες δεν έχουν ερευνήσει τον ρόλο όλων αυτών των κληρονομούμενων θρομβοφιλιών αυτήν την περίοδο προσδιορισμού, και επικεντρώνονται αντ' αυτού σε μια θρομβοφιλία η μικρό αριθμό θρομβοφιλιών. Τα μέχρι τώρα στοιχεία δείχνουν ότι ο μεμονωμένος κίνδυνος που προέρχεται από μια και μοναδική θρομβοφιλία μπορεί να είναι λιγότερο σημαντικός από αυτόν που προέρχεται από την συνκληρονομιση περισσότερων θρομβοφιλιών. Επιπλέον, πρέπει να σημειωθεί ότι οι περισσότερες αρνητικές μελέτες περιείχαν σε μεγαλύτερο βαθμό κηυσεις 3ου τρίμηνου⁷⁰.

Το κλινικό φάσμα που αναγνωρίζουμε ως προ-εκλαμψίας προκαλεί αυτή τη σύγχυση στην ερμηνεία των μελετών που αφορούν τους παράγοντες κινδύνου για τον όρο αυτό. Στο προτεινόμενο μοντέλο της προ-εκλαμψίας, η θρομβοφιλία είναι μόνο ένας από τους συμβάλλοντες παράγοντες. Σε ένα <<διπλό χτύπημα>> μοντέλο της προ-εκλαμψίας⁷⁸, στο οποίο ένα εναρκτήριο γεγονός επιδεινώνεται από άλλους παράγοντες, οι θρομβοφιλίες λειτουργούν σαφώς ως παράγοντας που επιδεινώνει το <<δεύτερο χτύπημα >>. Αυξημένη απόπτωση των ενδοαγγειακών κυτταροτροφοβλαστών (cytotrophoblasts) έχει αναφερθεί στην προ-εκλαμψίας. Η φωσφατιδυλοσερινική, ένα νέο-αντιγόνο στην επιφάνεια των αποπτωτικών κυττάρων, έχει ισχυρή προ-πηκτική (pro-coagulant) δραστηριότητα⁷⁹. Έτσι φαίνεται πιθανό ότι οι κυτταροτροφοβλαστες (cytotrophoblasts) που υποβάλλονται σε απόπτωση θα μπορούσε να φέρουν στην επιφάνεια την εναπόθεση ινωδογόνου, καθώς επίσης και την ενεργοποίηση αιμοπεταλίων. Θεωρητικά, οποιαδήποτε προϋπάρχουσα θρομβοφιλική διαταραχή μπορεί να ενισχύσει κατά πολύ αυτήν την παθοφυσιολογική διαδικασία. Κατά συνέπεια, είναι πιο πιθανό ότι οι θρομβοφιλίες είναι συνδεδεμένες με εκείνες τις περιπτώσεις σοβαρότερης, επαναλαμβανόμενης και πρόωρης έναρξης προ-εκλαμψίας. Επομένως, οι μελέτες που περιλαμβάνουν μόνο εκείνες τις σοβαρές, πρόωρου-έναρξης περιπτώσεις, θα παράγουν αποτελέσματα που θα ισχύουν σε έναν παρόμοιο πληθυσμό ασθενών, ενώ οι μελέτες που περιλαμβάνουν περιπτώσεις ήπιας προ-εκλαμψίας μπορούν καλά να ελατώσουν-αραιώσουν τη δύναμη της σχέσης μεταξύ της θρομβοφιλίας και των μαιευτικών επιπλοκών και από την άλλη να παρέχουν πιο χρήσιμα στοιχεία για το γενικό μαιευτικό πληθυσμό.

Ενεργοποιημένη πρωτεϊνική αντίσταση C, πολυμορφισμοί του παράγοντα V και προ-εκλαμψία

Η πρωτεΐνη C είναι ένα αντιπηκτικό που παραμένει στην κυκλοφορία ως ανενεργη πρόδρομος ουσία και απαιτείται ενεργοποίηση της από τη θρομβίνη. Ο σχηματισμός της θρομβίνης μέσω του καταρράκτη πήξης προκαλεί την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C που, στο άθικτο σύστημα πήξης, δεσμεύεται με τον ενεργοποιημένο παράγοντα V για να τον αδρανοποιήσει, με αυτόν τον τρόπο περιορίζει την περαιτέρω παραγωγή της θρομβίνης⁸⁰. Δύο σημειακές μεταλλάξεις, αναγνωρίζονται τώρα, ότι εξασθενίζουν τη δράση της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C, στον παράγοντα V Leiden⁸¹. Η πρώτη μετάλλαξη αφορά μια αντικατάσταση του αμινοξέος αργινίνη με τη γλουταμίνη στη θέση 506 στον παράγοντα V Leiden. Όπως η μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden, ο μετάλλαξη⁸²



Καίμπριτζ του παράγοντα V έχει επίσης επιπτώσεις στην περιοχή διαχωρισμού του παράγοντα V από την πρωτεΐνη C και προκύπτει από μια αντικατάσταση ενός αμινοξέος στη θέση 306.

Η αυξημένη ενεργοποίηση στην πρωτεϊνική αντίσταση C (APCR) έχει τεκμηριωθεί στην κανονική εγκυμοσύνη καθώς προχωρά η κύηση, αν και οι μηχανισμοί για αυτό παραμένουν ασαφείς^{83, 84}. Εν προκειμένω, η μείωση του πρωτεϊνικού συμπάγοντα S, ο οποίος συνδεεται με την εγκυμοσύνη μπορεί να είναι σημαντική. Αυτή η εμφανιζόμενη με την εγκυμοσύνη "APCR έχει συνδεθεί επίσης με την προεκλαμψία^{85, 86}.

Ενώ η πλειοψηφία των ασθενών με ενεργοποίηση στην πρωτεϊνική αντίσταση C φέρνει την μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden, το APCR που είναι ανεξάρτητο από αυτήν την μετάλλαξη έχει δείχθει ότι έχει μια αυξανόμενη συχνότητα στις γυναίκες με προ-εκλαμψία. Σε μια μελέτη που συγκρίνει την ενεργοποιημένη πρωτεϊνική δραστηριότητα C σε 150 γυναίκες με κανονικές κυήσεις και 50 γυναίκες με προ-εκλαμψία, οι Mimito και συνεργάτες⁴⁰ βρήκαν ένα σημαντικό υψηλότερο ποσοστό του APCR μεταξύ των γυναικών με προ-εκλαμψία (22% στις γυναίκες με προ-εκλαμψία έναντι 2,7% έναντι εκείνων χωρίς προ-εκλαμψία). Ομοίως η μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden φάνηκε στατιστικά συχνότερη σε γυναίκες με προ-εκλαμψία (8.0%) έναντι εκείνων χωρίς (0,07%, P, 0.01), καθώς επίσης και σε μη εγκυμονούσες γυναίκες (2,0%). Σε αυτήν την μελέτη, ο έλεγχος έγινε κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και λιγότερο από τις μισές γυναίκες με APCR στην κύηση βρέθηκαν να έχουν την μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden. Αυτό δείχνει τον πιθανό αντίκτυπο του επίκτητου "APCR στην εγκυμοσύνη.

Όταν εξετάστηκε εκτός εγκυμοσύνης από τον Van Pampus και συνεργάτες⁷⁰ διαπιστώθηκε ότι η σχέση μεταξύ APCR και προ-εκλαμψίας παρέμενε, με 11,3% των γυναικών με ένα προηγούμενο ιστορικό προ-εκλαμψίας να έχουν APCR έναντι μόνο 1,5% εκείνων χωρίς (P 0.025). Όλοι αυτοί οι ασθενείς εξετάστηκαν τουλάχιστον 10 εβδομάδες μετά τον τοκετό (οι πιο πολλοί ήταν περισσότερο από 6 μήνες μετά τον τοκετό) και πάλι μόνο περίπου 50% από εκείνους που βρέθηκαν να είναι APC ανθεκτικοί αποδείχθηκε ότι φέρουν την μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden. Αυτά τα ευρήματα έρχονται σε αντίθεση με ευρήματα από άλλες μελέτες σε μη εγκυμονούσες στις οποίες μέχρι και 95% του APCR αποδίδεται στην μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden.

Στη μελέτη τους οι Kupferminc και συνεργάτες⁷⁸ ανίχνευσαν την μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden σε 20% των γυναικών με μαιευτικές επιπλοκές (σοβαρή προ-εκλαμψία, πλακουντιακή αποκόλληση, ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης και ανεξήγητος ενδομήτριος θάνατος) έναντι μόνο 6% των γυναικών με απλές εγκυμοσύνες. Οι μικροί αριθμοί επιπλοκών, μέσα σε κάθε ομάδα κάνουν την ανάλυση της επίπτωσης του παράγοντα V Leiden στην προ-εκλαμψία δύσκολη, εντούτοις, υπολογίστηκε μια αναλογία πιθανοτήτων (odds ratio) (OR) 5,3 (95% CI 1,8–15,6). Μια επόμενη μελέτη από την ίδια ομάδα, που εξέτασε συγκεκριμένα μια κοορτη (cohort) προ-εκλαμψίας, επιβεβαίωσε αυτό το εύρημα, με την μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden να ανιχνεύεται σε 24% των περιπτώσεων έναντι 6,3% των ατόμων ελέγχου, δίνοντας μια αναλογία πιθανοτήτων (odds ratio) (OR) 4,6 (95% CI 1,8–11,6, P, 0.001).⁷¹

Η συστηματική αναθεώρηση από τον Alfirevic και συνεργάτες⁷⁶, η οποία περιλαμβάνει δεδομένα από 11 μελέτες, δείχνει μια αναλογία πιθανοτήτων (odds ratio) (OR) 3,7 (95% CI 0,9–15,6).

Σε μια προοπτική μελέτη, ο Lindqvist και οι συνεργάτες⁷³ δεν μπόρεσαν να επιβεβαιώσουν ένα αυξημένο ποσοστό προ-εκλαμψίας ή άλλων επιπλοκών σε φορείς της μετάλλαξης του παράγοντα V Leiden. Σε αυτή την ομάδα των 2480 γυναικών, 1,9% των APC ανθεκτικών γυναικών που ανέπτυξε προ-εκλαμψία συγκρίνεται με 1,5% ποσοστό των μη-APC ανθεκτικών γυναικών, ένα εύρημα που δεν είναι στατιστικά σημαντικό. Αυτή η



έλλειψη συσχέτισης μπορεί εν μέρει να απεικονίζει τη συγκριτικά χαμηλή συχνότητα της προ-εκλαμψίας μέσα στην ομάδα. Διάφορες άλλες μελέτες επίσης έχουν αποτύχει να επιβεβαιώσουν μια συσχέτιση μεταξύ προ-εκλαμψίας και APCR. Παρά τις αναφορές σε σχετικές εργασίες, μιας γενικής συσχέτισης μεταξύ της θρομβοφιλίας και των μαιευτικών επιπλοκών με μια αναλογία πιθανοτήτων 1,8, οι Alfirénic και συνεργάτες⁷² δεν μπόρεσαν να δείξουν μια αύξηση στον κίνδυνο μαιευτικών επιπλοκών σε σχέση με την μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden, αν και μια πιθανή (μη-σημαντική) συσχέτιση μεταξύ APCR (αρνητική για παράγοντας V Leiden) και των επιπλοκών δεν θα μπορούσε να αποκλειστεί. Ομοίως, οι Livingston και συνεργάτες⁷⁴ δεν μπόρεσαν να καταδείξουν οποιαδήποτε σχέση μεταξύ σοβαρής προ-εκλαμψίας και της μητρικού ή εμβρυικού γονοτύπου για τον παράγοντα V Leiden. Λαμβάνοντας υπόψη το συγκριτικά χαμηλή συχνότητα του παράγοντα V Leiden σε αυτόν τον πληθυσμό (που είναι χαμηλότερη από αυτή που φαίνεται στην ισραηλινή μελέτη του Kupferminc), είναι πιθανό ότι αυτή η μελέτη ήταν πάρα πολύ μικρή για να ανιχνεύσει μια διαφορά. Ομοίως, είναι δυνατό ότι άλλες μέχρι τώρα μη αναγνωρισμένες θρομβοφιλίες μπορεί να είναι σημαντικότερες σε αυτήν την μελέτη, καθώς επίσης και θρομβοφιλίες που δεν εξετάστηκαν σε αυτήν την μελέτη. (Η μελέτη εξέτασε τις μεταλλάξεις για τον παράγοντα V Leiden, τη μετάλλαξη MTHFR 677 και τη μετάλλαξη της προ-θρομβίνης). Επιπλέον, η μελέτη εξέτασε σχεδόν αποκλειστικά, περιπτώσεις κυήσεων τρίτου τριμήνου που εμφανίζονται να συσχετίζονται λιγότερο έντονα με θρομβοφιλία από ότι οι περιπτώσεις που εντοπίζονται στο δεύτερο τρίμηνο. Εντούτοις, παρά αυτές τις αντικρουόμενες αναφορές, η πιθανότητα μιας σχέσης μεταξύ της μετάλλαξης του παράγοντα V Leiden, ενεργοποιημένης αντίστασης της πρωτεΐνης C και προ-εκλαμψίας παραμένει και χρειάζεται περαιτέρω έρευνα για να διευκρινιστεί η ακριβή φύση αυτής της σχέσης.

Υπερομοκυστιναιμία, πολυμορφισμοί του MTHFR και προ-εκλαμψία

Στον κανονικό άνθρωπο, οι συγκεντρώσεις της ομοκυστεΐνης πλάσματος^{75,76} πέφτουν κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης. Στους υπεύθυνους μηχανισμούς για αυτήν την πτώση περιλαμβάνεται η κανονική, λόγω εγκυμοσύνης, αύξηση του ποσοστού νεφρικής διήθησης, η αύξηση του όγκου πλάσματος και της σχετικής αιμοδιαλυσης, και η αυξανόμενη λήψη ομοκυστεΐνης από το έμβryo. Αν και σε μια μελέτη οι συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης στο αμνιακό υγρό κατά τις αρχές της εγκυμοσύνης ήταν πολύ χαμηλές έναντι εκείνων που βρέθηκαν στο μητρικό πλάσμα, σε αντίθεση οι συγκεντρώσεις μεθειονίνης ήταν υψηλές, προτείνοντας την πιθανότητα ενεργής επαναμεθωλιωσής της ομοκυστεΐνης στους εμβρυϊκούς ιστούς για την υποστήριξη της αύξησης και την εξέλιξή τους⁷⁷.

Εκτός από τις διαμαρτίες του νευρικού σωλήνα (NTD), οι αυξημένες τιμές συγκεντρώσεων ομοκυστεΐνης πλάσματος έχουν συνδεθεί με ασθένειες που συνδέονται με την πλακουντιακή αγγειακή θρόμβωση, ειδικότερα την προ-εκλαμψία και την αποκόλληση πλακούντα, καθώς επίσης και επαναλαμβανόμενες αποβολές. Η Υπερομοκυστιναιμία έχει περιγραφεί σε συνδυασμό με την αθηροσκλήρυνση, τη φλεβική θρόμβωση και την πρόωρη στεφανιαία νόσο⁸⁷.

Η ομοκυστεΐνη είναι ένα ενδιάμεσο υποπροϊόν στο μεταβολισμό του βασικού αμινοξέος μεθειονίνη. Η ομοκυστεΐνη θεωρείται ότι ασκεί μια τοξική επίδραση στα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω διάφορων μηχανισμών⁸⁷. Αυτή η ενδοθηλιακή βλάβη επιτρέπει στην συνέχεια —ή ίσως ενθαρρύνει ακόμη και— την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και τον σχηματισμό θρόμβων. Ο ακριβής μηχανισμός της ομοκυστεΐνη-εξαρτημένης βλάβης είναι αβέβαιος, εντούτοις εμπλέκονται οξειδωτικές διαδικασίες, με το σχηματισμό του υπεροξειδίου υδρογόνου που βλάπτει τα ενδοθηλιακά κύτταρα —εκθέτοντας τον μεσοκυττάριο ιστό και τα λεία μυϊκά



κύτταρα και, στη συνέχεια, προωθείται η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων⁸⁷. Η ομοκυστεϊνή επίσης ελλοιώνει την παραγωγή από το ενδοθηλίο νιτρικών οξειδίων, τα οποία, στα κανονικά λειτουργούντα ενδοθηλιακά κύτταρα, όχι μόνο προκαλούν αγγειοδιαστολή και αναστολή της συνάθροισης αιμοπεταλίων αλλά και αποτοξίνωσης από την ομοκυστεϊνή⁸⁸. Έτσι, η ομοκυστεϊνή η ίδια συμμετέχει σε ένα θετικό σύστημα ανατροφοδότησης πληροφοριών που προωθεί την ενδοθηλιακή ζημία και έχει σαν αποτέλεσμα την θρόμβωση. Η ομοκυστεϊνή έχει αποδειχθεί επίσης ότι μπορεί να προκαλέσει τον πολλαπλασιασμό των αγγειακών λείων μυικών κυττάρων και επιδρά στην έκφραση της θρομβομοντουλίνης στα ενδοθηλιακά κύτταρα, έτσι φαίνεται ότι, σε διάφορα επίπεδα, η υπερομοκυστεϊναιμία είναι πιθανό να συμβάλει στην ενδοαγγειακή θρόμβωση.

Αρκετοί πολυμορφισμοί έχουν περιγραφεί μέχρι τώρα στο γονίδιο που κωδικοποιεί το ένζυμο methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)^{89,90}. Αυτό το ένζυμο διαδραματίζει έναν κρίσιμο ρόλο στο μηχανισμό επανα-μεθυλίωσης, ο οποίος οδηγεί τη μετατροπή ομοκυστεϊνης σε μεθειονίνη. Η μετάλλαξη C-T στο νουκλεοτίδιο 677 στο γονίδιο MTHFR οδηγεί στην παραγωγή μιας θερμοαντοχής (thermolabile) παραλλαγής, στην οποία, στην ομόζυγη μορφή, έχει ελατωμένη δραστηριότητα σε ελαφρά ανυψωμένα επίπεδα κυκλοφορούσας Ομοκυστεϊνης⁸⁹. Η μετάλλαξη 1298 A-C συμβαίνει στη ρυθμιστική περιοχή αυτού του γονιδίου, και παρόλο που αυτή η μετάλλαξη δεν εμφανίζεται να συνδέεται με υπερομοκυστεϊναιμία αυτή καθ' εαυτή, σύνθετη ετεροζυγωτία και για τις δύο μεταλλάξεις φαίνεται να παρέχει έναν μεγαλύτερο κίνδυνο. Διπλή ομοζυγωτία εμφανίζεται να είναι ασυμβίβαστη με την επιβίωση, βάσει μελετών που έχουν γίνει σε αυτόματες και προκληθείσες αποβολές πρώτου-τρίμηνου⁹¹.

Η Υπερομοκυστεϊναιμία έχει συσχετισθεί με προ-εκλαμψία σε αρκετές μελέτες^{68,70,92}. Η μελέτη του Dekker και συνεργατών ήταν από τις πρώτες που περιεγράψαν αυτήν την σχέση⁶⁸. Η υπερομοκυστεϊναιμία προσδιορίστηκε σε 14 από 79 γυναίκες (17,7%) με σοβαρή πρόωρης-έναρξης προ-εκλαμψία (βασισόμενη σε μια θετική δοκιμή φόρτισης με μεθειονίνη διενεργηθείσα τουλάχιστον 10 εβδομάδες μετά τον τοκετό), σε σύγκριση με μια συχνότητα (prevalence) 2,5% στον κανονικό ολλανδικό πληθυσμό.

Η (δοκιμή φόρτωσης μεθειονίνης 97.5 centile ορίζεται ως μη κανονική). Αυτό το εύρημα στη συνέχεια επιβεβαιώθηκε από την ίδια ομάδα σε μια ελεγχόμενη μελέτη⁷⁰. Στην follow-up μελέτη, η υπερομοκυστεϊναιμία βρέθηκε σε ποσοστό 19 % των σοβαρά προ-εκλαμπτικών γυναικών που είχαν προωρο τοκετό πριν από 28 εβδομάδες έναντι 4,5% των ασθενών στην ομάδα ελέγχου (P 0.05).

Ο έλεγχος για υπερομοκυστεϊναιμία μακριά από την εγκυμοσύνη, χρησιμοποιώντας τη δοκιμή φόρτισης με μεθειονίνη, είναι πιθανώς η πιο αξιόπιστη μέθοδος για υπερομοκυστεϊναιμία, διότι πολλές, περίπου 50% των περιπτώσεων, δεν θα φανερωθούν εάν χρησιμοποιηθεί μόνο η ομοκυστεϊνή νηστείας⁹³. Η επίδραση της εγκυμοσύνης στα επίπεδα ομοκυστεϊνης νηστείας είναι επίσης άγνωστη, αν και μια μελέτη από τον Sorensen και συνεργάτες⁹⁴ προτείνει ότι τα ανεβασμένα επίπεδα ομοκυστεϊνης στο δεύτερο τρίμηνο μπορούν να προβλέψουν την προ-εκλαμψία. Η ανίχνευση του πολυμορφισμού MTHFR κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης είναι ασφαλής μέθοδος χρησιμοποιώντας την τεχνολογία αλυσίδωτης αντίδρασης πολυμεράσης (PCR). εντούτοις, ο συσχετισμός μεταξύ του γονοτύπου και του φαινοτύπου δεν είναι απαραίτητως σαφής εξ αιτίας των επιδράσεων διατροφικών παραγόντων όπως φυλικό οξύ (folate) και οι βιταμίνες B6 και B12 που λειτουργούν ως συμπαραγοντες (co-factors) στο μηχανισμό επαναμεθυλίωσης⁹³. Τα συμπληρώματα βιταμινών μπορούν να ομαλοποιήσουν τα ελαφρά ανυψωμένα επίπεδα ομοκυστεϊνης⁹³.



Υπάρχει διαμάχη ως προς το εάν οι πολυμορφισμοί του MTHFR είναι οι ίδιοι, παράγοντες κινδύνου για θρομβοεμβολική νόσο ή εάν η σχέση φαίνεται μόνο όταν η υπερομοκυστειναιμία υπερτερεί. Παρόμοια διαμάχη υπάρχει για τη συσχέτιση της πιθανής συμβολής της στις μαιευτικές επιπλοκές. Ο Kurfertmunc και οι συνεργάτες βρήκαν μια τριπλάσια αύξηση στο ποσοστό ομοζυγωτίας για τη μετάλλαξη 677 MTHFR στις γυναίκες με σοβαρή προ-εκλαμψία⁷¹. (OR 3,0, 95% CI 1,3–6,5, P 0.008). Επίσης αυτή η συσχέτιση παρατηρήθηκε από την ίδια ομάδα σε γυναίκες με άλλες μαιευτικές επιπλοκές (αποκόλληση πλακούντα, ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης και ενδομήτριο θάνατο)⁶⁹. Ο συνδυασμός ετεροζυγωτίας για τη μετάλλαξη του MTHFR μαζί με άλλες θρομβοφυλίες φάνηκε επίσης συχνότερα σε γυναίκες με προ-εκλαμψία και άλλες μαιευτικές επιπλοκές από,τι στις ομάδες ελέγχου⁶⁹. Διάφορες άλλες ομάδες δεν μπόρεσαν να επιβεβαιώσουν αυτήν την σχέση μεταξύ του πολυμορφισμού MTHFR και προ-εκλαμψίας^{74,75,95,96}. Η εξήγηση για αυτό μπορεί να βρεθεί στην κατάσταση θρέψης των γυναικών. Στις γεωγραφικές περιοχές όπου τα συμπληρώματα φυλικού οξέος (folate) ενθαρρύνονται κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης, η φαινοτυπική έκφραση της υπερομοκυστειναιμίας μπορεί να είναι λιγότερο προφανής από,τι στις περιοχές όπου δεν υιοθετείται αυτή η πρακτική.

Μια εναλλακτική υπόθεση είναι ότι ο εμβρυϊκός γονότυπος διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο και ότι οι γυναίκες με βιοχημική υπερομοκυστειναιμία δεν αναπτύσσουν προ-εκλαμψία όταν το έμβρυο έχει ένα λειτουργικό σύστημα MTHFR. Οι Gebhardt και συνεργάτες⁹⁷ διαπίστωσαν ότι, στις γυναίκες με υπερομοκυστειναιμία, η εμβρυϊκή έκφραση του αλληλόμορφου γονιδίου T (μετάλλαξη) ήταν πιο κοινή σε εκείνες που ανέπτυξαν την πρόωρη έναρξη προ-εκλαμψία. Αυτό το εύρημα παραμένει ακόμη και σε προ-εκλαμπτικούς ασθενείς με χαμηλότερα επίπεδα Ομοκυστεΐνης.

Παρά αυτήν την αβεβαιότητα, οι πολυμορφισμοί του MTHFR είναι κοινοί, με την ομοζυγωτία να εμφανίζεται μέχρι και σε ποσοστό 7% σε μερικούς πληθυσμούς. Ακόμη και μια ασθενής συσχέτιση με προ-εκλαμψία έχει τη δυνατότητα να είναι σημαντική λαμβάνοντας υπόψη τους αριθμούς των ασθενών που συμπεριλήφθησαν στις μελέτες. Επιπλέον, εάν αυτή η συσχέτιση είναι πράγματι με την υπερομοκυστειναιμία και όχι μόνο με το γονότυπο του MTHFR, υπάρχει η δυνατότητα για πρόληψη με τα συμπληρώματα φυλικού οξέος (folate). Ενώ τα συμπληρώματα φυλικού οξέος (folate) σε αυτούς τους ασθενείς μπορεί να μην εξαφανίσουν συνολικά την πιθανότητα για προ-εκλαμψία, μπορεί να υπάρχει η δυνατότητα να τροποποιηθεί η δριμύτητα ή να καθυστερήσει η έναρξη της νόσου. Αυτή η δυνατότητα πρέπει, εντούτοις, να εξεταστεί σε μεγάλες τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές.



Μετα-ανάλυση

Η γρήγορη εξέλιξη της ιατρικής επιστήμης οδηγεί στη συνεχή συσσώρευση δεδομένων. Στο πλαίσιο της ιατρικής βασισμένης σε τεκμήρια (evidence based medicine) όλα τα δεδομένα πρέπει να ληφθούν υπόψη τόσο από τους κλινικούς όσο και από τους ερευνητές για τη λήψη αποφάσεων. Η μεγάλη και πολύπλευρη συλλογή πληροφοριών καθιστά δύσκολη την κριτική αξιολόγηση και σύνθεση της τρέχουσας γνώσης καθώς επίσης και την παρακολούθησή της.

Η μετα-ανάλυση αποτελεί μία σημαντική προσέγγιση στη διαχείριση και αξιολόγηση των επιστημονικών δεδομένων. Συγκεκριμένα, η μετα-ανάλυση συνθέτει τα δεδομένα διαφορετικών μελετών με αναγνωρισμένες μεθόδους, όπου αυτό είναι δυνατό, δίνοντας μία συνολική εκτίμηση του αποτελέσματος. Με τη χρήση αναλύσεων ορισμένων υποομάδων μπορεί να δώσει απαντήσεις σε συγκεκριμένα ερευνητικά ερωτήματα-πραγματοποίηση νέων μελετών.

Όλα τα παραπάνω σε συνδυασμό με τη διαπίστωση ότι οι απλές ανασκοπήσεις στη βιβλιογραφία είναι συνήθως αρκετά χαμηλής ποιότητας^{98,99}, οδήγησαν σε μία ραγδαία αύξηση των μετα-αναλύσεων στον ιατρικό τομέα τα τελευταία 20 χρόνια.

Τα βασικά βήματα στη διεξαγωγή μιας μετα-ανάλυσης είναι τα ακόλουθα:

- Ο σχηματισμός του ερευνητικού ερωτήματος, που συμπεριλαμβάνει τον ορισμό του πληθυσμού, της παρέμβασης, της σύγκρισης και των αποτελεσμάτων.
- Η αναζήτηση της βιβλιογραφίας, η οποία αφορά τις ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων, περιοδικά, τη βιβλιογραφία προηγούμενων ανασκοπήσεων καθώς και προσωπική επικοινωνία με ερευνητές ενός συγκεκριμένου πεδίου, προκειμένου να συγκεντρωθούν όλα τα δεδομένα.
- Η αξιολόγηση της ποιότητας των συμπεριλαμβανόμενων μελετών με τη χρήση διαφόρων κριτηρίων, που αφορούν συγκεκριμένες κατηγορίες μελετών, όπως οι τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές και οι μελέτες διαγνωστικών δοκιμασιών^{100,101}.
- Η εξαγωγή των στοιχείων σε ηλεκτρονικές ή μη ηλεκτρονικές φόρμες δεδομένων.
- Η ανάλυση και η παρουσίαση των αποτελεσμάτων, η οποία μπορεί να συμπεριλαμβάνει εκτός από την κύρια ανάλυση και αναλύσεις υποομάδων, αναλύσεις ευαισθησίας καθώς και μοντέλα ανάλυσης παλινδρόμησης για τον έλεγχο των πηγών ετερογένειας.
- Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων, η οποία θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη της πιθανούς περιορισμούς και σφάλματα, συμπεριλαμβανομένου του σφάλματος δημοσίευσης.

Οι τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές αποτελούν την κύρια μέθοδο για το σχεδιασμό μελετών στις ιατρικές παρεμβάσεις. Η διερεύνηση αιτιολογικών υποθέσεων, πάντως, δεν μπορεί να μελετηθεί εν γένει με τυχαιοποιημένα πειράματα. Πιθανές αιτιολογικές συσχετίσεις, όπως αυτές των γονιδιακών πολυμορφισμών με συγκεκριμένα νοσήματα μπορούν να μελετηθούν με μελέτες παρατήρησης (μελέτες δείκτη - ελέγχου, μελέτες κοορτής, κλπ). Οι μετα-αναλύσεις που χρησιμοποιούν μελέτες παρατήρησης διαφέρουν από τις μετα-αναλύσεις των τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών. Αυτό συμβαίνει επειδή πιο συχνά στις μετα-αναλύσεις με μελέτες παρατήρησης οι συνολικοί εκτιμητές μπορεί να παρεκκλίνουν από την πραγματική συσχέτιση για λόγους που δεν οφείλονται αποκλειστικά στην τύχη. Αυτό οφείλεται κυρίως στις επιδράσεις συγχυτικών παραγόντων ή σφαλμάτων. Έτσι, οι συμμετέχοντες στη μελέτη που εκτείνονται στον υπό διε-



ρέυνηση παράγοντα μπορεί να διαφέρουν σε ένα αριθμό από άλλους παράγοντες, οι οποίοι σχετίζονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης του εν λόγω νοσήματος.

Άλλη μία διαφορά από τις μετα-αναλύσεις των τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών είναι ότι στις μετα-αναλύσεις με μελέτες παρατήρησης η στατιστική ισχύς μιας μελέτης δεν αποτελεί τον καλύτερο δείκτη με βάση τον οποίο μία μελέτη μπορεί να έχει τα λιγότερο εσφαλμένα αποτελέσματα. Στην πραγματικότητα, μπορεί να συμβαίνει το αντίθετο. Μικρού μεγέθους μελέτες παρατήρησης συνήθως συγκεντρώνουν πιο λεπτομερείς πληροφορίες για τους παράγοντες που μπορεί να οδηγήσουν σε σφάλματα, οδηγώντας σε πιο αληθή αποτελέσματα από μια μελέτη που μαζεύει αδρά στοιχεία από ένα μεγαλύτερο δείγμα¹⁰². Σφάλματα και συγχυτικοί παράγοντες είναι πιο πιθανό να εμφανιστούν σε παρεμβάσεις πρόληψης, οι οποίες συνήθως επιλέγονται και ακολουθούνται από ανθρώπους με πιο υγιή τρόπο ζωής και σε θεραπείες τις οποίες οι γιατροί προσκομίζουν επιλεκτικά σε ορισμένες ομάδες ασθενών¹⁰³, π.χ τους πολύ σοβαρά άρρωστους ή τους σχετικά υγιείς. Στις περιπτώσεις αυτές η κατεύθυνση και ο βαθμός σφάλματος είναι δύσκολο να προβλεφθούν σε κάθε περίπτωση¹⁰⁴. Αυτό σημαίνει ότι στις μετα-αναλύσεις με μελέτες παρατήρησης, ο αναλυτής μπορεί συχνά χωρίς να το γνωρίζει να υπολογίζει μικρά διαστήματα εμπιστοσύνης γύρω από εσφαλμένα αποτελέσματα.

Ιδιαίτερα σε τομείς αυξημένου ενδιαφέροντος, όπως η γενετική, η μετα-ανάλυση μπορεί να παίξει σημαντικό ρόλο όχι μόνο στη σύνθεση των αποτελεσμάτων των επιμέρους μελετών αλλά κυρίως στη διερεύνηση της ετερογένειας τους^{161?}. Έχει δειχθεί πως στατιστικώς σημαντική ετερογενεια μεταξύ των μελετών παρατήρησης που αφορούν γενετικούς πολυμορφισμούς είναι ιδιαίτερα συχνή και τα αποτελέσματα της πρώτης δημοσιευμένης μελέτης συσχετίζονται μετρίως με τα αποτελέσματα των επακόλουθων μελετών^{161?}. Τόσο τα πληθυσμιακά χαρακτηριστικά όσο και η παρουσία σφαλμάτων – κυρίως σφάλματος δημοσίευσης – μπορεί να εξηγήσουν γιατί οι πρώτες μελέτες συσχέτισης ενός πολυμορφισμού με ένα νόσημα τείνουν να υπερεκτιμήσουν την προστασία ή επικινδυνότητα που μπορεί να υποκρύπτεται σε μία μετάλλαξη¹⁰⁵. Αν και έχει προταθεί ότι η μετα-ανάλυση μελετών παρατήρησης θα πρέπει να εγκαταλειφθεί¹⁰⁶, η λεπτομερής μελέτη των πηγών ετερογένειας μεταξύ των αποτελεσμάτων στις μελέτες παρατήρησης μπορεί να οδηγήσει σε καλύτερη κατανόηση των πιθανών συσχετίσεων, κάτι που ίσως να μην είναι εφικτό κατά το μηχανιστικό υπολογισμό του συνολικού μεγέθους του αποτελέσματος, το οποίο μπορεί να είναι εσφαλμένο.

Μοριακή Επιδημιολογία

Η ανάλυση της αιτιολογίας πολύπλοκων ασθενειών χρειάζεται έναν συγκερασμό της μακροσκοπικής επιδημιολογίας (με τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου) και της μοριακής επιδημιολογίας (με τους μοριακούς παράγοντες κινδύνου). Παρόλα τα ζητήματα που έχουν ανακύψει σχετικά με την ποιότητα των επιδημιολογικών ερευνών και της κλινικής έρευνας, συμπεριλαμβανομένων των κλινικών δοκιμών που πολύ συχνά διαψεύδονται, η μοριακή επιδημιολογία εμφανίζει μια εκθετική αύξηση του αριθμού των μετρήσιμων παραγόντων κινδύνου. Και ενώ υπάρχουν άξονες αξιολόγησης των κλινικών μελετών, τέτοιοι θα πρέπει να κατοχυρωθούν και για την μοριακή επιδημιολογία. Μια τέτοια κατάταξη μπορεί να γίνει σε πέντε άξονες: το μέγεθος του αποτελέσματος, την αναπαραγωγή των αποδεικτικών στοιχείων, την προστασία από το σφάλμα, την βιολογική αξιοπιστία, και το συσχετισμό με τις κλινικές εφαρμογές.



Ένα πολύ μικρό μέγεθος αποτελέσματος (σχετικός κίνδυνος < 1.2), ακόμη και αν θεωρηθεί ως στατιστικά σημαντικός, είναι απίθανο να ισχύει και σε μια αρκετά μεγάλη μελέτη, όπου χιλιάδες και εκατομμύρια τέτοιες διαπιστώσεις είναι πιθανό να προέρθουν από την τύχη. Ακόμη και αν αυτά τα συμπεράσματα επικυρωθούν από άλλες μελέτες, τα συμπεράσματα που παράγονται από μεμονωμένες ομάδες θα πρέπει να εξετασθούν και να επικυρωθούν ή να διαψευσθούν από ένα άλλο δίκτυο ερευνητών που εργάζονται στο ίδιο θέμα.

Ως προς την προστασία από σφάλμα, προκύπτει πως στην παρουσία σφάλματος (πχ σφάλματος χρονικής καθυστέρησης ή δημοσίευσης), ακόμη και ισχυρές συσχετίσεις που έχουν παρατηρηθεί σε αρκετές μελέτες μπορεί να χρειαστεί να εγκαταλειφθούν.

Η βιολογική αξιοπιστία είναι επίσης σημαντικό να μελετηθεί, αλλά χρειάζονται περισσότερα δεδομένα σχετικά με τον τρόπο πού θα μεταφερθούν στην πράξη. Ο τελευταίος άξονας που πρέπει να εξετασθεί είναι η σημασία που έχει η μοριακή επιδημιολογία και οι παράγοντες της, στην κλινική εφαρμογή. Ακόμη και αν ένας μοριακός παράγοντας συμβάλλει στο 5% του κινδύνου για μια νόσο, δεν θα πρέπει άμεσα να μπει στην κλινική πράξη. Μόλις τα κυριαρχα γενετικά αποτελέσματα τεκμηριωθούν, το επόμενο βήμα είναι το πώς θα προχωρήσουμε με τη διερεύνηση των γονιδίων και γονιδιακών αλληλεπιδράσεων των γονιδίων και του περιβάλλοντος. Είναι δυνατόν αυτό που πραγματικά είναι σημαντικό δεν είναι το κύριο αποτέλεσμα των γονιδίων αλλά οι πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις. Η διαπίστωση και η ερμηνεία αυτών των αλληλεπιδράσεων δεν είναι απλή.

Τέλος, η συνεχής ενημέρωση με όλα τα στοιχεία, και από τις παλιές μελέτες, τις τρέχουσες μελέτες και τις μελλοντικές έρευνες που αναπαραγάγουν τα στοιχεία αυτά, καθώς και η προσεκτική ερμηνεία της ισχύος των αποδεικτικών στοιχείων, είναι ζωτικής σημασίας για την μεγιστοποίηση της διαφάνειας και μπορεί να οδηγήσει σε ορθή επιλογή των επόμενων βημάτων της έρευνας στον τομέα αυτό.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 :ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Μέθοδοι

Επιλογή των κατάλληλων μελετών

Έγινε αναζήτηση στις βάσεις δεδομένων MEDLINE και EMBASE (τελευταία αναζήτηση Δεκέμβριος 2003) και χρησιμοποιήθηκε ο παρακάτω αλγόριθμος: [pre-eclampsia or eclampsia or HELLP syndrome or pregnancy induced hypertension or gestational hypertension] and [V Leiden or MTHFR or methylenetetrahydrofolate reductase]. Η αναζήτηση συμπληρώθηκε με τη μελέτη της βιβλιογραφίας των ανακτημένων εργασιών και των συστηματικών ανασκοπήσεων.

Όλες οι μελέτες για τους πολυμορφισμούς V Leiden ή/και C677T MTHFR ήταν κατάλληλες για την συμμετοχή στη μετανάλυση υπό τον όρο ότι είχαν εκτελεστεί με αναγνωρισμένες μοριακές μεθόδους, και όλες οι γυναίκες, με ή χωρίς υπερτασική νόσο της εγκυμοσύνης είχαν καθορισμένο γονότυπο. Σε όποια μελέτη, οι απαιτούμενες σχετικές πληροφορίες για την ποσοτική σύνθεση των στοιχείων δεν ήταν διαθέσιμες, επικοινωνήσαμε με τους ερευνητές της μελέτης προκειμένου να ληφθούν πρόσθετες διευκρινίσεις και πληροφορίες. Όταν οι πληθυσμοί μελέτης αλληλεπικαλύπτονταν, για να αποφύγουμε την διπλή εισαγωγή στοιχείων κρατήσαμε γενικά για τη μετα-ανάλυση, μόνο τη μελέτη με τα περισσότερα διαθέσιμα στοιχεία. Όλες οι μελέτες ήταν κατάλληλες ανεξάρτητα από τον σχεδιασμό τους, υπό τον όρο ότι η επιλογή των ασθενών δεν έγινε βασιζόμενη στο γονότυπό τους. Δεν θέσαμε κανέναν γλωσσικό περιορισμό.

Καταγραφή δεδομένων

Για κάθε μελέτη, καταγράψαμε πληροφορίες για τους συγγραφείς, το έτος δημοσίευσης, τα έτη εγγραφής των ασθενών στη μελέτη, τη χώρα διεξαγωγής της μελέτης, το σχεδιασμό της μελέτης και τα κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού των ασθενών, την ηλικία των ασθενών (μέση ή διάμεσος τιμή) καθώς και πληροφορίες σχετικές με την κύηση. Συγκεντρώσαμε επίσης πληροφορίες για τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για τον καθορισμό του γονοτύπου, για τον αριθμό των ατόμων που στρατολογήθηκαν και τη συχνότητα των γονοτύπων σε κάθε ομάδα μελέτης. Επίσης αξιολογήσαμε εάν οι κατανομές γονοτύπου ικανοποιούσαν την ισορροπία Hardy –Weinberg και εάν η ανίχνευση του γονοτύπου έγινε με τυφλή μέθοδο ως προς την κλινική κατάσταση του ασθενούς.

Ανάλυση για τον πολυμορφισμό V Leiden

Στην κύρια ανάλυση υπολογίσαμε το λόγο αναλογιών για την υπερτασική νόσο της κύησης μεταξύ των διαφόρων γονοτύπων. Στην κύρια ανάλυση συγκρίναμε το γονότυπο που φέρει τη μετάλλαξη V Leiden (Vv και vv) έναντι στον άγριο-τύπο VV γονότυπο. Αξιολογήθηκαν επίσης οι ακόλουθες συγκρίσεις: Vv έναντι VV, vv έναντι VV και vv έναντι Vv. Εξετάσαμε επίσης τη σύγκριση μεταξύ των αλληλόμορφων γονιδίων (V σε σύγκριση με το v). Για κάθε επιλεγμένη γονοτυπική ομάδα, υπολογίσαμε το λόγο αναλογιών και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης (ΔΕ) για την προ-εκλαμψία μεταξύ των συγκρινόμενων γονοτύπων. Η ετερογενεια των λόγων αναλογιών μεταξύ των μελετών αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό Q^{107,108}. Συνθέσαμε έπειτα τα στοιχεία στις μελέτες χρησιμοποιώντας τα μοντέλα σταθερών αποτελεσμάτων (μέθοδος



Mantel-Haenszel) και τα μοντέλα τυχαίων αποτελεσμάτων (μέθοδος DerSimonian και Laird)¹⁰⁸. Τα μοντέλα σταθερών αποτελεσμάτων προϋποθέτουν ότι ο λόγος αναλογιών μεταξύ των γονοτύπων είναι ο ίδιος στις εξεταζόμενες μελέτες και η διακύμανση που παρατηρείται οφείλεται στην τύχη μόνο. Ο λόγος αναλογιών κάθε μελέτης σταθμίζεται με το αντίστροφο της διακύμανσης. Τα μοντέλα τυχαίων αποτελεσμάτων προϋποθέτουν ότι μπορεί να υπάρξει γνήσια ποικιλομορφία στα αποτελέσματα των διάφορων μελετών και ενσωματώνουν στους υπολογισμούς και μια διακύμανση που οφείλεται στην ίδια τη μελέτη. Όταν δεν υπάρχει καμία παρατηρηθείσα ετερογένεια μεταξύ των μελετών, τα αποτελέσματα από τα μοντέλα τυχαίων και σταθερών αποτελεσμάτων συμπίπτουν. Σε παρουσία ετερογένειας μεταξύ των μελετών, το μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων παρέχει ευρύτερα διαστήματα εμπιστοσύνης¹⁰⁷.

Οι κύριες αναλύσεις περιέλαβαν όλα τα διαθέσιμα στοιχεία. Εκτελέσαμε επίσης ξεχωριστές αναλύσεις που περιορίστηκαν στις μελέτες με πληθυσμούς της λευκής φυλής, μελέτες ή υποομάδες όπου όλοι οι ασθενείς είχαν πρωτεϊνουρία, μελέτες στις οποίες η υπέρταση είχε ως κατώφλι διάγνωσης την τιμή της διαστολικής αρτηριακής πίεσης 110 mmHg, μελέτες με λεπτομερή καθορισμό της μεθόδου εγγραφής (διαδοχικής ή άλλης) των περιπτώσεων, μελέτες με ταίριασμα των περιπτώσεων και των ελέγχων σε τουλάχιστον μια παράμετρο ή μελέτες όπου σαφώς ήταν δηλωμένο ότι η εύρεση του γονοτύπου έγινε τυφλά ως προς την κλινική κατάσταση του ασθενούς. Επίσης αξιολογήσαμε εάν υπήρξε σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών σε κάθε ανάλυση ευαισθησίας.

Τέλος, διερευνήσαμε την πιθανότητα υπαρξης σφαλμάτων. Κατ' αρχάς, καθορίσαμε με *αθροιστική μετανάλυση* εάν το μέγεθος του συνολικού λόγου αναλογιών άλλαξε ουσιαστικά και στην ίδια κατεύθυνση κατά τη διάρκεια του χρόνου καθώς περισσότερα στοιχεία συσσωρευονταν^{109,110}. Επίσης καθορίσαμε εάν το μέγεθος της παρατηρηθείσας συσχέτισης όπως εκφράζεται από το φυσικό λογάριθμο του λόγου αναλογιών συσχετίζεται με το *τυπικό σφάλμα* κάθε μελέτης. Αυτή η ανάλυση παλλινδρόμησης^{111,112} σταθμίστηκε από το αντίστροφο της διακύμανσης (το βάρος κάθε μελέτης) και δείχνει εάν οι μικρές μελέτες υπερεκτιμούν το αποτέλεσμα έναντι των μεγαλύτερων μελετών. Οι αναλύσεις εκτελέστηκαν στα προγράμματα υπολογιστών Meta-Analyst (Joseph Lau, Βοστώνη, 1998) και στο SPSS 10,0 (SPSS, A.E., Σικάγο, Ιλλινόις). Όλες οι τιμές p θεωρήθηκαν αμφίπλευρες.

Ανάλυση για τον πολυμορφισμό MTHFR

Υπολογίσαμε το λόγο αναλογιών για να συγκρίνουμε διαφορετικούς γονότυπους για την υπερτασική νόσο της εγκυμοσύνης. Η κύρια ανάλυση σύγκρινε ασθενείς με ένα ή δύο αλληλόμορφα γονίδια T (γονότυποι CT και TT) έναντι του γονότυπου CC άγριου-τύπου. Συγκρίναμε επίσης τις TT ομόζυγες ασθενείς με τις ετεροζυγώτες CT και τις CC ομόζυγες ξεχωριστά, για να διακρίνουμε μια πιθανή σχέση με κυρίαρχο ή υπολειπόμενο χαρακτήρα για τον πολυμορφισμό. Τέλος, συγκρίναμε τα αλληλόμορφα γονίδια (T έναντι C). Για κάθε επιλεγμένη ομάδα μελέτης, υπολογίσαμε το λόγο αναλογιών και το 95% ΔΕ για την υπερτασική νόσο της εγκυμοσύνης μεταξύ των συγκρινόμενων γονοτύπων. Η ετερογένεια των λόγων αναλογιών μεταξύ των μελετών αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας το *στατιστικό Q*^{107,108}. Συνθέσαμε έπειτα τα στοιχεία στις μελέτες χρησιμοποιώντας τα μοντέλα σταθερών αποτελεσμάτων (μέθοδος Mantel-Haenszel) και τα μοντέλα τυχαίων αποτελεσμάτων (μέθοδος DerSimonian και Laird)¹⁰⁸.



Οι κύριες αναλύσεις περιέλαβαν όλα τα διαθέσιμα στοιχεία. Εκτελέσαμε επίσης ξεχωριστές αναλύσεις που περιορίστηκαν στις μελέτες με πληθυσμούς της λευκής φυλής, μελέτες ή υποομάδες όπου όλοι οι ασθενείς είχαν πρωτεϊνουρία, μελέτες με λεπτομερή καθορισμό της μεθόδου εγγραφής (διαδοχικής ή άλλη) των περιπτώσεων, μελέτες με ταίριασμα των περιπτώσεων και των ελέγχων σε τουλάχιστον μια παράμετρο ή μελέτες όπου σαφώς ήταν δηλωμένο ότι η εύρεση του γονοτύπου έγινε τυφλά ως προς την κλινική κατάσταση του ασθενούς. Επιπλέον, εκτελέσαμε ξεχωριστά τις αναλύσεις για τις μελέτες που συμπεριέλαβαν γυναίκες με και χωρίς βαριά διαστολική υπέρταση (κατώφλι αρτηριακής πίεσης 110 mmHg). Για τις μελέτες που περιλάμβαναν και τους δύο τύπους των ασθενών, οι περιπτώσεις χωρίστηκαν σε δύο υποομάδες και κάθε υποομάδα συγκρινόταν με ολόκληρη την ομάδα ελέγχου της μελέτης. Όταν τα στοιχεία υποομάδας ήταν μη διαθέσιμα, τα αναζητήσαμε άμεσα από τους συγγραφείς κάθε μελέτης. Επίσης αξιολογήσαμε εάν υπήρχε σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών σε κάθε ανάλυση ευαισθησίας.

Τέλος, διερευνήσαμε την πιθανότητα ύπαρξης σφαλμάτων. Κατ' αρχάς, καθορίσαμε με *αθροιστική μετα-ανάλυση* εάν το μέγεθος του συνολικού λόγου αναλογιών άλλαξε ουσιαστικά και στην ίδια κατεύθυνση κατά τη διάρκεια του χρόνου καθώς περισσότερα στοιχεία συσσωρευονταν^{109,110}. Οι μελέτες που δημοσιεύθηκαν έως το 2000 συγκρίθηκαν με τις μελέτες που δημοσιεύθηκαν στη συνέχεια. Επίσης καθορίσαμε εάν το μέγεθος της παρατηρηθείσας συσχέτισης (ο φυσικός λογάριθμος του λόγου αναλογιών) συσχετίζεται με το τυπικό σφάλμα κάθε μελέτης. Αυτή η ανάλυση παλινδρόμησης^{111,112} δείχνει εάν οι μικρές μελέτες υπερεκτιμούν το αποτέλεσμα σε σύγκριση με τις μεγαλύτερες μελέτες. Χρησιμοποιήσαμε επίσης τη δοκιμή *Begg Mazumdar*¹¹³ για να ερευνήσουμε οποιοδήποτε πιθανή συσχέτιση μεταξύ του φυσικού λογαρίθμου του λόγου αναλογιών και του βάρους της μελέτης.

Οι αναλύσεις εκτελέστηκαν στο *Meta-Analyst* (1998 Joseph Lau, Βοστώνη, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ) και σε *SPSS 11,0* (*SPAS, A.E.*, Σικάγο, Ιλλινόις, ΗΠΑ). Όλες οι τιμές *p* θεωρήθηκαν αμφίπλευρες.

Αποτελέσματα για τον πολυμορφισμό V Leiden

Αναγνωρίσαμε 23 ενδεχομένως επιλέξιμες μελέτες^{114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136}. Από εκείνες, αποκλείσαμε 3 μελέτες^{116, 120, 131} επειδή ο πληθυσμός της μελέτης συμπεριλήφθηκε επίσης στις επόμενες μελέτες^{122, 128, 129}. Κατά συνέπεια, 20 μελέτες ήταν επιλέξιμες για τη μετα-ανάλυση (πίνακας 1). Όλες οι μελέτες δημοσιεύθηκαν μεταξύ 1996 και 2002. Οι γυναίκες που συμμετείχαν στις μελέτες εγγράφηκαν κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας εκτός από τις γυναίκες της πιο πρόσφατης μελέτης¹¹⁴. Αυτή η μελέτη χρησιμοποίησε τα αναδρομικά στοιχεία που συλλέχθηκαν από μια μεγάλη τράπεζα δεδομένων από το 1950. Από τις 20 μελέτες, 3 στρατολόγησαν τις γυναίκες στις ΗΠΑ, 12 στην Ευρώπη, 3 στην Ασία και 2 στην Αυστραλία. Οι περισσότερες μελέτες περιέλαβαν εξ ολοκλήρου ή κατά πλειοψηφία καυκάσιες γυναίκες^{115,118-119,121-123,125-127,129-130,132-133,135-136,137}. Υπήρχαν 2 μελέτες^{124,128} που περιορίζονταν σε πληθυσμούς Εβραίων γυναικών, 1 μόνο μελέτη¹¹⁷ με ασιατικές γυναίκες, και 1 μελέτη στην οποία η πλειοψηφία των ασθενών (57% των περιπτώσεων και 63% των ελέγχων) ήταν αφρικανικής καταγωγής¹³⁴. Υπάρχουν 11 μελέτες^{114,118,121,124,126-129,132-134} στις οποίες η επιλογή των ασθενών αναφέρθηκε σαφώς και βασίστηκε σε διαδοχικές διαγνώσεις και, σε 9 μελέτες^{114,121,124-126,128-129,132,135} οι ομάδες ελέγχου συνταιριάχθηκαν με τις περιπτώσεις ειδικά για τουλάχιστον μια παράμετρο.



Ο πίνακας 2 παρουσιάζει τα χαρακτηριστικά των γυναικών με υπέρταση για κάθε μελέτη. Τα μοντέλα για τη στρατολόγηση και τα κριτήρια επιλεξιμότητας διέφεραν από μελέτη σε μελέτη. Γενικά, γυναίκες με υπέρταση μετά από τη 20η εβδομάδα της κύησης με ή χωρίς πρωτεинуρία ήταν επιλέξιμες. Η υπέρταση πριν από τη 20η εβδομάδα της κύησης ή πριν από την εγκυμοσύνη αναφέρθηκε σαφώς ως κριτήριο αποκλεισμού για τη συμμετοχή στην μελέτη σε 12 μελέτες^{115,117,121-123,125-127,129,131-134,136}. Επτά μελέτες^{114,118-119,124,128,132,135} δεν διευκρίνισαν εάν η υπέρταση πριν από 20η εβδομάδα της κύησης ή η υπέρταση πριν από την εγκυμοσύνη θεωρήθηκε ως κριτήριο αποκλεισμού, ενώ μια μελέτη¹³⁰ περιέλαβε 10 γυναίκες με χρόνια υπέρταση μεταξύ των περιπτώσεων. Το σημείο καθορισμού της υπέρτασης διέφερε μεταξύ των μελετών. Δέκα μελέτες^{117-118,121-122,124-126,133,135-136} χρησιμοποίησαν σαν κατώτατο όριο την αρτηριακή πίεση 140/90 mmHg και 1 μελέτη¹¹⁹ χρησιμοποίησε τα 135/90 mmHg. Άλλη μελέτη¹²⁹ χρησιμοποίησε τα 160/100 mmHg, τέσσερις μελέτες^{115,128,130,134} χρησιμοποίησαν το κατώτατο όριο των 160/110 mmHg και 4 μελέτες στρατολόγησαν γυναίκες με διαστολική πίεση αίματος άνω των 110 mmHg χωρίς να διευκρινίσουν το κατώφλι για τη συστολική αρτηριακή υπέρταση^{114,123,127,132}. Εν γένει, δεκατέσσερις μελέτες^{115,118-119,125-130,132-135} περιέλαβαν μόνο τις υπερτασικές γυναίκες με πρωτεинуρία και έξι μελέτες^{114,117,121-123} περιέλαβαν γυναίκες με και χωρίς πρωτεинуρία. Η μέση (ή η διάμεσος) ηλικία ποικίλλει μεταξύ 24 και 34 ετών. Η πλειοψηφία των γυναικών σε 11 μελέτες^{114,117-118,121-122,126-127,129-130,133,135} ανέπτυξε την υπέρταση στην πρώτη εγκυμοσύνη τους (primigravidae) ή στην πρώτη εγκυμοσύνη τους που οδήγησε σε τοκετό πέρα από τη 28 εβδομάδα της κύησης. Σε 2 μελέτες^{119,123}, μισές από τις γυναίκες ανήκαν επίσης στην ίδια κατηγορία. Δεν υπήρξε καμία αναφορά για τον αριθμό των προηγούμενων κύσεων στις γυναίκες σε 7 μελέτες^{115,124-125,128,132,134,136}.

Οι ομάδες ελέγχου ήταν γυναίκες με αρτηριακή πίεση στα φυσιολογικά επίπεδα. Συνταιριάστηκαν με τις περιπτώσεις τουλάχιστον για μια παράμετρο σε 9 μελέτες^{114,121,124-126,128-129,132,134}. Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν για το ταίριασμα ήταν η ηλικία σε 8 μελέτες^{114,121,124-126,128-129,132}, η προέλευση σε 2 μελέτες^{124,128}, ο αριθμός των προηγούμενων κύσεων σε 3 μελέτες^{125,129,132}, η ηλικία κυήσεως σε 2 μελέτες^{132,134} και ημερομηνία τοκετού σε 2 μελέτες^{114,121}. Σε 2 μελέτες^{119,126} υπήρξε ένα πρόσθετο δείγμα μη εγκυμονούντων ομάδων ελέγχων που λήφθηκε από βάσεις δεδομένων του γενικού πληθυσμού. Η κύρια μετα-ανάλυση δεν έλαβε υπόψη αυτές τις ομάδες ελέγχου, αλλά ο συνυπολογισμός τους έδωσε παρόμοια αποτελέσματα (δεν παρουσιάζονται). Τέλος, σε μια μελέτη οι μόνες διαθέσιμες ομάδες ελέγχου στρατολογήθηκαν με διαφορετικά μηνύματα μεταξύ των μη εγκυμονούντων γυναικών στο γενικό πληθυσμό¹²⁷.

Ο καθορισμός του γονοτύπου στις μελέτες έγινε με την μέθοδο PCR. Τα χαρακτηριστικά ολιγονουκλεοτιδια που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν προς τα εμπρός (5'- CATGAGAGACATCGCCTCTG -3 "και αντίστροφα 5'- GACCTAACATGTTCTAGCCAGAAG -3"). Μόνο μια μελέτη¹²¹ δήλωσε σαφώς ότι η αξιολόγηση του γονοτύπου έγινε τυφλά ως προς την κλινική κατάσταση των ασθενών.



Συχνότητες αλληλόμορφων γονιδίων στους ελέγχους

Η συχνότητα του αλληλόμορφου γονιδίου *v* στους ασθενείς ελέγχου καυκάσιας καταγωγής κυμάνθηκε μεταξύ 0,5% έως 7,4% στις μελέτες. Στη μόνη μελέτη με τις γυναίκες ασιατικής καταγωγής¹¹⁷, σε καμία γυναίκα δεν βρέθηκε το αλληλόμορφο γονίδιο *v* και στην ομάδα ασθενών και στην ομάδα ελέγχου. Μόνο σε μια μελέτη¹³⁴ που υπήρχε μια υπεροχή των ασθενών αφρικανικής καταγωγής η συχνότητα του αλληλόμορφου γονιδίου *v* στην ομάδα ελέγχου ήταν 1,5%. Στις δύο μελέτες^{124,128} με εβραϊκό πληθυσμό, η συχνότητα αλληλόμορφου γονιδίου *v* για την ομάδα ελέγχου ήταν περίπου 3%. Για τον πολυμορφισμό V Leiden, η κατανομή των γονοτύπων ήταν σύμφωνα με την ισορροπία Hardy-Weinberg σε όλους τους πληθυσμούς ελέγχου.

Μετα-ανάλυση: κύρια ανάλυση και αναλύσεις ευαισθησίας

Δεκαεννέα μελέτες ερεύνησαν πληθυσμούς όπου η μετάλλαξη V Leiden βρέθηκε τουλάχιστον σε μια γυναίκα για συνολικά 2742 υπερτασικές περιπτώσεις και 2403 γυναίκες των ομάδων ελέγχου με φυσιολογικές τιμές αρτηριακής πίεσης. Όταν οι 19 μελέτες συνδυάστηκαν, υπήρξε μεγάλη και σημαντική ετερογένεια στο μέγεθος της παρατηρηθείσας συσχέτισης μεταξύ της παρουσίας της μετάλλαξης V Leiden και της υπερτασικής νόσου της εγκυμοσύνης (π.χ., $p=0.002$ για την ετερογένεια στο $Vv+vv$ έναντι VV σύγκρισης), κατά συνέπεια οι εκτιμητές τυχαίων αποτελεσμάτων θα ήταν πιο κατάλληλοι, για τη σύνθεση των στοιχείων (πίνακας 3) και οι εκτιμητές σταθερών αποτελεσμάτων δεν παρουσιάζονται στους πίνακες. Στη συνολική ανάλυση, η μετάλλαξη V Leiden φάνηκε να αυξάνει 2 φορές τον κίνδυνο υπερτασικής νόσου της κύησης, ανεξάρτητα από το η σύγκριση γίνεται μεταξύ των γονοτύπων ή των αλληλόμορφων γονιδίων (πίνακας 3). Εντούτοις οι αναλύσεις που συμπεριλαμβάνουν στη σύγκριση το γονότυπο vv πρέπει να ερμηνευθούν με μεγάλη προσοχή δεδομένου ότι μόνο 8 γυναίκες (7 με υπέρταση και 1 χωρίς) συμπεριλήφθηκαν σε ολόκληρη τη βάση δεδομένων της μετα-ανάλυσης.

Η μεγάλη ετερογένεια ίσως να σημαίνει ότι η παρατηρηθείσα συσχέτιση μπορεί να είναι αληθινή μόνο στις συγκεκριμένες μελέτες και τους συγκεκριμένους πληθυσμούς ή ότι να οφείλεται σε σφάλμα. Εντούτοις, ο συνολικός λόγος αναλογιών δεν άλλαξε πολύ όταν οι αναλύσεις ευαισθησίας περιορίστηκαν στις μελέτες και τους πληθυσμούς που εκπληρώνουν τα ειδικά προκαθορισμένα κριτήρια βασισμένα στη φυλή, την παρουσία πρωτεϊνουρίας, τη βαρύτητα της διαστολικής υπέρτασης, ή του τρόπου επιλογής του δείγματος και του ταιριάσματος (πίνακας 3).

Πιθανά σφάλματα

Υπήρξε μόνο μια μελέτη¹²¹ που δήλωνε συγκεκριμένα ότι η αξιολόγηση του γονοτύπου έγινε τυφλά ως προς την κλινική κατάσταση του ασθενούς και αυτή η μελέτη δεν βρήκε απολύτως καμία συσχέτιση της μετάλλαξης V Leiden με την υπερτασική νόσο της κύησης, αν και τα ΔΕ ήταν ιδιαίτερα μεγάλα (ΛΑ 1,0, 95% ΔΕ, 0.5-3.9).



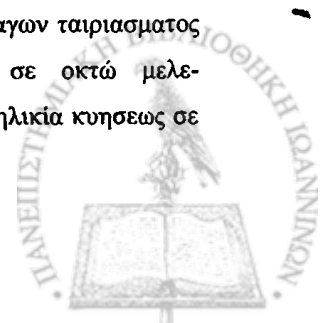
Όταν η αθροιστική μετα-ανάλυση εκτελέστηκε, παρατηρήσαμε ότι ο συνολικός ΛΑ για την κύρια σύγκριση γονοτύπων ($Vn+vn$ σε σύγκριση με το VV) κυμάνθηκε από 2,21 το 1996 (πρώτη μελέτη) σε 3,16 μέχρι το τέλος του 2000 και μειώθηκε έπειτα σε 2,70 μέχρι το τέλος του 2001 και 2,25 μέχρι το 2002 (υπολογισμοί μοντέλων τυχαίων αποτελεσμάτων). Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών εμφανίστηκε αρχικά στο τέλος του 1999 ($p=0.03$) και αυξήθηκε με την εμφάνιση διάφορων μελετών που δεν παρουσιάζουν καμία συσχέτιση το 2001 και το 2002 (τελική ετερογένεια $p=0.002$). Ενώ οι μελέτες που δημοσιεύθηκαν μεταξύ 1996 και 2000 παρουσίασαν ισχυρή συσχέτιση (μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων ΛΑ 3,16, 95% ΔΕ 2.04-4.92), απολύτως καμία συσχέτιση δεν φάνηκε στις μελέτες που δημοσιεύθηκαν το 2001 και το 2002, και το ΔΕ απέκλεισε τη δυνατότητα μιας μεγάλης επίδρασης (ΛΑ 0,97, 95% ΔΕ 0.61-1.54, χωρίς ετερογένεια μεταξύ των μελετών). Τα αποτελέσματα των πρόσφατα δημοσιευμένων μελετών (2001-2002) είναι έτσι συνολικά ασυμβίβαστα με τα αποτελέσματα των πρώτων μελετών και τα 95% ΔΕ δεν αλληλοεπικαλύπτονται (Εικόνα 1).

Υπήρξε επίσης μια πρόταση ότι οι μικρότερες μελέτες με λιγότερο ακριβείς εκτιμήσεις είχαν βρει εντονότερες συσχετίσεις από τις μεγαλύτερες μελέτες με τις ακριβέστερες εκτιμήσεις ($p=0.046$ στη σταθμισμένη ανάλυση παλινδρόμησης με ανάστροφη επιλογή του $\ln[ΛΑ]$ προς το τυπικό σφάλμα). Παραδείγματος χάριν, ο συνολικός ΛΑ για τις 5 μελέτες με το μεγαλύτερο βάρος δεν παρουσίασε καμία συσχέτιση, και τα 95% ΔΕ απέκλεισαν τη δυνατότητα διπλασιασμού του κινδύνου (ΛΑ 1,21, 95% ΔΕ 0.84-1.74, χωρίς ετερογένεια μεταξύ των μελετών), ενώ οι μικρότερες μελέτες έδειξαν μια πολύ ισχυρή συσχέτιση (ΛΑ 3,31, 95% ΔΕ, 2.08-5.27, $p=0.10$ για την ετερογένεια). Τα 95% ΔΕ των δύο υποομάδων δεν αλληλοεπικαλύπτονται καθόλου.

Αποτελέσματα για τον πολυμορφισμό MTHFR

Κατάλληλες μελέτες

Αναγνωρίσαμε 27 εκθέσεις ενδεχομένως προς επιλογή μελετών^{71, 72, 114, 116, 120, 124, 126, 129, 131, 133, 134, 136, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150}. Από αυτές, αποκλείσαμε πέντε μελέτες, όπου πιθανώς ο πληθυσμός της κάθε μελέτης επίσης περιλήφθηκε σε επόμενες μελέτες^{116, 120, 131, 148, 150}. Κατά συνέπεια, επιλέχθηκαν 22 μελέτες. Μια μελέτη συμπεριλάμβανε ξεχωριστά στοιχεία για δύο υπερτασικούς πληθυσμούς¹⁴¹. Συνολικά, 23 συγκρίσεις συμπεριλήφθηκαν στη μετα-ανάλυση (πίνακας 4). Τρεις συγκρίσεις στρατολόγησαν τις γυναίκες στις ΗΠΑ, 12 στην Ευρώπη, πέντε στην Ασία, δύο στην Αφρική και μια στην Αυστραλία. Οι περισσότερες ομάδες μελέτης περιλάμβαναν εξ ολοκλήρου ή κατά πλειοψηφία καυκάσιες γυναίκες, αλλά δύο μελέτες περιορίστηκαν στους πληθυσμούς Εβραίων γυναικών^{71, 124}, τρεις συμπεριλάμβαναν μόνο γυναίκες ασιατικής καταγωγής^{138, 117, 141}, δύο συμπεριέλαβαν γυναίκες Αφρο-Αμερικανικής καταγωγής^{140, 146}, και σε μια οι περισσότεροι ασθενείς, (57% των περιπτώσεων και 63% των ασθενών της ομάδας ελέγχου) ήταν αφρικανικής καταγωγής¹³⁴. Όλες οι μελέτες δημοσιεύθηκαν μεταξύ 1997 και 2003. Οι γυναίκες που συμμετείχαν εγγράφηκαν κατά τη διάρκεια των προηγούμενων δύο δεκαετιών εκτός από μια μελέτη¹¹⁴. Οι ομάδες ελέγχου ήταν γυναίκες με κανονική πίεση. Παράγοντες ταιριάσματος μεταξύ περιπτώσεων και ομάδας ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν σε 14 μελέτες (πίνακας 4). Συγκεκριμένα, η ηλικία σαν παραγων ταιριασματος αναφέρθηκε σε επτά μελέτες^{105, 115, 117, 119, 120, 123, 129} η προέλευση των ασθενών σε οκτώ μελέτες^{71, 72, 124, 129, 141, 145, 146} ο αριθμός των προηγούμενων κυήσεων σε τρεις μελέτες^{72, 129, 139} η ηλικία κυήσεως σε



δύο μελέτες^{72,134} και η ημερομηνία τοκετού σε μια μελέτη¹¹⁴. Σε δύο μελέτες^{126,138} υπήρξε ένα πρόσθετο δείγμα ως ομάδα ελέγχου από μη εγκυμονούσες που ελήφθηκε από βάσεις δεδομένων του γενικού πληθυσμού. Η κύρια μετα-ανάλυση δεν πήρε υπόψη της αυτές τους ομάδες, αλλά ο συνυπολογισμός τους έδωσε παρόμοια αποτελέσματα (δεν παρουσιάζονται). Σε μια μελέτη, η διαθέσιμη ομάδα ελέγχου στρατολογήθηκε από μια τράπεζα αίματος¹⁴⁴. Τέλος, σε μια άλλη μελέτη, μερικές από τις γυναίκες της ομάδας ελέγχου, ο ακριβής αριθμός των οποίων δεν αναφέρεται, στρατολογήθηκαν μετά από διαφήμιση μεταξύ μη εγκυμονουσών γυναικών του γενικού πληθυσμού¹⁴⁷.

Τα κριτήρια στρατολόγησης και τα κριτήρια επιλεξιμότητας για τις περιπτώσεις ήταν μεταβλητά, αλλά γενικά οι γυναίκες με την υπέρταση μετά από τη 20^η εβδομάδα της κύησης με ή χωρίς πρωτεϊνουρία ήταν επιλέξιμες. Η υπέρταση πριν από τη 20^η εβδομάδα της κύησης ή πριν από την εγκυμοσύνη αναφέρθηκε σαφώς ως κριτήριο αποκλεισμού για τη συμμετοχή στην μελέτη σε 12 μελέτες^{114,117,122,129,134,136,139,141,142,146,147}, ενώ 10 μελέτες^{71,72,124,126,138,140,143-145,149}, δεν διευκρίνισαν εάν η υπέρταση πριν από τη 20^η εβδομάδα της κύησης ή η υπέρταση πριν από την εγκυμοσύνη θεωρήθηκαν ως κριτήριο αποκλεισμού. Η τιμή της αρτηριακής πίεσης που χρησιμοποιήθηκε ως κατώφλι για τη διάγνωση της υπέρτασης διέφερε μεταξύ των μελετών (πίνακας 5): 14 μελέτες χρησιμοποίησαν ως κατώτατο όριο τα 90/140 mmHg, τρεις χρησιμοποίησαν τα 90 mmHg χωρίς διευκρίνιση για το όριο της συστολικής αρτηριακής πίεσης, μια μελέτη ανέφερε ως κατώτατο όριο τα 100/160 mmHg, τέσσερις χρησιμοποίησαν τα 110/160 mmHg και μια στρατολόγησε γυναίκες με διαστολική πίεση αίματος άνω των 110 mmHg χωρίς διευκρίνιση της συστολικής πίεσης (πίνακας 5). Έξι μελέτες περιέλαβαν όλες τις γυναίκες με και χωρίς πρωτεϊνουρία (πίνακας 5). Η μέση (ή διάμεσος) ηλικία ποίκιλε από 24 έως 33 ετών. Όλες οι γυναίκες σε τρεις μελέτες^{114,139,145} και οι περισσότερες γυναίκες σε 10 μελέτες^{71,72,124,126,129,131,133,134,140} ανέπτυξαν την υπέρταση στην πρώτη εγκυμοσύνη τους ή στην πρώτη εγκυμοσύνη που οδήγησε σε τοκετό μετά από τη 28^η εβδομάδα της κύησης. Σε δύο μελέτες^{117,142} περίπου οι μισές των γυναικών ήταν επίσης στην ίδια θέση κατά κατηγορία. Δεν υπήρξε καμία αναφορά για τον αριθμό των προηγούμενων κύσεων των γυναικών σε επτά ομάδες^{117,138,143,144,146,147, 149}. Ο καθορισμός του γονοτύπου εκτελέστηκε στις μελέτες με την μέθοδο αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης/περιορισμού χρησιμοποιώντας το ένζυμο HinfI. Τα χαρακτηριστικά ολιγονουκλεοτιδία που χρησιμοποιήθηκαν ήταν προς τα εμπρός 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGA-3 και αντίστροφα 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTGG-3. Καμία από τις μελέτες δεν δήλωσε ότι η αξιολόγηση του γονοτύπου έγινε τυφλά ως προς την κλινική κατάσταση των ασθενών.

Συχνότητα αλληλόμορφων γονιδίων στις ομάδες ελέγχου

Η συχνότητα του αλληλόμορφου γονιδίου T κυμάνθηκε μεταξύ 4,5% έως 37,5% στις ομάδες ελέγχου καυκάσιας καταγωγής και μεταξύ 9,3% και 38,4% στις ομάδες ελέγχου ασιατικής καταγωγής. Στη μελέτη όπου υπήρξε μια υπεροχή ασθενών αφρικανικής καταγωγής η συχνότητα αλληλόμορφων γονιδίων ελέγχου T ήταν 18,9%, ενώ στις δύο μελέτες με μόνο Αφρικανές ασθενείς οι συχνότητες ήταν 5,9% και 8,7%. Στις δύο μελέτες με εβραϊκό πληθυσμό, ο έλεγχος και οι συχνότητες αλληλόμορφων γονιδίων ήταν 8,2% και 9,5%. Η κατανομή των γονοτύπων ήταν σύμφωνη με τη Hardy – Weinberg ισορροπία σε όλους τους πληθυσμούς ελέγχου.



Μετα-ανάλυση: κύρια ανάλυση και αναλύσεις ευαισθησίας

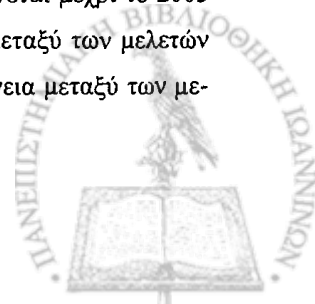
Συνολικά 3169 υπερτασικές ασθενείς και 3044 εγκυμονούσες με φυσιολογική αρτηριακή πίεση αναλύθηκαν. Συνολικά, υπήρξε μεγάλη και σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών στο μέγεθος της παρατηρηθείσας σχέσης μεταξύ της παρουσίας του πολυμορφισμού C677T και της υπερτασικής νόσου της εγκυμοσύνης ($P=0.003$) στο CT+TT έναντι των CC καθώς επίσης και TT έναντι των CC και του T έναντι του C, κατά συνέπεια οι εκτιμητές μοντέλων τυχαίων αποτελεσμάτων θα ήταν πιο κατάλληλοι για τη σύνθεση των δεδομένων (πίνακας 3 και Εικόνα 1) (οι εκτιμητές μοντέλων σταθερών αποτελεσμάτων δεν παρουσιάζονται). Στη γενική ανάλυση, ο πολυμορφισμός C677T φαίνεται να παρέχει μια αύξηση κατά 16–21% στον κίνδυνο υπερτασικής νόσου της εγκυμοσύνης, ανεξάρτητα από το εάν η σύγκριση αφορούσε τους γονότυπους ή τα αλληλόμορφα γονίδια, αλλά η στατιστική σημαντικότητα ήταν οριακή. Επιπλέον, οι TT ομοζυγώτες δεν είχαν καμία σαφή επίδραση στην αύξηση του κινδύνου είτε έναντι των CC, είτε έναντι των CT (πίνακας 6). Για όλες τις συγκρίσεις, οι αναλύσεις ευαισθησίας αφορούσαν τους ασθενείς της καυκάσιας φυλής, τις μελέτες με προ-εκλαμπτικές γυναίκες (πρωτεινουρία), ή τις μελέτες που χρησιμοποίησαν παράγοντες συνταιριάσματος μεταξύ των περιπτώσεων και των ομάδων ελέγχου. Καμία ανάλυση από αυτές δεν άλλαξε σημαντικά τις εκτιμήσεις των γενετικών επιδράσεων και η ετερογένεια μεταξύ των μελετών παρέμεινε ιδιαίτερα σημαντική για την κύρια σύγκριση (CT+TET έναντι του CC) (πίνακας 6).

Αναλύσεις υποομάδας για τη σοβαρότητα της υπέρτασης

Πέντε συγκρίσεις περιλάμβαναν μόνο ασθενείς με σοβαρή διαστολική υπέρταση, μια σύγκριση συμπεριλάμβανε μόνο ασθενείς χωρίς σοβαρή διαστολική υπέρταση, και για τέσσερις από τις υπόλοιπες 17 συγκρίσεις μπορέσαμε να πάρουμε είτε δημοσιευμένα στοιχεία είτε στοιχεία από τους ερευνητές στις υποομάδες με και χωρίς σοβαρή διαστολική υπέρταση. Εν γένει, στοιχεία από γυναίκες με σοβαρή υπέρταση ανακτήθηκαν σε εννέα μελέτες^{71,72,117,124,134,138,139,142,145}, και στοιχεία από γυναίκες χωρίς σοβαρή υπέρταση έγινε δυνατόν να ανακτηθούν σε πέντε μελέτες^{114,117,139,142,145}. Στην κύρια ανάλυση γονοτύπου καθώς επίσης και στην ανάλυση των αλληλόμορφων γονιδίων (πίνακας 7), μια ισχυρότερη επίδραση φάνηκε για τον πολυμορφισμό C677T στις περιπτώσεις με σοβαρή διαστολική υπέρταση (με ΛΑ 1.41) ενώ καμία σημαντική επίδραση δεν φάνηκε για τις περιπτώσεις χωρίς σοβαρή διαστολική υπέρταση. Μια παρόμοια διαφορά φάνηκε στη σύγκριση TT έναντι των CC. Οι TT ομοζυγες δεν διέφεραν σημαντικά από τις ετεροζυγώτες CT σε καθεμία υποομάδα. Οι περισσότερες από τις συγκρίσεις σε κάθε υποομάδα δεν παρουσίασαν καμία σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών (πίνακας 7)

Πιθανά σφάλματα

Ο συνολικός ΛΑ για την κύρια σύγκριση γονοτύπου (CT ή TT έναντι των CC) παρουσίασε μια πτώση από 1,60 κατά το 1997 (πρώτη μελέτη) σε 1,31 στο τέλος του 2000, και συνέχισε να μειώνεται μέχρι το 2003 (1,21 με τους υπολογισμούς των μοντέλων τυχαίων αποτελεσμάτων). Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών εμφανίστηκε αρχικά το 2001 ($P=0.0014$) και παρέμεινε στη συνέχεια (τελική ετερογένεια μεταξύ των με-



λετών $P=0.003$). Ενώ οι μελέτες που δημοσιεύθηκαν μεταξύ 1997 και 2000 παρουσίασαν μια τάση (ΛΑ 1,31 95% ΔΕ 1,08–1,59 και ΛΑ 1,29 95% ΔΕ 1,08–1,54 χωρίς σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών $P=0.30$), καμία σαφής τάση δεν φάνηκε στις μελέτες που δημοσιεύθηκαν μεταξύ 2001 και 2003 (ΛΑ 1,09 95% ΔΕ 0,82–1,46 με σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών $P=0.001$).

Όταν τα δεδομένα που δημοσιεύθηκαν μεταξύ 1997 και 2000 περιορίστηκαν στους ασθενείς με την σοβαρή διαστολική υπέρταση ο ΛΑ με το μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων ήταν 1,47 (95% ΔΕ 0,97– 2,23 χωρίς σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών, $P=0.29$), ενώ καμία σαφής τάση δεν βρέθηκε στην υποομάδα χωρίς σοβαρή διαστολική υπέρταση (ΛΑ 1,14 95% ΔΕ, 0,60–2,18 χωρίς σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών $P=0.65$). Στα στοιχεία που δημοσιεύθηκαν μεταξύ 2001 και 2003, ο ΛΑ ήταν 1,32 (95% ΔΕ 0,78–2,23 χωρίς σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών $P=0.12$) για τους ασθενείς με σοβαρή διαστολική υπέρταση και 1,08 (95% ΔΕ 0,54–2,14 με σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών $P=0.06$) για τους ασθενείς χωρίς σοβαρή διαστολική υπέρταση.

Υπάρχει κάποια ένδειξη ότι οι μικρότερες μελέτες με εκτιμητές που είναι λιγότερο ακριβείς (μεγάλα διαστήματα εμπιστοσύνης) μπορεί να δείχνουν ισχυρότερες γενετικές συσχετίσεις από τις μεγαλύτερες μελέτες που έχουν πιο ακριβείς εκτιμητές (μικρότερα διαστήματα εμπιστοσύνης). Για την ένδειξη αυτή, οι διαγνωστικές δοκιμασίες δεν είναι πλήρως αποδεικτικές ($p=0,06$) στην ανάλυση παλινδρόμησης του φυσικού λογαρίθμου του λόγου αναλογιών ως προς το σταθερό σφάλμα, και $p=0,20$ στη δοκιμασία συσχέτισης).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Πολυμορφισμός V LAIDEN

Η πρώτη μετανάλυση έχει συμπεριλάβει στοιχεία για τον πολυμορφισμό V Leiden σχεδόν από 3.000 γυναίκες που ανέπτυξαν υπέρταση κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μαζί με τις αντίστοιχες μη υπερτασικές γυναίκες των ομάδων ελέγχου. Αν και τα γενικά αποτελέσματα τείνουν σε μια σχέση αυτού του πολυμορφισμού με την υπέρταση στην εγκυμοσύνη και την προ-εκλαμψια, διάφορες μελέτες έχουν αποτύχει να καταδείξουν οποιαδήποτε συσχέτιση και υπάρχει μεγάλη και στατιστικά σημαντική ετερογένεια στα αποτελέσματα των διαφορετικών μελετών. Οι αναλύσεις ευαισθησίας έδειξαν ότι η ετερογένεια δεν θα μπορούσε να εξηγηθεί όταν περιορίστηκε η εξέταση των δεδομένων σύμφωνα με τη φυλή, την παρουσία πρωτεινουρίας, τη σοβαρότητα της διαστολικής υπέρτασης, ή τα χαρακτηριστικά της μελέτης. Αντιθέτως, βρήκαμε ισχυρή ένδειξη ότι οι πρόσφατες μελέτες, που δημοσιεύονται το 2001 και το 2002 δεν παρουσιάζουν απολύτως καμία συσχέτιση, σε ισχυρή αντίθεση με τις πρώτες μελέτες. Επιπλέον, οι 5 μεγαλύτερες μελέτες, δεν παρουσιάζουν επίσης συνολικά καμία σαφή συσχέτιση, ενώ οι μικρότερες μελέτες εμφανίζουν μια μεγάλη επίδραση στην υπερτασική νόσο της εγκυμοσύνης, η παρουσία της μετάλλαξης V Leiden.

Μια πιθανή εξήγηση για αυτές τις παρατηρήσεις είναι ότι αυτός ο πολυμορφισμός δεν έχει κάποια σημαντική επίδραση στην υπερτασική νόσο της εγκυμοσύνης. Η συσχέτιση που παρατηρείται στις πρώτες χρονικά μελέτες και στις μικρές μελέτες μπορεί να είναι χαρακτηριστική σφάλματος, ειδικότερα σφάλματος χρονικών καθυστερήσεων και σφάλματος δημοσίευσης. Το σφάλμα χρονικών καθυστερήσεων¹⁵¹ αναφέρεται στην κατάσταση όπου οι μελέτες με τα "αρνητικά" αποτελέσματα χρειάζονται περισσότερο χρόνο για να συγκεντρωθούν και να δημοσιευθούν, ενώ τα ενθουσιώδη αποτελέσματα δημοσιεύονται γρηγορότερα. Με το σφάλμα δημοσίευσης^{152, 153} μικρές μελέτες με τα "αρνητικά" αποτελέσματα δεν μπορούν ποτέ να

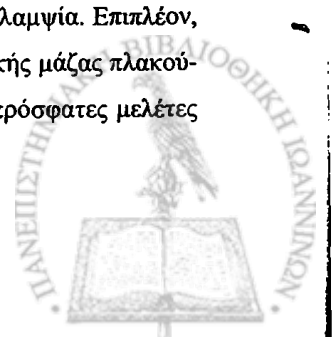


δημοσιευθούν, ενώ οι εξίσου μικρές μελέτες με παρόμοια ποιότητα αλλά "θετικά" αποτελέσματα εμφανίζονται στη βιβλιογραφία.

Η πιθανότητα σφάλματος ενισχύεται περαιτέρω από το γεγονός ότι η μόνη μελέτη¹¹⁶ που σαφώς ανέφερε ότι η αξιολόγηση των γονοτύπων έγινε τυφλά ως προς την κλινική κατάσταση, δεν βρήκε επίσης καμία συσχέτιση. Επειδή επειδή και άλλες μελέτες μπορεί επίσης να είχαν εκτελέσει τυφλές αξιολογήσεις χωρίς να το αναφέρουν, η μετα-ανάλυση προτείνει ότι και ο σχεδιασμός της μελέτης πρέπει να ακολουθεί τα ακριβή πρότυπα που αφορούν τις μελέτες δείκτου - ελέγχου. Άλλες παράμετροι όπως ο αριθμός των προηγούμενων κύσεων¹⁵⁴ και η πατρότητα¹⁵⁵ πρέπει επίσης να οριστούν προσεκτικά επειδή μπορούν να έχουν επιπτώσεις στον κίνδυνο για προ-εκλαμψία και ενδεχομένως επίσης τη σχέση αυτού του συνδρόμου με ειδικούς γενετικούς παράγοντες. Πρέπει να αναγνωρίσουμε ότι η μετα-ανάλυση δεν μπορεί να αποκλείσει την πιθανότητα ότι ο πολυμορφισμός V Leiden μπορεί να συσχετισθεί με μερικές συγκεκριμένες, σοβαρές μορφές υπερτασικής νόσου της εγκυμοσύνης και προ-εκλαμψίας. Οι υπερτασικές περιπτώσεις που περιλαμβάνονται σε αυτές τις μελέτες καλύπτουν αναπόφευκτα ένα ευρύ φάσμα της νόσου, και από την άποψη της σοβαρότητας της υπέρτασης, καθώς επίσης και από την άποψη των συνοδευτικών καταστάσεων¹⁵⁶. Το σύνδρομο της προ-εκλαμψίας πρέπει να καθορίζεται προσεκτικά και με τυποποιημένα κριτήρια στις διάφορες κλινικές πρακτικές¹⁵⁶. Εντούτοις, η ετερογένεια δεν εξηγήθηκε όταν οι αναλύσεις περιορίστηκαν σε εκείνες τις μελέτες με τη σοβαρότερη διαστολική υπέρταση ή εκείνες που συνοδεύονταν από προ-εκλαμψία. Τέσσερις μελέτες^{115,129,133,134} έχουν συμπεριλάβει αποκλειστικά ασθενείς με πρωτεινουρία στο εύρος του σοβαρού νεφρωσικού συνδρόμου (> 5 g/24 ώρες) και δείχνουν όλες τις ισχυρές σχέσεις μεταξύ του πολυμορφισμού V Leiden και αυτού του συνδρόμου. Εντούτοις, όλες αυτές οι μελέτες δημοσιεύθηκαν πριν από το 2001 και είχαν όλες περιορισμένο αριθμό δειγμάτων, συμπεριλαμβανομένων συνολικά 316 ασθενών. Επιπλέον, εάν η μετάλλαξη V Leiden συνδέεται μόνο με τέτοιες βαριές περιπτώσεις προ-εκλαμψίας, κατόπιν η κλινική σημασία της μετάλλαξης αυτής σε έναν πληθυσμό πιθανώς θα ήταν περιορισμένη, δεδομένου ότι τέτοια σύνδρομα είναι σπάνια στο γενικό πληθυσμό των έγκυων γυναικών και έτσι, πολύ λίγες περιπτώσεις βαριάς μορφής προ-εκλαμψίας με νεφρωσικό σύνδρομο "θα αποδιδόταν" στη μετάλλαξη V Leiden.

Ο μικρός αντίκτυπος αυτού του πολυμορφισμού, στο γενικό πληθυσμό είναι πιο σαφής ακόμα, εάν θεωρήσουμε ότι είναι ένας ασυνήθιστος πολυμορφισμός στους περισσότερους εθνικούς πληθυσμούς, όπως μεταξύ των Καυκάσιων και των Εβραίων, εμφανίζεται σε ποσοστό μόνο περίπου 1% των Αφρικανών, και είναι σχεδόν απών μεταξύ των Ασιατών. Κατά συνέπεια, ακόμη και με μια αναλογία πιθανοτήτων 2, το κλάσμα που αποδίδεται στην υπερτασική νόσο της εγκυμοσύνης λόγω αυτού του πολυμορφισμού θα έφθανε μετά βίας σε 3-5% στους περισσότερους καυκάσιους πληθυσμούς και θα ήταν αμελητέο (1-3%) για τους εβραϊκούς και αφρικανικούς πληθυσμούς.

Αν και η εναπόθεση ινικής και η θρόμβωση μέσα στον πλακούντα μπορούν να εμφανιστούν στις προ-εκλαμπτικές γυναίκες, υπάρχουν ισχυρά στοιχεία που δείχνουν ότι η θρόμβωση είναι μια δευτεροβάθμια βλάβη, η οποία βρίσκεται σε περιπτώσεις πλακουντιακής ανεπάρκειας, είτε η προ-εκλαμψία είναι παρούσα είτε όχι¹⁵⁷. Η αποτυχία της κανονικής εισβολής των τροφοβλαστικών κυττάρων, που οδηγεί στο κακή προσαρμοστικότητα των μητρικών σπείροειδων αρτηριολιών¹⁵⁸ έχει περιγραφεί στην προ-εκλαμψία. Επιπλέον, η προ-εκλαμψία συνδέεται επίσης με τις διαταραχές σχετικές με την παρουσία υπερβολικής μάζας πλακούντα όπως ο διαβήτης, η υδατοειδής εκφύλιση, και η πολλαπλή κύηση⁷⁸. Τέλος, οι πιο πρόσφατες μελέτες



υποστηρίζουν ότι οι πλακουντιακοί θρόμβοι στις γυναίκες με προ-εκλαμψία δεν συσχετίζονται με τη θρομβοφιλία^{159,160}. Εντούτοις, δεν μπορούμε να απορρίψουμε την πιθανή συμβολή του παράγοντα V Leiden σε άλλες σοβαρές επιπλοκές της εγκυμοσύνης.

Εκτός από τον παράγοντα V Leiden, άλλοι πολυμορφισμοί που συσχετίζονται με τον κίνδυνο θρόμβωσης έχουν αξιολογηθεί σχετικά με την πιθανή συσχέτιση τους με προ-εκλαμψία και την υπέρταση στην εγκυμοσύνη. Ο κατάλογος των αναγνωρισμένων πολυμορφισμών που χαρακτηρίζουν τη μητρική θρομβοφιλία, όπως MTHFR C677T και προθρομβίνη G20210A, επεκτείνεται συνεχώς⁶². Αυτοί οι πολυμορφισμοί μπορούν να συνδεθούν με την αποκόλληση πλακούντα, τον ανεξήγητο ενδομήτριο θάνατο και την ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης. Τα αποτελέσματα σχετικά με αυτές τις εκβάσεις πρέπει επίσης να διερευνηθούν προσεκτικά. Μερικοί από αυτούς τους πολυμορφισμούς μπορούν να είναι σημαντικοί, αλλά οι λανθασμένες συσχετίσεις λόγω των διάφορων σφαλμάτων μπορούν επίσης να επηρεάζουν αυτούς τους πολυμορφισμούς, και ήδη υπάρχει κάποιος σκεπτικισμός για την κλινική σημασία τους¹¹⁴. Επιπλέον, διάφοροι άλλοι γονιδιακοί πολυμορφισμοί που μπορούν θεωρητικά ή εμπειρικά να αφορούν την ρύθμιση της πίεσης του αίματος, όπως τα γονίδια της ενδοθηλίνης-1 και του μετατρεπτού ενζυμου της αγγειοτενσίνης, έχουν αποτύχει να παρουσιάσουν μια συσχέτιση με την προ-εκλαμψία^{161,162}. Εν γένει, η υπερτασική νόσος της εγκυμοσύνης είναι ένα σημαντικό κλινικό σύνδρομο και οι γενετικοί παράγοντες θα ήταν πολύ χρήσιμοι να διευκρινιστούν. Εντούτοις, η διευκρίνιση αυτών των συσχετίσεων θα απαιτούσε είτε μεγάλες μελέτες με χιλιάδες γυναίκες, είτε τουλάχιστον μεγάλης κλίμακας μετανalύσεις^{163,164}. Η παρούσα μετανάλυση δεν υποστηρίζει μια σταθερή, μεγάλη επίδραση της μετάλλαξης V Leiden στον κίνδυνο υπερτασικής νόσου της εγκυμοσύνης και προτείνει ότι οι έγκυες γυναίκες που αναπτύσσουν υπέρταση στην εγκυμοσύνη ή προ-εκλαμψία δεν πρέπει να διερευνώνται για αυτόν τον πολυμορφισμό.

Πολυμορφισμός MTHFR

Η δεύτερη μετα-ανάλυση έχει συμπεριλάβει τα στοιχεία για τον πολυμορφισμό C677T MTHFR για πάνω από 3000 γυναίκες που αναπτύξαν υπέρταση κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μαζί με έναν παρόμοιο αριθμό μη υπερτασικών ασθενών. Βρήκαμε μια μέτρια σχέση αυτού του πολυμορφισμού με την υπέρταση στην εγκυμοσύνη και την προ-εκλαμψία, αλλά υπήρξε μεγάλη και στατιστικά σημαντική ετερογένεια στα αποτελέσματα των διαφορετικών μελετών. Η μετα-ανάλυση έθεσε μερικές προκλήσεις δεδομένου ότι οι συμπεριλαμβανόμενες μελέτες είχαν μεταβλητά κριτήρια επιλογής ασθενών. Αυτό απαίτησε διάφορες αναλύσεις υποομάδων και διερεύνησης πιθανών σφαλμάτων που έδωσαν ενδιαφέροντα συμπεράσματα. Η ετερογένεια δεν μπορεί να εξηγηθεί από τη φυλή, την παρουσία πρωτεϊνουρίας, ή τα αναφερόμενα χαρακτηριστικά σχεδιασμού της μελέτης. Αντιθέτως, η διαφορετική σοβαρότητα της υπέρτασης στους πληθυσμούς της μελέτης ίσως να κρύβεται πίσω από αυτήν τη μεταβλητότητα. Ο πολυμορφισμός C677T φάνηκε να παρέχει μια αύξηση 40–50% στις πιθανότητες της σοβαρής διαστολικής υπέρτασης, αλλά δεν είχε καμία σημαντική επίδραση στον κίνδυνο για την ηπιότερη υπέρταση κησεως.

Τα σφάλματα χρονικής καθυστέρησης και δημοσίευσης μπορεί να έχουν επιπτώσεις σε αυτά τα αποτελέσματα. Στο σφάλμα χρονικής καθυστέρησης¹⁵¹, οι μελέτες με τα αρνητικά αποτελέσματα παίρνουν περισσότερο χρόνο για να δημοσιευθούν, ενώ τα ενθουσιώδη αποτελέσματα δημοσιεύονται γρηγορότερα. Στο σφάλμα δημοσίευσης^{152,153}, οι μικρές μελέτες με τα αρνητικά αποτελέσματα δεν δημοσιεύονται ποτέ,



ενώ οι εξίσου μικρές μελέτες παρόμοιας ποιότητας αλλά με θετικά αποτελέσματα θα εμφανιστούν στη βιβλιογραφία. Εξετάσαμε αυτήν την πιθανότητα και διαπιστώσαμε ότι, πράγματι, η συνολική συσχέτιση ήταν πιά προεξέχουσα στις πρώτες μελέτες και κάποιο σφάλμα δημοσίευσης δεν θα μπορούσε να αποκλειστεί. Εντούτοις, η κατ' εκτίμηση συσχέτιση με τη σοβαρή διαστολική υπέρταση φάνηκε να είναι παρόμοια με γέθους στις μελέτες που δημοσιεύθηκαν πριν και μετά από 2000.

Η σχέση του πολυμορφισμού C677T με την σοβαρή υπέρταση είναι παραπλανητική. Έχει προταθεί ότι η συσχέτιση μεταξύ αυτού του πολυμορφισμού και της μητρικής αγγειακής νόσου που αυξάνει τον κίνδυνο για προ-εκλαμψία μπορεί να φανεί μόνο στο έδαφος υπερομοκυστιναιμίας^{165,166,167}. Υψηλά επίπεδα ομοκυστεϊνης μπορούν να συσχετιστούν με την υπέρταση κυσεως¹⁶⁸. Εντούτοις, η συσχέτιση μεταξύ του MTHFR γονοτύπου και φαινοτύπου (από την άποψη επιπέδων ομοκυστεϊνης) δεν είναι απαραίτητως σαφής εξ αιτίας των επιρροών θρεπτικών παραγόντων όπως το φυλικό οξύ και οι βιταμίνες Β6 και Β12, τα οποία λειτουργούν ως συμπαραγόντες στο μηχανισμό επανα-μεθυλίωσης της ομοκυστεϊνης^{169,170}. Οι διαιτητικές παράμετροι μπορούν να δρουν ως τροποποιητές της επίδρασης σε αυτήν την γενετική σχέση, και μπορούν να προκαλέσουν ετερογένεια στα παρατηρηθέντα γενετικά αποτελέσματα στις μελέτες. Ο εμβρυϊκός γονότυπος επίσης μπορεί να είναι σημαντικός και οι γυναίκες με βιοχημική υπερομοκυστιναιμία δεν μπορούν να αναπτύξουν προ-εκλαμψία όταν το εμβρυϊκό σύστημα MTHFR είναι λειτουργικό. Παραδείγματος χάριν, στις γυναίκες με υπερομοκυστιναιμία, η εμβρυϊκή έκφραση του αλληλόμορφου γονιδίου T ήταν πιά κοινή σε εκείνες που ανέπτυξαν πρόωρη προ-εκλαμψία¹⁷¹. Αυτό φάνηκε ακόμη και σε προ-εκλαμπτικές γυναίκες με τα χαμηλότερα επίπεδα ομοκυστεϊνης.

Εάν η συγκεκριμένη σχέση C677T με την σοβαρή διαστολική υπέρταση είναι αληθινή, δεν μπορούμε να αποκλείσουμε την παρουσία μιας πολύ μέτριας σχέσης με την ήπια υπέρταση κυσεως που θα ήταν δύσκολο να αποκρυπτογραφηθεί ακόμη και με 6000 γυναίκες προς ανάλυση. Το γενετικό συστατικό στην προ-εκλαμψία και την υπερτασική νόσο της εγκυμοσύνης μπορεί να είναι πιο σημαντικό για την σοβαρή υπέρταση, ενώ η διατροφή και άλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να είναι σχετικά πιο σημαντικοί στην ανάπτυξη της ήπιας ή μέτριας υπέρτασης. Μια άλλη πιθανότητα είναι ότι στην υπέρταση της εγκυμοσύνης μπορεί να έχει γίνει κακή διάγνωση σε μερικές γυναίκες με ήπιες καταγεγραμμένες αυξήσεις της πίεσης, ενώ η εσφαλμένη διάγνωση είναι απίθανη στις γυναίκες με την καταγεγραμμένη σοβαρή υπέρταση. Η λάθος ταξινόμηση θα έτεινε να αμβλύνει οποιαδήποτε υπάρχουσα γενετική συσχέτιση στην ομάδα γυναικών με την ήπια υπέρταση. Τέλος, πρέπει να αναγνωρίσουμε ότι θα μπορούσαμε να λάβουμε πληροφορίες για τη σοβαρότητα της διαστολικής υπέρτασης μόνο περίπου στο μισό των διαθέσιμων περιπτώσεων με την υπέρταση της εγκυμοσύνης, αλλά δεν υπάρχει κανένας λόγος να θεωρεί κανείς ότι η δειγματοληψία αυτή θα ήταν εσφαλμένη.

Εκτός από C677T, και άλλοι πολυμορφισμοί των σχετικών με την θρόμβωση γονιδίων έχουν αξιολογηθεί σχετικά με την πιθανή συσχέτιση τους με προ-εκλαμψία και την υπέρταση στην εγκυμοσύνη^{62,114,172}. Μερικοί από αυτούς τους πολυμορφισμούς μπορούν να είναι σημαντικοί, αλλά και οι μη αληθινές τάσεις λόγω σφαλμάτων είναι επίσης δυνατές και είναι σημαντική η αντιπαράθεση με μελέτες με μεγάλα μεγέθη δειγμάτων^{163,173}. Διάφοροι άλλοι πολυμορφισμοί γονιδίων που μπορούν θεωρητικά ή εμπειρικά να σχετίζονται με την ρύθμιση της πίεσης του αίματος, όπως η ενδοθηλίνη-1, του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, και το γονίδιο του αγγειοτενσινογονου, έχουν αποτύχει να παρουσιάσουν μια συσχέτιση με την προ-



εκλαμψία^{161,162,174}. Η κλινική σημασία τέτοιων υποθετικών γενετικών συσχετίσεων είναι επίσης αμφισβητήσιμη¹⁷⁵. Οι D'Anniello και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι μόνο τα επίπεδα δραστηριότητας του παράγοντα II της πήξης αίματος προς την τιμή της εργαστηριακής αναφοράς, το Doppler της μητριαίας αρτηρίας και το ιστορικό οικογενειακής υπέρτασης είναι χρήσιμα στην πρόβλεψη της φτωχής έκβασης στην εγκυμοσύνη, στην υπέρταση της κύησης, ενώ καμία από τις διάφορες μεταλλάξεις θρομβοφιλικών γονιδίων δεν είχε οποιαδήποτε δυνατότητα πρόβλεψης¹⁷⁵. Η εύρεση του ακριβούς προγνωστικού αντίκτυπου του C677T ή άλλων μεταλλάξεων γονιδίων για συγκεκριμένες εκβάσεις εγκυμοσύνης στην υπέρταση της κύησης απαιτεί μεγάλες βάσεις δεδομένων και διαφορετικά στοιχεία από εκείνα που συλλέχθηκαν σε αυτήν την μετα-ανάλυση, αλλά είναι απίθανο ότι τα συμπεράσματα θα ήταν διαφορετικά από εκείνα της μελέτης του D'Anniello και συνεργάτες¹⁷⁵. Εν γένει, η παρούσα μετα-ανάλυση δείχνει ότι αν και κάποιο σφάλμα δεν μπορεί να αποκλειστεί, ο πολυμορφισμός C677T MTHFR μπορεί να σχετίζεται με τον κίνδυνο σοβαρής υπέρτασης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Η γενετική επίδραση δεν είναι τέτοια ώστε να συστηθεί ο έλεγχος ρουτίνας των έγκυων γυναικών για αυτόν τον πολυμορφισμό, αλλά μπορεί να προσφέρει χρήσιμες κατευθύνσεις στην κατανόηση της παθοφυσιολογίας της υπερτασικής νόσου της εγκυμοσύνης.

Συνολικά, η ανίχνευση της ετερογένειας σε αυτές τις μελέτες, είναι πολύ σημαντική. Μερικοί πολυμορφισμοί εμφανίζονται να φθάνουν σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας με το μοντέλο των σταθερών αποτελεσμάτων, αλλά όχι με το μοντέλο των τυχαίων αποτελεσμάτων εξαιτίας της μεγάλης ετερογένειας μεταξύ των μελετών. Σε αυτές τις περιπτώσεις, θα πρέπει να δοθεί προτεραιότητα στην εξέταση άλλων, συσχετιζόμενων φαινοτύπων και στην λεπτομερή χαρτογράφηση για την αναγνώριση πολυμορφισμών που δείχνουν μικρότερη ετερογένεια. Αν και οι περισσότερες γενετικές μελέτες μέχρι σήμερα πραγματοποιούνται κληρονομικές ασθένειες που προέρχονται από μια και μοναδική γενετική αλλαγή, οι περισσότερες γενετικές επιδράσεις πιθανότατα προέρχονται από τις αλληλεπιδράσεις πολλών γονιδίων. Παρόλα αυτά και σε αυτού του τύπου μελέτες υπάρχουν προβλήματα. Η ταυτόχρονη αξιολόγηση πολλών γονιδίων απαιτεί μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος. Αναλύσεις συγκεκριμένων μελετών, για τις εν λόγω γενετικές επιδράσεις μπορεί να υποφέρουν από σφάλμα τύπου II, ενώ όταν δημοσιεύονται σημαντικά αποτελέσματα μπορεί να υπάρχει τύπου I στατιστικό λάθος. Από την άλλη, οι μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες γενετικής απαιτούν μια συλλογική, διεθνή προσέγγιση. Παρόλα αυτά, ο διεθνής συντονισμός μιας τέτοιας μελέτης απαιτεί εκτεταμένη επικοινωνία.

Ένα άλλο πρόβλημα στην σύνθεση δημοσιευμένων στοιχείων είναι η προσαρμογή για διαφορετικούς συμπαράγοντες, ειδικά όταν προκαλούν έντονη διαφοροποίηση των αποτελεσμάτων μεταξύ των μελετών.

Ένα άλλο ζήτημα είναι πώς μπορεί να γίνει προσαρμογή για τις παραμέτρους που μπορεί να παίζουν ενδιάμεσο ρόλο στον μηχανισμό μεταξύ της κλινικής έκβασης και της γενετικής.

Παρόλο που τα παραπάνω προβλήματα μπορεί να ξεπεραστούν, με αύξηση του μεγέθους δείγματος και με ποιοτικούς ελέγχους της μελέτης κατά αυστηρό τρόπο, είναι πιθανόν να συνεχιστεί να αποκαλύπτεται ένας αυξανόμενος αριθμός συσχετίσεων που έχουν στατιστική υποστήριξη και ισχυρή επιδημιολογική αξιοπιστία χωρίς στην πράξη να έχουν κλινική σημασία.



Βιβλιογραφικές Αναφορές

- ¹ Lammele B, Wuihlemin WA, Huber I et al. Thromboembolism and bleeding tendency in congenital factor XII deficiency: a study on 74 subjects from 14 Swiss families. *Thrombosis and Haemostasis* 1991; 65: 117–121
- ² Bugge TH, Xiau Q, Kombrinck KW et al. Fatal embryonic bleeding events in mice lacking tissue factor, the cell associated initiator of blood coagulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1996; 93: 6258–6263.
- ³ Camerer E, Kolsto AB & Prydz H. Cell biology of tissue factor, the principal initiator of blood coagulation. *Thrombosis Research* 1996; 81: 1–41.
- ⁴ Stirling Y, Woolf L, North WRS et al. Haemostasis in normal pregnancy. *Thrombosis and Haemostasis* 1984; 52: 176–182
- ⁵ Dalaker K & Prydz H. The coagulation factor VII in pregnancy. *British Journal of Haematology* 1984; 56: 233–241.
- ⁶ Condie RG. A serial study of coagulation factors XII, XI, and X in plasma in normal pregnancy and in pregnancy complicated by preeclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1976; 83: 636–639
- ⁷ Hellegren M & Blomback M. Studies on blood coagulation and fibrinolysis in pregnancy, during delivery and in the puerperium. *Gynecologic and Obstetric Investigation* 1981; 12: 141–154.
- ⁸ Sayama S, Kashiwagi H, Ogawa T et al. Circulating levels of prekallikrein and kallikrein in pregnancy and labor. *The International Journal of Biological Research Pregnancy* 1981; 2: 90–94.
- ⁹ Philips LL, Rosano L & Skrodelis V. Changes in factor XIc (plasma thromboplastin antecedent) levels during pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1973; 116: 1114–1116.
- ¹⁰ Beller FK & Ebert C. The coagulation and fibrinolytic enzyme systems in normal pregnancy and the puerperium. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology* 1982; 13: 177–197.
- ¹¹ Cadroy Y, Grandjean H, Picon J et al. Evaluation of six markers of haemostatic system in normal pregnancy and pregnancy complicated by hypertension or preeclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1993; 100: 416–420
- ¹² Coopland A, Alkjaersig N & Fletcher AP. Reduction in plasma factor XIII (fibrin stabilizing factor) concentration during pregnancy. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1969; 73: 144–153.



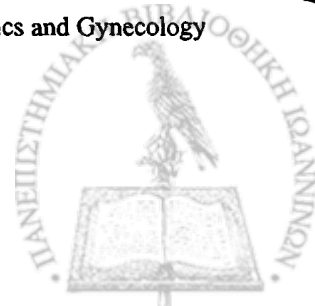
-
- ¹³ Bonnar J, McNicol GP & Douglas AS. Fibrinolytic enzyme system in pregnancy. *British Medical Journal* 1969; 3: 387-395.
- ¹⁴ Regoeczi E & Hobbs KR. Fibrinogen turnover in pregnancy. *Scandinavian Journal of Haematology* 1969; 6: 175-178.
- ¹⁵ Clark P, Brennand J, Conkie JA et al. Activated protein C sensitivity, protein C, protein S and coagulation in normal pregnancy. *Thrombosis and Haemostasis* 1998; 79: 1166-1170.
- ¹⁶ Fernandez JA, Estelles A, Gilabert J et al. Functional and immunologic protein S in normal pregnant women and in fullterm newborns. *Thrombosis and Haemostasis* 1989; 61: 474-478.
- ¹⁷ Clark P & Walker I. The phenomenon known as acquired activated protein C resistance. *British Journal of Haematology* 2001; 115: 767
- ¹⁸ Lowe GDO, Rumley A, Woodward M et al. Activated protein C resistance and the FV:R506Q mutation in a random population sample—associations with cardiovascular risk factors and coagulation variables. *Thrombosis and Haemostasis* 1999; 81: 918-924.
- ¹⁹ Kluff C, Meijer P, Gram J & Jespersen J. Acquired activated protein C resistance. *Lancet* 1999; 353: 1882
- ²⁰ de Ronde H & Bertina RM. Laboratory diagnosis of APC-resistance: a critical evaluation of the test and the development of diagnostic criteria. *Thrombosis and Haemostasis* 1994; 72: 880-886
- ²¹ Freyburger G, Javorschi S, Labrousse S & Bernard P. Proposal for objective evaluation of the performance of various functional APC-resistance tests in genotyped patients. *Thrombosis and Haemostasis* 1997; 78: 1360-1365
- ²² Weiner CP & Brandt J. Plasma antithrombin III activity in normal pregnancy. *Obstetrics and Gynecology* 1980; 56: 601-603.
- ²³ Higgins JR, Walshe JJ, Darling MRN et al. Hemostasis in the uteroplacental and peripheral circulations in normotensive and preeclamptic pregnancies. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1998; 179: 520-526.
- ²⁴ Biezenski JJ & Moore HC. Fibrinolysis in normal pregnancy. *Journal of Clinical Pathology* 1958; 11: 306-310.



- ²⁵ Shaper AG, Macintosh DM, Evans CM et al. Fibrinolysis and plasminogen levels in pregnancy and the puerperium. *Lancet* 1965; ii: 706-708.
- ²⁶ Menon IS, Rannie GH & Dewar HA. A comparative study of blood fibrinolytic activity in normal women, pregnant women and women on oral contraceptives. *Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Commonwealth* 1970; 7: 752-756.
- ²⁷ Halligan A, Bonnar J, Sheppard B et al. A longitudinal study of haemostatic, fibrinolytic and endothelial variables in normal pregnancies and pre-eclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1994; 101: 481-484.
- ²⁸ Koh CL, Viegos OA, Yuen R et al. Plasminogen activators and inhibitors in normal late pregnancy, postpartum and the postnatal period. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics* 1992; 38: 9-18.
- ²⁹ Chabloz P, Reber G, Boehlen F et al. TAFI antigen and D-dimer levels during normal pregnancy and at delivery. *British Journal of Haematology* 2001; 115: 150-152
- ³⁰ Ghirardini G, Battioni M, Bertellini C et al. D-dimer after delivery in uncomplicated pregnancies. *Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology* 1999; 26: 211-212.
- ³¹ Thornton CA & Bonnar J. Factor VIII-related antigen and factor VIII coagulant activity in normal and preeclamptic pregnancy. *Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Commonwealth* 1977; 81: 497-511.
- ³² Bremme K & Blomback M. Hemostatic abnormalities may predict chronic hypertension after preeclampsia. *Gynecologic and Obstetric Investigation* 1996; 41: 20-26.
- ³³ Roes EM, Sweep CG, Thomas CM et al. Levels of plasminogen activators and their inhibitors in maternal and umbilical cord plasma in severe preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2002; 187: 1019-1025.
- ³⁴ Antovic JP, Rafik Hamad R, Antovic A et al. Does thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) contribute to impairment of fibrinolysis in patients with preeclampsia and/or intrauterine fetal growth retardation? *Thrombosis and Haemostasis* 2002; 4: 644-647.
- ³⁵ Sheppard BL & Bonnar J. Fibrinolysis in decidual spiral arteries in late pregnancy. *Thrombosis and Haemostasis* 1978; 3: 751-758.



- ³⁶ Khong TY, De Wolf F, Robertson WB et al. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational-age infants. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1986; 93: 1049–1059.
- ³⁷ Steel SA, Pearce JM, McParland P et al. Early doppler ultrasound screening in prediction of hypertensive disorders of pregnancy. *Lancet* 1990; 335: 1548–1551.
- ³⁸ Brosens I & Renaer M. On the pathogenesis of placental infarcts in pre-eclampsia. *Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Commonwealth* 1972; 79: 794–799.
- ³⁹ Skanklin DR & Sibai BM. Ultrastructural aspects of pre-eclampsia. I. Placental bed and uterine boundary vessels. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1989; 161: 735–741.
- ⁴⁰ Andrew M, Paes B, Milner R et al. Development of the human coagulation system in the full-term infant. *Blood* 1987; 70: 165–172.
- ⁴¹ Shimada H, Takashima E, Soma M et al. Source of increased plasminogen activators during pregnancy and puerperium. *Thrombosis Research* 1989; 54: 91–98.
- ⁴² Lecander I & Astedt B. Isolation of a new specific plasminogen activator inhibitor from pregnancy plasma. *British Journal of Haematology* 1986; 62: 221–228.
- ⁴³ Feinberg RF, Kao L, Haimowitz JE et al. Plasminogen activator types 1 and 2 in human trophoblasts. PAI-1 is an immunocytochemical marker of invading trophoblasts. *Laboratory Investigation* 1989; 61: 20–26.
- ⁴⁴ Bonnar J, Prentice CRM, McNicol GP & Douglas AS. Haemostatic mechanism in the uterine circulation during placental separation. *British Medical Journal* 1970; 2: 564–567.
- ⁴⁵ Hahn L & Korsan-Bengtson K. The coagulation system during caesarean section in normotensive and hypertensive pregnancy. *Acta Obstetrica et Gynaecologica Scandinavica* 1975; 54: 49–55.
- ⁴⁶ Bonnar J, Daly L, Sheppard BL. Changes in the fibrinolytic system during pregnancy. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 1990; 16: 221–229.
- ⁴⁷ Reinhaller A, Mursch-Edlmayr G & Tatra G. Thrombin–antithrombin III complex levels in normal pregnancy with hypertensive disorders and after delivery. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1990; 97: 506–510
- ⁴⁸ Weiner CP & Brandt J. Plasma antithrombin III activity in normal pregnancy. *Obstetrics and Gynecology* 1980; 56: 601–603.



- ⁴⁹ Verin TZ, Alles AJ, Kowal-Vern A et al. Frequency of Factor V Leiden and prothrombin G20210A in placentas and their relationship with placental lesions. *Human Pathology* 2000; 31: 1036–104
- ⁵⁰ Many A, Schreiber L, Rosner S et al. Pathological features of the placenta in women with severe pregnancy complications and thrombophilia. *Obstetrics and Gynaecology* 2001; 98: 1041–1044.
- ⁵¹ Mousa HA & Alfirevic Z. Do placental lesions reflect thrombophilia state in women with adverse pregnancy outcome? *Human Reproduction* 2000; 15: 1830–1833.
- ⁵² Walters WA, Ford JB, Sullivan EA & King JF. Maternal deaths in Australia. *Medical Journal of Australia* 2002; 176: 413–414.
- ⁵³ Duly Ć. Maternal mortality associated with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Asia, LatinAmerica and the Carribean. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1992; 99: 547–553.
- ⁵⁴ Dekker GA. Risk factors for pre-eclampsia. *Clinical Obstetrics and Gynaecology* 1999; 42: 422–435.
- ⁵⁵ Dekker G & Sibai B. Primary, secondary and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet* 2001; 357:209–215.
- ⁵⁶ Zweifel P. Eklampsie. In Doderlein, A (ed.) *Handbuch der Geburtshilfe*, vol II, pp 672–673. Wiesbaden: Bergmann; 1916. Quoted by Higgins JR and Brennecke SP. Pre-eclampsia still a disease of theories? *Current Opinion in Obstetrics and Gynaecology* 1998, 10:129–133.
- ⁵⁷ Zhou Y, Damsky CH & Fisher SJ. Pre-eclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *Journal of Clinical Investigation* 1997; 99: 2152–2164
- ⁵⁸ Lyall F & Greer IA. The vascular endothelium in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Reviews of Reproduction* 1996; 1: 107–116
- ⁵⁹ Dekker GA & Sibai BM. Etiology and pathogenesis of pre-eclampsia: current concepts. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1998; 179:1359–1375.
- ⁶⁰ Roberts JM & Hubel CA. Is oxidative stress the link in a two-stage model of pre-eclampsia? *Lancet* 1999; 354: 788–789
- ⁶¹ Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1994; 344: 793–795.



-
- ⁶² Roberts JM & Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet* 2001; 357: 53–56
- ⁶³ Virchow RR. *Cellular Pathology*. London: Churchill, 1860. Quoted by Makin A, Silverman SH, Lip GYH. Peripheral vascular disease and Virchow's triad for thrombogenesis. *Quarterly Journal of Medicine* 2002; 95:199–210.
- ⁶⁴ Greer IA. Thrombosis in pregnancy. Maternal and fetal issues. *Lancet* 1999; 353: 1258–1265
- ⁶⁵ Sheppard BL & Bonnar J. An ultrastructural study of utero-placental spiral arteries in hypertensive and normotensive pregnancy and fetal growth retardation. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1981; 88: 695–705.
- ⁶⁶ Salafia CM, Pezzullo JC, Lopez-Zeno JA et al. Placental pathologic features of preterm pre-eclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1995; 173: 1097–1105
- ⁶⁷ Higgins JR, Walshe JJ, Darling MR et al. Haemostasis in the uteroplacental and peripheral circulations in normotensive and preeclamptic pregnancies. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1998; 179: 520–526.
- ⁶⁸ Dekker GA, de Vries JIP, Doelitzsch PM et al. Underlying disorders associated with severe early-onset pre-eclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1995; 173:1042–1048
- ⁶⁹ Kupfermanc MJ, Eldor A, Steinman N et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *New England Journal of Medicine* 1999; 340: 9–13
- ⁷⁰ van Pampus MG, Dekker GA, Wolf H et al. High prevalence of haemostatic abnormalities in women with a history of severe pre-eclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1999; 180: 1146–1150
- ⁷¹ Kupfermanc MG, Fait G, Many A et al. Severe pre-eclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. *Obstetrics and Gynaecology* 2000; 96: 145–149
- ⁷² Alfirevic Z, Moussa HA, Martlew V et al. Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications. *Obstetrics and Gynaecology* 2001; 97: 753–759. Part 1.
- ⁷³ Lindqvist PG, Svenson PJ, Mars K et al. Activated protein C resistance (FV:Q506) and pregnancy. *Thrombosis and Haemostasis* 1999; 81: 532–537.
- ⁷⁴ Livingston JC, Barton JR, Park V et al. Maternal and fetal inherited thrombophilia are not related to the development of severe pre-eclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2001; 185: 153–157.
- ⁷⁵ Kaiser T, Brennecke SP & Moses EK. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms are not a risk factor for pre-eclampsia/ eclampsia among Australian women. *Gynaecological and Obstetric Investigation* 2000; 50: 100–102.



- ⁷⁶ Alfrevic Z, Roberts D & Martlew V. How strong is the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcome? A systematic review. *European Journal of Obstetrics and Gynaecology and Reproductive Biology* 2002; 101: 6-14.
- ⁷⁷ McLintock C, North RA & Dekker G. Inherited thrombophilia implications for pregnancy associated venous thromboembolism and obstetric complications. *Current Problems in Obstetrics, Gynaecology and Fertility* 2001;24:115-149.
- ⁷⁸ Walker JJ. Pre-eclampsia. *Lancet* 2000; 356: 1260-1265.34.
- ⁷⁹ Casiola-Rosen L, Rosen A, Petri M & Schlissel M. Surface blebs on apoptotic cells are sites of enhanced procoagulant activity: implications for coagulation events and antigenic spread in systemic lupuserythematosus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1996; 93: 1624-1629.
- ⁸⁰ Walker ID. Thrombophilia in pregnancy. *Journal of Clinical Pathology* 2000; 53: 573-580.
- ⁸¹ Dahlback B, Carlsson M & Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognised mechanism characterised by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1993; 90: 1004-1008
- ⁸² Williamson D, Brown K, Luddington R & Baglin I. FV Cambridge: a new mutation (ARG 306-THR) associated with the resistance to activated protein C. *Blood* 1998; 91: 1140-1144
- ⁸³ Peek MJ, Nelson-Piercy C, Manning RA et al. Activated protein C resistance in normal pregnancy. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1997; 104: 1084-1086.39.
- ⁸⁴ Walker MC, Garner PR, Keely EJ et al. Changes in activated protein C resistance during normal pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1997; 177: 162-169
- ⁸⁵ Mimuro S, Lahoud R, Beutler L & Trudinger B. Changes of resistance to activated protein C in the course of pregnancy and prevalence of the factor V Leiden mutation. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1998; 38: 200-204.
- ⁸⁶ Lindoff C, Ingemarsson I, Martinsson G et al. Pre-eclampsia is associated with a reduced response to activated protein C. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1997; 176: 457-460.
- ⁸⁷ Welch GN & Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *New England Journal of Medicine* 1998; 338: 1042-1050



- ⁸⁸ Stamler JS, Osborne JA, Jaraki A et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *Journal of Clinical Investigation* 1993; 91: 308–318.
- ⁸⁹ Frosst P, Blom HJ, Milos R et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genetics* 1995; 10: 111–113.
- ⁹⁰ van der Put NMJ, Gabreels F, Stevens EMB et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural tube defects? *American Journal of Human Genetics*, 1998; 62:1044–1051.
- ⁹¹ Isotalo PA, Wells GA & Donnelly JG. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations. *American Journal of Human Genetics* 2000; 67: 986–990.
- ⁹² Anthony J, Burton R, Owen P & Williams M. Hypohomocystinemia is significantly more common amongst South African women with pre-eclampsia. *Hypertension in Pregnancy* 2000; 19: 64. (abstract).
- ⁹³ Leeda M, Riyazi N, de Vries JL et al. Effects of folic acid and vitamin B6 supplementation on women with Hypohomocystinemia and a history of pre-eclampsia or fetal growth restriction. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1998; 179: 135–139.
- ⁹⁴ Sorensen TK, Malinow MR, Williams MA et al. Elevated second-trimester serum homocyst(e)ine levels and subsequent risk of pre-eclampsia. *Gynaecological and Obstetric Investigation* 1999; 48: 98–103.
- ⁹⁵ Knowlton J, Nelson L & Ward K. The MTHFR C677T polymorphism is not associated with pre-eclampsia or the HELLP syndrome. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2000; 182: 238A
- ⁹⁶ Williams MA, Sanchez SE, Zhang C & Sorensen TK. Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C to T polymorphism and plasma folate in relation to pre-eclampsia. *Hypertension in Pregnancy* 2000; 19: 091. (abstract).
- ⁹⁷ Gebhardt GS, Hillerman R, Kotze MJ et al. Hypohomocystinemia and fetal methylenetetrahydrofolate reductase gene status—does the fetus play a genetic role in the pathophysiology of pre-eclampsia? *Hypertension in Pregnancy* 2002; 21(supplement 1): 17. O032 (abstract).
- ⁹⁸ Mulrow CD. The medical review article: state of the science. *Ann Intern Med.* 1987 Mar;106(3):485-8.
- ⁹⁹ Oxman AD, Guyatt GH. Guidelines for reading literature reviews. *CMAJ.* 1988 Apr 15;138(8):697-703



- ¹⁰⁰ Moher D, Schulz KF, Altman DG; CONSORT GROUP (Consolidated Standards of Reporting Trials). The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomized trials. *Ann Intern Med.* 2001 Apr 17;134(8):657-62.
- ¹⁰¹ Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, Moher D, Rennie D, de Vet HC, Lijmer JG; Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy. The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. *Ann Intern Med.* 2003 Jan 7;138(1):W1-12.
- ¹⁰² Phillips AN, Smith GD. The design of prospective epidemiological studies: more subjects or better measurements? *J Clin Epidemiol.* 1993 Oct;46(10):1203-11.
- ¹⁰³ Green SB, Byar DP. Using observational data from registries to compare treatments: the fallacy of omnimetrics. *Stat Med.* 1984 Oct-Dec;3(4):361-73.
- ¹⁰⁴ Kunz R, Oxman AD. The unpredictability paradox: review of empirical comparisons of randomised and non-randomised clinical trials. *BMJ.* 1998 Oct 31;317(7167):1185-90.
- ¹⁰⁵ Trikalinos TA, Ntzani EE, Contopoulos-Ioannidis DG, Ioannidis JP. Establishment of genetic associations for complex diseases is independent of early study findings. *Eur J Hum Genet.* 2004 Sep;12(9):762-9.
- ¹⁰⁶ Shapiro S. Meta-analysis/Shmeta-analysis. *Am J Epidemiol.* 1994 Nov 1;140(9):771-8
- ¹⁰⁷ Lau J, Ioannidis JP, Schmid CH. Quantitative synthesis in systematic reviews. *Ann Intern Med* 1997;127:820-6.
- ¹⁰⁸ Pettiti D. Meta-analysis, decision analysis and cost-effectiveness analysis. Oxford U Press, New York, 2nd ed; 1999
- ¹⁰⁹ Ioannidis J, Lau J. Evolution of treatment effects over time: empirical insight from recursive cumulative meta-analyses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:831-6.
- ¹¹⁰ Ioannidis JP, Contopoulos-Ioannidis DG, Lau J. Recursive cumulative meta-analysis: a diagnostic for the evolution of total randomized evidence from group and individual patient data. *J Clin Epidemiol* 1999;52:281-91.
- ¹¹¹ Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 1997;315:629-34.



-
- ¹¹² Sterne JA, Egger M. Funnel plots for detecting bias in meta-analysis: guidelines on choice of axis. *J Clin Epidemiol* 2001;54:1046-55.
- ¹¹³ Begg CB, Mazumdar M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994;50:1088-101.
- ¹¹⁴ Morrison ER, Mledzybrodzka ZH, Campbell DM, Haites NE, Wilson BJ, Watson MS, Greaves M, Vickers MA. Prothrombotic genotypes are not associated with pre-eclampsia and gestational hypertension: results from a large population-based study and systematic review. *Thromb Haemost* 2002;87:779-85.
- ¹¹⁵ Dizon-Towson DS, Nelson LM, Easton K, Ward K. The factor V Leiden mutation may predispose women to severe pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:902-905.
- ¹¹⁶ Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, et al. The factor V Leiden, C>T MTHFR polymorphism and genetic susceptibility to pre-eclampsia. *Thromb Haemost* 1997;77:1052-1054 .
- ¹¹⁷ Kobashi G, Yamada H, Asano T, Nagano S, Hata A, Kishi R, Kondo K, Fujimoto S. The factor V Leiden is not a common cause of pregnancy-induced hypertension in Japan. *Semin Thromb Haemost* 1999;25:487-489 .
- ¹¹⁸ Lindoff C, Ingermarsson I, Martinsson G, Segelmark M, Thysell H, Astedt B. Preeclampsia is associated with a reduced response to activated protein C. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:457-60 .
- ¹¹⁹ Mimuro S, Lahoud R, Beutler L, Trudinger B. Changes of resistance to activated protein C in the course of pregnancy and prevalence of factor V mutation. *Aust NZ J Obstet Gynecol* 1998;38:200-4.
- ¹²⁰ Nagy B, Toth T, Rigo J, Karadi I, Romics L, Papp Z. Detection of factor V Leiden mutation in severe pre-eclamptic Hungarian women. *Clin Genet* 1998; 53:478-81.
- ¹²¹ De Groot CJ, Bloemenkamp KW, Duvekot EJ, Helmerhost FM, Bertina RM, Van Der Meer F, De Ronde H, Guid Oie S, Kanhai HH, Rosendaal FR. Preeclampsia and genetic risk factors for thrombosis: a case-control study. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:975-80 .
- ¹²² Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, Cappucci G, Sciannone N, Montanaro S, Paladini D, Martinelli P, Di Minno G. Prothrombotic genetic risk factors and the occurrence of gestational hypertension with or without proteinuria. *Thromb Haemost* 1999;81:349-52
- ¹²³ Horstkamp BS, Kiess H, Kramer J, Riess H, Henrich W, Dudenhausen JW. Activated protein C resistance shows an association with pregnancy-induced hypertension. *Human Reprod* 1999;14:3112-5 .



¹²⁴ Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, Fait G, Lessing J. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999;340:9-13.

¹²⁵ Mello G, Parretti E, Martini E, Mecacci F, La Torre P, Cioni R, Lucchetti R, Fedi S, Gori AM, Pepe G, Prisco D, Abbate R. Usefulness of screening for congenital or acquired hemostatic abnormalities in women with previous complicated pregnancies. *Haemostasis* 1999;29:197-203.

¹²⁶ O'Shaughnessy KM, Fu B, Ferraro F, Lewis I, Downing S, Morris NH. Factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase gene variants in an East Anglian preeclampsia cohort. *Hypertension* 1999;33:1338-41 .

¹²⁷ van Pampus MG, Dekker GA, Wolf H, Huijgens PC, Koopman MM, von Blomberg ME, Buller HR. High prevalence of hemostatic abnormalities in women with a history of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:1146-50 .

¹²⁸ Kupferminc MJ, Fait G, Many A, Gordon D, Eldor A, Lessing JB. Severe preeclampsia and high frequency of genetic thrombotic mutations. *Obstet Gynecol* 2000;96:45-9.

¹²⁹ Rigo J, Nagy B, Fintor L, Tanyi J, Beke A, Karadi I, Papp Z. Maternal and neonatal outcome of preeclamptic pregnancies: the potential roles of factor V Leiden mutation and 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase. *Hypertension in Pregnancy* 1999;19:163-72.

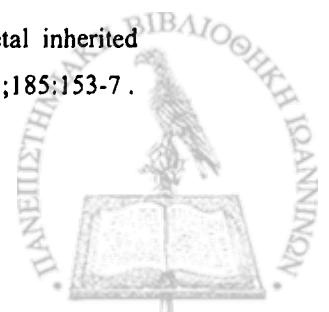
¹³⁰ von Tempelhoff GF, Heilmann L, Spanuth E, Kunzmann E, Hommel G. Incidence of the factor V Leiden mutation, coagulation inhibitor deficiency, and elevated antiphospholipid antibodies in patients with pre-eclampsia or HELLP syndrome. *Thromb Res* 2000;100:363-5.

¹³¹ Glueck CJ, Kupferminc MJ, Fontaine RN, Wang P, Weksler BB, Eldor A. Genetic hypofibrinolysis in complicated pregnancies. *Obstet Gynecol* 2001;97:44-8 .

¹³² Alfirevic Z, Mousa HM, Martlew V, Briscoe L, Perez-Casal M, Toh CH. Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications. *Obstet Gynecol* 2001;97:753-9.

¹³³ Kim JY, Williamson RA, Murray JC, Andrews J, Pietscher JJ, Peraud PJ, Merrill DC. Genetic susceptibility to preeclampsia: roles of cytosine-to-thymine substitution at nucleotide 677 of the gene for methylenetetrahydrofolate reductase, 68-base pair insertion at nucleotide 844 of the gene for cystathionine β -synthase, and factor V Leiden mutation. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1211-7

¹³⁴ Livingstone JC, Barton JR, Park V, Haddad B, Philips O, Sibai BM. Maternal and fetal inherited thrombophilias are not related to the development of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gy*2001;185:153-7 .



- ¹³⁵ Currie L, Peek M, McNiven M, Prosser I, Mansour J, Ridgway J. Is there an increased maternal-infant prevalence of factor V Leiden in association with severe pre-eclampsia? *Br J Obstet Gynecol* 2002;109:191-6
- ¹³⁶ D'Elia AV, Driul L, Giacomello R, Colaone R, Fabbro D, Di Leonardo C, Florio P, Petraglia F, Marchesoni D, Damante G. Frequency of factor V, prothrombin and methylenetetrahydrofolate reductase gene variants in preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 2002;53:84-7.
- ¹³⁷ Alfirevic Z, Roberts D, Martkew V. How strong is the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcome? A systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;101:6-14.
- ¹³⁸ Sohda S, Arinami T, Hamada H, Yamada N, Hamaguchi H, Kubo T. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and pre-eclampsia. *J Med Genet* 1997;34:525-6.
- ¹³⁹ Powers RW, Minich LA, Lykins DL, Ness RB, Crombleholme WR, Roberts JM. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, folate, and susceptibility to preeclampsia. *J Soc Gynecol Invest* 1999;6:74-9.
- ¹⁴⁰ Rajkovic A, Mahomed K, Rozen R, Malinow MR, King IB, Williams MA. Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C --> T polymorphism, plasma folate, vitamin B(12) concentrations, and risk of preeclampsia among black African women from Zimbabwe. *Mol Genet Metab* 2000;69:33-9.
- ¹⁴¹ Prasmusinto D, Skrablin S, Hofstaetter C, Fimmers R, van der Ven K. The methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-->T polymorphism and preeclampsia in two populations. *Obstet Gynecol* 2002;99:1085-92
- ¹⁴² Lauszus FF, Gron PL, Klebe JG. Association of polymorphism of methylene-tetrahydro-folate-reductase with urinary albumin excretion rate in type 1 diabetes mellitus but not with preeclampsia, retinopathy, and preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001;80:803-6.
- ¹⁴³ Rajmakers MT, Zusterzeel PL, Steegers EA, Peters WH. Hyperhomocysteinaemia: a risk factor for preeclampsia? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;95:226-8.
- ¹⁴⁴ Lachmeijer AM, Arngrimsson R, Bastiaans EJ, Pals G, ten Kate LP, de Vries JI, et al. Mutations in the gene for methylenetetrahydrofolate reductase, homocysteine levels, and vitamin status in women with a history of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:394-402.
- ¹⁴⁵ Laivuori H, Kaaja R, Ylikorkala O, Hiltunen T, Kontula K. 677 C-->T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2000;96:277-80



- ¹⁴⁶ Chikosi AB, Moodley J, Pegoraro RJ, Lanning PA, Rom L. 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in black South African women with pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:1219-20.
- ¹⁴⁷ Kaiser T, Brennecke SP, Moses EK. C677T methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism is not a risk factor for pre-eclampsia/eclampsia among Australian women. *Hum Hered* 2001;51:20-2.
- ¹⁴⁸ Kaiser T, Brennecke SP, Moses EK. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms are not a risk factor for pre-eclampsia/eclampsia in Australian women. *Gynecol Obstet Invest* 2000;50:100-2.
- ¹⁴⁹ Prochazka M, Krcova V, Kudela M, Slavik L. Occurrence of gene mutations in factor V Leiden, prothrombin and methylenetetrahydrofolate reductase in patients with pre-eclampsia. *Ceska Gynekol* 2003;68:162-6.
- ¹⁵⁰ Martinelli P, Grandone E, Colaizzo D, Paladini D, Sciannone N, Margaglione M, Di Minno G. Familial thrombophilia and the occurrence of fetal growth restriction. *Haematologica* 2001;86:428-31.
- ¹⁵¹ Ioannidis JP. Effect of the statistical significance of results on the time to completion and publication of randomized efficacy trial. *JAMA* 1998;279:281-6.
- ¹⁵² Easterbrook PJ, Berlin JA, Gopalan R, Matthews DR. Publication bias in clinical research. *Lancet* 1991;337:867-72.
- ¹⁵³ Dickersin K, Min YI, Meinert CL. Factors influencing publication of research results. Follow up of applications submitted to two institutional review boards. *JAMA* 1992;267:374-8.
- ¹⁵⁴ Lie RT, Rasmussen S, Brunborg H, Gjessing HK, Lie-Nielsen E, Irgens LM. Fetal and maternal contributions to risk of pre-eclampsia: population based study. *BMJ* 1998;316:1343-7.
- ¹⁵⁵ Trupin LS, Simon LP, Eskenazi B. Change in paternity: a risk factor for pre-eclampsia in multiparas. *Epidemiology* 1996;7:240-4.
- ¹⁵⁶ Hibbard JU. Hypertensive disease and pregnancy. *J Hypertens* 2002;20:S29-33.
- ¹⁵⁷ Sheppard BL, Bonnar J. An ultrastructural study of utero-placental spiral arteries in hypertensive and normotensive pregnancy and fetal growth retardation. *Br J Obstet Gynecol* 1981;88:695-705.
- ¹⁵⁸ Meekins JW, Pijneborg R, Hanssens, McFadyen IR, van Asshe A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynecol* 1994;101:669-74.



-
- ¹⁵⁹ Moussa HA, Alfirevic Z. Do placental lesions reflect thrombophilia state in women with adverse pregnancy outcomes? *Hum Reprod* 2000;15:1830-3.
- ¹⁶⁰ Sikkema JM, Franx A, Bruinse HW, van der Wijk NG, de Valk HW, Nikkels PG. Placental pathology in early onset pre-eclampsia and intra-uterine growth restriction in women with and without thombophilia. *Placenta* 2002;23:337-42.
- ¹⁶¹ Barden AE, Herbison CE, Beilin LJ, Michael CA, Walters BN, Van Bockxmeer FM. Association between the endothelin-1 gene Lys198Asn polymorphism blood pressure and plasma endothelin-1 levels in normal and pre-eclamptic pregnancy. *J Hyperten*. 2001;19:1775-82.
- ¹⁶² Morgan L, Foster F, Hayman R, Crawshaw S, Baker PN, Pipkin FB, Kalsheker N. Angiotensin-converting enzyme insertion-deletion polymorphism in normotensive and pre-eclamptic pregnancies. *J Hypertens* 1999;17:765-8.
- ¹⁶³ Ioannidis JP, Ntzani EE, Trikalinos TA, Contopoulos-Ioannidis DG. Replication validity of genetic association studies. *Nat Genet* 2001;29:306-9.
- ¹⁶⁴ Ioannidis JPA, O'Brien TR, Rosenberg PS, Goedert JJ. Meta-analysis of individual participants' data in genetic epidemiology. *Am J Epidemiol* 2002; 156:204-10.
- ¹⁶⁵ DeWolf F, Brosens I & Renaer M. Fetal growth retardation and the maternal arterial supply in the human placenta in the absence of sustained hypertension. *Br J Obstet Gynaecol*, 1980;87, 678-685.
- ¹⁶⁶ Redman CWG. Current topic: pre-eclampsia and the placenta. *Placenta*, 1991;12, 301-308.
- ¹⁶⁷ Roberts JM, Taylor RM & Goldfein. A Clinical and biochemical evidence of endothelial cell dysfunction in the pregnancy syndrome preeclampsia. *Am J Hypertens*, 1991;4, 700-708.
- ¹⁶⁸ Stehouwer CD, van Guldener C. Does homocysteine cause hypertension? *Clin Chem Lab Med*. 2003 Nov;41(11):1408-11.
- ¹⁶⁹ Leeda M, Riyazi N, de Vries JJ, Jakobs C, van Geijn HP, Dekker GA. Effects of folic acid and vitamin B6 supplementation on women with hyperhomocysteinaemia and a history of pre-eclampsia or fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:135-139.
- ¹⁷⁰ Khong T, Hague W. The placenta in hyperhomocysteinaemia. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:273-278.



¹⁷¹ Gebhardt GS, Hillerman R, Kotze MJ et al. Hyperhomocysteinaemia and fetal methylenetetrahydrofolate reductase gene status—does the fetus play a genetic role in the pathophysiology of pre-eclampsia? *Hypertens Pregn* 2002;21(Suppl 1): 17.

¹⁷² Kosmas IP, Tatsioni A, Ioannidis JP. Association of Leiden mutation in factor V gene with hypertension in pregnancy and pre-eclampsia: a meta-analysis. *J Hypertens* 2003;21:1221-8.

¹⁷³ Ioannidis JPA, Trikalinos TA, Ntzani EE, Contopoulos-Ioannidis DG. Genetic associations in large vs. smaller studies: an empirical assessment. *Lancet* 2003;361:567-71.

¹⁷⁴ Curnow KM, Pham T, August P. The L10F mutation of angiotensinogen is rare in pre-eclampsia. *J Hypertens* 2000;18:173-8.

¹⁷⁵ D'Aniello G, Florio P, Sabatini L, Severi FM, Fineschi D, Cito G, et al. The search for thrombophilic gene mutations in women with gestational hypertension does not help in predicting poor pregnancy outcome. *J Hypertens* 2003;21:1915-20.



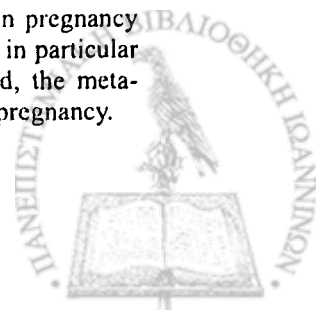
Περίληψη

Ο στόχος αυτής της μετα-ανάλυσης ήταν να αξιολογηθεί το κατά πόσον η V Leiden και MTHFR μετάλλαξη είναι σταθερά συνδεδεμένες με την υπέρταση στην εγκυμοσύνη, στο σύνολο του πληθυσμού των εγκύων γυναικών. Έγινε μια μετα-ανάλυση των μελετών με τις γυναίκες με ή χωρίς υπέρταση κατά την κύηση, για τις V Leiden και MTHFR μεταλλάξεις. Οι μελέτες ταυτοποιήθηκαν στις βάσεις δεδομένων MEDLINE και EMBASE και οι αναζητήσεις συμπληρώθηκαν με τις βιβλιογραφίες από τα άρθρα και την επικοινωνία με τους ερευνητές. Τα δεδομένα αξιολογήθηκαν με το μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων και η μεταξύ μελετών ετερογένεια εκτιμήθηκε. Αναλύσεις ευαισθησίας εξέτασαν την επίδραση του πληθυσμού και τα χαρακτηριστικά των μελετών. Για την μετάλλαξη V Leiden, 19 μελέτες (2742 υπερτασικές γυναίκες, 2403 στην ομάδα ελέγχου) χρησιμοποιήθηκαν μετάλλαξη V Leiden αυξάνει τις πιθανότητες της υπερτασικής νόσου της εγκυμοσύνης από 2,25 φορές [95% διάστημα εμπιστοσύνης (CI), 1,50-3,38], αλλά υπήρχε μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών ($P = 0.002$). Τα αποτελέσματα και η ετερογένεια ήταν παρόμοια όταν έγιναν αναλύσεις ευαισθησίας σε μελέτες με Καυκάσιους, πρωτεϊνουρία, διαστολική υπέρταση όριο > 110 mmHg. Αν και οι μελέτες που δημοσιεύθηκαν μέχρι το 2000, έδειξαν έναν λόγο αναλογιών 3.16 (95% CI, 2.04-4.92), καμία συσχέτιση δεν είδαμε στο μελέτες που δημοσιεύονται στο διάστημα 2001-2002 (ΛΑ 0.97; 95% CI, 0.61-1.54). Υπήρξαν επίσης στοιχεία για ενδεχόμενο σφάλματος δημοσίευσης: οι πέντε μεγαλύτερες μελέτες δεν έδειξαν συσχέτιση (ΛΑ 1,21; 95% CI, 0.84-1.74). Για την MTHFR μετάλλαξη, 23 συγκρίσεις (3169 υπερτασικών γυναικών, 3.044 στην ομάδα ελέγχου), που είχαν το T αλληλίο (TT ή CT), αυξήθηκε η συσχέτιση της υπερτασικής νόσου της κύησης κατά 1,21 φορές (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 1.01-1.44), αλλά και εκεί παρατηρήθηκε μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών ($P = 0.003$). Τα αποτελέσματα και η ετερογένεια ήταν παρόμοια όταν έγιναν αναλύσεις ευαισθησίας, στις μελέτες των Καυκάσιων πληθυσμών, ή εκείνων των ασθενών με σημαντική πρωτεϊνουρία. Ενώ οι ασθενείς με διαστολική υπέρταση $> ή = 110$ mmHg, έδειξαν έναν ΛΑ 1,41 (95% CI, 1.03-1.73), καμία συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε σε ασθενείς με λιγότερο σοβαρή διαστολική υπέρταση (ΛΑ 1,00; CI, 95%, 0,61 -1,65). Πρόωρα δημοσιευμένες μελέτες τείνουν να δείχνουν ισχυρότερες συσχετίσεις από τις επόμενες μελέτες. Ως συμπέρασμα, αν και μέτρια επίδραση της μετάλλαξης V Leiden σχετικά με τον κίνδυνο υπέρτασης κατά την κύηση δεν μπορεί να αποκλειστεί, η συσχέτιση που παρατηρήθηκε στις αρχικές και τις μικρές μελέτες μπορεί να είναι τυπική για σφάλμα, ιδίως σφάλμα χρονική καθυστέρησης και σφάλμα δημοσίευσης. Για την MTHFR μετάλλαξη, ενώ το σφάλμα δεν μπορεί να αποκλειστεί, η μετα-ανάλυση υποδεικνύει ότι το T αλληλίο μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο σοβαρής διαστολική υπέρτασης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης.

Summary

The objective of this meta-analysis was to evaluate whether the V Leiden and MTHFR mutation is consistently associated with hypertension in pregnancy across populations of pregnant women. A meta-analysis of studies comparing women with and without hypertension in pregnancy for the V Leiden and MTHFR mutation was performed. Studies were identified with MEDLINE and EMBASE searches complemented with perusal of bibliographies of retrieved articles and communication with investigators. Data were evaluated with random effects models and between-study heterogeneity was estimated. Sensitivity analyses examined the effect of population and study characteristics. For the V Leiden mutation, 19 studies (2742 hypertensive women, 2403 controls) were used. V Leiden mutation increased the odds of hypertensive disease of pregnancy by 2.25-fold [95% confidence interval (CI), 1.50-3.38], but there was large between-study heterogeneity ($P = 0.002$). The results were similar and heterogeneity persisted when sensitivity analyses were limited to studies with Caucasians, proteinuria, diastolic hypertension threshold > 110 mmHg. While studies published up to 2000 showed an odds ratio of 3.16 (95% CI, 2.04-4.92), no association was seen in studies published in 2001-2002 (odds ratio 0.97; 95% CI, 0.61-1.54). There was also evidence of potential publication bias: the five largest studies showed no association (odds ratio 1.21; 95% CI, 0.84-1.74). For the MTHFR mutation, 23 comparisons (3169 hypertensive women, 3044 controls), having the T allele (TT or CT) increased the odds of hypertensive disease of pregnancy by 1.21-fold (95% confidence interval, 1.01-1.44), but there was large between-study heterogeneity ($P = 0.003$). The results were similar and heterogeneity persisted when sensitivity analyses were limited to studies of Caucasian populations, or those of patients with significant proteinuria. While patients with diastolic hypertension $> or = 110$ mmHg showed an odds ratio of 1.41 (95% confidence interval, 1.03-1.73), no association was seen in patients with less severe diastolic hypertension (odds ratio, 1.00; 95% confidence interval, 0.61-1.65). Early published studies tended to show stronger associations than the subsequent studies.

As a conclusion, although modest effects of V Leiden mutation on the risk of hypertension in pregnancy cannot be excluded, the association observed in early and small studies may be typical of bias, in particular time-lag bias and publication bias. For the MTHFR mutation, while bias cannot be excluded, the meta-analysis suggests that the T allele may increase the risk of severe diastolic hypertension during pregnancy.



Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά των συμπεριλαμβανομένων μελετών

Συγγραφέας (ετος)	Έτη εγγραφής	Χώρα	Εθνικότητα	Κριτήρια επιλογής των περιπτώσεων	Αναφορά στο ταίριασμα
Dizon-Townson (1996)	1990-1995	ΗΠΑ	Καυκάσια (96%)	Δεν Αναφέρονται	ΟΧΙ
LiASoff (1997)	1993-1995	Σουηδία	Καυκάσια	Αναφέρονται	ΟΧΙ
Mimuro (1998)	1996-1997	Αυστραλία	Καυκάσια (87%)	Δεν Αναφέρονται	ΟΧΙ
De Groot (1999)	1991-1996	Ολλανδία	Καυκάσια	Αναφέρονται	Ναι
GraASone (1999)	ΑΣ	Ιταλία	Καυκάσια	Δεν Αναφέρονται	ΟΧΙ
Horstkamp (1999)	1991-1997	Γερμανία	Καυκάσια	Δεν Αναφέρονται	ΟΧΙ
Kobashi (1999)	1993-1996	Ιαπωνία	Ασιατική	Δεν Αναφέρονται	ΟΧΙ
Kupferminc (1999)	1996-1997	Ισραήλ	Ιουδαϊκή	Αναφέρονται	Ναι
Mello (1999)	1995-1996	Ιταλία	Καυκάσια	Αναφέρονται	Ναι
O'Shaughnessy (1999)	ΑΣ	ΑΓΓΛΙΑ Ολλανδία	Καυκάσια	Αναφέρονται Αναφέρονται	Ναι ΟΧΙ
van Pampus (1999)	1995-1996	ΑΣ	Καυκάσια		
Kupferminc (2000)	1997-1999	Ισραήλ	Ιουδαϊκή	Αναφέρονται	Ναι
Rigo (2000)	ΑΣ	Ουγγαρία	Καυκάσια	Αναφέρονται	Ναι
von Tempelhoff (2000)	ΑΣ	Γερμανία	Καυκάσια	Δεν Αναφέρονται	ΟΧΙ
Alfirevic (2001)	1997-1998	ΑΓΓΛΙΑ	Καυκάσια (88%)	Αναφέρονται	Ναι
Kim (2001)	1996-1999	ΗΠΑ	Καυκάσια	Δεν Αναφέρονται	ΟΧΙ
Livingstone (2001)	1998-1999	ΗΠΑ	Αφρικανική (60%)	Αναφέρονται	Ναι
Currie (2002)	1999	Αυστραλία	Καυκάσια	Δεν Αναφέρονται	ΟΧΙ
D'Elia (2002)	ΑΣ	Ιταλία	Καυκάσια	Δεν Αναφέρονται	ΟΧΙ
Morrison (2002)	1951-1970	ΑΓΓΛΙΑ	Καυκάσια	Αναφέρονται	Ναι

ΑΣ, Απουσία στοιχείων



Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά των συμπεριλαμβανομένων γυναικών

Συγγραφέας (έτος)	Περιπτώσεις πρωτεинуρία N	Διαστολική/συστολική ΑΠ (όριο) (mmHg)	Πρωτεинуρία (όριο)	Ομάδα ελέγχου N	Συχνότητα ν αλληλόμορφου (%)	
					Υπέρταση	Καν πίεση
Dizon-Townson (1996)	158 (158)	110/160	5g/24h	403	14 (4.4)	17 (2.1)
Lindoff (1997)	50 (50)	90/140	0.3g/lt	50	13 (13.0)	5 (5.0)
Mimuro (1998)	50 (50)	90/135	0.3g/24h	200	4 (4.0)	2 (0.5)
De Groot (1999)	163 (76)	90/140	0.3g/24h	163	16 (5.1)	15 (4.6)
Grandone (1999)	139 (70)	90/140	0.3g/24h	215	12 (4.3)	4 (0.9)
Horstkamp (1999)	70 (19)	110/ΔΑ	0.3g/24h	100	5 (3.6)	3 (1.5)
Kobashi (1999)	71 (ND)	90/140	0.3g/24h	109	0 (0.0)	0 (0.0)
Kupferminc (1999)	34 (32)	110/160	5g/24h	110	10 (14.7)	7 (3.2)
Mello (1999)	46 (46)	90/140	0.3g/lt	80	13 (14.1)	3 (1.9)
O'Shaughnessy (1999)	283 (283)	90/140	0.3g/24h	200	15 (2.7)	11 (2.8)
van Pampus (1999)	284 (284)	110/ΔΑ	0.5g/lt	67	18 (3.2)	1 (0.8)
Kupferminc (2000)	63 (63)	110/160	5g/24h	126	17 (13.5)	8 (3.3)
Rigo (2000)	120 (120)	100/160	0.3g/24h	101	22 (9.2)	3 (1.5)
von Tempelhoff (2000)	61 (61)	110/160	5g/24h	61	13 (10.7)	4 (3.3)
Alfirevic (2001)	63 (63)	110/ΔΑ	0.3g/24h	44	1 (0.8)	3 (3.4)
Kim (2001)	250 (250)	90/140	0.3g/24h	253	15 (3.0)	12 (2.4)
Livingstone (2001)	110 (110)	110/160	0.3g/24h	97	6 (2.7)	3 (1.5)
Currie (2002)	48 (48)	90/140	0.3g/24h	46	4 (4.2)	7 (7.6)
D'Elia (2002)	58 (58)	90/140	0.3g/24h	74	3 (2.6)	3 (2.0)
Morrison (2002)	692 (377)	110/ΔΑ	0.3g/24h	163	27 (2.0)	8 (2.5)

ΑΠ, Αρτηριακή πίεση; ΔΑ, δεν αναφέρεται όριο για την συστολική πίεση; ΑΣ, απουσία στοιχείων



Πίνακας 3. Συνολικοί εκτιμητές για το λόγο αναλογιών (ΛΑ) του V Leiden σε διαφορετικές συγκρίσεις γονοτύπων: Συνολική ανάλυση και ανάλυση ευαισθησίας

Συγκρίσεις γονοτύπων και αλληλίων	Μελέτες	N	Μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων			
			ΛΑ	95% ΔΕ	Q	
(Vn+vn) vs. VV	Σύνολο	19	5145	2.25	1.50-3.38	41.28
	Καυκάσια	16	4605	2.00	1.28-3.11	34.28
	Προ-εκλαμψία	18	4502	2.52	1.64-3.88	41.36
	Οριο των 110 mm Hg	9	2706	2.37	1.33-4.25	16.76
	Αναφορά στην διαδικασία επιλογής	11	3386	1.90	1.12-3.23	25.73
Vn vs VV	Αναφορά στο ταίριασμα	9	2558	2.57	1.07-4.41	29.58
	Σύνολο	19	5134	2.18	1.47-3.24	37.63
	Καυκάσια	16	4597	1.97	1.28-3.05	32.32
	Προ-εκλαμψία	18	4491	2.50	1.66-3.77	37.11
	Οριο των 110 mm Hg	6	1511	2.07	0.87-4.95	11.45
vn vs VV	Αναφορά στην διαδικασία επιλογής	11	3380	1.79	1.08-2.97	22.89
	Αναφορά στο ταίριασμα	9	2554	2.08	1.05-4.10	26.87
	Σύνολο*	8	1378	3.07	1.02-9.26	5.27
	Καυκάσια	6	1066	1.92	0.54-6.82	3.11
	Προ-εκλαμψία*	8	1306	3.40	1.13-10.25	5.83
vn vs Vn	Οριο των 110 mm Hg*	3	619	2.24	0.40-12.74	1.93
	Αναφορά στην διαδικασία επιλογής*	4	732	5.32	1.11-25.52	2.07
	Αναφορά στο ταίριασμα*	3	424	10.54	1.69-65.58	0.11
	Σύνολο	8	127	0.98	0.30-3.17	3.24
	Καυκάσια	6	89	0.65	0.16-2.56	1.94
	Προ-εκλαμψία	8	127	0.98	0.30-3.17	3.24
	Οριο των 110 mm Hg	3	56	0.57	0.09-3.81	1.79
	Αναφορά στην διαδικασία επιλογής	4	72	1.81	0.34-9.54	1.34
	Αναφορά στο ταίριασμα	3	53	2.11	0.31-14.20	0.33



n vs V	Σύνολο	19	10289	2.22	1.49-3.32	43.20
	Καυκάσια	16	9209	1.96	1.27-3.02	34.96
	Προ-εκλαμψία	18	9003	2.58	1.73-3.85	38.98
	Οριο των 110 mm Hg	7	4001	2.03	0.96-4.32	14.05
	Αναφορά στην διαδικασία επιλογής	11	6771	1.93	1.14-3.28	27.17
	Αναφορά στο ταίριασμα	9	5115	2.17	1.08-4.35	30.41

ΔΑ, διάστημα εμπιστοσύνης

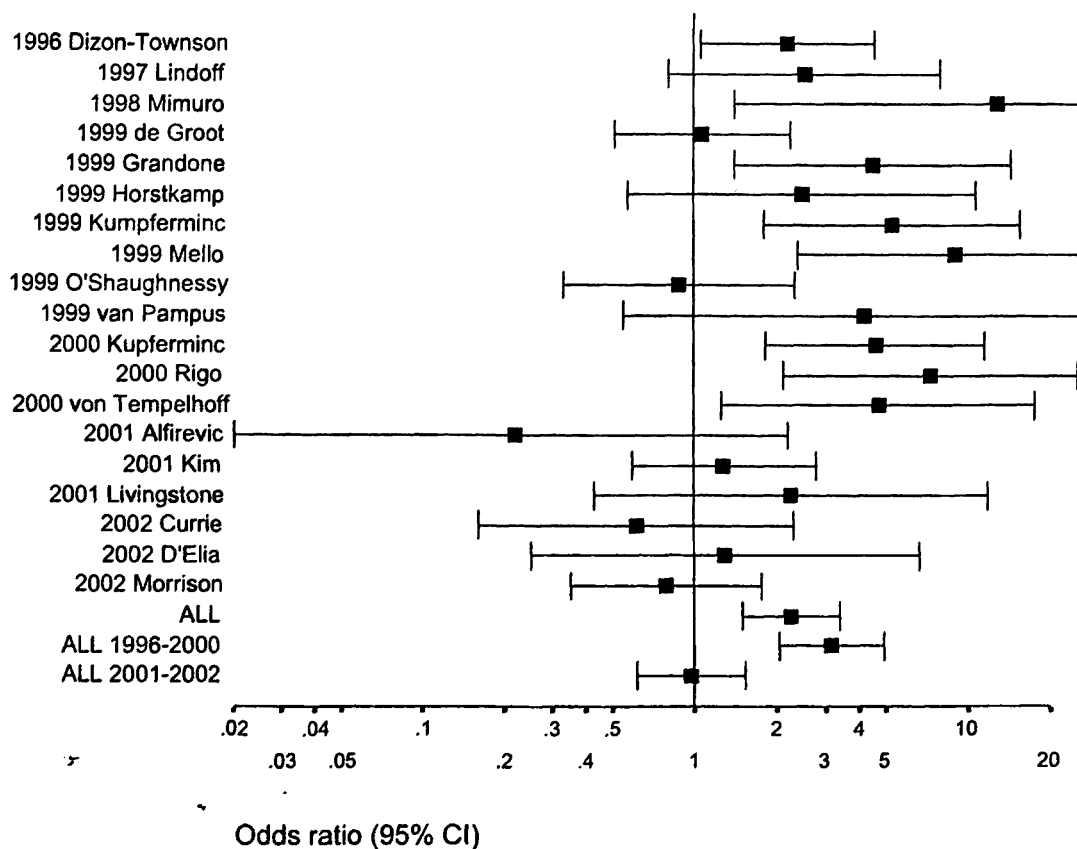
* $P \geq 0.10$ για συγκρίσεις χωρίς σημαντική ετερογενεια μεταξύ των μελετών; Όλες οι άλλες συγκρίσεις έδειξαν σημαντική ετερογενεια ($P < 0.10$).

Μελέτες όπου και οι περιπτώσεις και οι έλεγχοι είχαν 0 n ν ομοζυγώτες δεν συμπεριλαμβάνονται στις συγκρίσεις n ν vs. VV και n ν vs. Vn



Λεζάντα

Εικόνα 1. Η μετάλλαξη V Leiden και ο κίνδυνος υπερτασικής νόσου της κυησης: σύγκριση των γονοτύπων $vv+Vv$ με το VV . Κάθε μελέτη αντιπροσωπεύεται από έναν εκτιμητή του λόγου αναλογιών μαζί με τις προεκτάσεις που αντιστοιχούν στο 95% διάστημα εμπιστοσύνης. Οι μελέτες καταχωρούνται σύμφωνα με την χρονολογία δημοσίευσης. Φαίνεται επίσης ο συνολικός λόγος αναλογιών που έχει υπολογιστεί για όλες τις μελέτες εφαρμόζοντας το μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων. Με το ίδιο μοντέλο υπολογίστηκαν και οι λόγοι αναλογιών ξεχωριστά για τις μελέτες που δημοσιεύτηκαν μετακυσί 1996-2000 και 2001-2002, και οι οποίοι φαίνονται στην ίδια εικόνα.



ΛΑ Λόγος αναλογιών, ΔΑ, Διάστημα εμπιστοσύνης



Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά των συμπεριλαμβανομένων μελετών

Συγγραφέας (έτος)	Χώρα	Φυλή	Έτη Εγγραφής	περιπτώσεις/ Ομάδα ελέγχου	Αναφορά στο ταίριασμα
Sohda (1997)	Ιαπωνία	Ασιατική	Απουσία δεδομένων	67 /358	Ναι
Powers (1999)	ΗΠΑ	Καυκάσια	Απουσία δεδομένων	123 /114	Ναι
O'Shaughnessy (1999)	ΑΓΓΛΙΑ	Καυκάσια	Απουσία δεδομένων	283 /200	Ναι
Grandone (1999)	Ιταλία	Καυκάσια	Απουσία δεδομένων	139 /216	Ναι
Kupferminc (1999)	Ισραήλ	Ισραηλιτική	1996-1997	34 /110	Ναι
Chikosi (1999)	Νότιος Αφρική	Αφρο Αμερικανική	Απουσία δεδομένων	105 /110	Ναι
Laivuori (2000)	Φινλανδία	Καυκάσια	1997-1998	113 /103	Ναι
Rajkovic (2000)	Zimbabwe	Αφρο Αμερικανική	1995-1996	171 /183	Οχι
Kobashi (2000)	Ιαπωνία	Ασιατική	Απουσία δεδομένων	101 /215	Οχι
Rigo (2000)	Ουγγαρία	Καυκάσια	Απουσία δεδομένων	120 /101	Ναι
Kupferminc (2000)	Ισραήλ	Ισραηλιτική	1996-1997	63 /126	Ναι
Kaiser (2001)	Αυστραλία	Καυκάσια	1984-1999	156 /79	Οχι
Raijmakers (2001)	Ολλανδία	Καυκάσια	Απουσία δεδομένων	167 /403	Οχι
Lachmeijer (2001)	Ολλανδία	Καυκάσια	1997	174 /120	Οχι
Kim (2001)	ΗΠΑ	Καυκάσια	1996-1999	250 /253	Ναι
Livingstone (2001)	ΗΠΑ	Αφρο Αμερικ (57%)	1998-1999	110 /95	Ναι
Alfirevic (2001)	ΑΓΓΛΙΑ	Καυκάσια (88%)	1997-1998	63 /44	Ναι
Lauszus (2001)	Δανία	Καυκάσια	1992-1998	46 /187	Οχι
Prasmusinto (2002)	Ινδονησία	Ασιατική	Απουσία δεδομένων	41 /27	Ναι
Prasmusinto (2002)	Γερμανία/Κροατία	Καυκάσια	Απουσία δεδομένων	40 /72	Ναι
Morrison (2002)	ΑΓΓΛΙΑ	Καυκάσια	1951-1970	707 /164	Ναι
D'Elia (2002)	Ιταλία	Καυκάσια	Απουσία δεδομένων	58 /74	Οχι
Prochazka (2003)	Τσεχία	Καυκάσια	Απουσία δεδομένων	67 /50	Οχι



Πίνακας 5. Χαρακτηριστικά των συμπεριλαμβανομένων γυναικών

Πρώτος συγγραφέας (έτος)	Διαστολική/συστολική ΑΠ (ΟΡΠΟ) (mmHg)	Πρωτεϊνουρία (ΟΡΠΟ)	Πρωτεϊνου ρία (%)	Συχνότητα του T αλληλόμορφου (%)	
				Περιπτώσεις έλεγχοι	
Sohda (1997)	110/160	0.3g/24h	67 (100)	64 (48.0)	264 (36.9)
Powers (1999)	90/140	5g/24h	123 (81)	96 (39.0)	74 (31.0)
O'Shaughnessy (1999)	90/140	0.3g/24h	283 (100)	176 (45.1)	124 (31.0)
Grandone (1999)	90/140	0.3g/24h	139 (50)	68 (24.5)	72 (16.7)
Kupfermanc (1999)	110/160	5g/24h	34 (94)	14 (20.6)	18 (8.2)
Chikosi (1999)	90/140	0.3g/24h	105 (100)	20 (9.5)	13 (5.9)
Laivuori (2000)	90/140	0.3g/24h	113 (100)	53 (23.5)	54 (26.2)
Rajkovic (2000)	90/140	0.1g/L	171 (100)	30 (8.8)	32 (8.7)
Kobashi (2000)	90/140	30 mg/dl*	101 (72)	76 (37.6)	165 (38.4)
Rigo (2000)	100/160	0.3g/24h	120 (100)	82 (35.0)	65 (32.2)
Kupfermanc (2000)	110/160	5g/24h	63 (100)	30 (24.6)	24 (9.5)
Kaiser (2001)	90/140	0.3g/L	156 (100)	104 (33.3)	53 (33.5)
Raijmakers (2001)	90/ΔΑ	0.30g/10mmol [†]	167 (100)	116 (34.7)	324 (36.2)
Lachmeijer (2001)	90/ΔΑ	0.3g/24h	174 (100)	122 (39.1)	73 (30.4)
Kim (2001)	90/140	0.3g/24h	250 (100)	183 (32.6)	234 (32.5)
Livingstone (2001)	110/160	0.3g/24h	110 (100)	54 (24.5)	41 (18.9)
Alfirevic (2001)	110/ΔΑ	0.3g/24h	63 (100)	14 (11.1)	4 (4.5)
Lauszus (2001)	90/140	0.3g/24h	46 (44)	28 (30.4)	132 (35.3)
Prasmusinto (2002)	90/140	0.3g/24h	41 (100)	8 (9.3)	5 (9.3)
Prasmusinto (2002)	90/140	0.3g/24h	40 (100)	25 (31.3)	54 (37.5)
Morrison (2002)	90/NT	0.3g/24h	707 (57)	499 (35.3)	100 (30.5)



D'Elia (2002)	90/140	0.3g/24h	58 (100)	12 (10.3)	18 (12.2)
Prochazka (2003)	90/140	ΔΑ	ΔΑ	16 (21.1)	10 (20.0)

* απέκκριση πρωτεΐνης στα ούρα ≥ 30 mg/dl (1+ στο στικ ούρων) σε μια τυχαία λήψη δείγματος

[†] πρωτεΐνη /κρεατινίνη πάνω 0.30g/10mmol

ΑΠ, αρτηριακή πίεση; ΔΑ, Δεν αναφέρεται όριο για την συστολική αρτηριακή πίεση



Πίνακας 6. Συνολικοί εκτιμητές για το λογο αναλογιών (ΛΑ) του πολυμορφισμού C677T διαφορετικές συγκρίσεις γονοτύπων: Συνολική ανάλυση και ανάλυση ευαισθησίας

Συγκρίσεις γονοτύπων και αλληλίων Ομάδες μελετών	N	Μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων		Q	
		ΛΑ	95% ΔΕ		
<i>(CT+TT) vs. CC</i> Συνολικά *	23	6213	1.21	1.01-1.44	44.54
Καυκάσια *	15	4557	1.14	0.91-1.42	34.27
Προ-εκλαμψία* Αναφορά στο ταίριασμα *	22	5673	1.23	1.02-1.48	42.01
<i>TT vs CC</i> Συνολικά *	15	3991	1.26	0.97-1.63	37.67
Καυκάσια *	23	4709	1.16	0.85-1.58	52.03
Προ-εκλαμψία Αναφορά στο ταίριασμα	15	3432	0.93	0.64-1.36	38.32
<i>TT vs CT</i> Συνολικά	22	3814	1.33	1.08-1.63	22.83
Καυκάσια	15	2751	1.42	1.09-1.84	17.46
Προ-εκλαμψία Αναφορά στο ταίριασμα	23	2851	0.97	0.79-1.20	11.27
<i>T vs C</i> Συνολικά *	15	2321	0.93	0.73-1.17	5.73
Καυκάσια *	22	2584	0.95	0.77-1.19	11.84
Προ-εκλαμψία Αναφορά στο ταίριασμα *	15	1825	1.00	0.77-1.30	7.31
Καυκάσια *	23	12426	1.16	0.99-1.35	59.51
Προ-εκλαμψία* Αναφορά στο ταίριασμα *	15	9114	1.04	0.88-1.23	34.57
Καυκάσια *	22	11346	1.40	1.08-1.83	160.01
Προ-εκλαμψία* Αναφορά στο ταίριασμα *	15	7982	1.27	1.03-1.58	46.76

CI, διάστημα εμπιστοσύνης

ΛΑ, Λόγος Αναλογιών ,ΔΕ διάστημα εμπιστοσύνης * $P < 0.10$ για αναλύσεις με σημαντική μεταξύ των μελετών ετερογενεια; Όλες οι άλλες αναλύσεις δεν έδειξαν σημαντική ετερογενεια ($P \geq 0.10$).



Πίνακας 7. Ανάλυση υπο-ομάδων με κριτήριο τη σοβαρότητα της διαστολικής υπέρτασης

Συγκρίσεις γονοτύπων και αλληλίων	Ομάδες μελετών	N (περιπτώσεις)	Μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων			
			ΛΑ	95% ΔΕ	Q	
<i>(CT+TT)</i> vs. <i>CC</i>	Σοβαρή υπέρταση	9	1591 (531)	1.41	1.03-1.91	10.53
	Μη σοβαρή	5	1679 (896)	1.13	0.77-1.65	7.91*
<i>TT</i> vs <i>CC</i>	Σοβαρή υπέρταση	8	1032 (322)	1.78	1.11-2.84	10.04
	Μη σοβαρή	5	915 (465)	1.23	0.82-1.85	3.09
<i>TT</i> vs <i>CT</i>	Σοβαρή υπέρταση	9	688 (217)	1.08	0.68-1.72	6.17
	Μη σοβαρή	5	968 (531)	0.99	0.66-1.49	1.30
<i>T</i> vs <i>C</i>	Σοβαρή υπέρταση	9	3246 (1062)	1.50	1.09-2.06	19.75 [†]
	Μη σοβαρή	5	3358 (1792)	1.10	0.85-1.42	6.45

CI, διάστημα εμπιστοσύνης

Σε μελέτες που είχαν περιπτώσεις με σοβαρή και μη σοβαρή υπέρταση ο ίδιος πληθυσμός από γυναίκες με κανονική πίεση, χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση σε κάθε υποομάδα..

*P=0.10 για ετερογενεια μεταξύ των μελετών.

[†]P=0.01 για ετερογενεια μεταξύ των μελετών



Λεζάντα

Εικόνα 2. Ο πολυμορφισμός *C677T MTHFR* και ο κίνδυνος υπερτασικής νόσου της κυήσεως: σύγκριση των γονοτύπων *TT+CT* με το *CC*. Κάθε μελέτη αντιπροσωπεύεται από έναν εκτιμητή του λόγου αναλογιών μαζί με τις προεκτάσεις που αντιστοιχούν στο 95 % διάστημα εμπιστοσύνης. Οι μελέτες ταξινομούνται σύμφωνα με το χρόνο δημοσίευσής τους. Φαίνεται επίσης ο συνολικός λόγος αναλογιών που έχει υπολογιστεί για όλες τις μελέτες, εφαρμόζοντας το μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων. Με το ίδιο μοντέλο υπολογίστηκαν και οι λόγοι αναλογιών ξεχωριστά για τις μελέτες που δημοσιεύτηκαν μεταξύ 1997-2000 και 2001-2003 και οι οποίοι φαίνονται επίσης στην εικόνα

