



Facultad de Medicina
Departamento de Ciencias Biomédicas
Magíster en Ciencias Médicas: Mención Biología Celular y
Molecular

**“MEDIADORES MOLECULARES INVOLUCRADOS EN LA
APOPTOSIS PLACENTARIA EN LA PREECLAMPSIA”**

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Médicas, mención en
Biología Celular y Molecular

AUTOR

Jorge David Ahumada Tello

TUTOR

Dr. Sebastián San Martín Henríquez

FECHA: Enero de 2015

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a mi madre, por su preocupación y entrega durante este camino, que sin duda alguna reviste un paso importante en mi vida académica y profesional. Además, dedico este trabajo a Evelyn, mi compañera de vida, por su apoyo, cariño incondicional y por animarme a seguir adelante en los momentos más difíciles de este largo proceso de aprendizaje. Finalmente, a mi hija que pronto nacerá y que en la última etapa fue mi principal motivación.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis profesores del programa de Magíster en Ciencias Médicas, al Dr. Mario Párraga, al Dr. Joan Villena y en especial al Dr. Sebastián San Martín por sus consejos y orientaciones durante el proceso de desarrollo de tesis, sin duda significaron un aporte a mi crecimiento personal y sobre todo académico. También quisiera agradecer al Dr. Marcelo Rodríguez y al Dr. Carlos Escudero por sus sugerencias y correcciones, claramente fueron una contribución importante al desarrollo final de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

- 1. RESUMEN**
- 2. INTRODUCCIÓN**
- 3. OBJETIVOS**
- 4. METODOLOGIA**
- 5. SÍNDROME CLÍNICO Y FACTORES DE RIESGO**
- 6. DIAGNÓSTICO DE LA PREECLAMPSIA**
- 7. RESULTADOS MATERNOS Y PERINATALES**
- 8. PREDICCIÓN Y PREVENCIÓN DE LA PREECLAMPSIA**
 - 8.1 Prevención primaria de la Preeclampsia
 - 8.1.1 Exposición espermática
 - 8.1.2 Factor paterno
 - 8.1.3 Edad materna
 - 8.1.4 Tabaquismo
 - 8.2 Prevención secundaria de la Preeclampsia
 - 8.2.1 Disponibilidad de métodos de detección temprana
 - 8.2.2 Métodos de intervención y corrección de los cambios fisiopatológicos
 - 8.3 Prevención terciaria de la Preeclampsia
- 9. MANEJO DE LA PREECLAMPSIA**
 - 9.1 Manejo expectante de la Preeclampsia severa
 - 9.2 Tratamiento con fármacos antihipertensivos
 - 9.3 Uso de corticosteroides para mejorar los resultados del embarazo en mujeres con preeclampsia severa o síndrome HELLP
 - 9.4 Expansión del volumen plasmático
- 10. FISIOPATOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA**
 - 10.1 Generalidades de la implantación y de la placentación
 - 10.2 Establecimiento de una deficiente circulación placentaria
 - 10.3 Diferenciación de las líneas celulares que dan origen al trofoblasto
 - 10.4 Invasión trofoblástica precoz y formación de las vellosidades
 - 10.5 Pseudovasculogénesis
 - 10.6 Oleadas de invasión trofoblástica

- 10.7 Desarrollo placentario en la segunda mitad de la gestación
- 10.8 Etapas involucradas en la fisiopatología de la preeclampsia
 - 10.8.1 Anormalidades en la Placentación (etapa 1)
 - 10.8.2 El Síndrome materno (etapa 2)
- 10.9 Mediadores moleculares implicados en la fisiopatología de la preeclampsia
 - 10.9.1 Mediadores moleculares derivados del estrés oxidativo
 - 10.9.2 Factores antiangiogénicos
 - 10.9.3 Microfragmentos del sinciciotrofoblasto derivados de la apoptosis placentaria
 - 10.9.3.1 Características de la Apoptosis
 - 10.9.3.2 Rol de la apoptosis placentaria en el embarazo normal
 - 10.9.3.2.1 Citotrofoblasto y etapa inicial de la apoptosis
 - 10.9.3.2.2 Sinciciotrofoblasto y etapa de ejecución de la apoptosis
 - 10.9.3.2.3 La cascada de la apoptosis en el trofoblasto extraveloso
 - 10.9.3.3 Apoptosis placentaria en la preeclampsia
 - 10.9.3.3.1 Origen de los tipos de desechos trofoblásticos deportados
 - 10.9.3.3.2 Alteración de la función de las células endoteliales por el trofoblasto deportado

11. ETIOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA

- 11.1 Teoría del origen placentario de la preeclampsia
- 11.2 Teoría genética de la preeclampsia
- 11.3 Teoría inflamatoria de la preeclampsia
- 11.4 Nuevas hipótesis etiológicas de la preeclampsia

12. CONCLUSIONES

13. BIBLIOGRAFÍA

ABREVIATURAS:

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AIF: Factor inductor de apoptosis

APAF1: Factor 1 activador de la proteasa apoptótica

ARN: Ácido ribonucleico

c-FLIP: Proteína celular inhibitoria similar a FLICE

CARD: Dominio de reclutamiento de caspasas

CD: Cúmulo de diferenciación

CHM: Mola hidatidiforme completa

cIAPs: Proteínas celulares inhibitoras de la apoptosis

CTB: Citotrofoblasto

CTBev: CTB extravelloso

CTBev-en: CTB extravelloso endovascular

CTBev-in: CTB extravelloso intersticial

CTBv: CTB veloso

CYTC: Citocromo c

DAPK1: Proteína quinasa 1 asociada a la muerte

dATP: Desoxiadenosina trifosfato

DD: Dominio de muerte

DED: Dominio efector de muerte

DIABLO: Proteína de unión directa a IAP con bajo punto isoeléctrico

DISC: Complejo de señalización inductor de muerte

DNAPK: Proteína cinasa activada por DNA

ENDOg: Endonucleasa G

FADD: Proteína con un DD asociada a FAS

F₂ ISO: F₂ isoprostano

GTD: Enfermedad trofoblástica gestacional

hCG: Gonadotropina coriónica humana

HIF-1 α : Factor inducible por hipoxia -1 α

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno

HTRA2: Proteína A2 con requerimiento de alta temperatura

ICAD: Inhibidor de la DNAsa activada por caspasa

IL-1 β : Interleucina 1 β

IL-6: Interleucina 6
IMS: Espacio intermembrana mitocondrial
IP: Índice de pulsatilidad
IUGR: Restricción del crecimiento intrauterino
LDH: Lactato deshidrogenasa
MDA: Malondialdehído
MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad
MOMP: Permeabilización de la membrana mitocondrial externa
MPT: Permeabilidad transitoria mitocondrial
NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma reducida
NF- κ B: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
NO: Óxido nítrico
O₂⁻: Anión superóxido
ONOO⁻: Peroxinitrito
PIGF: Factor de crecimiento placentario
PAI-1: Inhibidor del Activador del Plasminógeno-1
PAI-2: Inhibidor del Activador del Plasminógeno-2
PARP: Poli (ADP-ribosa) polimerasa
PHM: Mola hidatidiforme parcial
PLAD: Dominio de ensamblaje preligando
pO₂: Presión parcial de oxígeno
PP2A: Proteína fosfatasa 2 A
PTPC: Complejo de poro de permeabilidad transitoria
RIPK1: Proteína quinasa 1 de interacción con el receptor
RIS: Respuesta inflamatoria sistémica
ROS: Especies reactivas de oxígeno
sEng: Endoglina soluble
sFlt1: Tirosina Quinasa-1 Soluble Similar a fms
SMAC: Segundo activador de caspasas derivado de la mitocondria
SOD: Superóxido dismutasa
STB: Sinciotrofoblasto
STBM: Microfragmentos del sinciotrofoblasto
TAB2: Proteína 2 de unión a TAK1

TAK1: Proteína quinasa 1 activada por el factor de crecimiento transformante β

TGF β 3: Factor de crecimiento transformante β 3

TNF α : Factor de Necrosis Tumoral alfa

TRADD: Proteína DD asociado a TNFR

TRAF2: Factor 2 asociado a TNFR

TRAIL: Ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF

VCAM-1: Molécula de Adhesión Celular Vascular-1

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

Z-VAD-fmk: N-benciloxycarbonil-Val-Ala-Asp-fluorometilcetona

μ m: Micrómetros

$\Delta\psi$ m: Potencial transmembrana mitocondrial

1. RESUMEN

La preeclampsia corresponde a un defecto multisistémico definido por la presencia de hipertensión y proteinuria mayor a 300 mg/24 horas, en embarazos de más de 20 semanas. Su importancia radica en que constituye la primera causa de muerte materna en países en desarrollo.

Desde el punto de vista fisiopatológico en la preeclampsia existen mediadores, entendidos como moléculas o sustancias producidas por la placenta y que son capaces de difundir el daño placentario y traducirlo en un compromiso sistémico. Diversos compuestos se han propuesto como mediadores, sin embargo, actualmente la evidencia destaca a tres moléculas que han demostrado participar activamente en la fisiopatología de la preeclampsia, tanto en modelos *in vitro* como *in vivo* y que son los que han generado las principales líneas de investigación. Éstos son los derivados del estrés oxidativo, los factores antiangiogénicos y los microfragmentos del sinciciotrofoblasto derivados de la apoptosis.

En la preeclampsia, todo el recambio del trofoblasto veloso está aumentado, comenzando con un aumento en la proliferación del citotrofoblasto. Esto por sí solo podría producir un aumento de las etapas finales de la apoptosis en el sinciciotrofoblasto. Sin embargo, si la apoptosis está regulada temporalmente, un aumento de la entrada de material causada por el aumento de la proliferación y de la fusión puede no dar tiempo suficiente para que la cascada de la apoptosis se complete antes de que el desprendimiento tenga lugar y por tanto, se verterán al torrente sanguíneo materno nodos sinciciales apoptóticamente incompletos.

El diseño de estudio o investigación de la presente tesis es de tipo revisión bibliográfica. El objetivo de este estudio es revisar la información existente en la literatura científica sobre los mecanismos moleculares implicados en la apoptosis placentaria en la preeclampsia. La base de datos que se consulta es MedLine y los términos que se utilizan en la búsqueda empleando conjunciones de lógica Booleana son los siguientes: Preeclampsia and Apoptosis, Preeclampsia and Placenta, Placental Apoptosis and Preeclampsia, Physiopathology and Preeclampsia, Molecular Mediators and Preeclampsia. De acuerdo al resultado obtenido con la estrategia de búsqueda más

la información complementaria el número final de artículos con los que se desarrolló la tesis es de 230 publicaciones.

A pesar de los avances en los cuidados y atención perinatal, la frecuencia de la preeclampsia no ha cambiado. La investigación que aborda este trastorno ha sido extensa en la última década, pero no se ha traducido en una mejora sustancial en los métodos de predicción, prevención o en la terapéutica de esta patología. Durante muchos años se ha considerado a esta condición como la enfermedad de las teorías, esto porque las múltiples hipótesis no han logrado explicar el cuadro en su totalidad. Sin embargo, actualmente se ha propuesto una estructura fisiopatológica compuesta por dos etapas. Una primera etapa asintomática, local, en la cual hay un estado hipóxico de la placenta, lo que determina una injuria de la misma, y una segunda etapa, sintomática, caracterizada por una respuesta inflamatoria sistémica exagerada y disfunción endotelial.

En cuanto a los mediadores moleculares derivados de la apoptosis placentaria, se ha observado que el plasma de mujeres con preeclampsia contiene más microfragmentos del sinciotrofoblasto, los cuales son capaces de inhibir la proliferación de las células endoteliales *in vitro* más que el plasma obtenido de embarazos normales. Se puede entonces resumir que los microfragmentos del sinciotrofoblasto de mujeres con preeclampsia se asocian con la disfunción de las células endoteliales.

Palabras Claves: Apoptosis, Preeclampsia y Placenta.

2. INTRODUCCIÓN

La preeclampsia complica entre el 2-8% de los embarazos y se asocia con una morbilidad y mortalidad significativa tanto para la madre como para el feto, pero se resuelve por completo después del parto.(Steeegers et al., 2010, Walker, 2000, Telang et al., 2013).

En Latinoamérica y el Caribe, los desórdenes hipertensivos son responsables de aproximadamente el 26 % de las muertes maternas, mientras que en África y Asia contribuyen con el 9 % de las muertes. Aunque la mortalidad materna es más baja en países con altos ingresos económicos que en países en vías de desarrollo, el 16 % de las muertes maternas pueden ser atribuidas a desórdenes hipertensivos. La incidencia de la preeclampsia ha aumentado en los Estados Unidos lo cual podría estar relacionado con un incremento en la prevalencia de ciertos desórdenes predisponentes, tales como hipertensión crónica, diabetes y obesidad. Algunos grupos étnicos (mujeres afroamericanas y filipinas) y el bajo estatus socioeconómico están asociados con un mayor riesgo de padecer preeclampsia. Además, la preeclampsia severa es la mayor causa de morbilidad severa materna y resultados perinatales adversos, tales como prematuridad y restricción del crecimiento intrauterino (Steeegers et al., 2010).

La preeclampsia se define como un desorden multisistémico de causa desconocida, que es exclusivo del embarazo. Se caracteriza por una respuesta vascular anormal a la placentación que está asociada con un incremento de la resistencia vascular sistémica, aumento de la agregación plaquetaria, activación del sistema de coagulación y disfunción endotelial. Desde el punto de vista clínico, esta patología es definida por la presencia de hipertensión (presión sanguínea diastólica ≥ 90 mm Hg) y proteinuria importante (≥ 300 mg en 24 hrs.) en o después de 20 semanas de gestación, aun cuando el diagnóstico de preeclampsia ya no requiere la detección de altos niveles de proteína en la orina (American College of et al., 2013). La historia clínica de la preeclampsia se puede manifestar como un síndrome materno (hipertensión y proteinuria con o sin otras anormalidades multisistémicas) o síndrome fetal (restricción del crecimiento fetal, reducción del fluido amniótico y oxigenación anormal). El desorden es heterogéneo porque la patogénesis puede diferir en mujeres que presenten factores de riesgos, es así como la patogénesis de la preeclampsia en mujeres nulíparas difiere de la de aquéllas

mujeres con enfermedad vascular preexistente, gestación múltiple, diabetes mellitus o preeclampsia previa (Sibai et al., 2005, Steegers et al., 2010, Baumwell and Karumanchi, 2007, Shah, 2005).

A pesar de los avances en cuidados perinatales, la frecuencia de la preeclampsia no ha cambiado. La investigación de este desorden ha sido extensa durante los últimos años pero no se ha traducido en mejoras importantes en métodos de predicción y de prevención. Un impedimento importante en el desarrollo de tales métodos es el pobre entendimiento de los mecanismos patológicos que conllevan a la preeclampsia (Sibai et al., 2005, Steegers et al., 2010). De hecho durante muchos años se ha considerado a esta patología como la enfermedad de las teorías, esto porque las múltiples hipótesis no lograban explicar el cuadro en su totalidad. Sin embargo, actualmente se ha propuesto una estructura fisiopatológica compuesta por dos etapas bien definidas que ayudan a entender este trastorno (Roberts and Lain, 2002). Diversos compuestos se han propuesto como mediadores de estas etapas fisiopatológicas, sin embargo, actualmente la evidencia destaca a tres moléculas que han demostrado participar activamente en la fisiopatología de la preeclampsia, tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*, y que son los que han generado las principales líneas de investigación. Éstos son los derivados del estrés oxidativo, los microfragmentos del sincitiotrofoblasto derivados de la apoptosis y los factores antiangiogénicos (Gupta et al., 2005).

Por otra parte, los criterios diagnósticos de esta enfermedad y sus subtipos no han sido estandarizados o bien han sido definidos y han variado entre los países y con el tiempo, sobre todo en los últimos 20 años. Sin embargo, los criterios han sido redefinidos y desde el año 2000 ha habido un acuerdo importante respecto a las definiciones recomendadas sobre la preeclampsia entre los grupos de trabajo internacional (Sibai et al., 2005, Steegers et al., 2010).

3. OBJETIVOS

Objetivo general

- El objetivo de este estudio es revisar la información existente en la literatura científica sobre los mecanismos moleculares implicados en la apoptosis placentaria en la preeclampsia.

Objetivos específicos

- Analizar las aproximaciones teóricas y las variables asociadas a la fisiopatología y patogénesis de la preeclampsia.
- Describir las distintas moléculas apoptóticas que participan en la transferencia del daño placentario hacia el territorio sistémico materno.
- Discutir las diferentes hipótesis que existen actualmente sobre la etiología de la preeclampsia.
- Dar origen a nuevas preguntas a partir de la visión integral de la información que ya se ha publicado.

4. METODOLOGIA

Recopilación de la información

- La base de datos que se consulta es: MedLine.
- Las palabras claves que contiene esta tesis bibliográfica, que guardan relación directa con los artículos que se emplearon para el desarrollo de este trabajo son: Apoptosis, Preeclampsia y Placenta.
- Los términos que se utilizaron en la búsqueda corresponden a:

Se utilizaron las conjunciones de lógica Booleana, por tanto, los términos fueron los siguientes: Preeclampsia and Apoptosis, Preeclampsia and Placenta, Placental Apoptosis and Preeclampsia, Physiopathology and Preeclampsia, Molecular Mediators and Preeclampsia.

- Esta búsqueda se realiza con los siguientes límites:

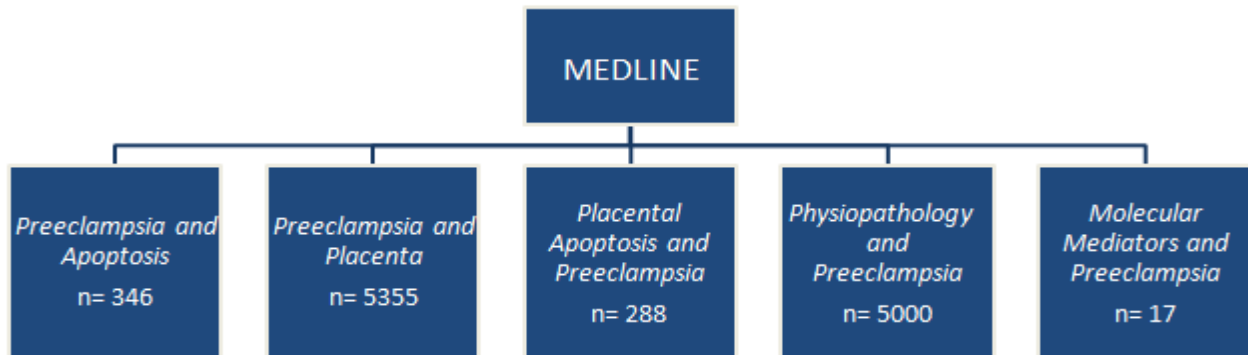
I. Estudios que incluyan texto completo

Elección de la información

- El filtro de estudios se realizó mediante la lectura de los abstract y títulos de los trabajos.
- Los criterios de inclusión son los siguientes:
 - I. Artículos relacionados con los mecanismos moleculares implicados en la apoptosis placentaria de la preeclampsia.
 - II. Artículos relacionados con la biología molecular de la preeclampsia tanto en sus dimensiones fisiopatológicas, clínica como de tratamiento.
 - III. Artículos cuyo diseño de investigación correspondan a revisiones, ensayos clínicos y estudios experimentales.
 - IV. Estudios realizados en humanos y animales.
 - V. Idioma inglés.
 - VI. Estudios cuya fecha de publicación sea del año 2000 hasta octubre de 2013.
 - VII. Estudios realizados en mujeres.
 - VIII. Estudios realizados en cualquier rango etáreo.

- La búsqueda total da una cantidad de 11.006 artículos (Ver Flujograma de Búsqueda), de los cuales se incluyeron aquéllos que aprobaron los criterios de inclusión.
- Luego de aplicar los criterios de inclusión que se pueden ingresar por medio de las opciones que entrega la base de datos Medline, el total de artículos fue de 1.292.
- Luego de aplicar nuevamente los criterios de inclusión y de realizar la lectura de los títulos y de los abstract, el número de artículos seleccionados fue de 176, de los cuales 16 no se pudieron obtener por problemas de acceso de tipo económico, por lo tanto, el número final de artículos corresponde a 160. Adicionalmente, se utilizaron 70 artículos (relacionados con la temática de la tesis pero que no arrojó la estrategia de búsqueda, obtenidos en la misma base de datos y otros sugeridos por docentes expertos en el área de estudio) considerando la importancia de complementar la información ya obtenida para el desarrollo posterior de la tesis. Por lo tanto, el número final de artículos con los que se desarrolló la tesis es de 230 papers.
- Además se utilizó para el desarrollo de la tesis el programa EndNote como organizador bibliográfico.

Flujograma de Búsqueda



5. SÍNDROME CLÍNICO Y FACTORES DE RIESGO

La preeclampsia se define como un desorden multisistémico, que es exclusivo del embarazo. Se caracteriza por una respuesta vascular anormal a la placentación que está asociada a un incremento de la resistencia vascular sistémica, aumento de la agregación plaquetaria, activación del sistema de coagulación y disfunción endotelial (Stegers et al., 2010, Baumwell and Karumanchi, 2007, Martin and Brown, 2010, Haugen et al., 2006). Desde el punto de vista clínico, la preeclampsia se define generalmente como un cuadro en cual se desarrolla hipertensión y proteinuria después de las 20 semanas de gestación en mujeres previamente normotensas (Telang et al., 2013, Gilbert et al., 2008, Hausvater et al., 2012). En la mayoría de los casos, los síntomas de la preeclampsia no son notables. Las pacientes pueden experimentar dolor de cabeza, edema, visión borrosa, dolor abdominal superior y ansiedad inexplicable. Los casos serios de preeclampsia pueden experimentar convulsiones. Anormalidades hepáticas, renales y de los mecanismos de coagulación también pueden estar presentes. Ciertos hallazgos, tales como ganancia importante de peso, disminución en la emisión de orina, náusea y dolor abdominal son razones para mirar con más atención el desarrollo de la preeclampsia (Telang et al., 2013, Carty et al., 2008, Kashiwagi et al., 2003). Aunque la preeclampsia se puede desarrollar en cualquier momento después de las 20 semanas de gestación, la enfermedad de inicio temprano es más severa y se caracteriza por altas tasas de bajo peso para la edad gestacional del neonato y altas tasas de recurrencia en comparación con la enfermedad de aparición tardía (Redman and Sargent, 2005).

La preeclampsia ha sido llamada la enfermedad de las teorías y los factores etiológicos aún no están completamente dilucidados (Chatterjee et al., 2011, Lynch and Salmon, 2010, Hung and Burton, 2006, Godoi et al., 2012), aunque la evidencia apoya la participación de factores inmunológicos, angiogénicos, genéticos y ambientales (Verlohren et al., 2012, Bdolah et al., 2005, Oudejans and van Dijk, 2008, Xie et al., 2010, Mignini et al., 2006). De lo que se tiene certeza y además existe un acuerdo común, es de que la preeclampsia requiere de la presencia de la placenta para su desarrollo, en particular, de las células trofoblásticas que sólo se encuentran en este tejido (Irminger-Finger et al., 2008, Redman and Sargent, 2005).

Actualmente, las mujeres en riesgo de desarrollar preeclampsia, son identificadas en base a factores de riesgo clínicos y epidemiológicos, (Dechend and Luft, 2008) entre los cuales se encuentran la etnia, la edad, la paridad, los embarazos múltiples, historia previa de preeclampsia y la historia familiar de preeclampsia (Telang et al., 2013, Redman and Sargent, 2005, Anderson et al., 2012). La preeclampsia es dos veces más común en mujeres primigestas (primerizas) que en las multíparas, sin embargo, con un cambio de pareja, el riesgo de una mujer multípara aumenta (Walker, 2000). En particular, factores masculinos parecen tener algún tipo de asociación de riesgo de engendrar un embarazo que desarrolle preeclampsia. Adicionalmente, las mujeres que quedan embarazadas con óvulos donados tienen una mayor frecuencia de preeclampsia que las mujeres embarazadas con sus propios óvulos (Walker, 2000). Por otra parte, paradójicamente el tabaquismo reduce el riesgo de padecerla (Redman and Sargent, 2005). Además, algunas enfermedades sistémicas también aumentan el riesgo, entre las cuales se encuentran la obesidad, diabetes mellitus, hipertensión preexistente, enfermedad renal, síndrome antifosfolipídico y ciertas enfermedades autoinmunes. Sin embargo, ninguno de ellos solos o en combinación pueden predecir la preeclampsia (Telang et al., 2013).

6. DIAGNÓSTICO DE LA PREECLAMPSIA

La preeclampsia se diagnostica en presencia de hipertensión arterial asociada a proteinuria (Brown et al., 2000, Roberts and Gammill, 2005), en una paciente que cursa un embarazo mayor a 20 semanas, sin historia previa de hipertensión arterial. Estos criterios diagnósticos requieren de algunas consideraciones:

-Hipertensión arterial en el embarazo: definida como presión sistólica mayor o igual a 140 mm Hg o presión diastólica mayor o igual a 90 mm Hg presentes en al menos 2 tomas y separadas por al menos 4-6 hrs. (Pennington et al., 2012) después de las 20 semanas de gestación en mujeres previamente normotensas. La hipertensión es considerada como severa si hay aumento constante de la presión sanguínea de al menos 160 mm Hg (sistólica) y al menos 110 mm Hg (diastólica) o ambas (Sibai, 2003, Walker, 2000, Buchbinder et al., 2002).

-Proteinuria: definida como la presencia de 300 mg o más de proteína en orina de 24 hrs. Si las muestras de orina de 24 hrs no están disponibles, la proteinuria se define como el hallazgo de al menos 1 + en la prueba de uroanálisis “urinary dipstick” en al menos dos muestras de orina separadas en al menos 4-6 hrs. Ambos criterios deben estar presentes al momento del diagnóstico (Sibai, 2003, Uzan et al., 2011).

En 2013, el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos retira la proteinuria como criterio esencial para el diagnóstico de preeclampsia. También ha eliminado la proteinuria masiva (5 gramos / 24 horas) y la restricción del crecimiento fetal como posibles características de una enfermedad grave porque la proteinuria masiva tiene una pobre correlación con los resultados al igual que la restricción del crecimiento fetal cuando la preeclampsia se diagnostica (American College of et al., 2013).

El diagnóstico exacto de la preeclampsia depende de las mediciones precisas de la presión arterial (la posición del brazo a la altura del corazón, tamaño del manguito y la calibración del equipo), lo cual cobra importancia sobre todo en mujeres obesas. En ausencia de proteinuria, la preeclampsia debería ser considerada cuando la hipertensión esté asociada con síntomas cerebrales persistentes, dolor epigástrico o en el cuadrante superior derecho del abdomen con náuseas o vómitos o con trombocitopenia y enzimas hepáticas anormales). Además, la preeclampsia se puede considerar severa en presencia

de compromiso multiorgánico, esto es, edema pulmonar, convulsiones, oliguria (menor a 500 ml por día), trombocitopenia (conteo plaquetario menor a 100.000 por μL), enzimas hepáticas anormales asociadas con dolor epigástrico persistente o en el cuadrante superior derecho del abdomen o síntomas neurológicos persistentes y severos (estado mental alterado, cefalea, visión borrosa o ceguera).

Los criterios tradicionales para confirmar el diagnóstico de preeclampsia son apropiados para usarlos en mujeres sanas y nulíparas. Adicionalmente, la hipertensión o la proteinuria podrían estar ausentes en el 10-15% de las mujeres que presentan hemólisis, enzimas hepáticas elevadas o bajo conteo plaquetario (por ejemplo, el síndrome HELLP) y en el 38% de las que desarrollan eclampsia. Estos signos están asociados con tasas sustancialmente altas de morbilidad materna y perinatal respecto de aquellas mujeres que presentan preeclampsia leve. Los criterios mencionados hasta ahora no son fiables en las mujeres que desarrollan hipertensión o proteinuria antes de las 20 semanas de gestación, sobre todo las que reciben medicamentos antihipertensivos. Debido a los cambios fisiológicos que llevan a un aumento de la presión arterial materna y a un aumento de la excreción proteica en la gestación avanzada, en tales mujeres, los criterios más estrictos deben ser usados para diagnosticar la preeclampsia, sobre todo en aquéllas con enfermedad microvascular.

En consecuencia, los marcadores para predecir y los métodos para prevenir la preeclampsia en estas mujeres son probablemente diferentes de los de las mujeres sanas y nulíparas. Por lo tanto, el conocimiento existente hasta ahora, se debe aplicar prudentemente, dado que continúa la búsqueda de futuros métodos para la predicción y prevención de la preeclampsia (Vatten et al., 2004, Sibai, 2003).

7. RESULTADOS MATERNOS Y PERINATALES

La preeclampsia es el mayor problema obstétrico conducente a morbilidad materna y perinatal en el mundo, especialmente en países en desarrollo. Los resultados maternos y perinatales de la preeclampsia dependen de uno o más de los siguientes factores: edad gestacional al momento del inicio de la enfermedad, severidad de la enfermedad, calidad del manejo y presencia o ausencia de desórdenes médicos preexistentes (Duley, 2003 Steegers et al., 2010, Hnat et al., 2002).

En general, los resultados maternos y perinatales suelen ser favorables en mujeres con preeclampsia leve quienes la desarrollan más allá de las 36 semanas de gestación. Por el contrario, la morbilidad materna y perinatal es mayor en las mujeres que desarrollan la enfermedad antes de las 33 semanas de gestación, en los pacientes con trastornos médicos preexistentes y en los países en desarrollo (Dekker et al., 2001) . Algunas complicaciones que se pueden observar en la preeclampsia severa son las siguientes:

Complicaciones Maternas

- Desprendimiento de placenta
- Coagulación Intravascular Diseminada
- Síndrome HELLP
- Edema Pulmonar Agudo
- Insuficiencia Renal Aguda
- Eclampsia
- Falla Hepática
- Accidente Vascular Encefálico
- Muerte materna

Complicaciones Perinatales

- Prematuridad
- Restricción de crecimiento fetal
- Daño neurológico-hipóxico
- Mortalidad perinatal

Varios estudios sugieren que mujeres que desarrollan preeclampsia tienen mayor riesgo de futuras complicaciones cardiovasculares. De hecho, muchos factores de riesgo y alteraciones fisiopatológicas de la preeclampsia son similares a los de la enfermedad coronaria. La resistencia a la insulina ha sido implicada como un factor común (Ramsay et al., 2003, Steegers et al., 2010).

Ramsay y colegas mostraron imágenes en vivo mediante el uso de láser doppler de la función microvascular alterada en mujeres de 15-25 años con embarazos complicados por preeclampsia. Por lo tanto, la disfunción microvascular, que se asocia con la resistencia a la insulina, podría predisponer tanto a enfermedad coronaria como a padecer preeclampsia. A través de los embarazos complicados con preeclampsia se puede identificar a las mujeres en situación de riesgo de desarrollar enfermedad vascular en la edad adulta y de esta forma, ofrecer la oportunidad de modificar el estilo de vida y los factores de riesgo (Sattar and Greer, 2002).

8. PREDICCIÓN Y PREVENCIÓN DE LA PREECLAMPSIA

La prevención de la preeclampsia significaría un gran paso hacia adelante en la atención y cuidados prenatales. La prevención en términos generales, puede tener tres connotaciones diferentes: primaria, secundaria, o terciaria. La prevención primaria significa evitar la aparición de una enfermedad. La prevención secundaria en el contexto de la preeclampsia, implica la ruptura del proceso de la enfermedad antes de la aparición del cuadro clínicamente reconocible. La prevención terciaria significa la prevención de las complicaciones causadas por el proceso de la enfermedad, y es por lo tanto, más o menos coincidente con el tratamiento (Dekker and Sibai, 2001).

Durante la última década, varios ensayos aleatorios han reportado el uso de diversos métodos para reducir la tasa o la gravedad o ambos de la preeclampsia. Los resultados de estos estudios han sido objeto de varias revisiones sistemáticas. En resumen, ha habido pocos ensayos que evalúen la restricción por ejemplo, de sal, magnesio, zinc, aceite de pescado y otros fármacos antihipertensivos para prevenir la preeclampsia en mujeres con diferentes factores de riesgos. Si bien los ensayos presentan tamaños de muestra limitados, sus resultados muestran beneficios mínimos o en algunos casos ningún beneficio. (Dekker and Sibai, 2001, Sibai et al., 2005).

8.1 Prevención primaria de la Preeclampsia

La mejor manera de hacer frente a una enfermedad es evitar que ésta suceda, y sólo es posible si se entiende la causa y si es factible evitar o manipular esas causas (Dekker and Sibai, 2001). La invasión del citotrofoblasto endovascular superficial en las arterias espirales, una respuesta inflamatoria exagerada y la activación inapropiada de las células endoteliales son características clave en la patogénesis de la preeclampsia. Pero los mecanismos detrás de estas características aún se desconocen (Granger et al., 2002, Kaufmann et al., 2003, Redman and Sargent, 2003, Myatt et al., 2012). Varios factores de riesgo han sido identificados y la manipulación de alguno de éstos podría permitir la prevención primaria. (Dekker and Sibai, 2001, Redman and Sargent, 2005, Anderson et al., 2012, Telang et al., 2013)

8.1.1 Exposición espermática

Una hipótesis sobre la causa de la preeclampsia es una mala adaptación inmune. El principal apoyo para esta hipótesis proviene de estudios epidemiológicos que muestran el efecto protector de la exposición espermática, el impacto del cambio de pareja y el incremento de la frecuencia de preeclampsia después de la inseminación artificial y de la donación de ovocitos (Dekker and Sibai, 2001, Bonney, 2007, Goldman-Wohl and Yagel, 2009).

Los efectos protectores de la exposición espermática de larga duración podrían proporcionar una explicación para la alta frecuencia de preeclampsia en embarazos adolescentes. Un estudio prospectivo llevado a cabo por Robillard y Hulsey sobre la relación entre exposición espermática y preeclampsia muestra que a medida que el período de convivencia de la pareja aumenta desde los cero y hasta los doce meses, disminuye de manera proporcional la probabilidad para el desarrollo de preeclampsia. La exposición espermática prolongada podría ser una medida preconcepcional para óptimos resultados del embarazo, similar al incremento en la ingesta preconcepcional de ácido fólico. Futuros estudios son necesarios para evaluar si diferentes vías de exposición espermática podrían tener efectos benéficos sobre los resultados del embarazo. A pesar de lo anterior, los mecanismos detrás de los efectos protectores de la exposición espermática aún son desconocidos (Dekker and Sibai, 2001, Forest et al., 2012).

8.1.2 Factor paterno

Generalmente la preeclampsia es considerada como una enfermedad del primer embarazo. Un embarazo normal previo está asociado con una frecuencia notablemente reducida de preeclampsia (Dekker, 2002). Los efectos protectores de la multiparidad, sin embargo, se pierden con los cambios de pareja. Robillard y cols. (Robillard et al., 1999) sugieren usar el término primipaternidad en vez de primigravidez para describir los patrones epidemiológicos de la preeclampsia. Basados en datos de la población noruega, entre 1967 y 1992, se confirma claramente el impacto del factor paterno en el riesgo del desarrollo de preeclampsia. Los hombres que engendraron un embarazo con preeclampsia tenían casi el doble de probabilidades de engendrar un embarazo con

preeclampsia en una mujer diferente, independientemente de si ella ya había tenido un embarazo con preeclampsia (Dekker and Sibai, 2001).

8.1.3 Edad materna

El riesgo de preeclampsia en un segundo embarazo aumenta con la edad materna (1,3 por cada 5 años de aumento de la edad; $p < 0,0001$) y con el intervalo de tiempo entre embarazos (1,5 por cada 5 años de intervalo entre el primer y el segundo embarazo; $p < 0,0001$). Traducido en términos de prevención primaria, estos hallazgos sugieren que es mejor quedarse con la misma pareja, si el primer embarazo no fue complicado por la preeclampsia, de tener embarazos sólo con hombres de bajo riesgo, y de tener hijos a una edad en que el endotelio es todavía capaz de hacer frente al estrés inflamatorio asociado con el embarazo (Dekker and Sibai, 2001).

8.1.4 Tabaquismo

El tabaquismo se asocia con una disminución del 30-40% en el riesgo de preeclampsia (Conde-Agudelo and Belizan, 2000). Sin embargo, este beneficio se anula por el efecto negativo sustancial del consumo de tabaco en el crecimiento fetal, riesgo de desprendimiento de placenta, y la salud general. No obstante, la comprensión de los mecanismos de los efectos preventivos del tabaquismo sobre la preeclampsia podría ayudar a dilucidar aspectos importantes de su fisiopatología. Los efectos beneficiosos podrían ser mediados por la nicotina a través de la inhibición de la Interleucina-2 y del Factor de Necrosis Tumoral por las células mononucleares (Dekker and Sibai, 2001, Redman and Sargent, 2005, Sibai et al., 2005).

8.2 Prevención secundaria de la Preeclampsia

La prevención secundaria de una enfermedad sólo es posible si se reúnen los siguientes tres requerimientos: conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos, disponibilidad de métodos de detección temprana y medios de intervención y corrección de los cambios fisiopatológicos (Dekker and Sibai, 2001)

8.2.1 Disponibilidad de métodos de detección temprana

En los últimos años ha aumentado considerablemente nuestra comprensión de los mecanismos subyacentes de la preeclampsia, lo cual ha permitido un enorme progreso en términos del desarrollo de marcadores y métodos para predecir y diagnosticar la preeclampsia, sin embargo, la introducción de estos marcadores eficaces en la predicción rutinaria de esta enfermedad avanza muy lentamente (Orendi et al., 2011, George and Granger, 2011). La medición de la presión sanguínea o de la presión arterial media del segundo trimestre no es útil para el diagnóstico temprano de la preeclampsia. Si un aumento de la presión sanguínea diastólica o de la presión arterial media del segundo trimestre predice algo, es una hipertensión gestacional, no la real preeclampsia. Además, la ganancia de peso no puede ser usada para predecir el desarrollo de desórdenes hipertensivos inducidos por el embarazo y la ganancia excesiva de peso, por sí sola no predice un pronóstico adverso en cuanto a resultados perinatales (Dekker and Sibai, 2001).

El aclaramiento del ácido úrico cae desproporcionalmente en la preeclampsia en comparación con el aclaramiento de creatinina y urea. La función tubular del riñón es la primera en estar implicada y más tarde en el transcurso de la enfermedad la función glomerular se ve afectada. En la mayoría de las pacientes el aumento de las concentraciones de urato parece coincidir con el aumento de la presión arterial y precede al desarrollo de la etapa de proteinuria (un signo de daño glomerular) de la enfermedad. La baja sensibilidad en la mayoría de los estudios de medición de ácido úrico la hace inútil para su uso generalizado (Dekker and Sibai, 2001, Steegers et al., 2010, Bainbridge and Roberts, 2008).

La proteinuria es un signo tardío de desórdenes hipertensivos inducidos por el embarazo y el síndrome HELLP (hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y trombocitopenia) y la eclampsia pueden ocurrir en ausencia de proteinuria. Después de la medición de la presión sanguínea, el análisis del dipstick de proteinuria es la prueba de screening más común para la preeclampsia (Dekker and Sibai, 2001). Sin embargo, no es un buen marcador de severidad de la preeclampsia y por tanto, esta medición no debería guiar el manejo de esta patología (Steegers et al., 2010).

Varios estudios han demostrado un gran número tanto de falsos positivos como de falsos negativos cuando el análisis del dipstick de orina se compara con el análisis bioquímico de la excreción de proteína total en colecciones de 24 horas. La baja sensibilidad y especificidad y el hecho de que la proteinuria es una característica tan tardía de la enfermedad, hacen que el uso rutinario del dipstick en una población normotensa de bajo riesgo sea una medida ineficaz en la predicción de la preeclampsia como la medición de la ganancia de peso materno. Sin embargo, el dipstick es fácil de usar y barato y el objetivo de utilizarlo es ayudar en el diagnóstico oportuno de la preeclampsia (no para la predicción tardía de la preeclampsia), especialmente en aquellos pacientes con incrementos límites en la presión arterial y en los pacientes con un alto riesgo como los que presentan hipertensión crónica. Sin embargo, los profesionales de la salud que utilizan dipsticks deberían estar informados de las altas tasas de falsos negativos (Dekker and Sibai, 2001).

Las mujeres con una disminución en la concentración de α -fetoproteína sérica materna en el segundo semestre cuyos fetos no tienen defectos del tubo neural, tienen un incremento del riesgo de: muerte fetal, nacimiento de un bebé que es pequeño para la edad gestacional y parto de pretérmino (van Rijn et al., 1999). Una asociación similar podría existir entre la gonadotropina coriónica humana y la muerte fetal, preeclampsia, parto de pretérmino y la patología placentaria. La concentración elevada de α -fetoproteína sérica materna y de gonadotropina coriónica humana se cree que reflejan alguna patología placentaria temprana (Dekker and Sibai, 2001). Sin embargo, en otros estudios como el de Wald y Ashour (Wald et al., 2006) en donde la sensibilidad de estos marcadores fue baja a moderada, se plantea la utilidad limitada de ambos para el propósito clínico de la predicción de la preeclampsia (Baumann et al., 2007).

Altas concentraciones de hemoglobina y hematocrito materno están asociadas con bajo peso al nacer y bajo peso placentario, además de un incremento en la frecuencia de prematuridad, mortalidad perinatal, así como hipertensión materna. Las mediciones de hemoglobina y hematocrito son usadas para monitorizar embarazos con alto riesgo de insuficiencia uteroplacentaria. Incrementos importantes en la concentración de hemoglobina en el segundo trimestre, podrían predecir el desarrollo de desórdenes hipertensivos inducidos por el embarazo (Dekker and Sibai, 2001).

La concentración de proteínas circulantes en sangre materna tales como el Factor de Crecimiento Placentario (PlGF), Endoglina soluble y la Proteína tirosina kinasa 1 soluble similar a fms (sFlt-1) se ve alterada semanas antes de la aparición de los síntomas clínicos de la enfermedad (Than et al., 2008, Smets et al., 2006). Esta información coincide con lo que plantea una revisión del 2010 realizada por Lapaire y cols. donde se evalúa las aplicaciones clínicas de algunos biomarcadores de preeclampsia, en ella se señala que el aumento de sFlt-1 y la disminución de PlGF precede a los síntomas clínicos por 5-10 semanas o más, empezando el sFlt-1 a subir en las semanas 16-20 de gestación y a disminuir el PlGF ya en el primer trimestre, especialmente en aquellas mujeres con parto prematuro por la preeclampsia. Estos datos coinciden con los mostrados por otros trabajos de Levine y cols. donde se señala que las concentraciones de sFlt-1 comienzan a aumentar abruptamente cerca de cinco semanas antes de la aparición de las manifestaciones clínicas de la enfermedad junto con una disminución de los niveles de PlGF (Lapaire et al., 2010, Levine et al., 2004). En un estudio prospectivo realizado en 2008 con 52 mujeres preeclámpicas, De Vivo y cols. luego de analizar marcadores para predecir la preeclampsia, concluyen que la endoglina, el PlGF y la sFlt-1 podrían ser usados como biomarcadores para la predicción de la enfermedad, pero tanto la sFlt-1 como el PlGF parecen ser más exactos (De Vivo et al., 2008).

La invasión defectuosa del trofoblasto es una de las características claves de la preeclampsia y de la mayoría de los casos de restricción del crecimiento intrauterino (Dekker and Sibai, 2001, Myatt et al., 2012, Gebb and Dar, 2011). La utilidad de los estudios doppler del flujo uterino/uteroplacentario han sido debatidos en los últimos 15 años debido a diferencias en los lugares anatómicos de medición, los índices usados para describir una onda anormal y los resultados de la mediciones para los que la prueba es predictiva. Además, existen múltiples investigaciones en la literatura en donde han sido evaluados diferentes parámetros, tales como, el índice de pulsatilidad, índice de resistencia y la presencia o no de un notch o un notch bilateral. Entre esos estudios destacan el de Chien y cols.(Chien et al., 2000) que luego de realizar una revisión sistemática rigurosa de 27 estudios y 12.994 participantes, concluyen que la evaluación del doppler de arteria uterina tiene una habilidad limitada como tamizaje para la preeclampsia (Dekker and Sibai, 2001). Un estudio de cohorte de 2012 de Myatt y cols. señala que en una población de mujeres nulíparas de bajo riesgo las mediciones de

ultrasonido doppler aplicadas en el segundo trimestre muestran una pobre sensibilidad (43%) en la predicción de la preeclampsia, sin embargo, concluyen que la técnica tiene utilidad en identificar una pobre invasión del trofoblasto en las arterias espirales de una magnitud que compromete severamente el flujo uteroplacentario (Myatt et al., 2012). En una revisión de 2011 realizada por Gebb y cols. donde se evalúa el ultrasonido doppler color del flujo sanguíneo de las arterias espirales como herramienta de predicción de la preeclampsia y de la restricción del crecimiento intrauterino, se concluye que el doppler de las arterias uterinas en el primer y segundo trimestre de embarazo puede predecir una cierta proporción de las mujeres que desarrollarán preeclampsia y restricción del crecimiento intrauterino, pero con escasa sensibilidad (24%), lo que limita su utilidad como método de tamizaje en poblaciones de bajo riesgo. No obstante, en la misma revisión, los autores señalan que la angiografía con power doppler en tres dimensiones (3DPD) del espacio de circulación uteroplacentario puede proporcionar un método de detección más eficaz para la preeclampsia y el retraso del crecimiento intrauterino en el futuro (Gebb and Dar, 2011).

La valoración del índice de Pulsatilidad (IP) en las arterias uterinas constituye una herramienta predictiva utilizada en obstetricia. Representa la medida de la resistencia al flujo sanguíneo en los territorios distales a los vasos estudiados evaluada mediante la técnica ecográfica Doppler. Papageorghio en su estudio realizado entre las 22-24 semanas, muestra que un índice de pulsatilidad (IP) sobre el p95, presenta una sensibilidad de 41% para la pesquisa de preeclampsia, pero para los casos de patología severa (que requirieron interrupción del embarazo antes de las 34 semanas), la sensibilidad fue de 84% (Papageorghiou et al., 2001).

Una revisión de Pedrosa y Matias llevada a cabo en 2011 sobre test de tamizaje para la detección de preeclampsia combinando el doppler de arteria uterina con otros marcadores séricos, sugiere que en el primer trimestre un tamizaje exacto para la preeclampsia temprana requiere probablemente la combinación de varios marcadores (Pedrosa and Matias, 2011). Esto coincide con lo que planteaban algunos autores en años anteriores, tales como Dekker y Sibai en 2001, o algunos en años más recientes como Than y Romero en 2008, quienes señalaron que el origen multifactorial de la preeclampsia sugiere que es muy poco probable que exista una única prueba universal para predecir todas las formas de preeclampsia (Dekker and Sibai, 2001, Than et al.,

2008). Según lo anterior, al parecer existiría un punto de convergencia, respecto al hecho de que la combinación de varios biomarcadores puede mejorar aún más la precisión diagnóstica y predictiva para detectar mujeres embarazadas con preeclampsia (Lapaire et al., 2010, Hahn et al., 2011).

8.2.2 Métodos de intervención y corrección de los cambios fisiopatológicos

Los suplementos de calcio y las bajas dosis de aspirina han sido ampliamente evaluados en los últimos años como estrategias de prevención secundaria al momento de abordar esta enfermedad (Dekker and Sibai, 2001, Savaj and Vaziri, 2012). Algunos estudios epidemiológicos han sugerido que la frecuencia de preeclampsia/eclampsia es inversamente proporcional a la ingesta nutricional de calcio. Una revisión de la Cochrane Library sobre el suplemento con calcio incluye nueve estudios y sobre 6000 mujeres (Atallah et al., 2000). Los datos muestran una disminución moderada en el riesgo de preeclampsia. Los efectos fueron mayores en mujeres con alto riesgo de hipertensión y aquellas con una ingesta basal de calcio baja (para aquellas con una adecuada ingesta de calcio las diferencias no fueron significativas). El beneficio del suplemento de calcio para la prevención de la preeclampsia en mujeres con baja ingesta de calcio aún sigue siendo poco claro (Sibai et al., 2005, Steegers et al., 2010).

La mayoría de los trabajos que investigan la prevención de la preeclampsia han usado dosis bajas de aspirina (500-1500 mg/L). La justificación para recomendar dosis bajas de aspirina es que el vasoespasmo y las anomalías de la coagulación en el desorden son causados en parte, por un desequilibrio en la relación tromboxano A₂/prostaciclina. El tratamiento a dosis bajas de aspirina en el embarazo inhibe la biosíntesis del tromboxano A₂ plaquetario con poco efecto sobre la producción de prostaciclina vascular, alterando así el equilibrio en favor de la prostaciclina y previniendo el desarrollo de preeclampsia (Sibai et al., 2005). Una actualización de una revisión sistemática Cochrane sobre la efectividad y seguridad de fármacos antiplaquetarios (principalmente aspirina) para la prevención de la preeclampsia incluyó 51 trabajos, en ellos se observa que el riesgo de la enfermedad asociada con el uso de fármacos antiplaquetarios se redujo en un 19%, de los cuales 28 ensayos informaron de parto prematuro. Hubo una pequeña reducción (7 %) en el riesgo de parto antes de las 37 semanas completas. Las muertes fetales o neonatales fueron reportadas en 38

ensayos (Knight et al., 2000). Las conclusiones fueron que los fármacos antiplaquetarios, principalmente la aspirina en dosis bajas, tienen beneficios bajos a moderados cuando se utilizan para prevenir la preeclampsia (Sibai et al., 2005). Estos hallazgos son consistentes con los encontrados en un metaanálisis sobre agentes antiplaquetarios para la prevención de la preeclampsia realizado por Askie y cols. en 2007, donde se plantea que los agentes antiplaquetarios, entre ellos la aspirina, durante el embarazo están asociados con reducciones moderadas pero consistentes en el riesgo relativo de preeclampsia, parto antes de 34 semanas de gestación y de tener un embarazo con un resultado adverso grave (Askie et al., 2007). Por lo tanto, el uso de aspirina para prevenir la preeclampsia, debe basarse en la evaluación del riesgo individual de cada paciente, y cuando se prescribe, las dosis van entre los 50-150 mg/día (Sibai et al., 2005, Yu et al., 2003).

Por otra parte, los efectos benéficos de las vitaminas antioxidantes C y E, sobre el estrés oxidativo, la activación endotelial y la frecuencia de preeclampsia han sido evaluados por varios trabajos. Sin embargo, existe evidencia insuficiente para poder establecer algún tipo de recomendación (Dekker and Sibai, 2001, Sibai et al., 2005).

8.3 Prevención terciaria de la Preeclampsia

Sin lugar a dudas, la atención prenatal adecuada es la parte más importante de la prevención terciaria. Debe haber un esfuerzo para desarrollar sistemas de cuidado prenatal que permitan una vigilancia estrecha y fácil para todas las mujeres embarazadas en riesgo, así como también una mayor atención para identificar a los pacientes con factores de riesgo que eventualmente puedan desarrollar esta patología (Dekker and Sibai, 2001, Sibai et al., 2005). El control materno prenatal incluye la identificación de las mujeres en alto riesgo, la detección temprana por el reconocimiento de signos y síntomas clínicos y de la progresión de la condición a un estado grave (Sibai et al., 2005). El objetivo del tratamiento de una mujer embarazada con preeclampsia es la prevención de las complicaciones, es decir, la prevención terciaria. Existe un consenso de que el tratamiento farmacológico de la hipertensión severa en el embarazo es necesario y beneficioso para la madre afectada (Dekker and Sibai, 2001).

La restricción del crecimiento intrauterino (IUGR) se cree que es uno de los principales riesgos del aumento de la presión arterial materna en la preeclampsia. Sin embargo,

aunque la asociación es muy común, no es la presión sanguínea la que daña al feto (Dekker and Sibai, 2001).

Para la prevención de convulsiones recurrentes en las mujeres con eclampsia, el magnesio es más eficaz y tiene menos riesgos que la fenitoína y diazepam. El papel de la profilaxis del magnesio en mujeres con preeclampsia es poco claro. (Dekker and Sibai, 2001). No obstante, en un estudio realizado por Abad et al. se concluye que el sulfato de magnesio puede proporcionar protección contra el daño oxidativo de las membranas plasmáticas a través de interacciones con radicales alquilo (Abad et al., 2014).

En la siguiente tabla se resumen los métodos de prevención más comúnmente estudiados en el abordaje de esta patología del embarazo:

	Resultados en el embarazo	Recomendaciones
Dieta y ejercicio (I), Restricción de proteínas o sal (II)	Ninguna reducción en la preeclampsia	Evidencia insuficiente para recomendar
Suplementación con magnesio o zinc (I)	Ninguna reducción en la preeclampsia	No recomendado
Suplementación con aceite de pescados y otras fuentes de ácidos grasos	Ningún efecto en las poblaciones de bajo riesgo o de alto riesgo	Evidencia insuficiente para recomendar
Suplementación con calcio (I)	Reduce la preeclampsia en las pacientes de alto riesgo y en aquéllas con ingesta baja de calcio en la dieta. Ningún efecto en el resultado perinatal.	Recomendada para mujeres que tienen alto riesgo de desarrollar hipertensión gestacional y en comunidades con baja ingesta de calcio en la dieta.
Dosis bajas de aspirina (I)	19% de reducción en riesgo de preeclampsia 16% de reducción en muertes fetal o neonatal	Considerar en poblaciones de alto riesgo
Heparina o heparina de bajo peso molecular (III-3)	Reducción de preeclampsia en mujeres con enfermedad renal y en mujeres con trombofilia.	Falta de ensayos clínicos controlados randomizados. No recomendado
Vitaminas antioxidantes (C,E) (II)	Reduce preeclampsia en un ensayo	Evidencia insuficiente para recomendar
Medicamentos antihipertensivos en mujeres con hipertensión crónica	Riesgo de desarrollar hipertensión grave se reduce a la mitad, pero no el riesgo de desarrollar preeclampsia	No hay evidencia para recomendar la prevención

Niveles de evidencia (I-IV) indicados por el grupo de trabajo preventivo de EE.UU.

Tabla 1: Métodos para prevenir la preeclampsia (Modificado de Sibai et al., 2005)

9. MANEJO DE LA PREECLAMPSIA

Después del diagnóstico, el posterior tratamiento dependerá de los resultados de la evaluación inicial materna y fetal y por tanto, debería llevarse a cabo de forma individualizada. El principal objetivo del manejo de la preeclampsia debe ser siempre la seguridad de la madre. Aunque el parto siempre es apropiado para la madre, podría no ser mejor para un feto muy prematuro. La decisión entre el parto y el manejo expectante depende de la edad gestacional del feto, del estado del feto y de la severidad de la condición materna al momento de la evaluación (Sibai et al., 2005, Sibai, 2003, Kanayama, 2003). Este objetivo se puede lograr por la formulación de un plan de manejo que contemple uno o más de los siguientes aspectos: edad gestacional del feto, estado de la madre y del feto al momento de la evaluación inicial, presencia de parto o la rotura de la membrana fetal (Sibai et al., 2005, Sibai, 2003).

En general, las mujeres con enfermedad leve a las 38 semanas de gestación o más, tienen un resultado del embarazo similar al observado en embarazos normotensos, por lo tanto, estos pacientes deben someterse a la inducción del trabajo de parto. La inducción del trabajo de parto también es recomendada para las mujeres que están en o más allá de las 34 semanas de gestación, en presencia de preeclampsia grave, ruptura de membranas, pruebas anormales del feto, ya que la madre presenta un riesgo levemente aumentado para desarrollar desprendimiento de la placenta y de una progresión hacia eclampsia (Sibai et al., 2005, Sibai, 2003). En aquellas mujeres en la cuales no está recomendada la inducción del parto, la monitorización cercana materno-fetal es esencial. El tipo de prueba y la frecuencia de la evaluación dependerán de la edad gestacional del feto, de la severidad de la condición de la madre, y la presencia o ausencia de restricción del crecimiento fetal. Estas pruebas se deben repetir con prontitud en caso de empeoramiento de la madre (progresión a enfermedad grave) o de la condición fetal (movimiento reducido o sospecha de restricción del crecimiento) (Sibai et al., 2005, Sibai, 2003).

9.1 Manejo expectante de la Preeclampsia severa

El curso clínico de la preeclampsia severa puede estar caracterizado por deterioro progresivo tanto de las condiciones del feto como de la madre (Sibai et al., 2005). Debido a que estos embarazos se han asociado con altas tasas de morbilidad y mortalidad materna y con un elevado riesgo para el feto, a tales pacientes se les debería inducir el parto si la enfermedad se desarrolla después de las 34 semanas de gestación (Haddad et al., 2004). El parto está también claramente indicado cuando el cuadro evoluciona a una eclampsia inminente (síntomas severos, persistentes), disfunción multiorgánica, restricción del crecimiento intrauterino severo, sospecha de desprendimiento de placenta o pruebas anormales del feto antes de las 34 semanas de gestación. Sin embargo, no hay acuerdo sobre el tratamiento de la preeclampsia grave antes de las 34 semanas de gestación si la condición materna es estable y la condición fetal es tranquilizadora (Churchill and Duley, 2002, Vigil-De Gracia et al., 2003). Una revisión Cochrane sobre manejo intervencionista versus manejo expectante establece que no se pueden sacar conclusiones categóricas, ya que sólo dos ensayos pequeños (n = 133) han comparado una estrategia de parto electivo temprano con la de parto aplazado (Sibai et al., 2005). Sin embargo, la evidencia está prometiendo que a corto plazo la morbilidad para el recién nacido podría ser reducida por una estrategia de tratamiento expectante (Vigil-De Gracia et al., 2003, Haddad et al., 2004).

9.2 Tratamiento con fármacos antihipertensivos

El tratamiento de la hipertensión aguda debe prevenir posibles complicaciones cerebrovasculares y cardiovasculares, que son la causa más común de mortalidad y morbilidad materna en países desarrollados (Sibai et al., 2005). Aunque el uso de fármacos antihipertensivos en mujeres con preeclampsia ha demostrado prevenir problemas cerebrovasculares, dicho tratamiento no previene o altera el curso natural de la enfermedad en mujeres con preeclampsia leve (Sibai, 2003). Una revisión Cochrane que incluyó 40 estudios, donde se evalúa el efecto de fármacos antihipertensivos sobre mujeres preeclámpticas, concluye que no queda claro si el tratamiento con fármacos antihipertensivos para la hipertensión leve a moderada durante el embarazo es importante (Abalos et al., 2007).

A veces se recomienda el tratamiento antihipertensivo para valores sostenidos de presión arterial sistólica de al menos 160 mm Hg y una presión diastólica sostenida de al menos 110 mm de Hg. La hidralazina parenteral, el labetalol y el nifedipino oral de acción corta son los medicamentos más comúnmente utilizados para el control agudo de la hipertensión severa en mujeres con preeclampsia. Sin embargo, la hidralazina intravenosa es considerada como el primer fármaco de elección para este fin por varios grupos (Brown et al., 2000, Sibai et al., 2005). Magee y cols. realizaron un metaanálisis de 21 estudios (n = 893); ocho compararon la hidralazina con el nifedipino, y cinco compararon la hidralazina con el labetalol. La hidralazina fue asociada con efectos secundarios significativamente mayores para la madre y con los peores resultados maternos y perinatales que cualquiera de los otros dos fármacos. Los investigadores concluyeron que se necesitan ensayos clínicos con poder estadístico adecuado para comparar el labetalol con el nifedipino para el tratamiento de la hipertensión severa en mujeres con preeclampsia (Sibai et al., 2005). En los resultados de otra revisión Cochrane no se apoya la elección de un agente antihipertensivo sobre otro para el manejo de la hipertensión severa del embarazo, concluyendo que la elección debe depender de la experiencia del clínico con un fármaco específico (Steegers et al., 2010).

9.3 Uso de corticosteroides para mejorar los resultados del embarazo en mujeres con preeclampsia severa o síndrome HELLP

Ha habido incertidumbre sobre la eficacia y seguridad de los corticosteroides en mujeres con preeclampsia grave con o sin síndrome HELLP (Sibai, 2003). Un ensayo prospectivo, aleatorizado, doble ciego, de 218 mujeres con preeclampsia grave y edad gestacional entre 26 y 34 semanas analizó los efectos de los corticosteroides. Las mujeres fueron asignadas ya sea al grupo de tratamiento con betametasona o al grupo placebo. Los resultados mostraron una reducción significativa en la tasa de síndrome de dificultad respiratoria en el grupo de los esteroides. Además el uso de corticosteroides también fue asociado con un menor riesgo de hemorragia intraventricular neonatal, infección y muerte neonatal. En dicho estudio no se observaron diferencias significativas en las complicaciones maternas entre los dos grupos (Sibai et al., 2005).

Por otra parte, cuatro ensayos compararon el tratamiento con dexametasona con un tratamiento estándar sólo en mujeres con síndrome HELLP (complicación obstétrica severa caracterizada por anemia hemolítica, elevación de enzimas hepáticas y trombocitopenia). Los resultados muestran que no hubo casos con hematoma hepático, edema pulmonar, insuficiencia renal, o desprendimiento de placenta en ninguno de los grupos y no hubo diferencia en la morbilidad perinatal. Considerando el pequeño tamaño de las muestras, los estudios no mostraron evidencia que apoya o refute el uso de esteroides en el síndrome HELLP antes y después del parto para reducir la mortalidad materna y perinatal. Sin embargo, los datos apoyan la eficacia y seguridad de los corticosteroides para reducir complicaciones neonatales en mujeres con preeclampsia grave con 34 o menos semanas de gestación (Sibai et al., 2005).

9.4 Expansión del volumen plasmático

Algunas mujeres con preeclampsia severa tienen un restringido volumen de circulación plasmático que además es hemoconcentrado (Sibai et al., 2005). Esto ha llevado a la recomendación de que el volumen de circulación plasmático debe expandirse, ya sea con coloides o soluciones cristaloides, para mejorar la circulación sistémica materna y la circulación uteroplacentaria. Sin embargo, la expansión del volumen intravascular conlleva a un grave riesgo de sobrecarga del volumen de sangre, lo que podría conducir a un edema pulmonar o cerebral. Además, una gran expansión de volumen a menudo requiere monitoreo invasivo de la presión intravascular, que incluye procedimientos con riesgos propios (Heilmann et al., 2001). Tres pequeños estudios (n = 61) compararon una solución coloidal con una solución placebo. Aunque las muestras son demasiado pequeñas para obtener conclusiones confiables, los hallazgos sugieren que la expansión del volumen plasmático no es beneficiosa (Steegers et al., 2010). En vista de los riesgos de tal enfoque, el uso de soluciones coloidales se debe evitar hasta que datos de grandes ensayos aleatorios estén disponibles (Heilmann et al., 2001, Sibai et al., 2005).

A pesar de que no existe un tratamiento definitivo para abordar esta patología, y con el fin de orientar a los clínicos en el manejo de pacientes con preeclampsia, se ha propuesto el siguiente algoritmo de decisiones (Sibai et al., 2005):

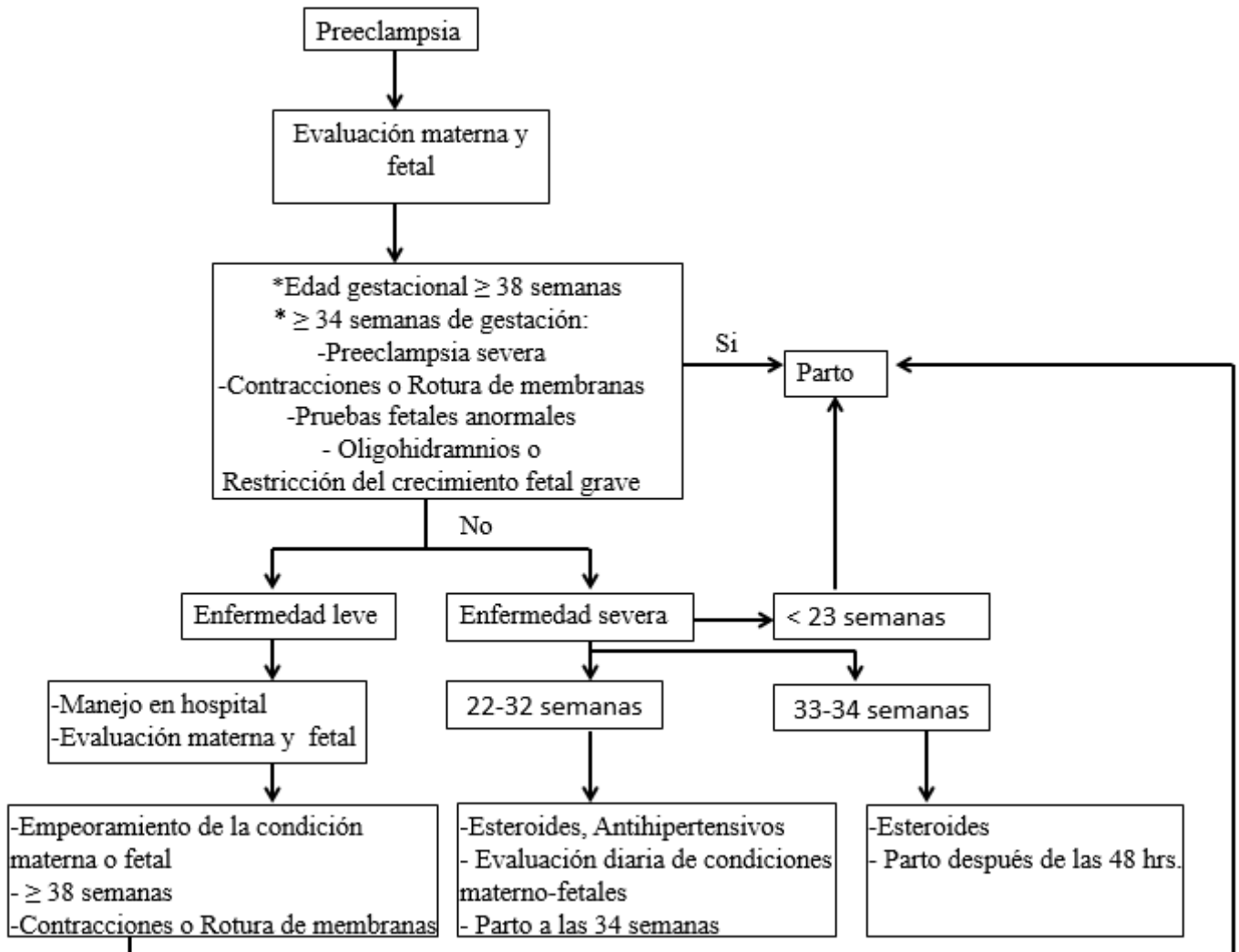


Tabla 2: Algoritmo de decisiones para el tratamiento de la preeclampsia (Modificado de Sibai et al., 2005)

10. FISIOPATOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA

10.1 Generalidades de la implantación y de la placentación

El desarrollo embrionario humano antes de la implantación se caracteriza por una alta frecuencia de divisiones celulares. Sin embargo, el embrión sufre muy poca expansión de volumen (Huppertz and Herrler, 2005). Durante la fase de mórula, ocurre la diferenciación en dos linajes celulares. En el momento de la tercera división de la segmentación, el conjunto más externo de células forma uniones estrechas entre las propias células que lo conforman, lo que lleva a la compactación del embrión. Desde esta etapa en adelante, la capa externa de células se diferencia de una manera diferente en comparación a las células internas. Mientras que la capa externa de células forma el trofoblasto, que es crucial para el desarrollo de la placenta, la masa celular interna dará más tarde origen al embrión, así como al mesodermo extraembrionario que forma el estroma, la parte no epitelial de la placenta (Huppertz and Herrler, 2005, Vatish et al., 2006). En el día 7 postconcepcional, el blastocisto consiste en una sola capa de células trofoblásticas mononucleadas que rodea al blastocele y la masa celular interna (Huppertz et al., 2006). La adhesión del blastocisto es realizada por células trofoblásticas mononucleadas (figura1A). Sólo en el sitio de adherencia y contacto directo con el epitelio uterino materno las células trofoblásticas hacen fusión sincicial para formar el primer sinciotrofoblasto multinucleado (figura1B). En este punto el trofoblasto se ha diferenciado en dos poblaciones diferentes: el citotrofoblasto mononucleado y el sinciotrofoblasto multinucleado (figura1C). Sólo entonces comienza la placenta a desarrollarse (Huppertz and Herrler, 2005).

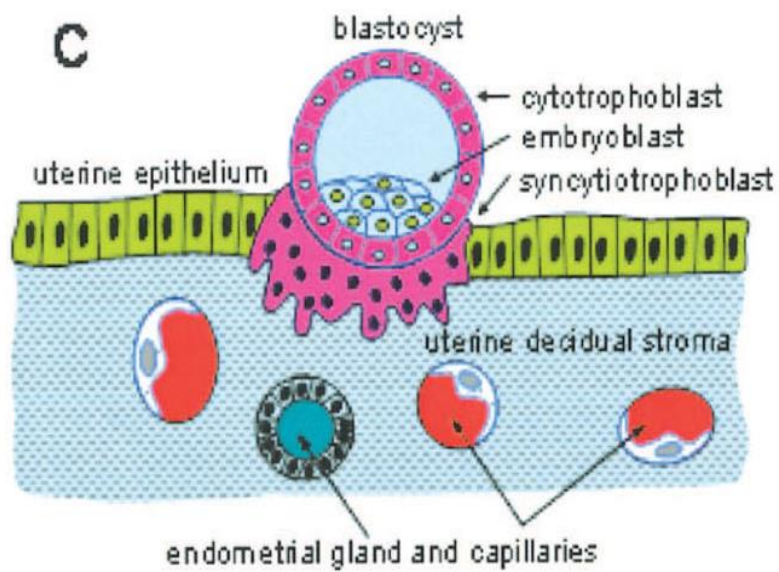
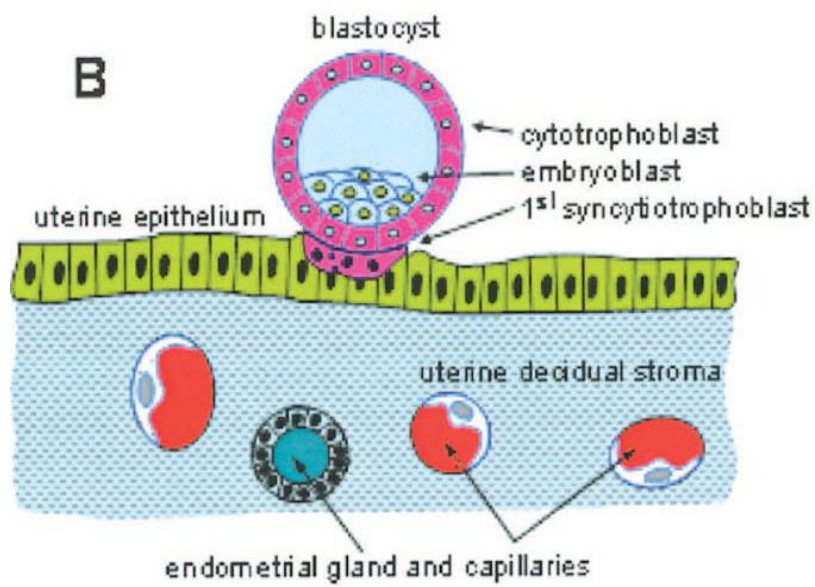
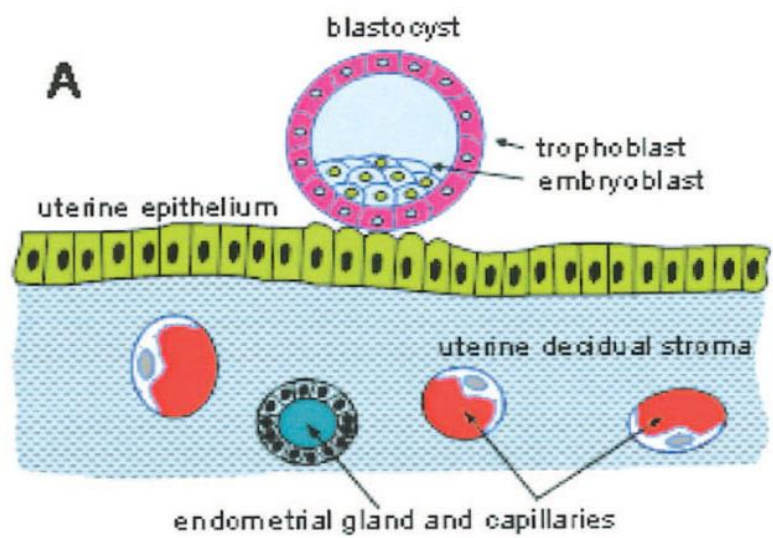


Figura1. Representación esquemática de la implantación del blastocisto. 1A: Se observa que la capa de células trofoblásticas mononucleadas circundantes a la masa celular interna (embrioblasto) es crucial para la adherencia y adhesión del blastocisto. **1B:** Se observa que en el sitio de adherencia del blastocisto, las células trofoblásticas se fusionan para formar el primer sinciotrofoblasto oligonucleado. **1C:** Se observa que además de la proliferación y fusión de las células trofoblásticas se produce la expansión del sinciotrofoblasto. Adicionalmente, se observa que el trofoblasto se ha diferenciado en dos poblaciones diferentes: el citotrofoblasto mononucleado y el sinciotrofoblasto multinucleado (Extraído de Huppertz and Herrler, 2005).

El tejido placentario deriva de la capa externa del blastocisto, esto es el trofoblasto y el mesodermo extraembrionario del embrión mismo. El trofoblasto da origen al trofoblasto veloso, es decir el epitelio del árbol veloso placentario y la parte invasiva de la placenta, esto es el trofoblasto extraveloso (Huppertz, 2008). El mesodermo extraembrionario da origen al mesénquima fetal dentro de la velosidad placentaria que incluye tejido conectivo, vasos sanguíneos y macrófagos así como la placa coriónica y la membrana fetal (Huppertz and Herrler, 2005).

10.2 Establecimiento de una deficiente circulación placentaria

La placenta humana es un órgano discoide formado por un complejo entramado de ramificaciones velosas. Estas velosidades, que contienen capilares fetales, están bañadas directamente por la sangre materna. La placenta funciona como una barrera hemocorioendotelial a través de la cual se produce el intercambio de sustancias y gases entre la madre y el feto (Mutter and Karumanchi, 2008, Herraiz, 2010, Burton et al., 2011, Shenoy et al., 2010).

Según la ecuación de Fick, que describe la tasa de difusión de un gas a través de una membrana, los principales determinantes físicos de esta difusión son la superficie de intercambio disponible y el grosor de la membrana. Por tanto, el constante desarrollo angiogénico de la placenta a medida que avanza el embarazo es fundamental para que los intercambios sean suficientes.

El otro componente principal para el correcto intercambio sanguíneo feto-materno es la adecuada provisión de sangre materna a la zona de intercambio, conocida como espacio intervelloso. De ella se encargan directamente las arterias espirales. Estas arterias surgen de la última ramificación del árbol arterial uterino, a nivel de la capa interna del miometrio y desarrollan un trayecto tortuoso que atraviesa la decidua hasta contactar con el espacio intervelloso (Potgens et al., 2002). Durante el desarrollo placentario normal ocurre una invasión de las arterias espirales maternas por las células citotrofoblásticas extravelosas, causando la pérdida del músculo liso de las paredes arteriales y la consecuente dilatación vascular. Como resultado, se produce una disminución de la resistencia vascular y un aumento del flujo placentario que es fundamental para el abastecimiento nutricional fetal. Este proceso se lleva a cabo en dos oleadas sucesivas de invasión trofoblástica, que concluyen hacia la semana 20 (Herraiz, 2010, Powe et al., 2011, Kanasaki and Kalluri, 2009).

En la preeclampsia, esta invasión trofoblástica es superficial y los cambios vasculares maternos inadecuados (Goldman-Wohl and Yagel, 2007). Se ha postulado que la peor perfusión placentaria resultante produce hipoxia placentaria (Myatt and Webster, 2009), que en respuesta libera factores causantes de perturbaciones en la angiogénesis placentaria y de daño en los endotelios maternos (Mohaupt, 2007, Herraiz, 2010, Lala and Chakraborty, 2003).

10.3 Diferenciación de las líneas celulares que dan origen al trofoblasto

Tras la formación del cigoto, se producen sucesivas divisiones mitóticas que dan lugar a la mórula (16-32 células) y posteriormente al blastocisto (32-64 blastómeras). Hasta la octava división celular el embrión no muestra polaridad. A partir de ese momento, las blastómeras interaccionan con sus vecinas en un proceso conocido como compactación (Potgens et al., 2002). Las células trofoectodérmicas adquieren características de células epiteliales, volviéndose aplanadas y estableciendo conexiones entre ellas. Por tanto, el trofoblasto es la primera línea celular que se diferencia, ya en la etapa de blastocisto y alrededor del día 6 postconcepcional. Cuando el embrión alcanza el estadio de 32 células, la capa trofoectodérmica libera líquido hacia el espacio extracelular, formando la cavidad del blastocisto. Es en esta etapa cuando el blastocisto

alcanza la cavidad uterina (Potgens et al., 2002, Herraiz, 2010). En el momento de la implantación, el endometrio y el blastocisto interaccionan perfectamente sincronizados, ya que durante la mayor parte del tiempo el revestimiento epitelial del endometrio se protege de la llegada del blastocisto, excepto en un periodo limitado de tiempo conocido como ventana de implantación (Potgens et al., 2002). Hacia el día 8-9 postconcepcional, inmediatamente después de la implantación, la capa trofoectodérmica de la pared del blastocisto prolifera y se diferencia en una capa externa multinucleada y no proliferativa denominada sinciotrofoblasto (STB) y en otra interna de núcleo único llamada citotrofoblasto (CTB) (Herraiz, 2010). El STB se regenera constantemente a partir de las células del CTB, que se fusionan espontáneamente para pasar a formar parte del STB (Huppertz, 2008). Este proceso conocido como sincitialización resulta de gran importancia, ya que mantiene la renovación del STB, tejido necesario para el intercambio de gases y nutrientes entre madre y feto. Además, el STB realiza funciones especializadas tales como la formación de una barrera inmunológica para el feto o la secreción de hormonas como la gonadotropina coriónica humana (hCG) (Potgens et al., 2002, Escudero and Calle, 2006).

10.4 Invasión trofoblástica precoz y formación de las vellosidades

El STB invade en las etapas más tempranas el endometrio en forma de vellosidades primarias. Estas vellosidades van desarrollando un núcleo mesodérmico hacia el día 12 postconcepcional, a partir del cual reciben el nombre de vellosidades secundarias. El tejido mesodérmico de las vellosidades, que se forma a partir de la zona caudal de la futura línea primitiva penetra en las proyecciones vellositarias. En su interior contiene células hemangioblásticas reconocibles entre los días 18-20 postconcepcionales. Hacia la séptima semana postmenstrual puede distinguirse la formación de los vasos fetales, favorecida por la migración de células mesodérmicas para completar la formación del endotelio vascular. El fenómeno que experimentan las células mesenquimales de diferenciación en hemangioblastos recibe el nombre de vasculogénesis. Adicionalmente, se produce un proceso de angiogénesis en el que las propias células endoteliales sufren división y proliferación (Herraiz, 2010). El termino vellosidades terciarias se reserva cuando ya se han formado vasos fetales en su interior (figura 2).

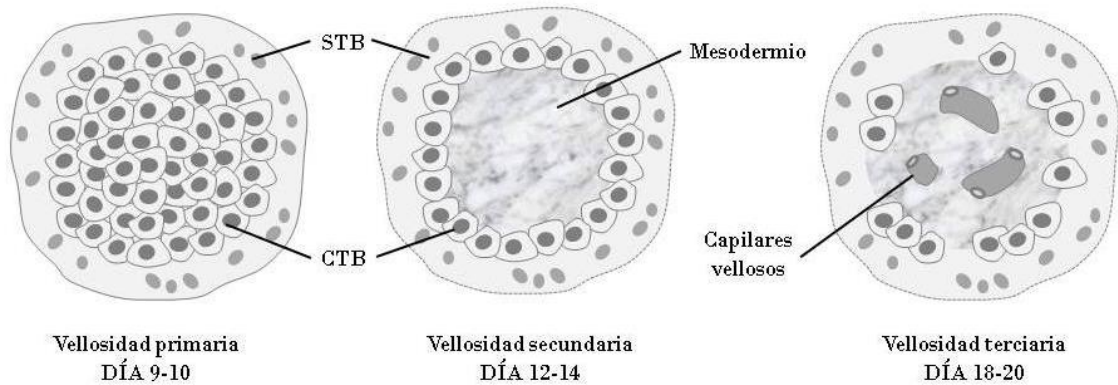


Figura 2. Esquema que muestra los diferentes estadios evolutivos de las vellosidades coriales mediante cortes transversales. (Extraído de Herraiz, 2010)

Por otra parte, a partir del día 12 postconcepcional, parte de las células del CTB comienzan a penetrar a través del conglomerado de STB, abriéndose camino hasta llegar a alcanzar la cara materna de la masa de STB hacia el día 15 postconcepcional.

Llegado este momento se diferencian dos poblaciones celulares de CTB fenotípicamente diferentes: el CTB vellosos (CTBv), constituido por la capa de células mononucleadas que terminan diferenciándose en STB y el CTB extravellosos (CTBev), formado por el pequeño porcentaje de células del CTB que adquieren propiedades móviles e invasivas para atravesar el STB y migrar a través del endometrio (figuras 3 y 4) (Huppertz, 2008, Huppertz et al., 2006).

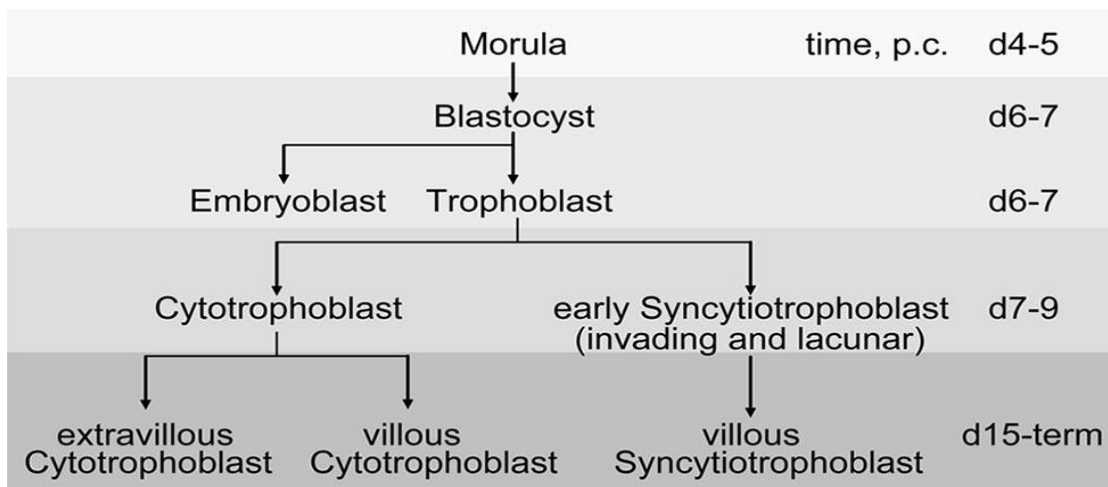


Figura 3. Diagrama que presenta una visión general del desarrollo temprano del trofoblasto. (Extraído de Huppertz, 2008)

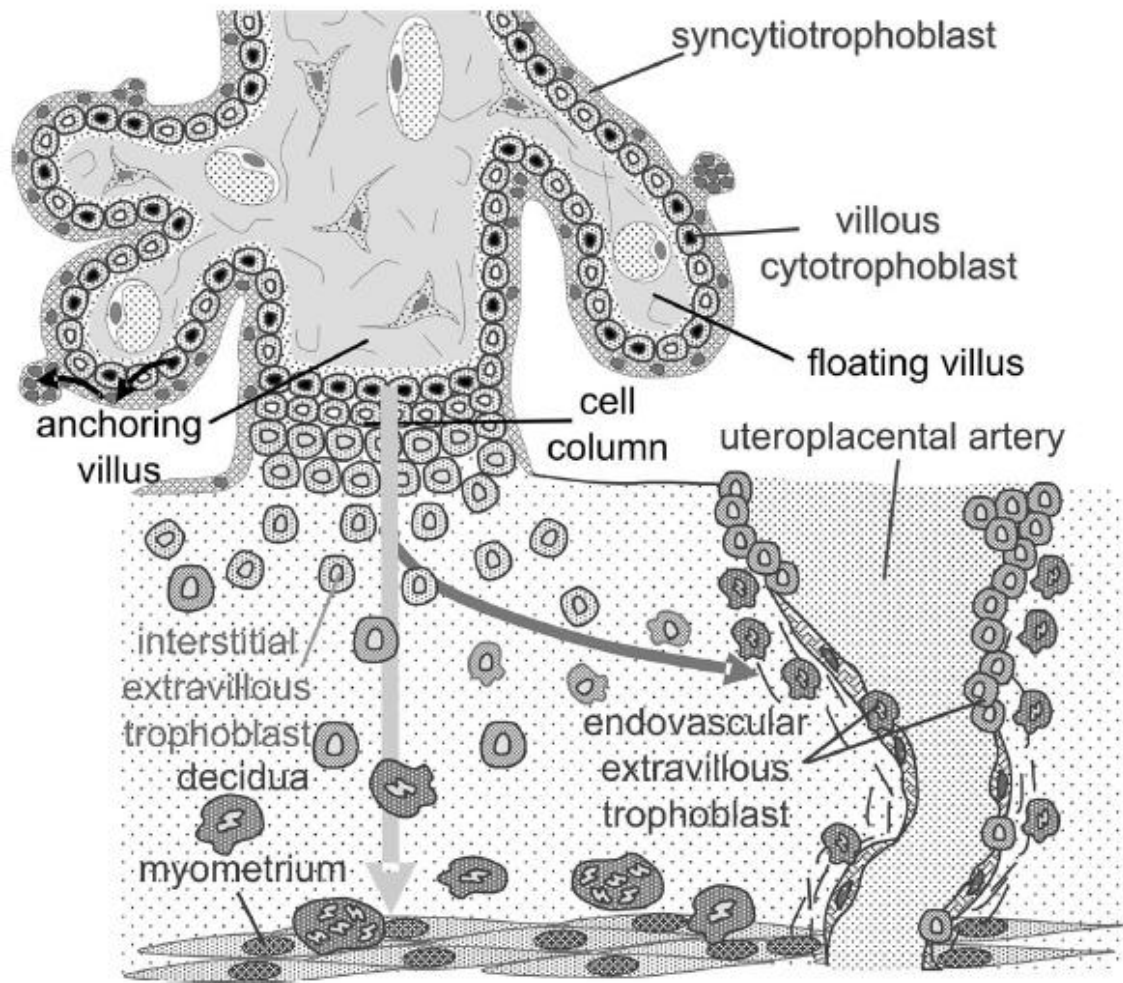


Figura 4. Representación esquemática de los dos tipos de trofoblastos: el trofoblasto veloso y el trofoblasto extraveloso. (Extraído de Huppertz et al., 2006)

El CTBev que invade los depósitos de fibrina, el endometrio decidualizado y el tercio proximal del miometrio se denomina en conjunto CTB extraveloso intersticial (CTBev-in), ya que su fenotipo copia el de los fibroblastos endometriales. El CTBev que invade las arterias espirales del útero desde su luz se conoce como CTB extraveloso endovascular (CTBev-en). Además, se distinguen dos subtipos, el CTB extraveloso endovascular intramural, que destruye las células musculares lisas de la capa media del vaso sanguíneo y las reemplaza por material fibrinoide y el CTB extraveloso endovascular intra-arterial, que forma una nueva superficie interna, reemplazando el endotelio de estos vasos maternos a través de la expresión de moléculas de adhesión que simulan un fenotipo endotelial. El CTBev-en invade las

arterias espirales, pero respeta las venas (figura 5) (Kharfi et al., 2003, Herraiz, 2010, Lyall, 2006).

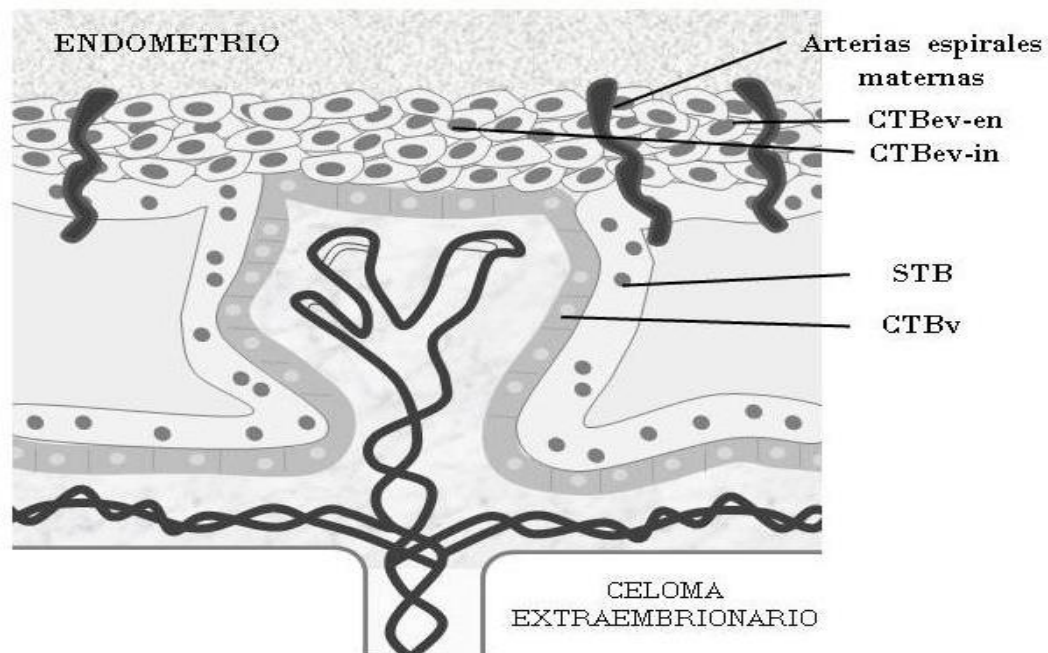


Figura 5. Esquema representativo de un corte longitudinal de una vellosidad hacia el día 21 postconcepcional. *STB*, sincitiotrofoblasto; *CTBv*, citotrofoblasto vellosito; *CTBev-in*, citotrofoblasto extravasacular intersticial; *CTBev-en*, citotrofoblasto extravasacular endovascular. (Extraído de Herraiz, 2010)

10.5 Pseudovasculogénesis

Es el proceso de neoformación vascular que se origina tras la invasión de las arterias espirales maternas por el CTBev. Cuando ocurre la invasión, se regula a la baja la expresión de moléculas de adhesión características del CTBev-en de origen epitelial y adoptan un fenotipo en la superficie celular típico de las células endoteliales, mientras que el CTBev-in sustituye la capa muscular arterial por un complejo fibrinoide (figura 6) (Pijnenborg et al., 2006, Herraiz, 2010).

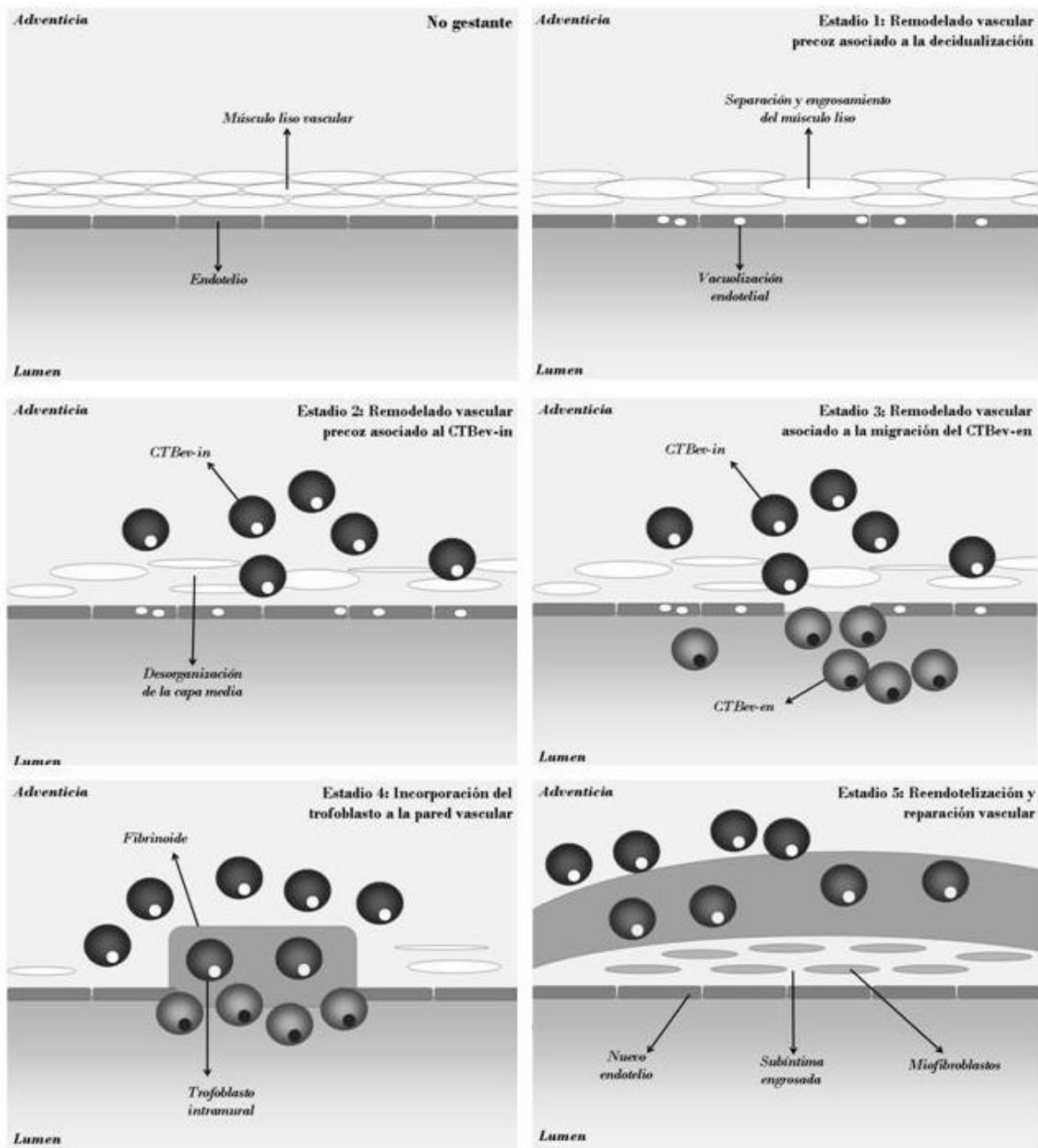


Figura 6. Etapas del remodelado de las arterias espirales. *CTBev-in*, citotrofoblasto extravascular intersticial; *CTBev-en*, citotrofoblasto extravascular endovascular. (Extraído de Herraiz, 2010)

Probablemente la invasión arterial se produzca por dos rutas diferentes: por una parte existe una invasión intersticial que destruye las paredes arteriales y por otra parte se establece una invasión intraluminal retrógrada.

Recientemente se ha apuntado una sugerente teoría según la cual se forma un gradiente de invasión desde la zona más superficial de la decidua hasta el miometrio, de manera que existe más densidad de CTBev-in en el espesor decidual cercano al trofoblasto y va disminuyendo a medida que avanza en profundidad, siendo su concentración escasa en el tercio interno del miometrio. Así, las paredes de las porciones más distales (cercanas a la superficie de la decidua) de las arterias espirales son mayoritariamente invadidas por CTBev-in, con la consiguiente destrucción de sus capas elástica y muscular originales. Por el contrario, las porciones situadas en el tercio interno del miometrio sufrirán su transformación a partir principalmente de CTBev-en, que podrá acceder a esta zona con facilidad tras la desintegración de los taponamientos vasculares a partir de las 10-12 semanas (Pijnenborg et al., 2006, Herraiz, 2010).

10.6 Oleadas de invasión trofoblástica

La invasión trofoblástica ocurre de forma progresiva, en dos oleadas consecutivas. La primera oleada trofoblástica se extiende de la sexta a la duodécima semana (Shah, 2007, Merviel et al., 2004). Al inicio de la primera oleada, la invasión luminal de las arterias espirales por el CTBev-en forma taponamientos que condicionan la oclusión de las porciones distales de estos vasos maternos. Debido a ello, esta primera oleada queda limitada a los segmentos intradeciduales de las arterias espirales en el caso del CTBev-en y a la llamada zona de unión miometrial (o tercio interno del miometrio) para el CTBev-in (Potgens et al., 2002). Los taponamientos conllevan el enlentecimiento del flujo sanguíneo y la imposibilidad de que se establezca un verdadero flujo de sangre materna libre en el espacio intervellósario, si bien es posible que ocurra un filtrado de plasma materno y de secreciones de glándulas deciduales que rellene los espacios intervellosos. Alrededor de las semanas 10-12, estos taponamientos comienzan a quebrarse y se empieza a establecer una comunicación libre entre la sangre materna y las vellosidades placentarias. Puesto que la invasión trofoblástica es más intensa en la zona central del lecho placentario, los taponamientos son más completos y

numerosos en esta región (Potgens et al., 2002, Herraiz, 2010, Laresgoiti-Servitje and Gomez-Lopez, 2012).

Además, en las porciones más laterales de la placenta el curso de las arterias espirales es más oblicuo respecto al lecho placentario, lo que facilita que en el proceso de erosión decidual las arterias espirales se abran más ampliamente al espacio intervelloso, de manera que los taponamientos comienzan a desaparecer antes por la periferia de la placenta (Herraiz, 2010). Aunque tradicionalmente se ha asumido que la circulación materno-placentaria se establecía poco después de la implantación, con el empleo de la perfusión de piezas de histerectomía con placenta *in situ* y el estudio Doppler *in vivo* al comienzo de la placentación, se han aportado pruebas convincentes de que la circulación materno-placentaria no queda establecida hasta las 10-12 semanas de gestación (Potgens et al., 2002).

Por tanto, la placenta humana no se puede considerar propiamente hemocorial hasta el final del primer trimestre. Estos hallazgos concuerdan adecuadamente con la teoría de la hipoxia del periodo embrionario, desarrollada en la última década y que cada vez cuenta con mayor evidencia y aceptación. Según esta teoría, la presión parcial de oxígeno (pO_2) placentaria entre la séptima y décima semanas es menor de 20 mmHg (Potgens et al., 2002, Herraiz, 2010). Estas bajas concentraciones de oxígeno, aseguradas por los taponamientos de las arterias maternas, actuarían creando un ambiente favorecedor para la normal diferenciación celular y protegiendo al embrión en periodo de organogénesis de los dañinos efectos de los radicales libres fruto del estrés oxidativo (Caniggia and Winter, 2002). Con la apertura de las boquillas vasculares de las arterias espirales, la pO_2 placentaria aumentará entre las 11-14 semanas hasta superar los 50 mmHg. Sin embargo, los valores de pO_2 placentaria se mantendrán relativamente bajos en relación a los de la sangre materna, lo que indica que durante toda la gestación se mantiene un gradiente de O_2 significativo entre la circulación materna y fetal (Pringle et al., 2010, Sharma et al., 2010). La exposición del trofoblasto a un aumento en la tensión de pO_2 estimula su diferenciación hacia un fenotipo invasivo. En mamíferos se ha observado que los efectos de la tensión de pO_2 están mediados por un factor de transcripción llamado factor inducible por hipoxia -1 α (HIF-1 α), y su expresión durante el primer trimestre es paralela a la del factor de crecimiento transformante β_3 (TGF β_3), que es un inhibidor de la diferenciación trofoblástica

temprana. La expresión de ambas moléculas es elevada al comienzo de la gestación y comienza a declinar a partir de las 10-11 semanas, coincidiendo con el incremento en los niveles de pO₂ placentarios (Herraiz, 2010, Goldman-Wohl and Yagel, 2002). Se ha encontrado que la expresión de TGFβ₃ se encuentra aumentada en las placentas de casos de preeclampsia en comparación con las normales y la inhibición del TGFβ₃ mediante anticuerpos restaura la capacidad invasiva de las células trofoblásticas en las primeras. Por tanto, se ha generado una hipótesis según la cual si el aumento de la tensión de oxígeno falla o el trofoblasto no detecta su incremento, la expresión de HIF-1α y TGFβ₃ permanecen elevadas, produciendo una invasión trofoblástica insuficiente que predispone a la preeclampsia. Por el contrario, un aumento demasiado precoz en la tensión de oxígeno desencadena un crecimiento trofoblástico exagerado, que es el mecanismo de desarrollo de las gestaciones molares (Potgens et al., 2002).

La segunda oleada trofoblástica se desarrolla entre las 14-20 semanas (Shah, 2007). Se caracteriza por la invasión endovascular de las arterias espirales a nivel de la zona de unión miometrial (tercio interno). Esta segunda oleada se ve favorecida por la disolución de los taponamientos que permite el paso del CTBev-en hacia zonas más profundas. Además, el consiguiente aumento del flujo hacia las zonas distales de las arterias espirales condiciona una situación de mayor oxigenación que probablemente active las vías de señalización que promueven la migración del CTBev-en hacia las porciones miometriales (Potgens et al., 2002, Herraiz, 2010, Merviel et al., 2004).

Completadas las modificaciones fisiológicas de las arterias espirales, pasan a denominarse vasos útero-placentarios. La remodelación no afecta a todas las arterias espirales por igual, observándose en un número mucho mayor en la zona central placentaria respecto a la zona periférica (Herraiz, 2010). Entre las 16-20 semanas, los segmentos endometriales y de la superficie miometrial de las arterias espirales completan su revestimiento por células citotrofoblásticas, lo que transforma estos pequeños vasos de alta resistencia en otros de mayor calibre y menor resistencia. Esta transformación permite que se alcance el flujo sanguíneo placentario necesario para satisfacer las necesidades nutritivas del feto, que en este momento inicia su etapa de mayor desarrollo y crecimiento (ver figura 7) (Potgens et al., 2002, Herraiz, 2010).

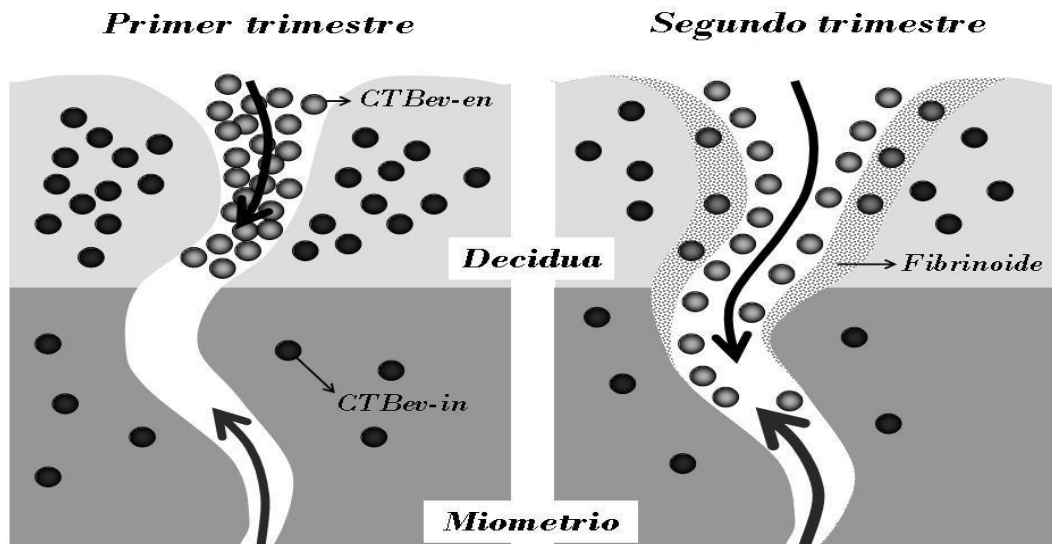


Figura 7. Ilustración del concepto de doble oleada trofoblástica. *CTBev-in*, citotrofoblasto extraveloso intersticial; *CTBev-en*, citotrofoblasto extraveloso endovascular. (Extraído de Herraiz, 2010)

10.7 Desarrollo placentario en la segunda mitad de la gestación

A medida que avanza la gestación, aumenta la relación peso fetal-peso placentario. Este incremento es exponencial en el tercer trimestre y solamente se frena poco tiempo antes de llegar a término. Por tanto, las demandas fetales en proporción al volumen placentario aumentan respecto al primer trimestre y la placenta debe transformarse para satisfacerlas. Para ello, debe aumentar la relación superficie-volumen de las vellosidades y disminuir el grosor de la barrera trofoblástica que separa las circulaciones materna y fetal. Durante este periodo, la angiogénesis y el remodelado vascular, reguladas por diferentes factores de crecimiento, son fundamentales para que estos cambios se lleven a cabo.

A partir de la semana 20 comienzan a aparecer las vellosidades terminales, que se convierten en las unidades funcionales de la placenta para el intercambio gaseoso. Se trata de protuberancias achatadas, de unos 100 μm de longitud y 80 μm de diámetro, que emergen de la superficie de las ramificaciones más grandes del árbol vellositario. La formación de las vellosidades terminales se debe al crecimiento de los capilares derivado del aumento del volumen sanguíneo fetal, que estimula su elongación y la

producción de factores de crecimiento angiogénicos. Estos capilares se enrollan y presionan la superficie vellosa, que forma pequeñas ampollas (vellosidades terminales) en las que predomina el endotelio capilar y el tejido trofoblástico se encuentra muy adelgazado para facilitar la difusión. Al llegar al final del embarazo, estas vellosidades terminales permiten alcanzar un área de superficie de intercambio de 12-14 m² (Herraiz, 2010).

10.8 Etapas involucradas en la fisiopatología de la preeclampsia

La patogénesis de la preeclampsia es compleja, numerosos factores genéticos, inmunológicos y ambientales interactúan. Se ha sugerido que la preeclampsia es una enfermedad compuesta de dos etapas (Hladunewich et al., 2007, Conrad, 2011, Foidart et al., 2009, Rusterholz et al., 2007, Talosi et al., 2000).

La primera etapa o fase preclínica se produce poco después de la implantación, donde se produce una invasión inadecuada por un subtipo del trofoblasto descrito como citotrofoblasto extraveloso, el cual presenta propiedades similares a un cáncer metastásico, tanto en sus características invasivas, su capacidad para inducir la remodelación vascular como por facilitar la angiogénesis (Cudihy and Lee, 2009, Fisher, 2004). Se caracteriza por ser asintomática y por un desarrollo placentario anormal durante el primer trimestre que conlleva a una insuficiencia placentaria y a la liberación de cantidades excesivas de material placentario dentro de la circulación materna. Ésta, a su vez conduce a la segunda etapa sintomática, en donde la mujer embarazada desarrolla hipertensión, daño renal y proteinuria y está en riesgo para posteriormente desarrollar el síndrome HELLP, eclampsia y otros daños orgánicos (Hladunewich et al., 2007, Bolte, 2001).

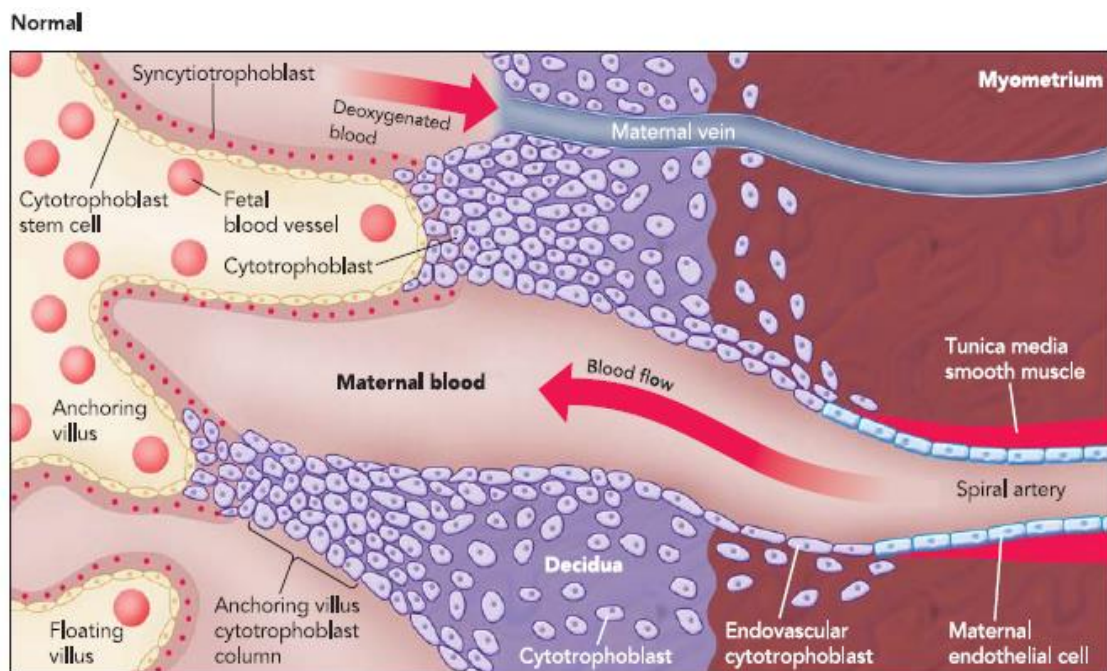
10.8.1 Anormalidades en la Placentación (etapa 1)

Sobre la base de las observaciones de que sólo el tratamiento definitivo para la preeclampsia es la expulsión de la placenta (Itakura and Mizutani, 2005) y de que las mujeres que experimentan un embarazo molar en que la placenta se desarrolla sin un feto frecuentemente desarrollan preeclampsia severa, es razonable asumir que la

placenta juega un rol central en la patogénesis de ésta enfermedad (Hladunewich et al., 2007, Herraiz, 2010, Young et al., 2010, Waite et al., 2002).

Esta primera fase, se desarrolla durante las 20 primeras semanas de gestación, en la cual se produciría el fenómeno de placentación anómala. Durante el desarrollo temprano normal de la placenta, el citotrofoblasto extraveloso de origen fetal invade las arterias espirales uterinas de la decidua y el miometrio. Este citotrofoblasto invasivo reemplaza la capa endotelial de las arterias espirales maternas, transformándolas desde vasos pequeños, de alta resistencia en vasos de capacitancia de gran calibre, capaces de proporcionar una adecuada perfusión placentaria para nutrir al feto (Young et al., 2010, Davison et al., 2004, Goldman-Wohl and Yagel, 2008).

En la preeclampsia, esta transformación es incompleta (Maynard et al., 2005), ya que la invasión del citotrofoblasto en las arterias espirales se limita a la decidua superficial y los segmentos miometriales permanecen estrechos (figura 8) (Young et al., 2010, Hawfield and Freedman, 2009, Wang et al., 2009, Khalil and Granger, 2002).



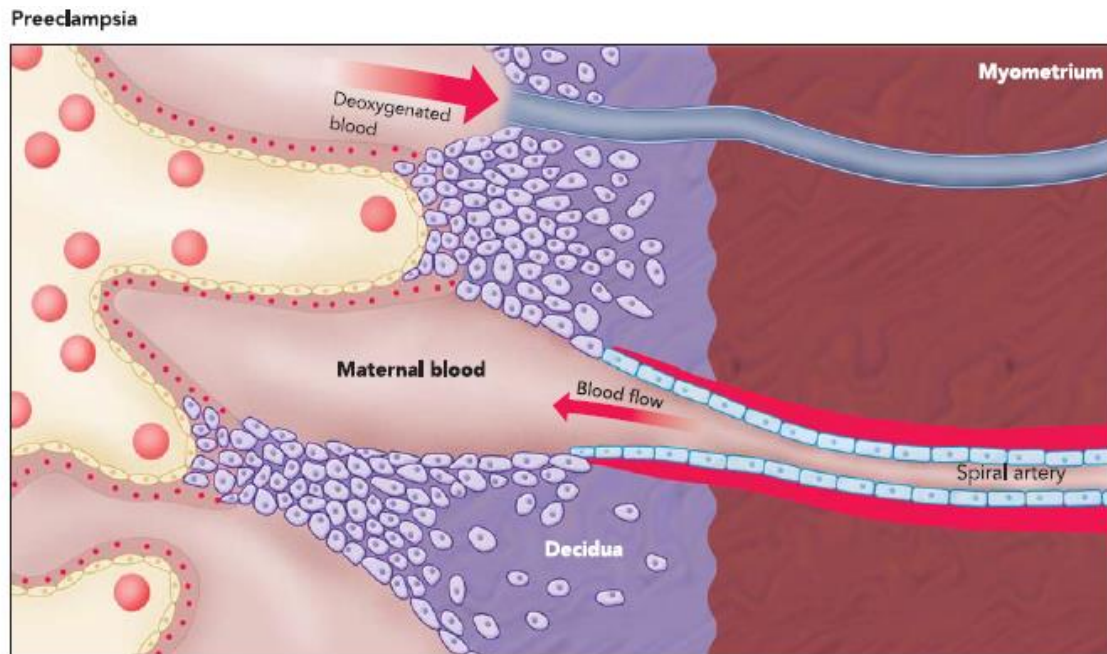


Figura 8. Placentación anormal en la preeclampsia. Durante el desarrollo normal de la placenta, el citotrofoblasto invasivo de origen fetal invade las arterias espirales maternas, transformándolas desde vasos de resistencia de pequeño calibre a vasos de capacitancia de alto calibre, capaces de proporcionar una adecuada perfusión placentaria para sostener el crecimiento del feto. Durante el proceso de invasión vascular, el citotrofoblasto se diferencia desde un fenotipo epitelial a un fenotipo endotelial, un proceso conocido como "pseudovasculogenesis" o "mimetismo vascular". En la preeclampsia, el citotrofoblasto falla en adoptar un fenotipo endotelial invasivo. En su lugar, la invasión de las arterias espirales es superficial, y los vasos de resistencia permanecen con un bajo calibre. (Extraído de Wang et al., 2009)

La reducción en la perfusión placentaria, debido a un desarrollo vascular anormal de los vasos sanguíneos de placentas preeclámplicas, es secundaria a la invasión deficiente del trofoblasto. Por lo tanto, las arterias espirales presentan una anormalmente elevada resistencia vascular con reducción de la perfusión uteroplacentaria según lo confirmado por estudios Doppler de velocimetría de flujo. La insuficiente perfusión placentaria es probable que resulte en estrés oxidativo, a través de una perfusión placentaria intermitente debido a cambios en la actividad vasomotora por influencias humorales y neuronales maternas dando lugar a ciclos de hipoxia-reoxigenación (Rodrigo et al., 2005, Kalkunte et al., 2011).

El examen patológico de placentas de pacientes preeclámpicas generalmente revela infartos placentarios, contracción esclerótica de arterias y arteriolas, depósitos de fibrina con trombosis además de una disminución de la invasión endovascular por el citotrofoblasto e inadecuado remodelamiento de arteriolas espirales uterinas (Hladunewich et al., 2007, Hawfield and Freedman, 2009). Aunque los cambios patológicos no son siempre vistos en placentas de mujeres con preeclampsia, el perfil placentario incluye Doppler de arteria uterina anormal y la morfología placentaria ha sido usada para identificar un subgrupo de mujeres de alto riesgo que van a desarrollar el síndrome (Hladunewich et al., 2007, Wagner et al., 2012, Noris et al., 2005). Estudios Doppler de las arterias uterinas para evaluar el índice de pulsatilidad (IP) revelan aumento de la resistencia vascular uterina antes de que surjan los signos y síntomas clínicos. Por otra parte, la constricción mecánica de las arterias uterinas produce hipertensión, proteinuria y en algunos casos endoteliosis glomerular, apoyando un papel causal para la isquemia placentaria en la patogénesis de la preeclampsia (Hladunewich et al., 2007, Young et al., 2010).

La placentación en mamíferos requiere una amplia angiogénesis para establecer una red adecuada para el suministro de oxígeno y nutrientes para el feto. Una variedad de factores pro y anti-angiogénicos se elaboran mediante el desarrollo de la placenta. Se cree que la angiogénesis placentaria es defectuosa en la preeclampsia, evidenciado por la falla del citotrofoblasto en la conversión de un fenotipo más epitelial a un fenotipo endotelial, basado en estudios con marcadores de la superficie celular (Hladunewich et al., 2007, Herraiz, 2010, VanWijk et al., 2000). Normalmente, el citotrofoblasto invasivo regula a la baja la expresión de moléculas de adhesión que son característicos de sus células epiteliales y adoptan un fenotipo de adhesión de la superficie celular que es típico de las células endoteliales, proceso que se conoce como pseudovasculogénesis. En la preeclampsia, el citotrofoblasto falla en experimentar esta alternación de integrinas de la superficie celular y de moléculas de adhesión (Hladunewich et al., 2007, Hawfield and Freedman, 2009). Esta diferenciación anormal del citotrofoblasto es un defecto temprano que puede eventualmente conducir a isquemia placentaria. Otros han demostrado que el factor 1 inducible por hipoxia (HIF-1) está aumentado en preeclampsia y sugieren que él y sus genes blancos pueden jugar un papel central en la diferenciación anormal del fenotipo en la preeclampsia. Si esta falta de conversión del citotrofoblasto a un fenotipo endotelial en mujeres con preeclampsia es un evento

primario o secundario sigue siendo incierto (Hladunewich et al., 2007, Herraiz, 2010, Stepanian et al., 2011).

Entonces, en esta primera etapa se produce una invasión defectuosa del trofoblasto extraveloso, en la cual las arterias espirales no sufrirían las transformaciones propias del embarazo en lo que concierne al reemplazo de las capas endoteliales y media por el trofoblasto invasor. Como consecuencia de lo anterior, el lecho vascular placentario no se transforma en territorio de baja resistencia, permaneciendo en un territorio de alta resistencia al flujo sanguíneo lo que se traduce en un estado de vasoespasmo e isquemia local generando finalmente un cuadro de hipoxia y daño placentario (Kaufmann et al., 2003, Lyall et al., 2001, Soleymanlou et al., 2005, Huppertz, 2008).

10.8.2 El Síndrome materno (etapa 2)

La segunda etapa o fase clínica de la preeclampsia, el síndrome materno, es anunciado por los efectos de una respuesta inflamatoria generalizada o sistémica procedente de un estrés oxidativo o placenta hipóxica (Cudihy and Lee, 2009, Dekker et al., 2011).

La placentación anormal e hipoxia placentaria que resultan de una remodelación incompleta de las arterias espirales maternas en vasos dilatados de baja resistencia por parte del trofoblasto, se cree que conduce a la liberación a través del estrés oxidativo de factores derivados de la placenta que entran en la circulación materna tales como sFlt - 1, endoglina soluble, citoquinas pro inflamatorias e incluso restos de trofoblasto todo lo cual conduce a una respuesta inflamatoria sistémica en la madre lo que se traduce finalmente en los signos y síntomas clínicos de la preeclampsia (Hladunewich et al., 2007, Cudihy and Lee, 2009). Este ambiente inflamatorio causa disfunción endotelial generalizada que se manifiesta en diversos órganos clave de la madre provocando el clásico síndrome de preeclampsia, por ejemplo, disminución de la capacidad de vasodilatación en los lechos vasculares lo que provoca hipertensión, aumento de la permeabilidad endotelial lo que causa numerosos efectos perjudiciales en los distintos órganos diana: proteinuria en el riñón, dolor de cabeza y alteraciones visuales en el cerebro, dolor abdominal asociado con congestión hepática, falta de aire que acompaña

al edema pulmonar y por último, las convulsiones eclámpicas debido a la isquemia focal causada por el vasoespasmo en el cerebro (Cudihy and Lee, 2009). Todas las manifestaciones clínicas de la preeclampsia se pueden atribuir a endoteliosis glomerular, aumento de la permeabilidad vascular y a una respuesta inflamatoria sistémica que resulta en daño de órgano y/o hipoperfusión. Estas manifestaciones clínicas suelen ocurrir después de la vigésima semana de embarazo (Hladunewich et al., 2007).

Entonces, en la segunda etapa de la preeclampsia aparentemente existen dos fenómenos que gobiernan la fisiopatología de esta patología, por una parte se encuentra la disfunción endotelial y por otra la respuesta inflamatoria sistémica (Redman and Sargent, 2003). En la disfunción endotelial existiría un aumento de la concentración de sustancias vasopresoras y agregantes plaquetarios (endotelina 1 y tromboxano A2), y una disminución de las sustancias vasodilatadoras y antiagregantes plaquetarias (óxido nítrico y prostaglandinas de la serie 2) (Granger et al., 2002, Poston, 2006). Este desequilibrio de sustancias vasoactivas, sumado a una mayor sensibilidad a la angiotensina II, establecen un estado de vasoconstricción, generándose un aumento de la resistencia vascular periférica, y como consecuencia un aumento de la presión arterial. Existen marcadores de disfunción endotelial en pacientes con preeclampsia que se encuentran aumentados en comparación con pacientes con gestaciones normales, tales como aumento de relación PAI 1/PAI 2 (PAI-1: Inhibidor del Activador del Plasminógeno-1; PAI-2: Inhibidor del Activador del Plasminógeno-2), factor von Willebrand, trombomodulina y VCAM-1 (Molécula de Adhesión Celular Vascular-1) (Parra et al., 2005, Stepan et al., 2006).

Las citoquinas proinflamatorias presentan un aumento en la concentración plasmática durante el embarazo normal, puesto que éste cursa con un estado de inflamación sistémica (Redman, 2011, Redman and Sargent, 2004), donde se gatilla la activación de monocitos, granulocitos y plaquetas. El estado de inflamación sistémica propio del embarazo es sustituido en la preeclampsia por una respuesta inflamatoria sistémica (RIS) más exagerada, en la que distintos marcadores de actividad proinflamatoria, tales como receptores de superficie, TNF α (Factor de Necrosis Tumoral alfa), IL-1 β (Interleucina 1 β) e IL-6 (Interleucina 6), se encuentran elevados (Redman and Sargent, 2003, Borzychowski et al., 2006). Es así, como la disfunción

endotelial formaría parte y sería el proceso fisiopatológico clave de esta respuesta inflamatoria sistémica. (Holthe et al., 2004, Redman and Sargent, 2000, Redman and Sargent, 2003).

Se puede por tanto, distinguir dos etapas fisiopatológicas en la preeclampsia. Una etapa inicial, caracterizada por ser asintomática, local, con predominio de un estado hipóxico de la placenta, lo que genera un daño de la misma, y una segunda etapa, caracterizada por ser sintomática, y por existir una respuesta inflamatoria sistémica exagerada acompañada de una disfunción endotelial (figura 9) (Redman and Sargent, 2000, Young et al., 2010, Noris et al., 2005).

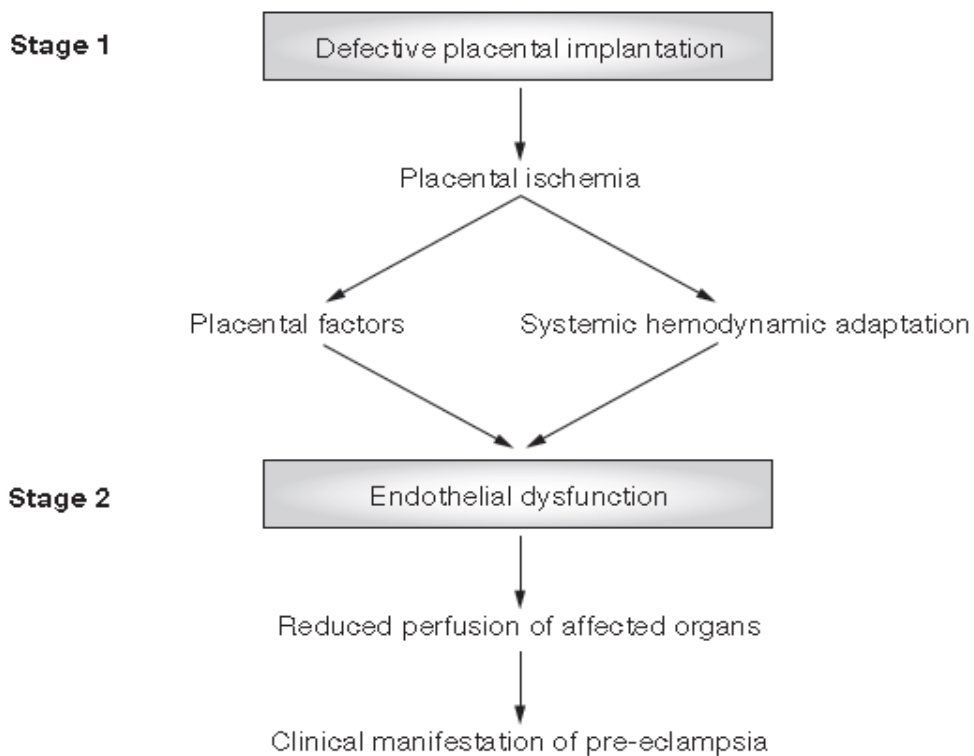


Figura 9. Estructura fisiopatológica de la preeclampsia de dos etapas. (Extraído de Noris et al., 2005)

10.9 Mediadores moleculares implicados en la fisiopatología de la preeclampsia

Existen moléculas producidas en el tejido placentario que son capaces de difundir esta injuria local y traducirla en un compromiso general o sistémico (Redman and Sargent, 2000, Young et al., 2010, Masse et al., 2002). Actualmente son tres las moléculas o mediadores que han demostrado participar activamente en la fisiopatología de la preeclampsia, según lo indica la evidencia, tanto en modelos *in vitro* como *in vivo* y que son los que han generado las principales líneas de investigación. Éstos son los derivados del estrés oxidativo, los microfragmentos de sinciciotrofoblasto derivados de la apoptosis y los factores antiangiogénicos (Gupta et al., 2005).

10.9.1 Mediadores moleculares derivados del estrés oxidativo

En contraste con el embarazo normal, la preeclampsia se caracteriza por un aumento del estrés oxidativo y una disminución de antioxidantes. En las mujeres con preeclampsia, los niveles de tejido placentario circulantes y la tasa de producción de peróxidos de lípidos se incrementan y varios antioxidantes están notablemente disminuidos (Poston and Chappell, 2001, Raijmakers et al., 2004, Heazell et al., 2011). En la circulación materna los niveles de las vitaminas A, C, E, glutatión y la enzima superóxido dismutasa (SOD) están alterados. Debido a la deficiencia de la actividad de la superóxido dismutasa, la concentración del anión superóxido se incrementa, lo que en conjunto con el aumento de la concentración de hierro se traduciría en mayor estrés oxidativo (Poston and Chappell, 2001). En presencia de la deficiente actividad de la superóxido dismutasa, el óxido nítrico (NO) reacciona con el superóxido para formar peroxinitrito (ONOO-) que es un fuerte agente oxidante capaz de iniciar la peroxidación lipídica. Puesto que el NO es un potente vasodilatador, a veces cuando la enzima SOD es deficiente, no sólo la acción vasodilatadora del óxido nítrico se deteriora sino también un fuerte agente oxidante se produce (Sankaralingam et al., 2006). Otra fuente de estrés oxidativo en mujeres con preeclampsia es la activación de los leucocitos en su circulación (Siddiqui et al., 2010).

Se ha visto que en la preeclampsia, los neutrófilos circulantes maternos y los monocitos se activan, lo que genera superóxidos por la actividad de la NADPH oxidasa y por lo tanto, causan estrés oxidativo. Los neutrófilos activados también producen

citoquinas tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6) y moléculas de adhesión vascular (VCAM-1), que indica activación y adhesión endotelio-leucocitos.

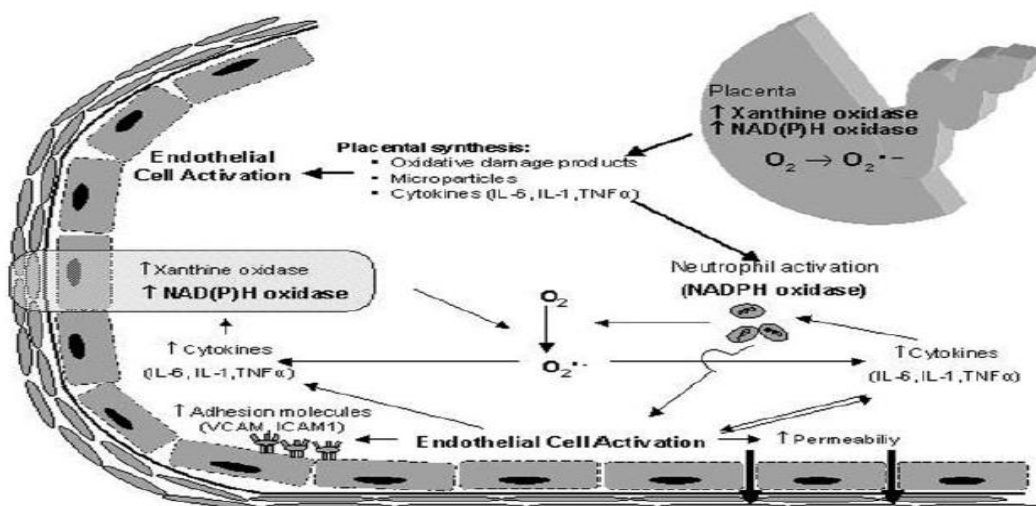
Esta activación de células endoteliales produce daño local y disfunción de las células que conduce a la peroxidación lipídica de la membrana celular. Muchos marcadores de disfunción endotelial han sido reportados en mujeres que desarrollan preeclampsia, lo que sugiere que la preeclampsia es un trastorno de las células endoteliales (Siddiqui et al., 2010). El endotelio es muy sensible al ataque por especies reactivas de oxígeno (ROS) tales como el anión superóxido (Poston and Chappell, 2001). Estos radicales libres son moléculas altamente reactivas que tienen uno o más electrones desapareados. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) tales como el superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo están asociadas con daño celular. Las ROS se forman como un subproducto natural del metabolismo normal del oxígeno y tienen un papel importante en la señalización celular (Siddiqui et al., 2010, Gupta et al., 2005).

Los dobles enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados son altamente susceptibles a la oxidación por radicales libres de oxígeno. Los ácidos grasos poliinsaturados se encuentran en abundancia en las membranas celulares y lipoproteínas circulantes, por lo tanto, estas estructuras son altamente susceptibles a la oxidación y al proceso de peroxidación lipídica (Gupta et al., 2005). Las enzimas oxidativas, estimuladas por los neutrófilos a través de la actividad de la NADPH oxidasa, la oxidación de catecolaminas y el metabolismo del ácido araquidónico tanto por la vía de la ciclooxigenasa y de la lipoxigenasa generan radicales de oxígeno. El anión superóxido (O₂⁻) y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) generados a partir de diferentes rutas, reaccionan directamente entre sí en presencia de metales libres de transición, en particular, de hierro (Siddiqui et al., 2010). Por otra parte, estos radicales libres pueden causar daño al ADN endotelial y mitocondrial. Existe evidencia sustancial que sugiere que la preeclampsia es un estado de estrés oxidativo. Los marcadores bioquímicos de la peroxidación lipídica, incluyendo las concentraciones plasmáticas de malondialdehído (MDA) y el F₂ α isoprostano 8-epi-prostaglandina, están elevados en las mujeres con preeclampsia, mientras que una disminución tanto de la vitamina C y de la vitamina E

en el plasma y la placenta son evidencia de una reducida capacidad antioxidante (Poston and Chappell, 2001).

El estrés oxidativo produce un ambiente en el que se facilita la producción de sustancias reactivas, principalmente especies reactivas de oxígeno (ROS). Estas sustancias se caracterizan por ser altamente reactivas e inestables, es así, como interactúan con los fosfolípidos y ácidos grasos de la membrana celular, generando así los lipoperóxidos, moléculas encargadas de producir el daño tisular (Gupta et al., 2005, Xia et al., 2007). Como consecuencia de una invasión defectuosa del trofoblasto, se produce una condición de hipoperfusión/reperfusión en la placenta isquémica, esto es, un estado alternante entre hipoxia y normoxia tisular (Raijmakers et al., 2004). Esta situación gatilla la activación de enzimas productoras de ROS, tales como la NADPH y las xantino oxidasas, lo cual asociado a una disminución relativa de sustancias antioxidantes como superóxido dismutasa y vitaminas C y E dan cuenta del proceso de estrés oxidativo (Rodrigo et al., 2005). De acuerdo a lo anterior, se ha observado que en pacientes con preeclampsia existe un aumento significativo de lipoperóxidos como malondialdehido (MDA) y F₂ isoprostano (F₂ ISO), en comparación a las pacientes con gestación normal (Atamer et al., 2005).

La transferencia de este estrés oxidativo local a la circulación materna a través de los lipoperóxidos y también mediante la activación de neutrófilos contribuiría a las manifestaciones clínicas de la preeclampsia (Davidge et al., 1996, Morris et al., 1998). Tanto el estrés oxidativo como la inflamación son fenómenos altamente relacionados (Lyall and Seufert, 2004), en términos de que ambos son causa y a la vez consecuencia del otro; el estrés oxidativo produce inflamación sistémica y ésta a su vez es capaz de generar ROS localmente (Redman and Sargent, 2000).



En la figura 10 se puede observar la asociación propuesta entre el estrés oxidativo de la placenta y la disfunción vascular materna en la preeclampsia (Raijmakers et al., 2004).

Figura 10. Se ha hipotetizado que la generación de radicales libres a través de la xantina oxidasa o NAD(P)H oxidasa en la placenta conduce indirectamente a la activación de neutrófilos maternos. En la circulación materna, un círculo vicioso de la activación endotelial y de neutrófilos puede resultar en una actividad sostenida de la NAD(P)H oxidasa además de la liberación de superóxido. (Extraído de Raijmakers et al., 2004)

10.9.2 Factores antiangiogénicos

Todavía se sabe muy poco acerca de los detalles del programa genético requerido para el patrón de desarrollo de la vasculatura placentaria. Un número de candidatos han sido propuestos, tales como el Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), Angiopoyetinas, Factor de crecimiento placentario (PlGF), Factor de crecimiento fibroblástico básico y el Factor de crecimiento transformante β . Entre estos, VEGF y sus dos receptores, Flt-1 y Flk-1/KDR han demostrado ser reguladores cruciales del crecimiento fisiológico y patológico de los vasos sanguíneos y junto con la familia de angiopoyetinas, han sido los más estudiados durante el desarrollo de la placenta (Cerdeira and Karumanchi, 2012, Vitoratos et al., 2012).

Aunque varias moléculas están implicadas en la angiogénesis y la homeostasis vascular, sólo se abordarán factores tales como el Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el Factor de crecimiento placentario (PlGF), la Tirosina Quinasa-1 Soluble Similar a fms (sFlt1) y la endoglina soluble (sEng), ya que, éstas han sido implicados en la patogénesis de la preeclampsia humana (Silasi et al., 2010, Shamshirsaz et al., 2012, Tal, 2012).

El Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es una glicoproteína homodimérica unida por puentes disulfuro que participa tanto en la angiogénesis (el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos a partir de los ya existentes) como en la vasculogénesis (formación *de novo* de vasos sanguíneos). Es también una citoquina trófica esencial para la integridad endotelial que promueve la vasodilatación mediante la

inducción de óxido nítrico y la síntesis de prostaciclina a través de las células endoteliales (Silasi et al., 2010, Foidart et al., 2009, Podjarny et al., 2004, Cheng and Wang, 2009).

El Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es el único mitógeno que actúa específicamente en las células endoteliales mediante la activación de receptores de membrana de VEGF (VEGFR). La activación de los VEGFR activa vías de señalización intracelular que suponen un aumento de la síntesis de óxido nítrico (NO), un gas que parece ser determinante en la proliferación de las células endoteliales además de ser un importante regulador del flujo sanguíneo placentario (Escudero et al., 2009, Escudero and Sobrevia, 2008, Silasi et al., 2010). Los miembros de la familia de VEGF incluyen VEGF-A (o simplemente VEGF), PlGF, VEGF-B, VEGF-C y VEGF-D y otros dos no se expresan en mamíferos (VEGF-E viral y el VEGF-C de veneno de serpiente). El aumento de la producción de VEGF ha sido implicado en el cáncer, donde se cree ayuda al crecimiento y metástasis del cáncer. VEGF actúa sobre las células endoteliales mediante la unión a sus receptores, VEGFR-1 y VEGFR-2 (Silasi et al., 2010, Bates, 2011). La expresión de VEGF también es inducida por ambientes de baja tensión de oxígeno. VEGF-A afecta a las células endoteliales, mediando un aumento en la permeabilidad vascular, induciendo angiogénesis y vasculogénesis y crecimiento celular endotelial. Estudios murinos muestran que el knockout del gen de VEGF-A de ratones homocigotos y heterocigotos mueren en el período embrionario debido a defectos en la angiogénesis. VEGF-B no parece desempeñar un papel tan importante en la angiogénesis como VEGF-A. Al parecer, funciona mejor para mantener los vasos sanguíneos recién formados bajo condiciones patológicas. Por otra parte, la sobreexpresión patológica de VEGF-C puede estar relacionada con linfedema (Silasi et al., 2010, Widmer et al., 2007).

El PlGF es expresado por el trofoblasto de la placenta y es importante para la vasculogénesis y la angiogénesis durante el período de desarrollo embrionario. En numerosos estudios se ha demostrado que el PlGF está disminuido en el suero de mujeres preeclámpticas. Esto es muy probable debido a su unión con niveles elevados de sFlt-1 circulantes (Silasi et al., 2010, Lam et al., 2005).

La subfamilia de factores de VEGF ejerce su efecto mediante la unión con sus receptores. Los receptores de VEGF (VEGFR-1 [Flt-1], VEGFR-2 [KDR/Flk1] y

VEGFR-3) son receptores de tirosina quinasa. Los receptores de tirosina quinasa son un tipo específico de receptor de la proteína quinasa, que funcionan mediante la fosforilación del sustrato para estimular respuestas celulares. El receptor de VEGF se compone de un dominio extracelular, una sola región transmembrana y un componente intracelular que contiene un dominio de tirosina quinasa (Yuan et al., 2005, Silasi et al., 2010). Aunque VEGF-A, VEGF-B y PlGF se unen e interactúan con VEGFR-1, sólo VEGF-A interacciona con VEGFR-2. VEGF-C y VEGF-D interactúan con VEGFR-3, que es expresado principalmente en el endotelio linfático (Silasi et al., 2010).

Por otra parte, los factores antiangiogénicos corresponden a proteínas que se unen directamente a factores de angiogénesis, impidiendo su unión con receptores de membrana en células endoteliales, propiciando la disfunción del endotelio. La forma soluble de VEGFR-1 (sFlt1 o sVEGFR1) resulta del splicing alternativo de Flt1 (Karumanchi and Bdoalah, 2004), un receptor endotelial para VEGF y PlGF. La Tirosina Quinasa-1 Soluble Similar a *fms* (sFlt1) contiene un dominio extracelular de unión al ligando de Flt1, pero carece del dominio transmembrana e intracelular de señalización (figura 11). Por lo tanto, circula y actúa como un potente antagonista de VEGF y PlGF evitando la unión con sus receptores endógenos (Silasi et al., 2010, Maynard and Karumanchi, 2011, Wang et al., 2009, Kita and Mitsushita, 2008, Bdoalah et al., 2004). La expresión placentaria de sFlt1 se incrementa en la preeclampsia y está asociada con un marcado incremento en los niveles de sFlt1 en la circulación materna. Los niveles circulantes de sFlt1 y PlGF se alteran varias semanas antes de la aparición de la enfermedad clínica y se correlacionan con la gravedad de la enfermedad. Los niveles de sFlt1 se normalizan dentro de varios días después de la expulsión de la placenta, coincidiendo con la mejoría de la proteinuria y de la hipertensión (Kleinrouweler et al., 2012, Maynard and Karumanchi, 2011, Li et al., 2012).

La vasoconstricción y la disfunción endotelial son algunos efectos que ha demostrado sFlt1 *in vitro*. Experimentalmente, se ha demostrado que en ratones y ratas grávidas, el aumento en la concentración de sFlt ya sea por infusión directa de la proteína por la inyección del adenovirus que expresa el ARN mensajero de sFlt, produce un cuadro clínico similar a la preeclampsia humana, que incluye hipertensión, proteinuria y endoteliosis glomerular (Kopcow and Karumanchi, 2007, Karumanchi and Epstein, 2007). Por otra parte, Maynard y cols, observaron que la administración de sFlt1

a ratas preñadas generaba un aumento significativo de la presión arterial y de la proteinuria. Adicionalmente, encontraron las mismas lesiones histológicas a nivel renal, esto es, la endoteliosis glomerular, una lesión propia de las pacientes con preeclampsia (Kopcow and Karumanchi, 2007, Maynard et al., 2003).

En un estudio realizado por Li y cols, se observó que la administración de VEGF en ratas, posterior a la adición de sflt-1, provocó una disminución importante de la presión arterial y de la proteinuria y por tanto, una mejora de la fisiología renal. (Li et al., 2007). Estudios de pacientes con cáncer, tratados con proteínas antiangiogénicas muestran resultados similares. Lo anterior, establece líneas de investigación promisorias a desarrollar en el futuro (Yang et al., 2003).

El aumento de sFlt1 parece coincidir en modelos animales de preeclampsia con la reducción de la presión de perfusión uterina tanto en la circulación sistémica como en la placenta, lo cual indica que el aumento de actividad de sFlt1 constituye un proceso esencial que relaciona la disfunción placentaria con la disfunción endotelial materna (Maynard and Karumanchi, 2011). La remoción del sFlt1 o la adición de VEGF ha demostrado *in vitro* revertir la disfunción endotelial inducida por plasma proveniente de pacientes con preeclampsia (Ahmad and Ahmed, 2004).

La endoglina es una glicoproteína transmembrana homodimérica (Lopez-Novoa, 2007) que actúa como un co-receptor de la superficie celular para los miembros de la familia del factor de crecimiento transformante (TGF) tales como el TGF-beta 1 y TGF-beta 3; se expresa de manera abundante en la membrana celular del endotelio vascular y en el sinciotrofoblasto. Estos dos factores son potentes inhibidores de la diferenciación y migración del trofoblasto (Silasi et al., 2010, Poston, 2006, Grill et al., 2009). La endoglina soluble (sEng) es una forma trunca de la endoglina que presenta sólo el dominio extracelular (figura 11) y que se expresa en niveles altos por la capa del sinciotrofoblasto y por las células citotrofoblásticas que experimentan diferenciación a un fenotipo invasivo.

Está regulada positivamente (up-regulated) en la preeclampsia en un patrón similar al sFlt1. La endoglina soluble (sEng) actúa mediante la inhibición de la señalización de TGF-beta en los vasos sanguíneos. El papel exacto de la sEng durante el desarrollo normal de la placenta aún se desconoce (Silasi et al., 2010, Wang et al., 2009, Grill et al., 2009, Maynard et al., 2008).

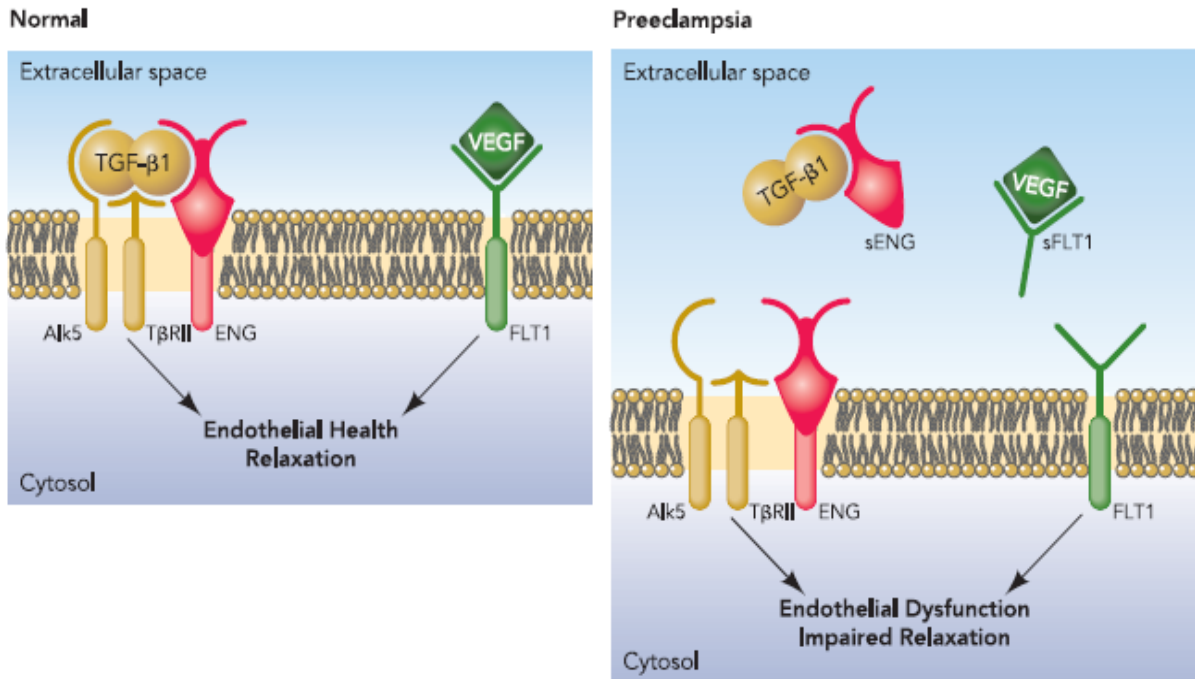


Figura 11. sFlt1 y sEng causan disfunción endotelial a través del antagonismo de la señalización de VEGF y TGF-β.

Hay pruebas de que el VEGF y el TGF-β1 se requieren para mantener la integridad endotelial en varios tejidos, incluyendo el riñón y tal vez la placenta. Durante el embarazo normal, la homeostasis vascular, se mantiene por niveles de señalización fisiológicos de VEGF y TGF-β1 en la vasculatura. En la preeclampsia, el exceso de secreción placentaria de sFlt1 y sEng (dos proteínas antiangiogénicas endógenas circulantes) inhiben la señalización en la vasculatura de VEGF y TGF-β1 respectivamente. Esto da como resultado una disfunción de las células endoteliales, incluyendo disminución de la prostaciclina, producción de óxido nítrico y liberación de proteínas procoagulantes. (Extraído de Wang et al., 2009)

La endoglina soluble (sEng) amplifica el daño vascular mediado por sFlt1 en ratas preñadas, induciendo un síndrome similar a la preeclampsia grave con características del síndrome HELLP. Como ocurre con sFlt1, los niveles circulantes de sEng se incrementan semanas antes de la aparición de la preeclampsia y el aumento en los niveles de sEng se observa en modelos de ratas preeclámpicas en las cuales se ha reducido la perfusión uterina (Furuya et al., 2011).

Se ha logrado demostrar *in vitro* a partir de células trofoblásticas, un aumento en la expresión de sEng y sFlt1 en mujeres con preeclampsia, tanto en condiciones de normoxia y en respuesta a la hipoxia, al compararlas con tejido placentario normal. Aparentemente existiría una vía de señalización común corriente arriba de sFlt1 y sEng, considerando el similar comportamiento en circulación durante el embarazo (Maynard and Karumanchi, 2011). Al igual que sFlt1, la adición de sEng a ratas preñadas demostró que éstas presentaban aumento de la presión arterial y proteinuria, aunque en menor medida que el producido por sFlt1 (Venkatesha et al., 2006). Sin embargo, al administrar estos dos factores antiangiogénicos en conjunto, se observó un efecto sinérgico de ambos, produciendo una proteinuria en rangos nefróticos, elevación de LDH (lactato deshidrogenasa) y enzimas hepáticas, además de una disminución significativa del recuento de plaquetas, lográndose de esta manera producir un cuadro similar al observado en una preeclampsia severa y en el síndrome HELLP como se comentó anteriormente. De esta manera se postula que el desbalance angiogénico sería el elemento crucial en la patogénesis de la preeclampsia (Wang et al., 2009).

10.9.3 Microfragmentos del sinciotrofoblasto derivados de la apoptosis placentaria

10.9.3.1 Características de la Apoptosis

La apoptosis es un proceso celular que ocurre tanto en circunstancias fisiológicas como patológicas y fue descrita por primera vez por Kerr y Wylie en 1972. La apoptosis (del griego apo: desde y ptosis: caída) es una forma de muerte celular programada caracterizada por la condensación del citoplasma celular y de los organelos que posteriormente son incorporados dentro de cuerpos apoptóticos densos revestidos de membrana (Sharp et al., 2010, Huppertz and Herrler, 2005, Abrahams et al., 2004).

Durante la condensación nuclear, se produce la escisión del ADN en fragmentos de 200 pares de bases. Además, la membrana plasmática de la célula sufre grandes alteraciones con pérdida de la asimetría, externalización de la fosfatidilserina y promoción de la fagocitosis. En contraste con la muerte celular necrótica, la apoptosis representa un proceso altamente regulado inducido por estímulos específicos caracterizado por una serie de eventos dependientes de energía, eliminación de material celular no deseado evitando al mismo tiempo una respuesta inmune y el daño a los tejidos circundantes (Sharp et al., 2010, Neale and Mor, 2005).

La apoptosis puede ser iniciada a través de una vía extrínseca o intrínseca. Ambas vías se basan en la activación de una cascada de proteínas, esto es, interacciones orquestadas por una familia de cisteína proteasas, las llamadas caspasas, que son capaces de escindir las proteínas estructurales de la célula produciendo las apariencias morfológicas típicas de la apoptosis. Además, las caspasas activas potencian la señal de apoptosis mediante la activación de una variedad de proteínas proapoptóticas (Sharp et al., 2010). La apoptosis es un proceso conservado en la evolución que es ejecutado por esta familia de las cisteína proteasas, las cuales cortan después de un residuo de ácido aspártico contenido en sus sustratos. En mamíferos se han identificado catorce caspasas, de las cuales al menos ocho participan en la regulación del proceso apoptótico. Las caspasas implicadas en la apoptosis se dividen generalmente en dos categorías: las caspasas iniciadoras, que incluyen a la caspasa 2, 8, 9 y 10 y las caspasas efectoras, que incluyen a la caspasa 3, 6 y 7 (Velázquez, 2004, Sharp et al., 2010, Straszewski-Chavez et al., 2005). Una caspasa iniciadora se caracteriza por tener un prodominio N terminal extendido (>90 aminoácidos) importante para su activación, mientras que una caspasa efectora contiene de 20-30 residuos en la secuencia del prodominio. Todas las caspasas se producen en las células como zimógenos catalíticamente inactivos y deben experimentar activación proteolítica durante la apoptosis para llevar a cabo sus funciones. La activación de una caspasa efectora es realizada por una caspasa iniciadora a través del corte en un residuo específico interno de ácido aspártico que separa a la subunidad grande de la pequeña. En cambio, las caspasas iniciadoras son autoactivadas. Estas últimas contienen invariablemente uno de dos dominios de interacción proteína-proteína: el CARD (dominio de reclutamiento de caspasas) o el DED (dominio efector de muerte). Estos dominios interactúan con dominios similares presentes en proteínas adaptadoras oligomerizadas y de esta manera se reclutan caspasas iniciadoras que al

estar en estrecho contacto unas con otras facilitan su autoactivación (Velázquez, 2004, Elinos-Báez, 2003). Una vez activadas, las caspasas efectoras son responsables del corte proteolítico de un amplio espectro de blancos celulares, conduciendo finalmente a la muerte celular. Los sustratos celulares conocidos incluyen componentes estructurales (como actina y la lámina nuclear), proteínas regulatorias como la DNAPK (proteína cinasa activada por DNA), inhibidores de desoxirribonucleasa como ICAD (inhibidor de la DNAsa activada por caspasa) y otras proteínas proapoptóticas y caspasas (Velázquez, 2004).

El término apoptosis extrínseca se ha utilizado ampliamente para indicar los casos de muerte celular apoptótica que son inducidos por señales de estrés extracelulares que son detectadas y que se propagan por receptores transmembrana específicos (Wajant, 2002, Schutze et al., 2008, Mehlen and Bredesen, 2011). La apoptosis extrínseca puede ser iniciada por la unión de ligandos letales, tales como el ligando FAS/CD95 (FASL/CD95L), el factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$) y el miembro 10 de la superfamilia de TNF (TNFSF10, mejor conocido como ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF, TRAIL), a varios receptores de muerte (por ejemplo, FAS/CD95, el receptor 1 del TNF- α (TNFR1) y el receptor de TRAIL (TRAILR), respectivamente) (Wajant, 2002). Alternativamente, una señal extrínseca pro-apoptótica puede ser enviada por los llamados “receptores de dependencia”, incluyendo los receptores de netrina (por ejemplo, “uncoordinated protein 5A-D” (UNC5A-D) y el “deleted in colorectal carcinoma” (DCC)), que sólo ejercen funciones letales cuando las concentraciones de sus ligandos específicos caen por debajo de un nivel umbral crítico (Mehlen and Bredesen, 2011). Una vía de señalización prototípica que conduce a la apoptosis extrínseca es provocada por la unión de FAS. En ausencia de FASL, las subunidades de FAS se ensamblan espontáneamente en la membrana plasmática para generar trímeros, por medio del llamado “dominio de ensamblaje preligando” (PLAD) (Siegel et al., 2000). La unión del ligando estabiliza tales trímeros mientras se induce un cambio conformacional que permite el ensamblaje de un complejo multiproteico dinámico en la cola citosólica del receptor. Esto se produce debido a una secuencia conservada de 80 residuos que es compartido por todos los receptores de muerte, el llamado “dominio de muerte” (DD) (Galluzzi et al., 2012).

Las proteínas reclutadas al DD de FAS incluyen a la “proteína quinasa 1 de interacción con el receptor” (RIPK1, más conocido como RIP1), a la “proteína con un

DD asociada a FAS” (FADD), múltiples isoformas de la “proteína celular inhibitoria similar a FLICE” (c-FLIP) (Budd et al., 2006), “proteínas celulares inhibitoras de la apoptosis” (cIAPs), ligasas de ubiquitina E3, que también inhiben la apoptosis debido a su capacidad de interferir con la activación de caspasas y la pro-caspasa-8 (o la pro-caspasa 10) (Meier and Vowsden, 2007, Lavrik et al., 2005). El complejo supramolecular resultante, que se ha denominado “complejo de señalización inductor de muerte” (DISC), constituye una plataforma que regula la activación de la caspasa-8 (o la caspasa-10) (Galluzzi et al., 2012).

Es de destacar que las proteínas TNFR1 requieren a la proteína “DD asociado a TNFR” (TRADD) para el reclutamiento de FADD y la caspasa-8, mientras que FAS y TRAILR1/2 no (Schutze et al., 2008), lo que da cuenta de la existencia de subgrupos de receptores de muerte con propiedades específicas de señalización. Del mismo modo, los DD de algunos receptores de muerte, por ejemplo, TNFR1, reclutan otras proteínas asociadas a FADD que no se encuentran en el complejo DISC, incluyendo el “factor 2 asociado a TNFR” (TRAF2) y TRAF5 (Micheau and Tschopp, 2003). En este contexto específico, RIP1 es poliubiquitinizada por cIAPs (Bertrand et al., 2008), lo que permite el reclutamiento de la “proteína quinasa 1 activada por el factor de crecimiento transformante β (TAK1), de la “proteína 2 de unión a TAK1” (TAB2) y de TAB3, las que juntas pueden estimular la vía de activación canónica para el factor de transcripción multifuncional conocido como “factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas” (NF- κ B) (Ea et al., 2006). Por lo tanto, la activación de los receptores de muerte no siempre implica la transducción de una señal letal. Esto es particularmente cierto para TNFR1, donde se ha demostrado su participación en procesos celulares tan diferentes como la proliferación celular y su rol en modalidades distintas de muerte celular. Independientemente de estas variaciones, las vías de señalización en las que participan tanto FAS como TNFR1 parecen ser sometidas a un grado consistente de regulación (Schutze et al., 2008).

En algunos tipos de células incluyendo los linfocitos (que han sido apodadas "células del tipo I"), la caspasa-8 activa, cataliza directamente la maduración proteolítica de la caspasa-3, para que proceda a la fase ejecutora de la apoptosis dependiente de caspasas en una forma independiente de la mitocondria. En otras células, tales como los hepatocitos y células β pancreáticas (“células del tipo II”)

(Barnhart et al., 2003, Galluzzi et al., 2012) la caspasa-8 media la escisión proteolítica de la proteína conocida como “agonista del dominio de muerte que interactúa con BH3” (Bid), que conduce a la generación de un fragmento proteico que participa en la permeabilización mitocondrial (conocido como la “forma truncada de Bid”, tBid). Por lo tanto, mientras que las células del tipo I se someten a apoptosis extrínseca independientemente de alguna contribución de las mitocondrias (tBID y la permeabilización de la membrana mitocondrial externa (MOMP) puede ocurrir o estar en estas células, pero son prescindible para la ejecución de la apoptosis extrínseca), las células del tipo II mueren a partir de la activación de los receptores de muerte, mostrando signos de MOMP, incluyendo la disipación del potencial transmembrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$) y la liberación de proteínas tóxicas que normalmente se retienen dentro del espacio intermembrana mitocondrial (IMS) (Kroemer et al., 2007, Galluzzi et al., 2012). Entre estos, el citocromo c (CYTC) conduce junto con la proteína adaptadora citoplásmica llamada “factor 1 activador de la proteasa apoptótica” (APAF1) y la “desoxiadenosina trifosfato” (dATP) el ensamblaje del apoptosoma, otro complejo multiproteico activador de las caspasas.

La contribución real de la caspasa-10 a la apoptosis extrínseca, un estrecho homólogo de la caspasa-8, aún es poco clara. Así, mientras que varios informes indican que la caspasa-10 es reclutada por DISC y que se activa en respuesta a la señalización del receptor de muerte, parece que la caspasa-10 no puede sustituir funcionalmente a la caspasa-8. Por otra parte, se ha sugerido recientemente que la caspasa-10 podría ser requerida para la cascada de señalización letal encendida por los receptores de muerte en presencia de inhibidores de caspasas (Sprick et al., 2002, Lafont et al., 2010, Galluzzi et al., 2012).

Las rutas moleculares por las cuales los receptores de dependencia están relacionados con la rápida activación de las caspasas ejecutoras, en particular, la caspasa-3, han comenzado a surgir recientemente. En ausencia de sus ligandos, algunos receptores de dependencia similar a los “receptores Patched” y a los DCC (deleted in colorectal carcinoma) parecen interactuar con la proteína adaptadora citoplásmica “LIM-Domain Protein Down-Regulated in Rhabdomyosarcoma” (DRAL) para ensamblar una plataforma activadora de la caspasa-9 (Mille et al., 2009). Otro receptor de dependencia, UNC5B, responde a la retirada de la netrina-1 mediante el

reclutamiento de un complejo de señalización que incluye a la “proteína fosfatasa 2A” (PP2A) y a la “proteína quinasa 1 asociada a la muerte” (DAPK1). Esta interacción multiproteica llevaría a la desfosforilación de DAPK mediada por PP2A (Guenebeaud et al., 2010, Bialik and Kimchi, 2006).

Adicionalmente, hay varias otras proteínas transmembrana que al menos en circunstancias seleccionadas pueden transducir señales letales en respuesta a la unión del ligando, incluyendo al “cúmulo de diferenciación 2” (CD2), “cúmulo de diferenciación 4” (CD4), “miembro 8 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral” (TNFRSF8/CD30), “miembro 5 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral” (TNFRSF5/CD40), “cúmulo de diferenciación 45” (CD45), “receptor de quimiocinas tipo 4 C-X-C”(CXCR4) y moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I/II. De manera similar a TNFR1, la mayoría de estas proteínas tienen funciones duales: dependiendo del contexto celular y de los estímulos desencadenantes ellas pueden iniciar, ya sea señales pro-muerte o pro-supervivencia. Sin embargo, las cascadas moleculares desencadenadas por estos receptores son complejas y a menudo mal aclaradas, en particular con respecto a su dependencia de las caspasas (Galluzzi et al., 2012).

Sobre la base de estas consideraciones, se propone la siguiente definición operativa de la apoptosis extrínseca. La apoptosis extrínseca es una subrutina de la muerte celular dependiente de caspasa y por lo tanto, se puede suprimir (al menos en teoría) por inhibidores químicos de caspasas tales como N-benciloxycarbonil-Val-Ala-Asp-fluorometilcetona (Z-VAD-fmk) o por la sobreexpresión de inhibidores virales de caspasas similar al “cytokine response modifier A” (CrmA). La apoptosis extrínseca podría desencadenarse por una de entre tres principales cascadas de señalización letales:

(i) la señalización del receptor de muerte y la activación de la caspasa-8 (o caspasa-10) e inicio de la cascada de la caspasa-3, (ii) la señalización del receptor de muerte y la activación de la vía de la caspasa-8-tBid-MOMP-caspasa-9-caspasa-3, o (iii) la señalización del receptor de dependencia inducida por la falta del ligando seguido por (directa o MOMP-dependiente) la activación de la caspasa-9 e inicio de la cascada de la caspasa-3 (figura 12) (Galluzzi et al., 2012, Kroemer et al., 2007).

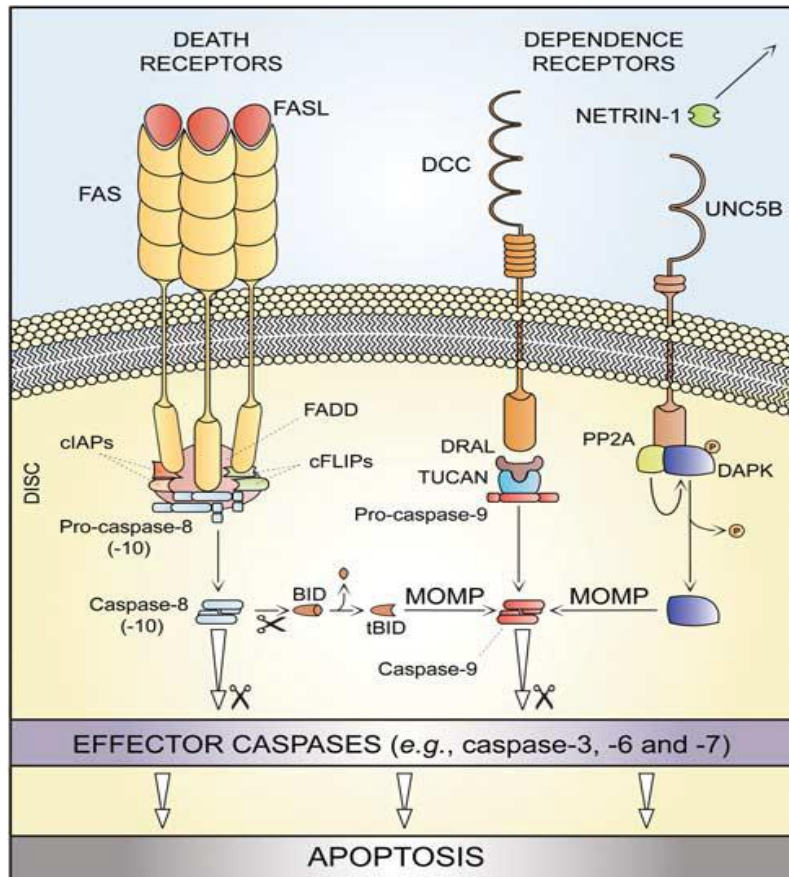


Figura 12. Mediadores moleculares de la vía extrínseca de la apoptosis. TUCAN: Tumor up-regulated CARD-containing antagonist of CASP9. (Extraído de Galluzzi et al., 2012)

La apoptosis intrínseca de las células puede ser provocada por muchas condiciones de estrés intracelular, incluyendo daño en el ADN, estrés oxidativo, sobrecarga de calcio citosólico, excitotoxicidad leve (relacionada con la sobreestimulación de receptores de glutamato en el sistema nervioso), acumulación de proteínas no plegadas en el retículo endoplasmático (ER) y muchas otras. Aunque las cascadas de señalización que gatillan la apoptosis intrínseca son muy heterogéneas en lo que se refiere a los estímulos que la inician, todas ellas están conectadas a un mecanismo de control centrado en la mitocondria (Kroemer et al., 2007).

Frecuentemente, junto con la propagación de la cascada de señalización pro-apoptótica, los mecanismos anti-apoptóticos también están involucrados, en un intento de permitir a las células hacer frente al estrés. En este escenario, tanto las señales pro-

apoptóticas como las señales anti-apoptóticas convergen en la membrana mitocondrial, la cual es permeabilizada cuando las primeras señales predominan sobre las segundas (Galluzzi et al., 2012). La permeabilización de la membrana mitocondrial externa (MOMP) puede desarrollarse debido a la actividad formadora de poros de los miembros pro-apoptóticos de la familia de proteínas Bcl-2, tales como Bax y Bak o puede ser el resultado de un fenómeno llamado “permeabilidad transitoria mitocondrial” (MPT) que se origina en la membrana mitocondrial interna debido a la apertura de un complejo multiproteico conocido como el “complejo de poro de permeabilidad transitoria” (PTPC) (Tait and Green, 2010, Brenner and Grimm, 2006). Independientemente de los mecanismos bioquímicos y físicos precisos a través del cual se desarrolla, la “permeabilización de la membrana mitocondrial externa” (MOMP) que afecta a la mayoría de las mitocondrias dentro de una célula, tiene múltiples consecuencias letales:

(i) la disipación del potencial transmembrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$), con el cese de las actividades de transporte dependientes de $\Delta\psi_m$ y de la síntesis de ATP mitocondrial; (ii) la liberación de proteínas tóxicas desde el espacio intermembrana mitocondrial (IMS) al citosol, incluyendo a CYTC, “factor inductor de apoptosis” (AIF), “endonucleasa G” (ENDOG), “proteína de unión directa a IAP con bajo punto isoeléctrico” (DIABLO, también conocido como “segundo activador de caspasas derivado de la mitocondria”, SMAC) y la “proteína A2 con requerimiento de alta temperatura” (HTRA2) y finalmente (iii) la inhibición de la cadena respiratoria (favorecida por la pérdida de CYTC), provocando o intensificando la sobreproducción de ROS y por lo tanto, activando un circuito de anteroalimentación para la amplificación de la señal apoptótica (Kroemer et al., 2007, Galluzzi et al., 2012).

Así, la apoptosis intrínseca resulta de una catástrofe bioenergética y metabólica acoplada a múltiples mecanismos ejecutores activos. Después de la “permeabilización de la membrana mitocondrial externa” (MOMP), el CYTC citosólico participa con APAF1 y dATP en la formación del apoptosoma, que activa la caspasa-9 y por tanto, la cascada proteolítica de la caspasa-3 (Galluzzi et al., 2012). AIF y ENDOG se trasladan al núcleo, donde median la fragmentación del ADN a gran escala de forma independiente de caspasas (Joza et al., 2001, Li et al., 2001, Buttner et al., 2007). Las proteínas SMAC/DIABLO y HTRA2 inhiben la función antiapoptótica de varios miembros de la familia de las “proteínas inhibidoras de la apoptosis” (IAP), permitiendo

de este modo la activación de las caspasas (Chai et al., 2000). Además, HTRA2 ejerce efectos pro-apoptóticos independiente de caspasas en virtud de su actividad serina proteasa (Vande Walle et al., 2007). Estos mecanismos presentan un grado considerable de redundancia, como se ha demostrado por el hecho de que el knockout o la inhibición genética de proteínas individuales del IMS no siempre afecta la ejecución de la apoptosis intrínseca (David et al., 2006).

En vista de estas observaciones, se sugiere definir "apoptosis intrínseca" como un proceso de muerte celular que está mediada por la "permeabilización de la membrana mitocondrial externa" (MOMP) y por lo tanto, está siempre asociada con (i) disipación del "potencial transmembrana mitocondrial" ($\Delta\psi_m$) irreversible y generalizado (ii) la liberación de proteínas desde el IMS al citosol (y su posible relocalización a otro compartimiento subcelular) y (iii) la inhibición de la cadena respiratoria (figura 13) (Daish et al., 2004, Galluzzi et al., 2012).

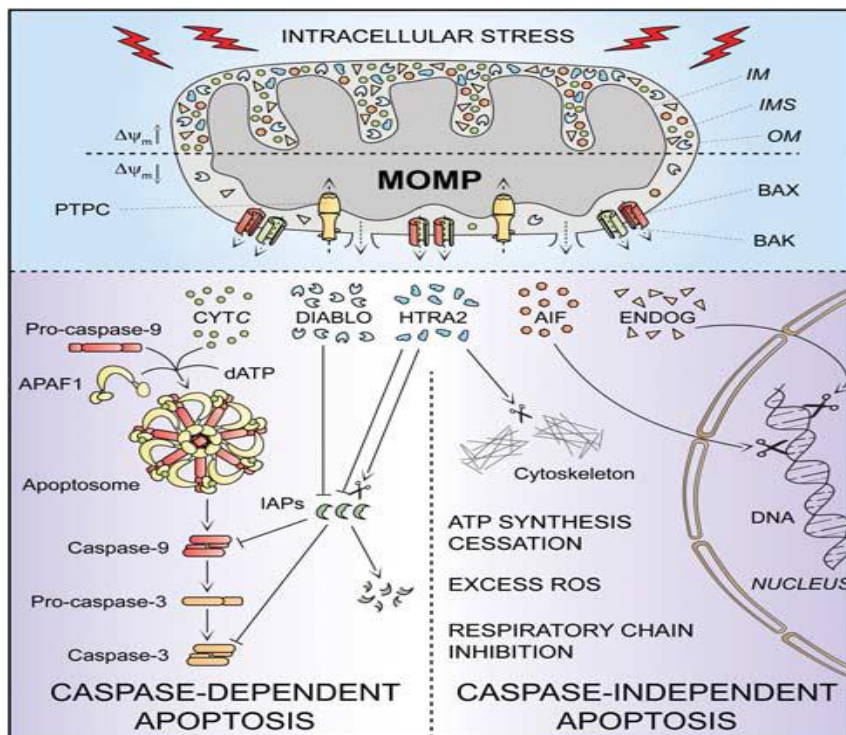


Figura 13. Mediadores moleculares involucrados en la apoptosis intrínseca. IM: membrana mitocondrial interna; OM: membrana mitocondrial externa; IMS: espacio intermembrana. (Extraído de Galluzzi et al., 2012)

Ambas vías culminan en una vía terminal que involucra la escisión y activación de las caspasas 3, 6, y 7 iniciando la destrucción celular mediante la activación de ADNasas y la escisión de enzimas de reparación del ADN, tales como la “poli (ADP-ribosa) polimerasa” (PARP) (Sharp et al., 2010).

Finalmente, uno de los mediadores moleculares más característicos del fenómeno de la apoptosis son las proteínas de la familia Bcl-2. Existen diversos miembros de esta familia con funciones antagónicas. Los miembros proapoptóticos más estudiados son Bax, Bid, Bad, Bak, Bcl-Xs, mientras que los antiapoptóticos son Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1 y Bcl-w. Los miembros de esta familia forman homodímeros o heterodímeros dependiendo de su concentración en las membranas celulares. El balance en la expresión de estas proteínas determina la activación de la “permeabilidad transitoria mitocondrial” (MPT) con la consecuente liberación del CYTC al citosol y la activación de la caspasa-9. Además, algunos de los miembros antiapoptóticos se unen a APAF1 e inhiben la activación de esta caspasa (Elinos-Báez, 2003).

10.9.3.2. Rol de la apoptosis placentaria en el embarazo normal

En la última década, se ha caracterizado el rol de la cascada de la apoptosis en el recambio del trofoblasto veloso y la formación de sincicios. Las observaciones indican que el proceso de fusión sincicial está vinculado a las “etapas iniciales” de la cascada apoptótica dentro de las células del citotrofoblasto, mientras que la extrusión de nodos sinciciales desde el sinciotrofoblasto es el resultado de las “etapas de ejecución” finales de la cascada de la apoptosis dentro del sinciotrofoblasto (Black et al., 2004).

10.9.3.2.1 Citotrofoblasto y etapa inicial de la apoptosis

En la actualidad, los mecanismos mediante los cuales se inicia la cascada de la apoptosis en el citotrofoblasto y que posteriormente son regulados en la capa del sinciotrofoblasto, siguen siendo poco claros. La etapa de iniciación debe estar confinada a un subgrupo de células, de modo que la población de células en proliferación pueda proporcionar continuamente nuevo material celular para la capa de sinciotrofoblasto suprayacente. Un subconjunto de citotrofoblasto humano expresa el factor de transcripción GCM1 (Glial Cell Missing) que en ratones es conocido por

detener la proliferación celular y desencadenar la fusión sincicial. Este patrón de expresión asimétrica del factor de transcripción regula el proceso por el cual las células se seleccionan para la fusión sincicial. Estas mismas células inician la vía de expresión de proteínas relacionadas con la apoptosis que son necesarias para la fusión sincicial. Estas incluyen efectores, así como inhibidores de la cascada tales como, caspasas o proteínas de la familia de proteínas Bcl-2 (Baczyk et al., 2004, Huppertz et al., 2006).

La familia de proteínas caspasas como se comentó anteriormente, incluye proteasas intracelulares que escinden sus blancos junto a un residuo de ácido aspártico, llamadas así aspartasas de cisteína o caspasas. Sobre la base de homologías estructurales y preferencias de sustrato, la familia se ha subdividido en subfamilias. Todos los miembros de la subfamilia de caspasas similar a la caspasa-3 (caspasas 3, 6, 7, 8, 9, y 10) desempeñan un papel central en la cascada de la apoptosis. Esta subfamilia se divide además en caspasas de señalización/iniciadoras (8, 9, y 10) y caspasas efectoras/de ejecución (3, 6, y 7). La principal diferencia entre los miembros de los dos grupos es que las caspasas iniciadoras son activas durante las etapas tempranas, o reversibles de la cascada de la apoptosis, mientras que la activación de las llamadas caspasas efectoras, ocurrirá en una transición posterior que en última instancia conducirá a la muerte celular por apoptosis (Huppertz et al., 2006). Las caspasas se sintetizan como enzimas inactivas que requieren una escisión o corte estructural para ejercer sus funciones biológicas. Las caspasas iniciadoras 8 y 10 se activan en un subconjunto de citotrofoblasto diferenciado, presumiblemente destinado a la fusión sincicial. En contraste, las caspasas efectoras (3, 6 y 7) se expresan sólo en sus formas inactivas en la capa de citotrofoblasto (Burton et al., 2003, Huppertz et al., 2006). La activación de la caspasa iniciadora-8 se logra por interacciones ligando-receptor, por ejemplo, interacciones entre el TNF- α y su receptor TNF-R1. El papel crucial de la caspasa-8 en la preparación del citotrofoblasto para la fusión sincicial fue demostrado por Black et al., quien mostró que la interrupción de la expresión de la caspasa-8 y por tanto, la activación obstaculizada de la fusión sincicial en explantes de vellosidades flotantes, resulta en una acumulación de capas de citotrofoblastos mononucleares. Los intentos por aislar citotrofoblastos inevitablemente resultan en una mezcla de citotrofoblastos junto con fragmentos mononucleadas del sincitiotrofoblasto. En tales fracciones celulares, muchos marcadores de apoptosis se puede encontrar, incluyendo la marcación TUNEL positiva, la unión de anexina V, cambios en la razón ATP:ADP y mediciones de la actividad de las caspasas (Huppertz

et al., 2006, Black et al., 2004). Estos datos ponen de manifiesto la limitación de los estudios de la regulación de la apoptosis en preparaciones celulares aisladas.

La actividad de la caspasa-8 se evidencia en la escisión de las proteínas que unen el citoesqueleto a la membrana plasmática, tales como la alfa-fodrina y en la externalización de la fosfatidilserina desde el interior hacia el exterior de la membrana plasmática, el llamado “PS-flip”. El bloqueo de fodrina por microinyección de anticuerpos anti alfa-fodrina en células epiteliales de riñón de bovino Madin-Darby desencadena la fusión célula-célula. El flip de la fosfatidilserina puede ser bloqueado por el inhibidor de caspasa zVAD-fmk y el flip tiene lugar antes de la liberación del CYTC en el citoplasma. Huppertz et al. han demostrado que el flip de la fosfatidilserina ocurre en el citotrofoblasto veloso antes de la fusión sincicial. Esta secuencia temporal también se ha observado durante la formación de los miotúbulos del músculo esquelético (Huppertz et al., 2006).

En general, una vez que una célula ha activado la vía de la caspasa efectora, morirá por apoptosis dentro de 24 horas. Sin embargo, en el trofoblasto veloso, los núcleos del citotrofoblasto que entran en el sinciotrofoblasto permanecen intactos y viables durante unas pocas semanas. El citotrofoblasto que se prepara para la fusión sincicial inicia la maquinaria celular necesaria para la apoptosis, sin embargo, ellos producen al unísono varios inhibidores de la apoptosis. Uno de los primeros informes de proteínas relacionadas con la apoptosis en la placenta humana mostró altas concentraciones en el trofoblasto de Bcl-2, un inhibidor de la apoptosis. Otros miembros antiapoptóticos de la familia de proteínas Bcl-2 también han sido descritos en el citotrofoblasto (Huppertz et al., 2006, Suzuki et al., 2000). Los miembros antiapoptóticos de la familia de proteínas Bcl-2 inhiben el progreso de la cascada de la apoptosis a nivel mitocondrial entre la actividad de las caspasas iniciadoras 8 y 10 y la activación de las caspasas ejecutoras. Por lo tanto, están óptimamente colocados para detener la cascada apoptótica después de las primeras etapas caracterizadas por la actividad de las caspasas iniciadoras.

Existen una familia de proteínas reguladoras de la apoptosis llamadas IAP (proteínas inhibitorias de la apoptosis) que regulan la actividad y el número de caspasas activas, entre la cuales se encuentran: XIAP, NIAP, survivina y livina (Holcik et al.,

2001). Adicionalmente, una proteína denominada Flip (flice-like inhibitory protein) se expresa en el tejido placentario y junto con la caspasa-8 compete para unirse a receptores de muerte activados entre los que destacan TNFR1 o Fas. A través de este proceso el citotrofoblasto vellosito puede regular el número de caspasa-8 activas y reducir la actividad degradativa de estas enzimas (Huppertz et al., 2006, Aschkenazi et al., 2002). La apoptosis en el estadio iniciador se caracteriza porque las células del citotrofoblasto abandonan el ciclo celular, dejando de proliferar para comenzar la diferenciación y así posteriormente fusionarse. Esta etapa reversible consta de los siguientes sucesos celulares (figura 14):

(i) Acoplamiento del TNF- α al receptor p55 (TNFR1) localizado en la membrana del citotrofoblasto, lo cual gatilla la activación de la procaspasa-8, (ii) la caspasa-8 induce lisis de proteínas que unen el citoesqueleto a la membrana plasmática, como la alfa-fodrina; también produce la translocación de la fosfatidilserina (PS-flip) por fuera de la membrana celular, generando la señal clave para la fusión sincicial, (iii) posteriormente existe formación de gap junctions y secreción de moléculas fusogénicas, como la conexina 43, (iv) luego se produce la fusión de células y la consiguiente formación de sincicios (Huppertz et al., 2006).

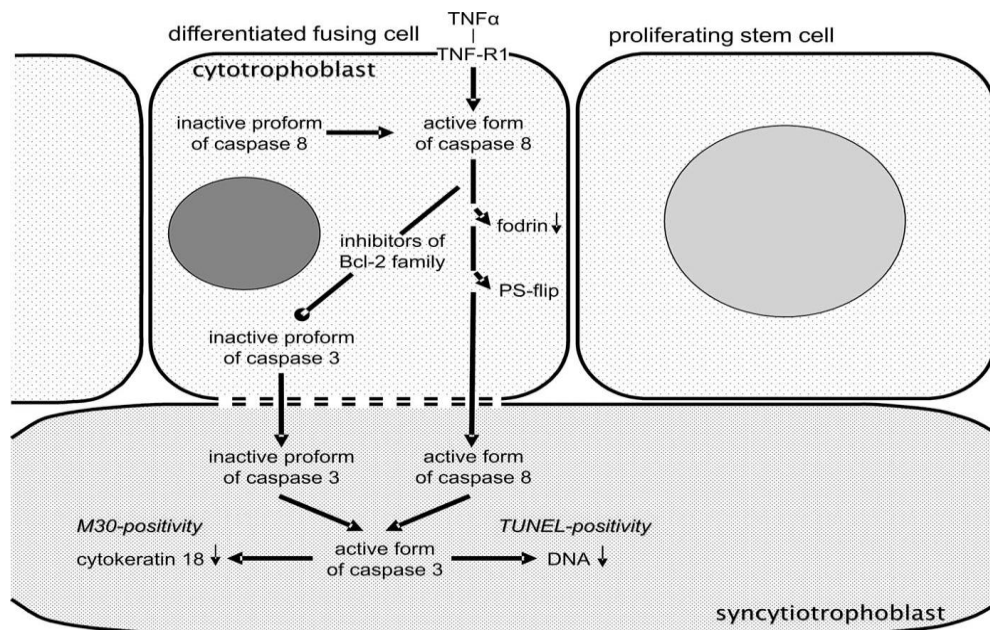


Figura 14. Esquema de la cascada apoptótica dentro del citotrofoblasto y del sinciotrofoblasto. (Extraído de Huppertz et al., 2006)

10.9.3.2.2. Sinciciotrofoblasto y etapa de ejecución de la apoptosis

La formación, crecimiento y el mantenimiento de la capa de sinciciotrofoblasto durante todo el embarazo se logra mediante la fusión continua de nuevos citotrofoblastos. El proceso de fusión integra el contenido citoplásmico y los núcleos del citotrofoblastos en el sinciciotrofoblasto. Este proceso permite el complemento del sinciciotrofoblasto con la maquinaria completa de la cascada de la apoptosis. Como se ha indicado, las proteínas que participan y que se incorporan incluyen enzimas antiapoptóticas, lo que explica por qué la cascada de la apoptosis no progresa inmediatamente hacia sus eventos finales en el interior del sinciciotrofoblasto, es decir, la degradación del ADN y la formación de nodos sinciciales. Los datos de estudios morfométricos indican que el núcleo de una célula del trofoblasto se queda en el sinciciotrofoblasto durante aproximadamente 3 a 4 semanas después de la fusión sincicial (Huppertz et al., 2006). El arresto de la cascada apoptótica después de la fusión puede ser debido a los mismos mecanismos como en el citotrofoblasto, esto es, la actividad de los inhibidores a nivel mitocondrial. En comparación con el citotrofoblasto, los miembros antiapoptóticos de la familia Bcl-2 parece que están aumentados (upregulated) en el sinciciotrofoblasto, lo que sugiere un papel de estas proteínas en la prevención de la apoptosis en curso, siguiente a la fusión sincicial. La cascada de la apoptosis de alguna manera se vuelve a activar después de varias semanas, pero los mecanismos de activación son actualmente desconocidos. El sinciciotrofoblasto puede experimentar una etapa latente en la apoptosis, porque el envejecimiento de los núcleos del sinciciotrofoblasto desde la fusión hasta la incorporación dentro de los nodos sinciciales refleja cambios en la forma nuclear. Los núcleos que están recién incorporados después de la fusión sincicial son grandes, de forma ovoide y ricos en eucromatina (Huppertz et al., 2006). Durante su paso a través del sincicio los núcleos se hacen más pequeños y más densos. Por último, muestran agregaciones densas de cromatina debajo de la membrana nuclear (Huppertz et al., 2006). Paralelo al envejecimiento nuclear, los organelos citoplasmáticos tales como, el retículo endoplasmático rugoso, polisomas y las mitocondrias se reducen, terminando con la desgranulación del retículo endoplásmico en un retículo endoplasmático liso. Por último, las caspasas efectoras como las caspasas 3 y 6 son activas en sitios específicos del sinciciotrofoblasto, lo que conduce a la escisión y degradación de proteínas y ácidos nucleicos, representando así la etapa final de la cascada apoptótica.

Esta etapa de ejecución dentro del sinciotrofoblasto está estrictamente regulada tanto temporal como espacialmente. Por ejemplo, a pesar de la entrada del citotrofoblasto en un sincicio sin bordes, la activación de la caspasa-3 y la progresión hacia el componente nuclear, se limita a áreas discretas que en última instancia se convierten en nodos sinciciales. En condiciones normales, los efectos degradativos, tales como, la degradación del ADN (TUNEL positivo) y la degradación de los filamentos de citoqueratina están restringidos a ciertos sitios y no se distribuyen a todos los compartimientos celulares (Kadyrov et al., 2001, Huppertz et al., 2003). Una prueba morfológica para detectar la degradación del ADN es el uso de un microscopio electrónico, que se considera como la técnica gold standard para detectar cambios nucleares durante el final de la apoptosis (Burton et al., 2003). La degradación del citoesqueleto en partes del sinciotrofoblasto puede ser responsable de la alteración del anclaje de los núcleos sinciciales más viejos. Los núcleos maduros parecen moverse hacia las puntas de las vellosidades y se acumulan en masas apretadas conocidas como nodos sinciciales. Aún no se logra dilucidar si la fuerza impulsora para la acumulación nuclear es proporcionada por la tensión de corte causada por el flujo de sangre materna en el espacio intervelloso. Esta hipótesis está apoyada por el hecho de que las acumulaciones nucleares no tienen *in vivo* lugar en sitios con estasis de la circulación sanguínea materna.

Los núcleos apoptóticos tardíos y viejos se va incorporando en unas protrusiones de la membrana plasmática apical del sinciotrofoblasto, llamados nodos sinciciales, lo cual marca el evento final de la cascada de la apoptosis en el interior del sinciotrofoblasto. Los nodos morfológicamente se correlacionan con cuerpos apoptóticos encontrados en células mononucleadas en apoptosis tardía (Huppertz et al., 2006). En el sinciotrofoblasto multinucleado la formación de nodos sinciciales es la característica morfológica clásica de las etapas finales de la cascada apoptótica. Los nodos sinciciales se liberan de la membrana plasmática apical del sinciotrofoblasto y se desprenden a la circulación materna en forma de estructuras corpusculares bien cerradas (figura 15).

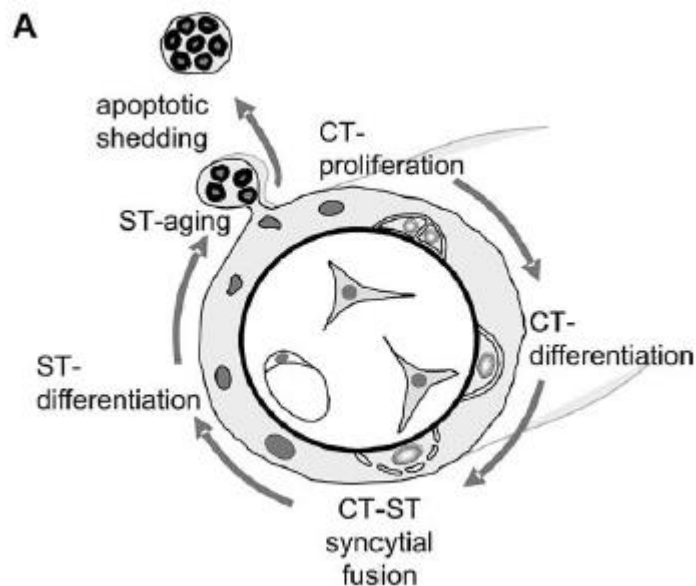


Figura 15. Modelo de desprendimiento de nodos sinciciales durante el proceso de apoptosis placentaria normal. (Extraído de Huppertz et al., 2006)

En la circulación materna han sido detectados tanto en las venas uterinas, así como en los vasos pulmonares, conduciendo a veces a embolia trofoblástica en el interior del pulmón (Huppertz et al., 2006, Delmis et al., 2000). Estos grandes corpúsculos y fragmentos sinciciales apoptóticos se encuentran en venas uterinas, pero no en sangre arterial de mujeres embarazadas. Esta diferencia se debe al proceso de fagocitosis por parte de los macrófagos pulmonares, reduciendo así drásticamente el número de nodos sinciciales en la sangre periférica de la madre. En contraste, los fragmentos de membrana subcelulares y las moléculas libres de restos de células pueden circular libremente y pasar los capilares del pulmón, como ocurre en la preeclampsia. Ocasionalmente, estructuras trofoblásticas mayores se pueden encontrar en la sangre venosa periférica de mujeres con embarazo normal (Huppertz et al., 2006).

El cálculo de la proliferación del citotrofoblasto veloso, la fusión sincicial y el crecimiento de las velosidades durante la gestación conduce a la conclusión de que varios gramos de material se desprenden por día como nodos sinciciales apoptóticos en la circulación materna. Es importante tener en cuenta que el material liberado es incorporado en nodos sinciciales bien cerrados, previniendo de este modo una respuesta inflamatoria por vasos sanguíneos y órganos de la madre (Kaufmann et al., 2003).

Considerando lo anteriormente expuesto, se puede plantear entonces que la etapa de ejecución es un estadio irreversible donde durante el proceso de fusión se integran los contenidos citoplasmático y nucleico del citotrofoblasto hacia el sinciotrofoblasto, aportando así al sinciotrofoblasto la maquinaria completa de la cascada apoptótica.

Durante la fusión sincicial se incorporan altos niveles de proteínas antiapoptóticas, tales como Bcl-2, lo cual genera un bloqueo inhibitorio de la cascada existiendo por tanto, un estado apoptótico latente durante 3 o 4 semanas (Huppertz et al., 2006, Marzioni et al., 1998). Posteriormente la cascada se reinicia con la activación de la caspasa efectora 3, con la consiguiente degradación de proteínas y ácidos nucleicos.

La etapa de ejecución se desarrolla temporalmente, a través de los siguientes eventos: (i) bloqueo de la cascada de apoptosis por enzimas Bcl-2, existiendo un período de latencia que dura alrededor de 3-4 semanas, (ii) reinicio por activación de caspasa-3, (iii) activación de enzimas que degradan microfilamentos de citokeratina 18 en el citoesqueleto, lo que hace perder el anclaje del núcleo, (iv) transformación y desplazamiento del núcleo, el que de forma alargada, ovoidea y rico en eucromatina, pasa después de la fusión a una forma pequeña y con cromatina densa, (v) degradación del ADN del núcleo, (vi) empaquetamiento de los desechos dentro de protrusiones de la membrana apical del sinciotrofoblasto, constituyéndose así los nodos sinciciales o apoptóticos y (vii) la liberación de estos nodos apoptóticos al torrente sanguíneo materno (Huppertz et al., 2006).

10.9.3.2.3. La cascada de la apoptosis en el trofoblasto extraveloso

La regulación de la cascada de la apoptosis en el trofoblasto extraveloso no se conoce bien en parte debido a la falta de acceso a tipos de células y tejidos pertinentes, tales como, muestras de biopsias del lecho placentario. Hasta el momento, el aislamiento de trofoblasto extraveloso primario puro no ha sido posible sin alteración de su fenotipo. Además, todas las líneas celulares probadas hasta ahora se parecen sólo parcialmente a las características del trofoblasto extraveloso. Es así, que la mayoría de los estudios que se han realizado han usado la técnica de fijación de tejidos de biopsia del lecho placentario o muestras de histerectomía (Kadyrov et al., 2003, Huppertz et al.,

2006). La información presente hasta el momento se puede resumir de la siguiente manera:

Los inductores de la cascada apoptótica, tales como, Fas/CD95 y su ligando FasL/CD95L se han detectado en el trofoblasto extraveloso y específicamente se ha demostrado que Fas y FasL están presentes en el trofoblasto extraveloso de tejidos del primer trimestre, así como también en tejidos placentarios de término. Por otra parte, se ha descrito que la proteína Bcl-2, uno de los inhibidores de la apoptosis, se expresa principalmente en las partes superiores de las columnas celulares (que representan las células proliferativas y las células hijas postproliferativas tempranas) (Huppertz et al., 2006, Maruo et al., 2001).

Nada se sabe acerca de la presencia o actividad de las caspasas y la presencia de otros inhibidores o inductores de la apoptosis. Se ha demostrado que las células madre proliferativas no muestran ningún signo de apoptosis con un inicio de la expresión de receptores de muerte como Fas y TNF-R1, así como inhibidores de la apoptosis, tales como, Bcl-2 y Mcl-1 en las primeras células hijas postproliferativas. En la profundidad de las gap junctions, el trofoblasto extraveloso parece mostrar resultados positivos con la técnica TUNEL, demostrando así, signos de fases finales de la apoptosis. Las últimas etapas de la apoptosis se han detectado principalmente en la parte inferior del endometrio o del miometrio (Huppertz et al., 2006, von Rango et al., 2003). Aunque se dispone de pocos datos, la cascada de la apoptosis en el trofoblasto extraveloso se puede representar de la siguiente manera:

Durante la invasión en el tejido materno, hay un momento en el que el trofoblasto es vulnerable a la inducción de muerte celular apoptótica mediante la expresión de receptores de muerte, para luego pasar a una instancia de bloqueo de la apoptosis, a través de la expresión de proteínas de la familia Bcl-2. Posteriormente se reanuda el programa de ejecución gracias a la expresión de la caspasa-3 para finalmente ocurrir la muerte de las células en la profundidad del lecho placentario.

La regulación de la vía de la apoptosis es todavía un misterio, pero parece que las células deciduales y las células inmunes locales presentes en el útero y el lecho placentario juegan un rol crucial en el equilibrio de la vida y la muerte del trofoblasto

extravelloso. Esta interacción entre el trofoblasto y el conjunto de células maternas aumenta la complejidad de la regulación de la muerte celular en el lecho placentario (Parham, 2004, Huppertz et al., 2006).

10.9.3.3. Apoptosis placentaria en la preeclampsia

La cantidad de apoptosis se altera en varias condiciones clínicas asociadas con morfología y función placentaria anormal. Desafortunadamente, muchos de los estudios no especifican el tipo de célula afectada por estos cambios. La apoptosis placentaria aumenta en todas las formas de enfermedad trofoblástica gestacional (GTD), incluyendo mola hidatidiforme parcial (PHM), mola hidatidiforme completa (CHM) y coriocarcinoma. En la PHM, CHM y coriocarcinoma el aumento en la apoptosis se acompaña por un aumento en la proliferación del trofoblasto que implica un aumento global de la renovación celular. La apoptosis también se incrementa en los embarazos complicados por aborto espontáneo en el primer trimestre (Heazell and Crocker, 2008). Además, la apoptosis del trofoblasto velloso está aumentada en las enfermedades comunes del embarazo relacionadas con la placenta, es decir, en la restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) y en la preeclampsia. Debido a que la apoptosis no incita una respuesta inflamatoria, parece poco probable que una liberación apoptótica de material trofoblástico en un caso no tenga efecto (RCIU), mientras que en el otro caso tenga un efecto perjudicial (preeclampsia) (Allaire et al., 2000, Feinberg, 2006, Myatt, 2002). Una explicación a lo anteriormente señalado puede ser lo siguiente: en primer lugar, todo el recambio del trofoblasto velloso está aumentado en la preeclampsia, comenzando con un aumento en la proliferación del citotrofoblasto. Esto por sí solo podría producir un aumento de las etapas finales de la apoptosis en el sinciotrofoblasto. Sin embargo, si la apoptosis está regulada temporalmente, un aumento de la entrada de material causada por el aumento de la proliferación y de la fusión puede no dar tiempo suficiente para que la cascada de la apoptosis se complete antes de que el desprendimiento tenga lugar y por tanto, se verterán al torrente sanguíneo materno nodos sinciciales apoptóticamente incompletos (figura 16). En esta hipótesis, una consecuencia directa de este desequilibrio es que partes necróticas del sinciotrofoblasto comienzan a desprenderse y luego se liberan estos componentes intracelulares parcialmente degradados y sin una total envoltura de membrana, los que en conjunto son denominados microfragmentos del sinciotrofoblasto (STBM). El

proceso anteriormente descrito, recibe el nombre de aponecrosis y se corresponde a la interrupción de un proceso programado (apoptosis) el cual es dependiente de energía en favor de un fenómeno caótico que es independiente de energía (necrosis) afectando componentes celulares en el ambiente que rodea a causa del daño tisular local (Huppertz et al., 2006, Formigli et al., 2000, Huppertz and Kingdom, 2004).

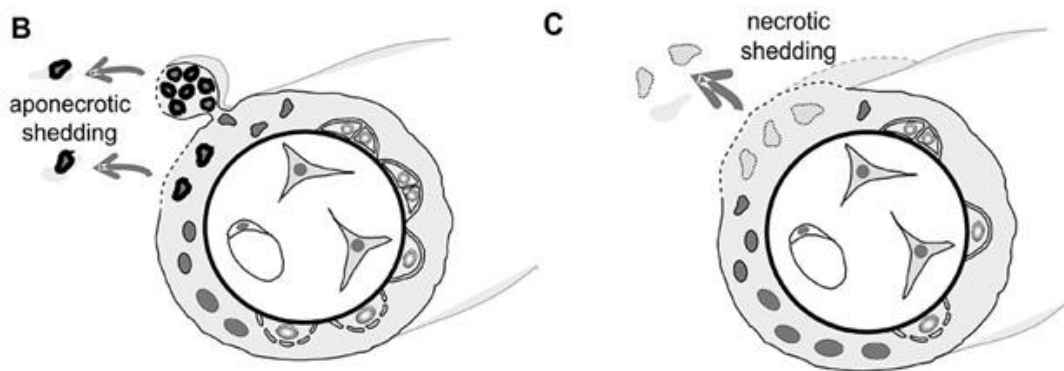


Figura 16. Modelo de desprendimiento de nodos sinciciales apoptóticamente incompletos (desprendimiento aponecrótico y necrótico) durante el proceso de apoptosis placentaria durante la preeclampsia. (Extraído de Huppertz et al., 2006)

El aumento de la liberación de trofoblasto necrótico puede incitar tanto daño placentario local (deposición perivelloso excesiva de fibrina), así como las manifestaciones sistémicas de la preeclampsia. El aumento en la apoptosis por sí sola, no puede inducir directamente estos cambios (Huppertz et al., 2006). Existen estudios respecto al trofoblasto extraveloso intersticial que señalan que en la preeclampsia existiría un aumento de la apoptosis en estas células. Sin embargo, en otros estudios más recientes no se observa la misma condición. Por su parte, Kadyrov y cols, (Kadyrov et al., 2006) establecen mediante inmunohistoquímica, que no se observan diferencias significativas en el porcentaje de apoptosis del trofoblasto extraveloso en placentas de pacientes con preeclampsia respecto a placentas de pacientes sin patología. De lo anteriormente expuesto, se puede inferir que la disminución de la población celular de trofoblasto extraveloso intersticial se debería a un daño precoz en las stem cell trofoblásticas, probablemente secundario a un aumento prematuro del oxígeno a nivel

local, por lo que no se produciría el estímulo proliferativo necesario para tener un adecuado número de células troncales (Huppertz et al., 2006).

Adicionalmente, Resiser y cols. (Reister et al., 2001) reportaron que el grado de apoptosis en las células del trofoblasto extravascular endovascular era significativamente mayor en pacientes con preeclampsia y restricción del crecimiento intrauterino en comparación con el tejido placentario de embarazadas sanas, lo que era concordante con una menor densidad de trofoblasto intramural y un lumen arterial disminuido. Según los mismos autores, estos hallazgos están asociados a la mayor cantidad de macrófagos capaces de gatillar la apoptosis en las cercanías de las arterias espirales (Reister et al., 2001, Yui et al., 1994). Por su parte, Whitley y cols., trabajaron con tejido trofoblástico extravascular obtenido de pacientes con interrupción electiva del embarazo, a las cuales previamente se les aplicó ecografía doppler de arterias uterinas y analizaron la sensibilidad de este tejido a un estímulo apoptótico determinado. Los resultados indicaron que las células trofoblásticas provenientes de pacientes con aumento de resistencia de las arterias uterinas exhibieron una mayor sensibilidad al estímulo apoptótico, comparado con las células de trofoblasto extravascular obtenidas de pacientes con resistencia normal de las arterias uterinas. Los resultados de los estudios, sugieren que las alteraciones en la placentación producto de una invasión defectuosa del trofoblasto se explicarían porque las células trofoblásticas invasoras sufrirían un mayor grado de apoptosis (Whitley et al., 2007).

10.9.3.3.1. Origen de los tipos de desechos trofoblásticos deportados

La deportación de desechos del trofoblasto fue descrita por primera vez por Schmorl en 1893 quien identificó fragmentos multinucleados del sinciotrofoblasto que llamó “plazentazellen” (células de la placenta) atrapados en pequeños vasos de los pulmones en mujeres que habían muerto por eclampsia. La monografía de Schmorl también fue la primera asociación de deportación del trofoblasto con preeclampsia/eclampsia (Redman et al., 2012, Pantham et al., 2011, Sibai et al., 2005). La gama de material trofoblástico deportado desde la placenta durante toda la gestación varía desde nodos sinciciales de dimensiones micrométricas a exosomas de escala nanométrica.

Nodos sinciciales

En general se considera que los nodos sinciciales son colecciones de núcleos envejecidos o dañados en el sinciciotrofoblasto que se desprenden como resultado de un proceso de apoptosis en el sinciciotrofoblasto. Existe clara evidencia a través del análisis mediante microscopía electrónica, técnica TUNEL y análisis inmunohistoquímico de proteínas relacionadas con la apoptosis, de que ocurre un proceso de apoptosis en el sinciciotrofoblasto durante los embarazos normales. Los nodos sinciciales pueden representar la etapa final del ciclo de vida del trofoblasto y son algo similar a los blebs (protrusiones membranales) encontrados en las células mononucleares que mueren vía apoptosis. El sinciciotrofoblasto es un epitelio y este proceso propuesto es análogo a la eliminación de células epiteliales envejecidas o dañadas en el intestino y la piel (Huppertz et al., 2006, Pantham et al., 2011, Rovere-Querini et al., 2007).

Trofoblastos mononucleares

La presencia de citotrofoblastos en la sangre ha sido claramente documentada, sin embargo, no está claro cómo los citotrofoblastos mononucleares se desprenden de la placenta en embarazos normales, pero las discontinuidades en el sinciciotrofoblasto que conducen a la exposición del citotrofoblasto o de la membrana basal del trofoblasto a la sangre materna están bien documentados en embarazos normales. Se ha sugerido que en embarazos patológicos, el aberrante flujo de sangre materna a la superficie placentaria puede resultar en la denudación de sinciciotrofoblastos desde regiones de la placenta, exponiendo de este modo los citotrofoblastos vellosos que luego pueden ser desalojados y deportados. Sin embargo, esto es poco probable para explicar la presencia de citotrofoblastos en sangre materna en un embarazo normal. Otros han demostrado que la apoptosis en el sinciciotrofoblasto resulta en la denudación de regiones del sinciciotrofoblasto y exposición de citotrofoblastos o de la membrana basal que luego se cubren por material fibrinoide (Burton and Jones, 2009). Es de suponer que cualquier citotrofoblasto expuesto en la región dañada podría liberarse a la sangre materna.

Alternativamente, los citotrofoblastos en la sangre materna pueden derivar de la población de citotrofoblasto endovascular, especialmente en el momento de la

obstrucción de las arterias espirales y disipación de los tapones trofoblásticos. Usando inmunohistoquímica, Johansen et al. demostraron que la gran mayoría de los citotrofbastos mononucleares en sangre venosa uterina durante la última parte del embarazo eran de origen vellosos. Sin embargo en la actualidad el origen exacto de los citotrofbastos deportados permanece sin explicación (Askelund and Chamley, 2011, Pantham et al., 2011).

Micropartículas trofoblásticas

Los microfragmentos o micropartículas del sinciotrofbasto (STBM ≥ 100 nm) son fragmentos de la superficie de membrana liberados desde la capa externa de la placenta hacia la circulación materna, tanto en embarazos normales como patológicos. La fragmentación controlada de trofbastos antes de la muerte celular (blebs apoptóticos) puede ser la fuente de las micropartículas. Los STBM también pueden originarse producto del desprendimiento de las microvellosidades del sinciotrofbasto debido a ruptura mecánica, o una combinación de estos procesos. La presencia de citoqueratina derivada de trofbasto soluble en la sangre materna posiblemente apoye la idea de la fragmentación del trofbasto (Redman and Sargent, 2008, Dusse et al., 2011).

Nanopartículas trofoblásticas

La secreción de nanopartículas placentarias o exosomas (≤ 100 nm) en la sangre materna se produce en todos los embarazos de dos maneras: (i) a través de la formación de blebs o desprendimiento de STBM desde la membrana plasmática o (ii) por liberación exosomal a través de la vía endosomal, tras la fusión de cuerpos multivesiculares endocíticos intracelulares con la membrana plasmática (Mincheva- Nilsson and Baranov, 2010).

10.9.3.3.2. Alteración de la función de las células endoteliales por el trofoblasto deportado

Durante el embarazo normal, el sistema vascular materno sufre adaptaciones importantes para dar cabida al feto y la placenta y además para suministrar nutrientes y gases adecuados para el crecimiento del feto. La preeclampsia es esencialmente una enfermedad en la que hay una mala adaptación de la vasculatura materna en el embarazo. Por lo tanto, existe un considerable interés de los efectos de los desechos trofoblásticos sobre las células endoteliales vasculares y se ha demostrado que las membranas de las microvellosidades del sinciciotrofoblasto aisladas de mujeres preeclámplicas reducen la proliferación de las células endoteliales *in vitro* (Pantham et al., 2011).

El plasma de mujeres con preeclampsia contiene más STBM, los cuales son capaces de inhibir la proliferación de las células endoteliales *in vitro* más que el plasma obtenido de embarazos normales (Gupta et al.). Otro estudio (Rusterholz et al.) informó que los STBM preparados mecánicamente y aislados de placentas normales y preeclámplicas suprimen la proliferación de las células endoteliales y provocan cambios morfológicos evidentes antes de la muerte celular. Este efecto inhibitorio es probable que sea debido a un complejo que puede interactuar con un factor complementario para provocar la disfunción endotelial *in vivo*. Recientemente, se ha demostrado que los desechos trofoblásticos más grandes (nodos sinciciales y trofoblastos mononucleares) liberados desde explantes placentarios tienen un efecto inhibitorio similar en la proliferación de las células endoteliales, pero sólo cuando hay necrosis de por medio (Gupta et al., 2010, Gupta et al., 2007, Rusterholz et al., 2011).

Por lo tanto, la cantidad de STBM en el plasma de mujeres con preeclampsia se correlaciona con el grado de actividad inhibitoria de las células endoteliales y el subyacente síndrome materno de la preeclampsia (Aharon and Brenner, 2011, Guller, 2009).

La interacción entre la formación de NETs (neutrophil extracellular traps) causado por los STBM y las células endoteliales activas también ha sido examinada *in vitro*. El cocultivo de neutrófilos activos con células endoteliales causa formación de

NETs y daño de células endoteliales en un proceso que parece ser dependiente de la producción de IL-8 por células endoteliales activas y por la vía de la NADPH oxidasa. Esto apoya la idea de un vínculo entre los desechos provenientes de la placenta, la inflamación y la disfunción endotelial, todos los cuales son componentes claves de los embarazos preeclámpticos (figura 17) (Pantham et al., 2011).

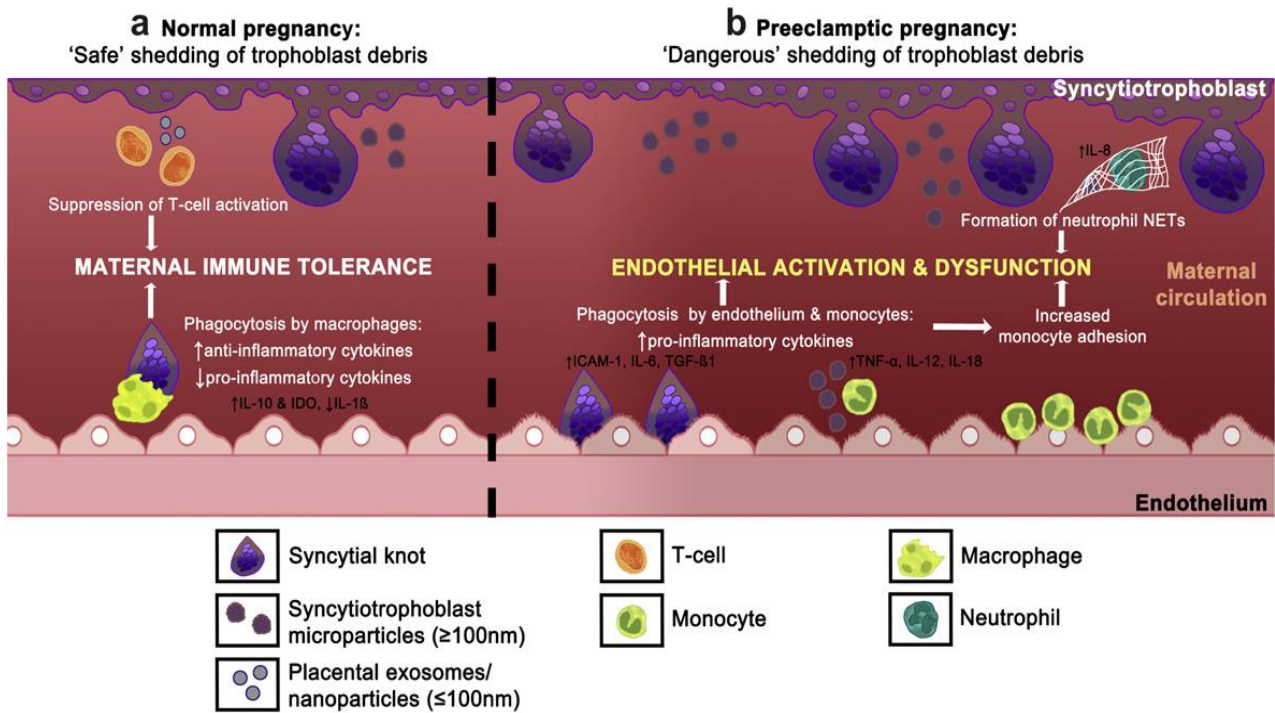


Figura 17. Representación esquemática de los efectos inmunes y vasculares de los desechos trofoblásticos: (a) Durante los embarazos normales, se cree que los desechos trofoblásticos son liberados desde la placenta después de un proceso de muerte celular (apoptosis) que puede causar tolerancia materna a los antígenos placentarios/fetales. Los exosomas placentarios pueden jugar un papel en la supresión de la activación de las células T. (b) En los embarazos con preeclampsia, puede haber un cambio o aumento en el proceso de muerte celular que causa la mayor liberación de desechos trofoblásticos necróticos secundario a la apoptosis que conduce a la activación de las células endoteliales, secreción de citoquinas proinflamatorias, aumento de moléculas de adhesión y la formación de NETs. El efecto combinado de estos cambios puede conducir a la disfunción endotelial, contribuyendo al desarrollo de hipertensión arterial en la preeclampsia. (Extraído de Pantham et al., 2011)

Las células endoteliales han mostrado la capacidad de fagocitar trofoblastos y nodos sinciciales *in vitro* y la naturaleza de la muerte trofoblástica parece afectar la respuesta endotelial. La fagocitosis de los trofoblastos apoptóticos no tiene ningún efecto aparente sobre las células endoteliales, mientras que la eliminación de los trofoblastos necróticos resulta en la activación de las células endoteliales fagocitadoras como se indica por el aumento de la expresión de moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) y la liberación de citoquinas proinflamatorias (IL-6 y TGFβ1) (Chen et al., 2010, Chen et al., 2006). También se ha demostrado que estas citoquinas proinflamatorias pueden inducir la activación de las células endoteliales, causando potencialmente la propagación de la activación endotelial a sitios distantes (Chen et al., 2009). Hay evidencia de que el aumento de la apoptosis se produce dentro del sinciotrofoblasto de placentas preeclámpticas y una característica de las vellosidades placentarias de estos embarazos es la necrosis sincicial focal y la pérdida de microvellosidades (Ishihara et al., 2002). *In vitro* se ha demostrado que la inhibición de la actividad de las caspasas reduce ligeramente la cantidad de desechos trofoblásticos liberados a partir de explantes de placenta, por otra parte la importante inhibición de la muerte celular programada resulta en el desprendimiento de más desechos trofoblásticos necróticos (Pantham et al.). Esto podría reflejar el proceso de aponecrosis en el que las células que inician un proceso de muerte celular programada seguro (y por tanto, exhiben marcadores de apoptosis) sufren una transformación que las lleva a experimentar la muerte necrótica (Pantham et al., 2011, Huppertz and Kingdom, 2004).

Dado que el defecto primario en la preeclampsia es la falla en la transformación de las arterias espirales lo que conduce a hipoxia placentaria, Huppertz et al. investigó si la hipoxia placentaria (2% de oxígeno) puede conducir a un mayor desprendimiento de desechos trofoblásticos necróticos o aponecróticos a partir de placentas *in vitro* durante el primer y el tercer trimestre del embarazo. Encontraron un aumento del recambio de trofoblasto y del desprendimiento del sinciotrofoblasto por necrosis, basado en secciones inmunohistoquímicas obtenidas de explantes placentarios tratados (Huppertz et al., 2003). Por otra parte, Heazell et al. también informó que la muerte tanto apoptótica y necrótica aumentó en trofoblastos cultivados en 1 % de oxígeno. Sin embargo, en un estudio reciente se encontró que los niveles de oxígeno no afectan la naturaleza de los desechos trofoblásticos liberados desde explantes placentarios durante el primer trimestre (Heazell et al., 2008, Chen et al., 2011). Adicionalmente, se ha

demostrado que el tratamiento de explantes placentarios con citoquinas, tales como IL-6, TNF α o TGF β 1 las que se han asociado con preeclampsia, resultan en aumento del desprendimiento de desechos trofoblásticos necróticos. La exposición de explantes placentarios a anticuerpos antifosfolípidos, los que son un fuerte factor de riesgo materno para la preeclampsia, también provocó un aumento en el desprendimiento de desechos trofoblásticos necróticos activando posteriormente células endoteliales. Esto puede explicar, en parte, el hecho de que estos anticuerpos sean un potente factor de riesgo para la preeclampsia (Pantham et al., 2011). Hutchinson et al. también ha demostrado recientemente que la maladaptación de las arterias espirales puede conducir a alteraciones hemodinámicas en la superficie placentaria lo que lleva a un aumento de la excreción de desechos trofoblásticos.

Si bien la naturaleza de los desechos trofoblásticos en embarazos normales y patológicos está abierto al debate, está muy claro que el volumen de desechos trofoblásticos aumenta en la preeclampsia (Pantham et al., 2011, Hutchinson et al., 2009). Además, los STBM han demostrado ser capaces de inducir la activación del NF- κ B, la expresión de óxido nítrico sintasa además de aumentar el estrés oxidativo. Los STBM también exhiben la capacidad de inducir hiporreactividad vascular de vasos sanguíneos de ratones a través de la sobreproducción de NO. Se puede entonces resumir que los STBM de mujeres con preeclampsia se asocian con disfunción de las células endoteliales (Aharon and Brenner, 2011). Por otra parte, es bien sabido que si las células apoptóticas no se eliminan rápidamente pueden sufrir necrosis secundaria y su fagocitosis por las células inmunes luego dará lugar a una mayor respuesta inflamatoria (Abrahams et al., 2004, Whitley and Cartwright, 2009). Es posible que la naturaleza de la muerte celular que conduce al desprendimiento de desechos trofoblásticos no necesite cambiar desde un proceso de apoptosis a un proceso de necrosis para estimular una respuesta materna adversa (Sargent et al., 2003).

11. ETIOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA

Si bien la etiología de la preeclampsia aún es desconocida (Kashiwagi et al., 2003), existe consenso de que la presencia de la placenta es un requisito indispensable para la aparición de la enfermedad. No así el feto, ya que la preeclampsia puede aparecer en gestaciones molares, ni tampoco el útero, ya que se ha descrito la existencia de preeclampsia en gestaciones ectópicas (abdominales) (Ong et al., 2000). Las alteraciones fisiopatológicas que conducen a la preeclampsia se producen en la circulación uteroplacentaria y dan lugar a una insuficiencia e isquemia placentaria (Levine and Karumanchi, 2005). Dentro de las causas que potencialmente gatillan el desarrollo de la preeclampsia, se distinguen las siguientes:

11.1. Teoría del origen placentario de la preeclampsia

Dado que existe una amplia evidencia clínica y experimental de que la alteración de la placentación en etapas precoces está involucrada en la patogénesis, actualmente se cree que la preeclampsia tiene su origen en un desarrollo vascular defectuoso de la placenta. Por lo tanto, aunque la preeclampsia es una enfermedad sistémica, su origen parece encontrarse en la placenta (Potgens et al., 2002).

El mecanismo patogénico más aceptado de la preeclampsia implica un proceso que consiste de dos etapas diferenciadas. La primera etapa se produce durante la mitad inicial de la gestación y en ella se produce un fallo en la remodelación de las arterias espirales que da lugar a un flujo sanguíneo uteroplacentario insuficiente que condiciona una situación de isquemia placentaria. Aunque el ambiente hipóxico es necesario para el desarrollo de la etapa embrionaria, si se continúa a partir de las 10-12 semanas de gestación, se generan una serie de respuestas mal adaptativas, tales como la activación del HIF-1 α y el predominio de la respuesta inmune celular, que impiden el adecuado cambio vascular por parte del CTBev perpetuando la situación de hipoxia/isquemia placentaria.

En la segunda etapa durante la última mitad de la gestación, la placenta dañada por la situación de hipoxia envía una serie de señales a la circulación materna que activan la respuesta inflamatoria sistémica y dañan los endotelios vasculares. El deterioro vascular sistémico materno da lugar a la constelación de signos y síntomas que caracterizan a la preeclampsia. Recientemente se ha propuesto que la lesión tóxica liberada por una placenta dañada pueda consistir en un desequilibrio en la producción placentaria de sustancias reguladoras de la angiogénesis, con predominio de la liberación de péptidos anti-angiogénicos (sFlt1, sEng) sobre los pro-angiogénicos (VEGF, PlGF) (Herraiz, 2010, Maynard et al., 2005).

La hipótesis del origen placentario de la preeclampsia se puede resumir de la siguiente forma:

1. Algún efecto perjudicial sobre el trofoblasto extraveloso.
2. Falla del trofoblasto extraveloso para transformar adecuadamente las arterias espirales uterinas.
3. Reducción de flujo de sangre materna en el espacio intervelloso.
4. Hipoxia o intervalos de hipoxia seguidos por reoxigenación de la placenta.
5. Daño hipóxico del trofoblasto vellosos.
6. Liberación de STBM en la circulación materna.
7. Respuesta inflamatoria materna a los STBM lo que resulta en el desarrollo de los síntomas clínicos de la preeclampsia (Huppertz, 2008).

11.2 Teoría genética de la preeclampsia

No hay un solo gen para la preeclampsia, pero probablemente si un grupo de polimorfismos genéticos maternos, que cuando se asocian con factores ambientales, predisponen para el desarrollo de ésta enfermedad. La hipótesis de la transmisión recesiva de genes maternos parece la más probable. Además, los genes fetales también parecen contribuir al desarrollo de la preeclampsia. Esta hipótesis es confirmada por el hallazgo de que dos gemelos idénticos no tienen el mismo riesgo para desarrollar preeclampsia (Thornton and Onwude, 1991).

La preeclampsia en un nivel microscópico es expresada morfológicamente como una enfermedad del endotelio vascular. Dos tipos de mecanismos parecen estar asociados (Merviel et al., 2004). En primer lugar, las arterias espirales parecen desarrollarse de

manera insuficiente, con una transformación incompleta de los vasos deciduales en el área de anidación y conservación de la túnica muscular de los vasos miometriales, que es sensible a aminas vasoconstrictoras. En segundo lugar, lesiones parecidas a la aterosclerosis aguda aparecen en las paredes de los vasos sanguíneos. La migración de los citotrofblastos hacia los vasos sanguíneos está normalmente acompañada por una transformación en el fenotipo celular, el que cambia desde uno epitelial a otro endotelial. La alteración inflamatoria de las arterias espirales fuera de la zona de anidación parece estar relacionada. El mecanismo patogénico causal que cuenta con más aprobación, implica la destrucción de citotrofblastos infiltrados por una serie de reacciones que ponen en juego a los linfocitos NK CD56+ específicos de la decidua y a los linfocitos T. Por lo tanto, es la presencia de estas células invasoras citotrofblasticas con un perfil inmune particular que es responsable de la reacción de rechazo (Pipkin, 2001). La participación de las células NK del endometrio lleva a pensar en primer lugar en una anomalía de su blanco específico: el HLA-G (human leukocyte antigen). Esta fase inflamatoria de tipo inmunológico es observada con mayor facilidad en algunos contextos clínicos que sugieren una transmisión cuyos genes recesivos maternos al feto implican una reacción de rechazo sólo si el padre paso los mismos genes anómalos. La presentación antigénica de las células citotrofblasticas de la envoltura fetal se convierte así en inaceptable para la madre. La contribución genética fetal al desarrollo de la preeclampsia está confirmada por los hallazgos de que dos gemelos idénticos no presentan los mismos riesgos (Esplin et al., 2001). En consecuencia, la preeclampsia puede ser consecuencia de una enfermedad hereditaria asociada con un gen recesivo de la madre y por lo tanto, la expresión de la enfermedad depende del padre (Roberts and Cooper, 2001). Las mujeres que nacen de embarazos complicados por preeclampsia presentan un mayor riesgo para desarrollar esta complicación. Del mismo modo, el riesgo de esta enfermedad para una mujer cuya pareja ya ha tenido un hijo con otra mujer en un embarazo con preeclampsia es el doble que el riesgo entre las mujeres sin antecedentes familiares de cualquier lado (Esplin et al., 2001).

Existe así, un claro papel paterno en la génesis de esta complicación, como la que hay en el fenómeno de la implantación. Por tanto, es muy probable que la preeclampsia implique una impronta genómica paterna de ciertos genes: el factor de crecimiento insulínico tipo 2 (IGF2), el alelo T235 del gen de la angiotensina, el factor V Leiden y la metil tetrahidrofolato reductasa (MTHFR). Hay otros genes candidatos,

situados en los cromosomas 1, 3, 4, 9 y 18 (Chen et al., 1994). Algunas perturbaciones no son necesariamente secundarias a anomalías genéticas. Este es el caso por ejemplo de la superóxido dismutasa (SOD): su expresión se reduce durante la preeclampsia, sin alguna modificación del gen de la SOD Cu-Zn (sobre el cromosoma 21). En la preeclampsia, los niveles del receptor TNF α soluble (sTNFp55) aumentan antes que los signos clínicos aparezcan, sin embargo, ni para la preeclampsia ni para el síndrome HELLP hay alguna activación del gen promotor también localizado en el cromosoma 6 (Merviel et al., 2004). Los genes candidatos situados en el cromosoma 1 incluyen los genes para el factor V y para la MTHFR. El factor V es procoagulante, pero este efecto es normalmente contrarrestado por la proteína C activa (Lachmeijer et al., 2002). Aproximadamente el 2-7 % de la población es portadora de una mutación del factor V llamada “mutación de Leiden” (FVL) que otorga resistencia a la proteína C activa. Esta resistencia está presente en el 20% de las mujeres con preeclampsia (Lachmeijer et al., 2002). La heterocigosidad para esta mutación se encuentra en el 9% de las mujeres con preeclampsia y sólo en el 4,2 % de la población general. Además, Rigo et al. encontró tasas relativamente altas de pacientes con síndrome HELLP entre aquellos con la mutación FVL. De manera similar, se ha encontrado una mutación del gen MTHFR (C677T) que puede reducir la actividad enzimática y aumentar la concentración plasmática de homocisteína, como se ha descrito en la preeclampsia. Sin embargo, O'Shaughnessy et al. no encontró ninguna asociación entre la preeclampsia y FVL o MTHFR (Rigo et al., 2000, Merviel et al., 2004).

11.3 Teoría inflamatoria de la preeclampsia

La preeclampsia es una enfermedad caracterizada por una disfunción generalizada de las células endoteliales, asociada a varios factores, entre ellos: ácidos grasos, lipoproteínas, peróxidos de lípidos, TNF α , productos de la desintegración de la fibronectina y fragmentos de las microvellosidades del sincitiotrofoblasto.

Todos estos factores juntos son el resultado de una respuesta inflamatoria intravascular generalizada presente durante el embarazo, pero exacerbada en la preeclampsia. Durante la inflamación, las proteínas de adhesión leucocitaria aumentan en el sistema vascular, estimuladas tempranamente por la trombina y la histamina y luego en las horas que siguen por la IL-1 o el TNF α (Merviel et al., 2004, Noris et al., 2005). Durante la preeclampsia, la activación de granulocitos y monocitos ocurre junto con la disfunción

endotelial, lo que aumenta el nivel de moléculas de adhesión (CD11b y CD64) o de otros factores (selectina L y HLA- DR). Estas células también causan un aumento de TNF α , IL-6 y fosfolipasa A2 (importantes mediadores de la reacción inflamatoria), sustancias que producen y secretan radicales libres de oxígeno. Estas alteraciones también ocurren durante los embarazos normales, pero son significativamente menos importantes. Además, los neutrófilos activos producen algunas proteasas, incluyendo la elastasa, que aumenta durante la preeclampsia. La elastasa está asociada con aumento de la producción de endotelinas y factor VIII y juega un papel en la alteración endotelial observada en esta enfermedad (Merviel et al., 2004).

11.4 Nuevas hipótesis etiológicas de la preeclampsia

Por otra parte, hace pocos años se ha propuesto otra hipótesis respecto al origen de la preeclampsia, relacionada con el nucleósido adenosina y la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS). En ella se propone que la preeclampsia es una patología que podría estar asociada con un aumento de la concentración plasmática de adenosina con la consiguiente alteración de la función de las células endoteliales debido a las acciones biológicas de este nucleósido. La adenosina, a través de la activación de los receptores de membrana A_{2A} aumenta el nivel de AMPc intracelular y reduce la unión del NF-kB al promotor *NOS2A* lo que conduce a una menor actividad transcripcional del gen y a una reducción de la expresión de iNOS. Este fenómeno podría explicar, al menos en parte, la reducción del flujo sanguíneo placentario característico de la preeclampsia. El impacto del potencial papel de la adenosina en la etiología de las complicaciones del endotelio fetal inducidas por la preeclampsia se fortalece cuando las lesiones hipóxicas placentarias se manifiestan clínicamente en esta patología. Por lo tanto, un mecanismo asociado con el manejo alterado de la adenosina por la vasculatura feto-placentaria, particularmente el endotelio fetal micro y macrovascular, es lo que propone esta hipótesis (Escudero and Sobrevia, 2008).

Una creciente evidencia indica que hay autoanticuerpos que se unen y activan el principal receptor tipo I de angiotensina II (AT1), receptor que existe en la circulación de pacientes con trastornos hipertensivos. Estos autoanticuerpos contribuyen a la fisiopatología de la enfermedad y su concentración se correlaciona con la severidad de la enfermedad. Esfuerzos para bloquear o eliminar estos autoanticuerpos patógenos tienen un potencial terapéutico. Estos anticuerpos, denominados autoanticuerpos agonistas AT1 han sido caracterizados ampliamente en la preeclampsia, causando síntomas de ésta enfermedad cuando se inyectan en ratas embarazadas.

La activación de los receptores AT1, induce posteriormente la activación de algunos mediadores inflamatorios como el TNF α , la IL-6 y el sistema del complemento que participan de una cascada de señalización intracelular, la cual finaliza con la participación de la endotelina-1 y sFlt-1. Estos últimos mediadores dan cuenta de la disfunción endotelial y de los defectos en la angiogénesis, procesos que finalmente se traducen clínicamente en hipertensión, daño placentario, renal y proteinuria (Xia and Kellems, 2013).

Otro de los mediadores candidatos a explicar el desarrollo de la preeclampsia es el gen COMT (catecol-O-metiltransferasa) que tiene una función significativa en la regulación de la oxigenación de la placenta. Esta enzima participa en la descomposición del estrógeno en un metabolito llamado 2-ME (2 metioxiestradiol) que se encuentra elevado durante el tercer trimestre del embarazo normal y que previene la escasez de oxígeno en la placenta. Cuando el gen COMT no funciona adecuadamente, los niveles de 2-ME se reducen lo que activa una serie de eventos moleculares y bioquímicos que terminan instaurando el estado de placenta hipóxica propia de la preeclampsia.

La disminución de los niveles de 2-ME en la preeclampsia puede conducir a la regulación positiva de HIF-1 α , con el consiguiente aumento de la expresión de genes inducidos por la hipoxia placentaria. Por su parte, la elevación de los factores antiangiogénicos conduce a la disfunción angiogénica y a la insuficiencia placentaria.(Kanasaki et al., 2008).

12. CONCLUSIONES

La preeclampsia es un trastorno multisistémico que complica entre el 2-8% de los embarazos y se asocia con una morbilidad y mortalidad significativa tanto para la madre como para el bebé, pero que se resuelve por completo después del parto. Es una enfermedad de causa desconocida que es única del embarazo humano. Se caracteriza por una respuesta vascular anormal durante la placentación que se asocia con un aumento de la resistencia vascular sistémica, aumento de la agregación plaquetaria, activación del sistema de coagulación y disfunción endotelial. Los hallazgos clínicos de la preeclampsia pueden manifestarse como un síndrome materno (hipertensión y proteinuria con o sin otras alteraciones multisistémicas) o un síndrome fetal (restricción del crecimiento fetal, reducción del líquido amniótico y oxigenación anormal). El trastorno es heterogéneo porque la patogénesis puede diferir en mujeres que presenten diversos factores de riesgo. La patogénesis de la preeclampsia en mujeres nulíparas pueden diferir también de la de aquéllas mujeres con enfermedad vascular preexistente, gestación multifetal, diabetes mellitus o preeclampsia previa.

A pesar de los avances en los cuidados y atención perinatal, la frecuencia de la preeclampsia no ha cambiado. La investigación que aborda este trastorno ha sido extensa en la última década, pero no se ha traducido en una mejora sustancial en los métodos de predicción, prevención o en la terapéutica de este desorden. Un obstáculo importante en el desarrollo de tales métodos es nuestro pobre entendimiento de los diversos mecanismos patológicos que llevan a la preeclampsia, así como los inconsistentes criterios utilizados para definirla. De hecho, los criterios diagnósticos para el trastorno y sus subtipos no han sido estandarizados o bien definidos y han variado entre países y a través del tiempo, durante los últimos 20 años. Sin embargo, los criterios han sido revisados y desde el año 2000 en adelante, ha habido un considerable acuerdo sobre la definición recomendada de la preeclampsia entre grupos de trabajo internacionales. Aun cuando la preeclampsia es considerada una de las principales causas de mortalidad materna y el mayor contribuyente de morbilidad materna y perinatal, los mecanismos responsables de la patogenia de la enfermedad como se comentó anteriormente aún no han sido plenamente dilucidados. Se ha postulado que el defecto primario en la preeclampsia es la reducción de la perfusión uteroplacentaria como resultado de una anormal invasión citotrofoblástica de las arterias espirales. Se

crea también que la isquemia placentaria conduce a la activación/disfunción generalizada del endotelio vascular materno que resulta en una mayor formación de endotelina y tromboxano aumentando así la sensibilidad vascular a la angiotensina II y en una disminución en la formación de vasodilatadores tales como, óxido nítrico y prostaciclina. Estas anomalías endoteliales a su vez, causan hipertensión y aumento de la resistencia periférica total. La importancia cuantitativa de los diversos factores endoteliales y humorales en la mediación de la vasoconstricción y elevación de la presión arterial durante la preeclampsia aún no está clara. Mientras que estudios recientes apoyan el papel de las citocinas y otros factores tales como, peróxidos de lípidos e intermediarios de las especies reactivas de oxígeno como mediadores potenciales de la disfunción endotelial, la búsqueda de la relación entre la isquemia placentaria y las anomalías vasculares y endoteliales maternas permanece siendo un área importante de investigación.

Respecto a la etiología de la preeclampsia, si bien aún es desconocida, existe consenso de que la presencia de la placenta es un requisito indispensable para la aparición de la misma. No así el feto, ya que la preeclampsia puede aparecer en gestaciones molares, ni tampoco el útero, ya que se ha descrito la existencia de preeclampsia en gestaciones abdominales. De este modo, se han sugerido algunas hipótesis que cuentan con mayor aceptación entre quienes se dedican a estudiar los mecanismos etiológicos y patogénicos de esta enfermedad. Se destacan entre ellas, la teoría genética, la teoría inflamatoria y la teoría del origen placentario de la preeclampsia. Otra de las hipótesis que ha cobrado importancia durante los últimos años es aquella relacionada con el nucleósido adenosina y la enzima iNOS. Ésta última podría ser la base para el diseño y aplicación de nuevos protocolos terapéuticos considerando a la adenosina y sus diversos efectos biológicos, incluyendo su potencial como factor proangiogénico en la placenta y para los cuidados críticos de pacientes con preeclampsia para así asegurar un crecimiento y desarrollo del feto con menos estrés.

Por lo anteriormente señalado, durante muchos años se ha considerado a esta patología como la enfermedad de las teorías, esto porque las múltiples hipótesis no lograban explicar el cuadro en su totalidad. Sin embargo, actualmente se ha propuesto una estructura fisiopatológica compuesta por dos etapas. Una primera etapa asintomática, local, en la cual hay un estado hipóxico de la placenta, lo que determina una injuria

de la misma, y una segunda etapa, sintomática, caracterizada por una respuesta inflamatoria sistémica exagerada y una disfunción endotelial. Entre estas dos etapas existen mediadores moleculares, correspondientes a sustancias producidas por la placenta y que son capaces de difundir este daño placentario y traducirlo en un compromiso sistémico. Diversos compuestos se han propuesto como mediadores, sin embargo, actualmente la evidencia destaca a tres moléculas que han demostrado participar activamente en la fisiopatología de la preeclampsia, tanto en modelos *in vitro* como *in vivo* y que son los que han generado las principales líneas de investigación. Éstos son los derivados del estrés oxidativo, los factores antiangiogénicos y los microfragmentos del sinciotrofoblasto derivados de la apoptosis.

En cuanto a los mediadores moleculares derivados de la apoptosis placentaria, se ha observado que el plasma de mujeres con preeclampsia contiene más STBM, los cuales son capaces de inhibir la proliferación de las células endoteliales *in vitro* más que el plasma obtenido de embarazos normales. Además, los STBM han demostrado ser capaces de inducir la activación del NF- κ B, la expresión de la óxido nítrico sintasa y de aumentar el estrés oxidativo. Los STBM también exhiben la capacidad de inducir hiporreactividad vascular de vasos sanguíneos de ratones a través de la sobreproducción de NO. Se puede entonces resumir que los STBM de mujeres con preeclampsia se asocian con la disfunción de las células endoteliales.

Por tal razón, el mayor entendimiento de estos mediadores moleculares y específicamente su mecanismo de acción nos ayudará a comprender de mejor forma la preeclampsia sobre todo desde el punto de vista fisiopatológico, lo cual permitirá explorar y estudiar nuevas opciones terapéuticas que permitan enfrentar esta patología considerando que actualmente la única posibilidad de tratamiento es la interrupción del embarazo.

Finalmente, y de acuerdo a la lectura crítica de la información expuesta en cada capítulo de esta tesis, es inevitable que surjan algunas interrogantes sobre las dimensiones que presenta esta patología. Entre ellas cabe plantearse:

-Dada la heterogeneidad que presenta esta patología en cuanto a los factores de riesgo, presentación clínica y la ausencia de una causa conocida y corroborada experimentalmente, ¿Es la preeclampsia una enfermedad única o más bien un conjunto de patologías que presentan un mecanismo fisiopatológico en común?

- ¿El aumento del proceso de apoptosis, fenómeno propio de la fisiopatología de la preeclampsia, se produce primero en las células del citotrofoblasto extraveloso con la consecuente alteración de la remodelación de las arterias espirales o en el citotrofoblasto veloso con la subsecuente mayor liberación de STBM hacia la circulación materna?

-¿La inhibición de las vías de activación de la muerte necrótica o la estimulación de la expresión de más receptores de membrana asociados a la apoptosis en las células del sinciotrofoblasto puede impedir la liberación de STBM, evitando así en parte, el daño local placentario y las manifestaciones clínicas de la preeclampsia?

13. BIBLIOGRAFÍA

- ABAD, C., VARGAS, F. R., ZOLTAN, T., PROVERBIO, T., PINERO, S., PROVERBIO, F. & MARIN, R. 2014. Magnesium sulfate affords protection against oxidative damage during severe preeclampsia. *Placenta*.
- ABALOS, E., DULEY, L., STEYN, D. W. & HENDERSON-SMART, D. J. 2007. Antihypertensive drug therapy for mild to moderate hypertension during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*, CD002252.
- ABRAHAMS, V. M., KIM, Y. M., STRASZEWSKI, S. L., ROMERO, R. & MOR, G. 2004. Macrophages and apoptotic cell clearance during pregnancy. *Am J Reprod Immunol*, 51, 275-82.
- AHARON, A. & BRENNER, B. 2011. Microparticles and pregnancy complications. *Thromb Res*, 127 Suppl 3, S67-71.
- AHMAD, S. & AHMED, A. 2004. Elevated placental soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 inhibits angiogenesis in preeclampsia. *Circ Res*, 95, 884-91.
- ALLAIRE, A. D., BALLENGER, K. A., WELLS, S. R., MCMAHON, M. J. & LESSEY, B. A. 2000. Placental apoptosis in preeclampsia. *Obstet Gynecol*, 96, 271-6.
- AMERICAN COLLEGE OF, O., GYNECOLOGISTS & TASK FORCE ON HYPERTENSION IN, P. 2013. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol*, 122, 1122-31.
- ANDERSON, U. D., OLSSON, M. G., KRISTENSEN, K. H., AKERSTROM, B. & HANSSON, S. R. 2012. Review: Biochemical markers to predict preeclampsia. *Placenta*, 33 Suppl, S42-7.
- ASCHKENAZI, S., STRASZEWSKI, S., VERWER, K. M., FOELLMER, H., RUTHERFORD, T. & MOR, G. 2002. Differential regulation and function of the Fas/Fas ligand system in human trophoblast cells. *Biol Reprod*, 66, 1853-61.
- ASKELUND, K. J. & CHAMLEY, L. W. 2011. Trophoblast deportation part I: review of the evidence demonstrating trophoblast shedding and deportation during human pregnancy. *Placenta*, 32, 716-23.
- ASKIE, L. M., DULEY, L., HENDERSON-SMART, D. J. & STEWART, L. A. 2007. Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet*, 369, 1791-8.
- ATALLAH, A. N., HOFMEYR, G. J. & DULEY, L. 2000. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. *Cochrane Database Syst Rev*, CD001059.
- ATAMER, Y., KOCYIGIT, Y., YOKUS, B., ATAMER, A. & ERDEN, A. C. 2005. Lipid peroxidation, antioxidant defense, status of trace metals and leptin levels in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 119, 60-6.
- BACZYK, D., SATKUNARATNAM, A., NAIT-OUMESMAR, B., HUPPERTZ, B., CROSS, J. C. & KINGDOM, J. C. 2004. Complex patterns of GCM1 mRNA and protein in villous and extravillous trophoblast cells of the human placenta. *Placenta*, 25, 553-9.
- BAINBRIDGE, S. A. & ROBERTS, J. M. 2008. Uric acid as a pathogenic factor in preeclampsia. *Placenta*, 29 Suppl A, S67-72.
- BARNHART, B. C., ALAPPAT, E. C. & PETER, M. E. 2003. The CD95 type I/type II model. *Semin Immunol*, 15, 185-93.
- BATES, D. O. 2011. An unexpected tail of VEGF and PlGF in pre-eclampsia. *Biochem Soc Trans*, 39, 1576-82.
- BAUMANN, M. U., BERSINGER, N. A. & SURBEK, D. V. 2007. Serum markers for predicting pre-eclampsia. *Mol Aspects Med*, 28, 227-44.
- BAUMWELL, S. & KARUMANCHI, S. A. 2007. Pre-eclampsia: clinical manifestations and molecular mechanisms. *Nephron Clin Pract*, 106, c72-81.
- BDOLAH, Y., KARUMANCHI, S. A. & SACHS, B. P. 2005. Recent advances in understanding of preeclampsia. *Croat Med J*, 46, 728-36.
- BDOLAH, Y., SUKHATME, V. P. & KARUMANCHI, S. A. 2004. Angiogenic imbalance in the pathophysiology of preeclampsia: newer insights. *Semin Nephrol*, 24, 548-56.
- BERTRAND, M. J., MILUTINOVIC, S., DICKSON, K. M., HO, W. C., BOUDREAULT, A., DURKIN, J., GILLARD, J. W., JAQUITH, J. B., MORRIS, S. J. & BARKER, P. A. 2008. cIAP1 and cIAP2 facilitate cancer cell survival by functioning as E3 ligases that promote RIP1 ubiquitination. *Mol Cell*, 30, 689-700.
- BIALIK, S. & KIMCHI, A. 2006. The death-associated protein kinases: structure, function, and beyond. *Annu Rev Biochem*, 75, 189-210.

- BLACK, S., KADYROV, M., KAUFMANN, P., UGELE, B., EMANS, N. & HUPPERTZ, B. 2004. Syncytial fusion of human trophoblast depends on caspase 8. *Cell Death Differ*, 11, 90-8.
- BOLTE, A. C. 2001. Fisiopatología de la preeclampsia y papel de la serotonina. *Reproductive Biology*, 1, 322-332.
- BONNEY, E. A. 2007. Preeclampsia: a view through the danger model. *J Reprod Immunol*, 76, 68-74.
- BORZYCHOWSKI, A. M., SARGENT, I. L. & REDMAN, C. W. 2006. Inflammation and pre-eclampsia. *Semin Fetal Neonatal Med*, 11, 309-16.
- BRENNER, C. & GRIMM, S. 2006. The permeability transition pore complex in cancer cell death. *Oncogene*, 25, 4744-56.
- BROWN, M. A., HAGUE, W. M., HIGGINS, J., LOWE, S., MCCOWAN, L., OATS, J., PEEK, M. J., ROWAN, J. A. & WALTERS, B. N. 2000. The detection, investigation and management of hypertension in pregnancy: executive summary. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 40, 133-8.
- BUDD, R. C., YEH, W. C. & TSCHOPP, J. 2006. cFLIP regulation of lymphocyte activation and development. *Nat Rev Immunol*, 6, 196-204.
- BURTON, G. J. & JONES, C. J. 2009. Syncytial knots, sprouts, apoptosis, and trophoblast deportation from the human placenta. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 48, 28-37.
- BURTON, G. J., SCIOSCIA, M. & RADEMACHER, T. W. 2011. Endometrial secretions: creating a stimulatory microenvironment within the human early placenta and implications for the aetiopathogenesis of preeclampsia. *J Reprod Immunol*, 89, 118-25.
- BURTON, G. J., SKEPPER, J. N., HEMPSTOCK, J., CINDROVA, T., JONES, C. J. & JAUNIAUX, E. 2003. A reappraisal of the contrasting morphological appearances of villous cytotrophoblast cells during early human pregnancy; evidence for both apoptosis and primary necrosis. *Placenta*, 24, 297-305.
- BUTTNER, S., EISENBERG, T., CARMONA-GUTIERREZ, D., RULI, D., KNAUER, H., RUCKENSTUHL, C., SIGRIST, C., WISSING, S., KOLLROSER, M., FROHLICH, K. U., SIGRIST, S. & MADEO, F. 2007. Endonuclease G regulates budding yeast life and death. *Mol Cell*, 25, 233-46.
- CANIGGIA, I. & WINTER, J. L. 2002. Adriana and Luisa Castellucci Award lecture 2001. Hypoxia inducible factor-1: oxygen regulation of trophoblast differentiation in normal and pre-eclamptic pregnancies--a review. *Placenta*, 23 Suppl A, S47-57.
- CARTY, D. M., DELLES, C. & DOMINCZAK, A. F. 2008. Novel biomarkers for predicting preeclampsia. *Trends Cardiovasc Med*, 18, 186-94.
- CERDEIRA, A. S. & KARUMANCHI, S. A. 2012. Angiogenic factors in preeclampsia and related disorders. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2.
- CONDE-AGUDELO, A. & BELIZAN, J. M. 2000. Risk factors for pre-eclampsia in a large cohort of Latin American and Caribbean women. *BJOG*, 107, 75-83.
- CONRAD, K. P. 2011. Emerging role of relaxin in the maternal adaptations to normal pregnancy: implications for preeclampsia. *Semin Nephrol*, 31, 15-32.
- CUDIHY, D. & LEE, R. V. 2009. The pathophysiology of pre-eclampsia: current clinical concepts. *J Obstet Gynaecol*, 29, 576-82.
- CHAI, J., DU, C., WU, J. W., KYIN, S., WANG, X. & SHI, Y. 2000. Structural and biochemical basis of apoptotic activation by Smac/DIABLO. *Nature*, 406, 855-62.
- CHATTERJEE, P., WEAVER, L. E., CHIASSON, V. L., YOUNG, K. J. & MITCHELL, B. M. 2011. Do double-stranded RNA receptors play a role in preeclampsia? *Placenta*, 32, 201-5.
- CHEN, G., WILSON, R., BOYD, P., MCKILLOP, J. H., LEITCH, C., WALKER, J. J. & BURDON, R. H. 1994. Normal superoxide dismutase (SOD) gene in pregnancy-induced hypertension: is the decreased SOD activity a secondary phenomenon? *Free Radic Res*, 21, 59-66.
- CHEN, L. M., LIU, B., ZHAO, H. B., STONE, P., CHEN, Q. & CHAMLEY, L. 2010. IL-6, TNFalpha and TGFbeta promote nonapoptotic trophoblast deportation and subsequently causes endothelial cell activation. *Placenta*, 31, 75-80.
- CHEN, Q., LIVERSIDGE, X. L., LIU, B., STONE, P. & CHAMLEY, L. W. 2011. Does oxygen concentration affect shedding of trophoblastic debris or production of inflammatory mediators from first trimester human placenta? *Placenta*, 32, 362-6.
- CHEN, Q., STONE, P., CHING, L. M. & CHAMLEY, L. 2009. A role for interleukin-6 in spreading endothelial cell activation after phagocytosis of necrotic trophoblastic material: implications for the pathogenesis of pre-eclampsia. *J Pathol*, 217, 122-30.
- CHEN, Q., STONE, P. R., MCCOWAN, L. M. & CHAMLEY, L. W. 2006. Phagocytosis of necrotic but not apoptotic trophoblasts induces endothelial cell activation. *Hypertension*, 47, 116-21.
- CHENG, M. H. & WANG, P. H. 2009. Placentation abnormalities in the pathophysiology of preeclampsia. *Expert Rev Mol Diagn*, 9, 37-49.

- CHIEN, P. F., ARNOTT, N., GORDON, A., OWEN, P. & KHAN, K. S. 2000. How useful is uterine artery Doppler flow velocimetry in the prediction of pre-eclampsia, intrauterine growth retardation and perinatal death? An overview. *BJOG*, 107, 196-208.
- CHURCHILL, D. & DULEY, L. 2002. Interventionist versus expectant care for severe pre-eclampsia before term. *Cochrane Database Syst Rev*, CD003106.
- DAISH, T. J., MILLS, K. & KUMAR, S. 2004. Drosophila caspase DRONC is required for specific developmental cell death pathways and stress-induced apoptosis. *Dev Cell*, 7, 909-15.
- DAVID, K. K., SASAKI, M., YU, S. W., DAWSON, T. M. & DAWSON, V. L. 2006. EndoG is dispensable in embryogenesis and apoptosis. *Cell Death Differ*, 13, 1147-55.
- DAVIDGE, S. T., SIGNORELLA, A. P., HUBEL, C. A., LYKINS, D. L. & ROBERTS, J. M. 1996. Distinct factors in plasma of preeclamptic women increase endothelial nitric oxide or prostacyclin. *Hypertension*, 28, 758-64.
- DAVISON, J. M., HOMUTH, V., JEYABALAN, A., CONRAD, K. P., KARUMANCHI, S. A., QUAGGIN, S., DECHEND, R. & LUFT, F. C. 2004. New aspects in the pathophysiology of preeclampsia. *J Am Soc Nephrol*, 15, 2440-8.
- DE VIVO, A., BAVIERA, G., GIORDANO, D., TODARELLO, G., CORRADO, F. & D'ANNA, R. 2008. Endoglin, PlGF and sFlt-1 as markers for predicting pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 87, 837-42.
- DECHEND, R. & LUFT, F. C. 2008. Are we getting closer to a Nobel prize for unraveling preeclampsia? *Curr Cardiol Rep*, 10, 440-7.
- DEKKER, G. 2002. The partner's role in the etiology of preeclampsia. *J Reprod Immunol*, 57, 203-15.
- DEKKER, G., ROBILLARD, P. Y. & ROBERTS, C. 2011. The etiology of preeclampsia: the role of the father. *J Reprod Immunol*, 89, 126-32.
- DEKKER, G. & SIBAI, B. 2001. Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet*, 357, 209-15.
- DELMIS, J., PFEIFER, D., IVANISEVIC, M., FORKO, J. I. & HLUPIC, L. 2000. Sudden death from trophoblastic embolism in pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 92, 225-7.
- DUSSE, L. M., RIOS, D. R., PINHEIRO, M. B., COOPER, A. J. & LWALEED, B. A. 2011. Preeclampsia: relationship between coagulation, fibrinolysis and inflammation. *Clin Chim Acta*, 412, 17-21.
- EA, C. K., DENG, L., XIA, Z. P., PINEDA, G. & CHEN, Z. J. 2006. Activation of IKK by TNFalpha requires site-specific ubiquitination of RIP1 and polyubiquitin binding by NEMO. *Mol Cell*, 22, 245-57.
- ELINOS-BÁEZ, C. M. 2003. Caspasas: moléculas inductoras de apoptosis. *Gac Méd Méx*, 139, 493-499.
- ESCUDERO, C. & CALLE, A. 2006. [Iron, oxygen and placental development in the etiology of preeclampsia. Effects of high altitude in Ecuador]. *Rev Med Chil*, 134, 491-8.
- ESCUDERO, C., PUEBLA, C., WESTERMEIER, F. & SOBREVIA, L. 2009. Potential cell signalling mechanisms involved in differential placental angiogenesis in mild and severe pre-eclampsia. *Curr Vasc Pharmacol*, 7, 475-85.
- ESCUDERO, C. & SOBREVIA, L. 2008. A hypothesis for preeclampsia: adenosine and inducible nitric oxide synthase in human placental microvascular endothelium. *Placenta*, 29, 469-83.
- ESPLIN, M. S., FAUSETT, M. B., FRASER, A., KERBER, R., MINEAU, G., CARRILLO, J. & VARNER, M. W. 2001. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. *N Engl J Med*, 344, 867-72.
- FEINBERG, B. B. 2006. Preeclampsia: the death of Goliath. *Am J Reprod Immunol*, 55, 84-98.
- FISHER, S. J. 2004. The placental problem: linking abnormal cytotrophoblast differentiation to the maternal symptoms of preeclampsia. *Reprod Biol Endocrinol*, 2, 53.
- FOIDART, J. M., SCHAAPS, J. P., CHANTRAINE, F., MUNAUT, C. & LORQUET, S. 2009. Dysregulation of anti-angiogenic agents (sFlt-1, PLGF, and sEndoglin) in preeclampsia--a step forward but not the definitive answer. *J Reprod Immunol*, 82, 106-11.
- FOREST, J. C., CHARLAND, M., MASSE, J., BUJOLD, E., ROUSSEAU, F., LAFOND, J. & GIGUERE, Y. 2012. Candidate biochemical markers for screening of pre-eclampsia in early pregnancy. *Clin Chem Lab Med*, 50, 973-84.
- FORMIGLI, L., PAPUCCI, L., TANI, A., SCHIAVONE, N., TEMPESTINI, A., ORLANDINI, G. E., CAPACCIOLI, S. & ORLANDINI, S. Z. 2000. Aponecrosis: morphological and biochemical exploration of a syncretic process of cell death sharing apoptosis and necrosis. *J Cell Physiol*, 182, 41-9.
- FURUYA, M., KURASAWA, K., NAGAHAMA, K., KAWACHI, K., NOZAWA, A., TAKAHASHI, T. & AOKI, I. 2011. Disrupted balance of angiogenic and antiangiogenic signalings in preeclampsia. *J Pregnancy*, 2011, 123717.

- GALLUZZI, L., VITALE, I., ABRAMS, J. M., ALNEMRI, E. S., BAEHRECKE, E. H., BLAGOSKLONNY, M. V., DAWSON, T. M., DAWSON, V. L., EL-DEIRY, W. S., FULDA, S., GOTTLIEB, E., GREEN, D. R., HENGARTNER, M. O., KEPP, O., KNIGHT, R. A., KUMAR, S., LIPTON, S. A., LU, X., MADEO, F., MALORNI, W., MEHLEN, P., NUNEZ, G., PETER, M. E., PIACENTINI, M., RUBINSZTEIN, D. C., SHI, Y., SIMON, H. U., VANDENABEELE, P., WHITE, E., YUAN, J., ZHIVOTOVSKY, B., MELINO, G. & KROEMER, G. 2012. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ*, 19, 107-20.
- GEBB, J. & DAR, P. 2011. Colour Doppler ultrasound of spiral artery blood flow in the prediction of pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 25, 355-66.
- GEORGE, E. M. & GRANGER, J. P. 2011. Mechanisms and potential therapies for preeclampsia. *Curr Hypertens Rep*, 13, 269-75.
- GILBERT, J. S., NIJLAND, M. J. & KNOBLICH, P. 2008. Placental ischemia and cardiovascular dysfunction in preeclampsia and beyond: making the connections. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 6, 1367-77.
- GODOI, L. C., GOMES, K. B., ALPOIM, P. N., CARVALHO, M., LWALEED, B. A. & SANT'ANA DUSSE, L. M. 2012. Preeclampsia: the role of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor. *J Thromb Thrombolysis*, 34, 1-6.
- GOLDMAN-WOHL, D. & YAGEL, S. 2002. Regulation of trophoblast invasion: from normal implantation to pre-eclampsia. *Mol Cell Endocrinol*, 187, 233-8.
- GOLDMAN-WOHL, D. & YAGEL, S. 2008. NK cells and pre-eclampsia. *Reprod Biomed Online*, 16, 227-31.
- GOLDMAN-WOHL, D. & YAGEL, S. 2009. Preeclampsia--a placenta developmental biology perspective. *J Reprod Immunol*, 82, 96-9.
- GOLDMAN-WOHL, D. S. & YAGEL, S. 2007. Examination of distinct fetal and maternal molecular pathways suggests a mechanism for the development of preeclampsia. *J Reprod Immunol*, 76, 54-60.
- GRANGER, J. P., ALEXANDER, B. T., LLINAS, M. T., BENNETT, W. A. & KHALIL, R. A. 2002. Pathophysiology of preeclampsia: linking placental ischemia/hypoxia with microvascular dysfunction. *Microcirculation*, 9, 147-60.
- GRILL, S., RUSTERHOLZ, C., ZANETTI-DALLENBACH, R., TERCANLI, S., HOLZGREVE, W., HAHN, S. & LAPAIRE, O. 2009. Potential markers of preeclampsia--a review. *Reprod Biol Endocrinol*, 7, 70.
- GUENEBEAUD, C., GOLDSCHNEIDER, D., CASTETS, M., GUIX, C., CHAZOT, G., DELLOYE-BOURGEOIS, C., EISENBERG-LERNER, A., SHOHAT, G., ZHANG, M., LAUDET, V., KIMCHI, A., BERNET, A. & MEHLEN, P. 2010. The dependence receptor UNC5H2/B triggers apoptosis via PP2A-mediated dephosphorylation of DAP kinase. *Mol Cell*, 40, 863-76.
- GULLER, S. 2009. Role of the syncytium in placenta-mediated complications of preeclampsia. *Thromb Res*, 124, 389-92.
- GUPTA, A. K., HASLER, P., HOLZGREVE, W. & HAHN, S. 2007. Neutrophil NETs: a novel contributor to preeclampsia-associated placental hypoxia? *Semin Immunopathol*, 29, 163-7.
- GUPTA, A. K., JOSHI, M. B., PHILIPPOVA, M., ERNE, P., HASLER, P., HAHN, S. & RESINK, T. J. 2010. Activated endothelial cells induce neutrophil extracellular traps and are susceptible to NETosis-mediated cell death. *FEBS Lett*, 584, 3193-7.
- GUPTA, S., AGARWAL, A. & SHARMA, R. K. 2005. The role of placental oxidative stress and lipid peroxidation in preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv*, 60, 807-16.
- HADDAD, B., DEIS, S., GOFFINET, F., PANIEL, B. J., CABROL, D. & SIBA, B. M. 2004. Maternal and perinatal outcomes during expectant management of 239 severe preeclamptic women between 24 and 33 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol*, 190, 1590-5; discussion 1595-7.
- HAHN, S., RUSTERHOLZ, C., HOSLI, I. & LAPAIRE, O. 2011. Cell-free nucleic acids as potential markers for preeclampsia. *Placenta*, 32 Suppl, S17-20.
- HAUGEN, F., RANHEIM, T., HARSEM, N. K., LIPS, E., STAFF, A. C. & DREVON, C. A. 2006. Increased plasma levels of adipokines in preeclampsia: relationship to placenta and adipose tissue gene expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 290, E326-33.
- HAUSVATER, A., GIANNONE, T., SANDOVAL, Y. H., DOONAN, R. J., ANTONOPOULOS, C. N., MATSOUKIS, I. L., PETRIDOU, E. T. & DASKALOPOULOU, S. S. 2012. The association between preeclampsia and arterial stiffness. *J Hypertens*, 30, 17-33.
- HAWFIELD, A. & FREEDMAN, B. I. 2009. Pre-eclampsia: the pivotal role of the placenta in its pathophysiology and markers for early detection. *Ther Adv Cardiovasc Dis*, 3, 65-73.
- HEAZELL, A. E., BROWN, M., WORTON, S. A. & DUNN, W. B. 2011. Review: The effects of oxygen

- on normal and pre-eclamptic placental tissue--insights from metabolomics. *Placenta*, 32 Suppl 2, S119-24.
- HEAZELL, A. E. & CROCKER, I. P. 2008. Live and let die - regulation of villous trophoblast apoptosis in normal and abnormal pregnancies. *Placenta*, 29, 772-83.
- HEAZELL, A. E., LACEY, H. A., JONES, C. J., HUPPERTZ, B., BAKER, P. N. & CROCKER, I. P. 2008. Effects of oxygen on cell turnover and expression of regulators of apoptosis in human placental trophoblast. *Placenta*, 29, 175-86.
- HEILMANN, L., GERHOLD, S., VON TEMPELHOFF, G. F. & POLLOW, K. 2001. The role of intravenous volume expansion in moderate pre-eclampsia. *Clin Hemorheol Microcirc*, 25, 83-9.
- HERRAIZ, I. 2010. *CRIBADO COMBINADO DEL PRIMER TRIMESTRE PARA LA PREDICCIÓN DE LA PREECLAMPSIA EN GESTANTES CON FACTORES DE ALTO RIESGO*. Ph.D. Tesis, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.
- HLADUNEWICH, M., KARUMANCHI, S. A. & LAFAYETTE, R. 2007. Pathophysiology of the clinical manifestations of preeclampsia. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2, 543-9.
- HOLCIK, M., GIBSON, H. & KORNELUK, R. G. 2001. XIAP: apoptotic brake and promising therapeutic target. *Apoptosis*, 6, 253-61.
- HOLTHE, M. R., STAFF, A. C., BERGE, L. N. & LYBERG, T. 2004. Different levels of platelet activation in preeclamptic, normotensive pregnant, and nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol*, 190, 1128-34.
- HUNG, T. H. & BURTON, G. J. 2006. Hypoxia and reoxygenation: a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 45, 189-200.
- HUPPERTZ, B. 2008. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension*, 51, 970-5.
- HUPPERTZ, B. & HERRLER, A. 2005. Regulation of proliferation and apoptosis during development of the preimplantation embryo and the placenta. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 75, 249-61.
- HUPPERTZ, B., KADYROV, M. & KINGDOM, J. C. 2006. Apoptosis and its role in the trophoblast. *Am J Obstet Gynecol*, 195, 29-39.
- HUPPERTZ, B., KINGDOM, J., CANIGGIA, I., DESOYE, G., BLACK, S., KORR, H. & KAUFMANN, P. 2003. Hypoxia favours necrotic versus apoptotic shedding of placental syncytiotrophoblast into the maternal circulation. *Placenta*, 24, 181-90.
- HUPPERTZ, B. & KINGDOM, J. C. 2004. Apoptosis in the trophoblast--role of apoptosis in placental morphogenesis. *J Soc Gynecol Investig*, 11, 353-62.
- HUTCHINSON, E. S., BROWNBILL, P., JONES, N. W., ABRAHAMS, V. M., BAKER, P. N., SIBLEY, C. P. & CROCKER, I. P. 2009. Utero-placental haemodynamics in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta*, 30, 634-41.
- IRMINGER-FINGER, I., JASTROW, N. & IRION, O. 2008. Preeclampsia: a danger growing in disguise. *Int J Biochem Cell Biol*, 40, 1979-83.
- ISHIHARA, N., MATSUO, H., MURAKOSHI, H., LAOAG-FERNANDEZ, J. B., SAMOTO, T. & MARUO, T. 2002. Increased apoptosis in the syncytiotrophoblast in human term placentas complicated by either preeclampsia or intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol*, 186, 158-66.
- ITAKURA, A. & MIZUTANI, S. 2005. Involvement of placental peptidases associated with renin-angiotensin systems in preeclampsia. *Biochim Biophys Acta*, 1751, 68-72.
- JOZA, N., SUSIN, S. A., DAUGAS, E., STANFORD, W. L., CHO, S. K., LI, C. Y., SASAKI, T., ELIA, A. J., CHENG, H. Y., RAVAGNAN, L., FERRI, K. F., ZAMZAMI, N., WAKEHAM, A., HAKEM, R., YOSHIDA, H., KONG, Y. Y., MAK, T. W., ZUNIGA-PFLUCKER, J. C., KROEMER, G. & PENNINGER, J. M. 2001. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature*, 410, 549-54.
- KADYROV, M., KAUFMANN, P. & HUPPERTZ, B. 2001. Expression of a cytokeratin 18 neo-epitope is a specific marker for trophoblast apoptosis in human placenta. *Placenta*, 22, 44-8.
- KADYROV, M., KINGDOM, J. C. & HUPPERTZ, B. 2006. Divergent trophoblast invasion and apoptosis in placental bed spiral arteries from pregnancies complicated by maternal anemia and early-onset preeclampsia/intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*, 194, 557-63.
- KADYROV, M., SCHMITZ, C., BLACK, S., KAUFMANN, P. & HUPPERTZ, B. 2003. Pre-eclampsia and maternal anaemia display reduced apoptosis and opposite invasive phenotypes of extravillous trophoblast. *Placenta*, 24, 540-8.
- KALKUNTE, S., NEVERS, T., NORRIS, W. E. & SHARMA, S. 2011. Vascular IL-10: a protective role in preeclampsia. *J Reprod Immunol*, 88, 165-9.
- KANASAKI, K. & KALLURI, R. 2009. The biology of preeclampsia. *Kidney Int*, 76, 831-7.
- KANASAKI, K., PALMSTEN, K., SUGIMOTO, H., AHMAD, S., HAMANO, Y., XIE, L., PARRY, S.,

- AUGUSTIN, H. G., GATTONE, V. H., FOLKMAN, J., STRAUSS, J. F. & KALLURI, R. 2008. Deficiency in catechol-O-methyltransferase and 2-methoxyoestradiol is associated with pre-eclampsia. *Nature*, 453, 1117-21.
- KANAYAMA, N. 2003. Trophoblastic injury: new etiological and pathological concept of preeclampsia. *Croat Med J*, 44, 148-56.
- KARUMANCHI, S. A. & BDOLAH, Y. 2004. Hypoxia and sFlt-1 in preeclampsia: the "chicken-and-egg" question. *Endocrinology*, 145, 4835-7.
- KARUMANCHI, S. A. & EPSTEIN, F. H. 2007. Placental ischemia and soluble fms-like tyrosine kinase 1: cause or consequence of preeclampsia? *Kidney Int*, 71, 959-61.
- KASHIWAGI, M., ZIMMERMANN, R. & BEINDER, E. 2003. Pathophysiology of pre-eclampsia: update on the role of nitric oxide. *Curr Hypertens Rep*, 5, 493-7.
- KAUFMANN, P., BLACK, S. & HUPPERTZ, B. 2003. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod*, 69, 1-7.
- KHALIL, R. A. & GRANGER, J. P. 2002. Vascular mechanisms of increased arterial pressure in preeclampsia: lessons from animal models. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 283, R29-45.
- KHARFI, A., GIGUERE, Y., SAPIN, V., MASSE, J., DASTUGUE, B. & FOREST, J. C. 2003. Trophoblastic remodeling in normal and preeclamptic pregnancies: implication of cytokines. *Clin Biochem*, 36, 323-31.
- KITA, N. & MITSUSHITA, J. 2008. A possible placental factor for preeclampsia: sFlt-1. *Curr Med Chem*, 15, 711-5.
- KLEINROUWELER, C. E., WIEGERINCK, M. M., RIS-STALPERS, C., BOSSUYT, P. M., VAN DER POST, J. A., VON DADELSZEN, P., MOL, B. W. & PAJKRT, E. 2012. Accuracy of circulating placental growth factor, vascular endothelial growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in the prediction of pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis. *BJOG*, 119, 778-87.
- KNIGHT, M., DULEY, L., HENDERSON-SMART, D. J. & KING, J. F. 2000. Antiplatelet agents for preventing and treating pre-eclampsia. *Cochrane Database Syst Rev*, CD000492.
- KOPCOW, H. D. & KARUMANCHI, S. A. 2007. Angiogenic factors and natural killer (NK) cells in the pathogenesis of preeclampsia. *J Reprod Immunol*, 76, 23-9.
- KROEMER, G., GALLUZZI, L. & BRENNER, C. 2007. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol Rev*, 87, 99-163.
- LACHMEIJER, A. M., DEKKER, G. A., PALS, G., AARNOUDSE, J. G., TEN KATE, L. P. & ARNGRIMSSON, R. 2002. Searching for preeclampsia genes: the current position. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 105, 94-113.
- LAFONT, E., MILHAS, D., TEISSIE, J., THERVILLE, N., ANDRIEU-ABADIE, N., LEVADE, T., BENOIST, H. & SEGUI, B. 2010. Caspase-10-dependent cell death in Fas/CD95 signalling is not abrogated by caspase inhibitor zVAD-fmk. *PLoS One*, 5, e13638.
- LALA, P. K. & CHAKRABORTY, C. 2003. Factors regulating trophoblast migration and invasiveness: possible derangements contributing to pre-eclampsia and fetal injury. *Placenta*, 24, 575-87.
- LAM, C., LIM, K. H. & KARUMANCHI, S. A. 2005. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension*, 46, 1077-85.
- LAPAIRE, O., SHENNAN, A. & STEPAN, H. 2010. The preeclampsia biomarkers soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor: current knowledge, clinical implications and future application. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 151, 122-9.
- LARESGOITI-SERVITJE, E. & GOMEZ-LOPEZ, N. 2012. The pathophysiology of preeclampsia involves altered levels of angiogenic factors promoted by hypoxia and autoantibody-mediated mechanisms. *Biol Reprod*, 87, 36.
- LAVRIK, I., GOLKS, A. & KRAMMER, P. H. 2005. Death receptor signaling. *J Cell Sci*, 118, 265-7.
- LEVINE, R. J. & KARUMANCHI, S. A. 2005. Circulating angiogenic factors in preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol*, 48, 372-86.
- LEVINE, R. J., MAYNARD, S. E., QIAN, C., LIM, K. H., ENGLAND, L. J., YU, K. F., SCHISTERMAN, E. F., THADHANI, R., SACHS, B. P., EPSTEIN, F. H., SIBAI, B. M., SUKHATME, V. P. & KARUMANCHI, S. A. 2004. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*, 350, 672-83.
- LI, J., LAMARCA, B. & RECKELHOFF, J. F. 2012. A model of preeclampsia in rats: the reduced uterine perfusion pressure (RUPP) model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 303, H1-8.
- LI, L. Y., LUO, X. & WANG, X. 2001. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature*, 412, 95-9.
- LI, Z., ZHANG, Y., YING MA, J., KAPOUN, A. M., SHAO, Q., KERR, I., LAM, A., O'YOUNG, G.,

- SANNAJUST, F., STATHIS, P., SCHREINER, G., KARUMANCHI, S. A., PROTTER, A. A. & POLLITT, N. S. 2007. Recombinant vascular endothelial growth factor 121 attenuates hypertension and improves kidney damage in a rat model of preeclampsia. *Hypertension*, 50, 686-92.
- LOPEZ-NOVOA, J. M. 2007. Soluble endoglin is an accurate predictor and a pathogenic molecule in pre-eclampsia. *Nephrol Dial Transplant*, 22, 712-4.
- LYALL, F. 2006. Mechanisms regulating cytotrophoblast invasion in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 46, 266-73.
- LYALL, F., BULMER, J. N., DUFFIE, E., COUSINS, F., THERIAULT, A. & ROBSON, S. C. 2001. Human trophoblast invasion and spiral artery transformation: the role of PECAM-1 in normal pregnancy, preeclampsia, and fetal growth restriction. *Am J Pathol*, 158, 1713-21.
- LYALL, F. & SEUFERT, R. 2004. Pre-eclampsia--a workshop report. *Placenta*, 25 Suppl A, S112-4.
- LYNCH, A. M. & SALMON, J. E. 2010. Dysregulated complement activation as a common pathway of injury in preeclampsia and other pregnancy complications. *Placenta*, 31, 561-7.
- MARTIN, A. C. & BROWN, M. A. 2010. Could uric acid have a pathogenic role in pre-eclampsia? *Nat Rev Nephrol*, 6, 744-8.
- MARUO, T., ISHIHARA, N., SAMOTO, T., MURAKOSHI, H., LAOAG-FERNANDEZ, J. B. & MATSUO, H. 2001. Regulation of human trophoblast proliferation and apoptosis during pregnancy. *Early Pregnancy*, 5, 28-9.
- MARZIONI, D., MUHLHAUSER, J., CRESCIMANNO, C., BANITA, M., PIERLEONI, C. & CASTELLUCCI, M. 1998. BCL-2 expression in the human placenta and its correlation with fibrin deposits. *Hum Reprod*, 13, 1717-22.
- MASSE, J., GIGUERE, Y., KHARFI, A., GIROUARD, J. & FOREST, J. C. 2002. Pathophysiology and maternal biologic markers of preeclampsia. *Endocrine*, 19, 113-25.
- MAYNARD, S., EPSTEIN, F. H. & KARUMANCHI, S. A. 2008. Preeclampsia and angiogenic imbalance. *Annu Rev Med*, 59, 61-78.
- MAYNARD, S. E. & KARUMANCHI, S. A. 2011. Angiogenic factors and preeclampsia. *Semin Nephrol*, 31, 33-46.
- MAYNARD, S. E., MIN, J. Y., MERCHAN, J., LIM, K. H., LI, J., MONDAL, S., LIBERMANN, T. A., MORGAN, J. P., SELLKE, F. W., STILLMAN, I. E., EPSTEIN, F. H., SUKHATME, V. P. & KARUMANCHI, S. A. 2003. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*, 111, 649-58.
- MAYNARD, S. E., VENKATESHA, S., THADHANI, R. & KARUMANCHI, S. A. 2005. Soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and endothelial dysfunction in the pathogenesis of preeclampsia. *Pediatr Res*, 57, 1R-7R.
- MEHLEN, P. & BREDESEN, D. E. 2011. Dependence receptors: from basic research to drug development. *Sci Signal*, 4, mr2.
- MEIER, P. & VOUSDEN, K. H. 2007. Lucifer's labyrinth--ten years of path finding in cell death. *Mol Cell*, 28, 746-54.
- MERVIEL, P., CARBILLON, L., CHALLIER, J. C., RABREAU, M., BEAUFILS, M. & UZAN, S. 2004. Pathophysiology of preeclampsia: links with implantation disorders. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 115, 134-47.
- MICHEAU, O. & TSCHOPP, J. 2003. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell*, 114, 181-90.
- MIGNINI, L. E., VILLAR, J. & KHAN, K. S. 2006. Mapping the theories of preeclampsia: the need for systematic reviews of mechanisms of the disease. *Am J Obstet Gynecol*, 194, 317-21.
- MILLE, F., THIBERT, C., FOMBONNE, J., RAMA, N., GUIX, C., HAYASHI, H., CORSET, V., REED, J. C. & MEHLEN, P. 2009. The Patched dependence receptor triggers apoptosis through a DRAL-caspase-9 complex. *Nat Cell Biol*, 11, 739-46.
- MINCHEVA-NILSSON, L. & BARANOV, V. 2010. The role of placental exosomes in reproduction. *Am J Reprod Immunol*, 63, 520-33.
- MOHAUPT, M. 2007. Molecular aspects of preeclampsia. *Mol Aspects Med*, 28, 169-91.
- MORRIS, J. M., GOPAUL, N. K., ENDRESEN, M. J., KNIGHT, M., LINTON, E. A., DHIR, S., ANGGARD, E. E. & REDMAN, C. W. 1998. Circulating markers of oxidative stress are raised in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol*, 105, 1195-9.
- MUTTER, W. P. & KARUMANCHI, S. A. 2008. Molecular mechanisms of preeclampsia. *Microvasc Res*, 75, 1-8.
- MYATT, L. 2002. Role of placenta in preeclampsia. *Endocrine*, 19, 103-11.
- MYATT, L., CLIFTON, R. G., ROBERTS, J. M., SPONG, C. Y., HAUTH, J. C., VARNER, M. W.,

- WAPNER, R. J., THORP, J. M., JR., MERCER, B. M., GROBMAN, W. A., RAMIN, S. M., CARPENTER, M. W., SAMUELS, P., SCISCIONE, A., HARPER, M., TOLOSA, J. E., SAADE, G., SOROKIN, Y. & ANDERSON, G. D. 2012. The utility of uterine artery Doppler velocimetry in prediction of preeclampsia in a low-risk population. *Obstet Gynecol*, 120, 815-22.
- MYATT, L. & WEBSTER, R. P. 2009. Vascular biology of preeclampsia. *J Thromb Haemost*, 7, 375-84.
- NEALE, D. M. & MOR, G. 2005. The role of Fas mediated apoptosis in preeclampsia. *J Perinat Med*, 33, 471-7.
- NORIS, M., PERICO, N. & REMUZZI, G. 2005. Mechanisms of disease: Pre-eclampsia. *Nat Clin Pract Nephrol*, 1, 98-114; quiz 120.
- ONG, S., LASH, G. & BAKER, P. N. 2000. Angiogenesis and placental growth in normal and compromised pregnancies. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 14, 969-80.
- ORENDI, K., KIVITY, V., SAMMAR, M., GRIMPEL, Y., GONEN, R., MEIRI, H., LUBZENS, E. & HUPPERTZ, B. 2011. Placental and trophoblastic in vitro models to study preventive and therapeutic agents for preeclampsia. *Placenta*, 32 Suppl, S49-54.
- OUDEJANS, C. B. & VAN DIJK, M. 2008. Placental gene expression and pre-eclampsia. *Placenta*, 29 Suppl A, S78-82.
- PANTHAM, P., ASKELUND, K. J. & CHAMLEY, L. W. 2011. Trophoblast deportation part II: a review of the maternal consequences of trophoblast deportation. *Placenta*, 32, 724-31.
- PAPAGEORGHIU, A. T., YU, C. K., BINDRA, R., PANDIS, G., NICOLAIDES, K. H. & FETAL MEDICINE FOUNDATION SECOND TRIMESTER SCREENING, G. 2001. Multicenter screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by transvaginal uterine artery Doppler at 23 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 18, 441-9.
- PARHAM, P. 2004. NK cells and trophoblasts: partners in pregnancy. *J Exp Med*, 200, 951-5.
- PARRA, M., RODRIGO, R., BARJA, P., BOSCO, C., FERNANDEZ, V., MUNOZ, H. & SOTO-CHACON, E. 2005. Screening test for preeclampsia through assessment of uteroplacental blood flow and biochemical markers of oxidative stress and endothelial dysfunction. *Am J Obstet Gynecol*, 193, 1486-91.
- PEDROSA, A. C. & MATIAS, A. 2011. Screening for pre-eclampsia: a systematic review of tests combining uterine artery Doppler with other markers. *J Perinat Med*, 39, 619-35.
- PENNINGTON, K. A., SCHLITT, J. M., JACKSON, D. L., SCHULZ, L. C. & SCHUST, D. J. 2012. Preeclampsia: multiple approaches for a multifactorial disease. *Dis Model Mech*, 5, 9-18.
- PIJNENBORG, R., VERCRUYSSSE, L. & HANSENS, M. 2006. The uterine spiral arteries in human pregnancy: facts and controversies. *Placenta*, 27, 939-58.
- PIPKIN, F. 2001. Risk factors for preeclampsia. *N Engl J Med*, 344, 925-926.
- PODJARNY, E., LOSONCZY, G. & BAYLIS, C. 2004. Animal models of preeclampsia. *Semin Nephrol*, 24, 596-606.
- POSTON, L. 2006. Endothelial dysfunction in pre-eclampsia. *Pharmacol Rep*, 58 Suppl, 69-74.
- POSTON, L. & CHAPPELL, L. C. 2001. Is oxidative stress involved in the aetiology of pre-eclampsia? *Acta Paediatr Suppl*, 90, 3-5.
- POTGENS, A. J., SCHMITZ, U., BOSE, P., VERSMOLD, A., KAUFMANN, P. & FRANK, H. G. 2002. Mechanisms of syncytial fusion: a review. *Placenta*, 23 Suppl A, S107-13.
- POWE, C. E., LEVINE, R. J. & KARUMANCHI, S. A. 2011. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation*, 123, 2856-69.
- PRINGLE, K. G., KIND, K. L., SFERRUZZI-PERRI, A. N., THOMPSON, J. G. & ROBERTS, C. T. 2010. Beyond oxygen: complex regulation and activity of hypoxia inducible factors in pregnancy. *Hum Reprod Update*, 16, 415-31.
- RAIJMAKERS, M. T., DECHEND, R. & POSTON, L. 2004. Oxidative stress and preeclampsia: rationale for antioxidant clinical trials. *Hypertension*, 44, 374-80.
- REDMAN, C. W. 2011. Preeclampsia: a multi-stress disorder. *Rev Med Interne*, 32 Suppl 1, S41-4.
- REDMAN, C. W. & SARGENT, I. L. 2000. Placental debris, oxidative stress and pre-eclampsia. *Placenta*, 21, 597-602.
- REDMAN, C. W. & SARGENT, I. L. 2003. Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response--a review. *Placenta*, 24 Suppl A, S21-7.
- REDMAN, C. W. & SARGENT, I. L. 2004. Preeclampsia and the systemic inflammatory response. *Semin Nephrol*, 24, 565-70.
- REDMAN, C. W. & SARGENT, I. L. 2005. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*, 308, 1592-4.
- REDMAN, C. W. & SARGENT, I. L. 2008. Circulating microparticles in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Placenta*, 29 Suppl A, S73-7.

- REDMAN, C. W., TANNETTA, D. S., DRAGOVIC, R. A., GARDINER, C., SOUTHCOMBE, J. H., COLLETT, G. P. & SARGENT, I. L. 2012. Review: Does size matter? Placental debris and the pathophysiology of pre-eclampsia. *Placenta*, 33 Suppl, S48-54.
- REISTER, F., FRANK, H. G., KINGDOM, J. C., HEYL, W., KAUFMANN, P., RATH, W. & HUPPERTZ, B. 2001. Macrophage-induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in the uterine wall of preeclamptic women. *Lab Invest*, 81, 1143-52.
- RIGO, J., JR., NAGY, B., FINTOR, L., TANYI, J., BEKE, A., KARADI, I. & PAPP, Z. 2000. Maternal and neonatal outcome of preeclamptic pregnancies: the potential roles of factor V Leiden mutation and 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase. *Hypertens Pregnancy*, 19, 163-72.
- ROBERTS, J. M. & COOPER, D. W. 2001. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet*, 357, 53-6.
- ROBERTS, J. M. & GAMMILL, H. S. 2005. Preeclampsia: recent insights. *Hypertension*, 46, 1243-9.
- ROBERTS, J. M. & LAIN, K. Y. 2002. Recent Insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta*, 23, 359-72.
- ROBILLARD, P. Y., DEKKER, G. A. & HULSEY, T. C. 1999. Revisiting the epidemiological standard of preeclampsia: primigravidity or primipaternity? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 84, 37-41.
- RODRIGO, R., PARRA, M., BOSCO, C., FERNANDEZ, V., BARJA, P., GUAJARDO, J. & MESSINA, R. 2005. Pathophysiological basis for the prophylaxis of preeclampsia through early supplementation with antioxidant vitamins. *Pharmacol Ther*, 107, 177-97.
- ROVERE-QUERINI, P., CASTIGLIONI, M. T., SABBADINI, M. G. & MANFREDI, A. A. 2007. Signals of cell death and tissue turnover during physiological pregnancy, pre-eclampsia, and autoimmunity. *Autoimmunity*, 40, 290-4.
- RUSTERHOLZ, C., HAHN, S. & HOLZGREVE, W. 2007. Role of placentally produced inflammatory and regulatory cytokines in pregnancy and the etiology of preeclampsia. *Semin Immunopathol*, 29, 151-62.
- RUSTERHOLZ, C., MESSERLI, M., HOESLI, I. & HAHN, S. 2011. Placental microparticles, DNA, and RNA in preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*, 30, 364-75.
- SANKARALINGAM, S., ARENAS, I. A., LALU, M. M. & DAVIDGE, S. T. 2006. Preeclampsia: current understanding of the molecular basis of vascular dysfunction. *Expert Rev Mol Med*, 8, 1-20.
- SARGENT, I. L., GERMAIN, S. J., SACKS, G. P., KUMAR, S. & REDMAN, C. W. 2003. Trophoblast deportation and the maternal inflammatory response in pre-eclampsia. *J Reprod Immunol*, 59, 153-60.
- SATTAR, N. & GREER, I. A. 2002. Pregnancy complications and maternal cardiovascular risk: opportunities for intervention and screening? *BMJ*, 325, 157-60.
- SAVAJ, S. & VAZIRI, N. 2012. An overview of recent advances in pathogenesis and diagnosis of preeclampsia. *Iran J Kidney Dis*, 6, 334-8.
- SCHUTZE, S., TCHIKOV, V. & SCHNEIDER-BRACHERT, W. 2008. Regulation of TNFR1 and CD95 signalling by receptor compartmentalization. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 9, 655-62.
- SHAH, D. M. 2005. Role of the renin-angiotensin system in the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Physiol Renal Physiol*, 288, F614-25.
- SHAH, D. M. 2007. Preeclampsia: new insights. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 16, 213-20.
- SHAMSHIRSAZ, A. A., PAIDAS, M. & KRIKUN, G. 2012. Preeclampsia, hypoxia, thrombosis, and inflammation. *J Pregnancy*, 2012, 374047.
- SHARMA, S., NORRIS, W. E. & KALKUNTE, S. 2010. Beyond the threshold: an etiological bridge between hypoxia and immunity in preeclampsia. *J Reprod Immunol*, 85, 112-6.
- SHARP, A. N., HEAZELL, A. E., CROCKER, I. P. & MOR, G. 2010. Placental apoptosis in health and disease. *Am J Reprod Immunol*, 64, 159-69.
- SHENOY, V., KANASAKI, K. & KALLURI, R. 2010. Pre-eclampsia: connecting angiogenic and metabolic pathways. *Trends Endocrinol Metab*, 21, 529-36.
- SIBAI, B., DEKKER, G. & KUPFERMINE, M. 2005. Pre-eclampsia. *Lancet*, 365, 785-99.
- SIBAI, B. M. 2003. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol*, 102, 181-92.
- SIDDIQUI, I. A., JALEEL, A., TAMIMI, W. & AL KADRI, H. M. 2010. Role of oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet*, 282, 469-74.
- SIEGEL, R. M., FREDERIKSEN, J. K., ZACHARIAS, D. A., CHAN, F. K., JOHNSON, M., LYNCH, D., TSIEN, R. Y. & LENARDO, M. J. 2000. Fas preassociation required for apoptosis signaling and dominant inhibition by pathogenic mutations. *Science*, 288, 2354-7.
- SILASI, M., COHEN, B., KARUMANCHI, S. A. & RANA, S. 2010. Abnormal placentation, angiogenic factors, and the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 37, 239-53.

- SMETS, E. M., VISSER, A., GO, A. T., VAN VUGT, J. M. & OUDEJANS, C. B. 2006. Novel biomarkers in preeclampsia. *Clin Chim Acta*, 364, 22-32.
- SOLEYMANLOU, N., JURISICA, I., NEVO, O., IETTA, F., ZHANG, X., ZAMUDIO, S., POST, M. & CANIGGIA, I. 2005. Molecular evidence of placental hypoxia in preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*, 90, 4299-308.
- SPRICK, M. R., RIESER, E., STAHL, H., GROSSE-WILDE, A., WEIGAND, M. A. & WALCZAK, H. 2002. Caspase-10 is recruited to and activated at the native TRAIL and CD95 death-inducing signalling complexes in a FADD-dependent manner but can not functionally substitute caspase-8. *EMBO J*, 21, 4520-30.
- STEEGERS, E. A., VON DADELSZEN, P., DUVEKOT, J. J. & PIJNENBORG, R. 2010. Pre-eclampsia. *Lancet*, 376, 631-44.
- STEPAN, H., FABER, R., DORNHOFER, N., HUPPERTZ, B., ROBITZKI, A. & WALTHER, T. 2006. New insights into the biology of preeclampsia. *Biol Reprod*, 74, 772-6.
- STEPANIAN, A., COHEN-MOATTI, M., SANGLIER, T., LEGENDRE, P., AMEZIANE, N., TSATSARIS, V., MANDELBROT, L., DE PROST, D. & VEYRADIER, A. 2011. Von Willebrand factor and ADAMTS13: a candidate couple for preeclampsia pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31, 1703-9.
- STRASZEWSKI-CHAVEZ, S. L., ABRAHAMS, V. M. & MOR, G. 2005. The role of apoptosis in the regulation of trophoblast survival and differentiation during pregnancy. *Endocr Rev*, 26, 877-97.
- SUZUKI, A., UMEZAWA, A., SANO, M., NOZAWA, S. & HATA, J. 2000. Involvement of EAT/mcl-1, a bcl-2 related gene, in the apoptotic mechanisms underlying human placental development and maintenance. *Placenta*, 21, 177-83.
- TAIT, S. W. & GREEN, D. R. 2010. Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 11, 621-32.
- TAL, R. 2012. The role of hypoxia and hypoxia-inducible factor-1alpha in preeclampsia pathogenesis. *Biol Reprod*, 87, 134.
- TALOSI, G., ENDREFFY, E., TURI, S. & NEMETH, I. 2000. Molecular and genetic aspects of preeclampsia: state of the art. *Mol Genet Metab*, 71, 565-72.
- TELANG, M. A., BHUTKAR, S. P. & HIRWANI, R. R. 2013. Analysis of patents on preeclampsia detection and diagnosis: a perspective. *Placenta*, 34, 2-8.
- THAN, N. G., ROMERO, R., HILLERMANN, R., COZZI, V., NIE, G. & HUPPERTZ, B. 2008. Prediction of preeclampsia - a workshop report. *Placenta*, 29 Suppl A, S83-5.
- THORNTON, J. G. & ONWUDE, J. L. 1991. Pre-eclampsia: discordance among identical twins. *BMJ*, 303, 1241-2.
- UZAN, J., CARBONNEL, M., PICONNE, O., ASMAR, R. & AYOUBI, J. M. 2011. Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management. *Vasc Health Risk Manag*, 7, 467-74.
- VAN RIJN, M., VAN DER SCHOUW, Y. T., HAGENAAARS, A. M., VISSER, G. H. & CHRISTIAENS, G. C. 1999. Adverse obstetric outcome in low- and high- risk pregnancies: predictive value of maternal serum screening. *Obstet Gynecol*, 94, 929-34.
- VANDE WALLE, L., VAN DAMME, P., LAMKANFI, M., SAELENS, X., VANDEKERCKHOVE, J., GEVAERT, K. & VANDENABEELE, P. 2007. Proteome-wide Identification of HtrA2/Omi Substrates. *J Proteome Res*, 6, 1006-15.
- VANWIJK, M. J., KUBLICKIENE, K., BOER, K. & VANBAVEL, E. 2000. Vascular function in preeclampsia. *Cardiovasc Res*, 47, 38-48.
- VATISH, M., RANDEVA, H. S. & GRAMMATOPOULOS, D. K. 2006. Hormonal regulation of placental nitric oxide and pathogenesis of pre-eclampsia. *Trends Mol Med*, 12, 223-33.
- VELÁZQUEZ, M. M. 2004. SMAC/DIABLO Y SU PAPEL EN LA REGULACIÓN DE LA APOPTOSIS. *Revista de educación bioquímica*, 23, 64-70.
- VENKATESHA, S., TOPORSIAN, M., LAM, C., HANAI, J., MAMMOTO, T., KIM, Y. M., BDOLAH, Y., LIM, K. H., YUAN, H. T., LIBERMANN, T. A., STILLMAN, I. E., ROBERTS, D., D'AMORE, P. A., EPSTEIN, F. H., SELLKE, F. W., ROMERO, R., SUKHATME, V. P., LETARTE, M. & KARUMANCHI, S. A. 2006. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med*, 12, 642-9.
- VERLOHREN, S., STEPAN, H. & DECHEND, R. 2012. Angiogenic growth factors in the diagnosis and prediction of pre-eclampsia. *Clin Sci (Lond)*, 122, 43-52.
- VIGIL-DE GRACIA, P., MONTUFAR-RUEDA, C. & RUIZ, J. 2003. Expectant management of severe preeclampsia and preeclampsia superimposed on chronic hypertension between 24 and 34 weeks' gestation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 107, 24-7.
- VITORATOS, N., HASSIAKOS, D. & IAVAZZO, C. 2012. Molecular mechanisms of preeclampsia. *J Pregnancy*, 2012, 298343.

- VON RANGO, U., KRUSCHE, C. A., KERTSCHANSKA, S., ALFER, J., KAUFMANN, P. & BEIER, H. M. 2003. Apoptosis of extravillous trophoblast cells limits the trophoblast invasion in uterine but not in tubal pregnancy during first trimester. *Placenta*, 24, 929-40.
- WAGNER, S. J., CRAICI, I. M., GRANDE, J. P. & GAROVIC, V. D. 2012. From placenta to podocyte: vascular and podocyte pathophysiology in preeclampsia. *Clin Nephrol*, 78, 241-9.
- WAITE, L. L., ATWOOD, A. K. & TAYLOR, R. N. 2002. Preeclampsia, an implantation disorder. *Rev Endocr Metab Disord*, 3, 151-8.
- WAJANT, H. 2002. The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science*, 296, 1635-6.
- WALD, N. J., MORRIS, J. K., IBISON, J., WU, T. & GEORGE, L. M. 2006. Screening in early pregnancy for pre-eclampsia using Down syndrome quadruple test markers. *Prenat Diagn*, 26, 559-64.
- WALKER, J. J. 2000. Pre-eclampsia. *Lancet*, 356, 1260-5.
- WANG, A., RANA, S. & KARUMANCHI, S. A. 2009. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology (Bethesda)*, 24, 147-58.
- WHITLEY, G. S. & CARTWRIGHT, J. E. 2009. Trophoblast-mediated spiral artery remodelling: a role for apoptosis. *J Anat*, 215, 21-6.
- WHITLEY, G. S., DASH, P. R., AYLING, L. J., PREFUMO, F., THILAGANATHAN, B. & CARTWRIGHT, J. E. 2007. Increased apoptosis in first trimester extravillous trophoblasts from pregnancies at higher risk of developing preeclampsia. *Am J Pathol*, 170, 1903-9.
- WIDMER, M., VILLAR, J., BENIGNI, A., CONDE-AGUDELO, A., KARUMANCHI, S. A. & LINDHEIMER, M. 2007. Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review. *Obstet Gynecol*, 109, 168-80.
- XIA, Y. & KELLEMS, R. E. 2013. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies and hypertension: preeclampsia and beyond. *Circ Res*, 113, 78-87.
- XIA, Y., RAMIN, S. M. & KELLEMS, R. E. 2007. Potential roles of angiotensin receptor-activating autoantibody in the pathophysiology of preeclampsia. *Hypertension*, 50, 269-75.
- XIE, F., TURVEY, S. E., WILLIAMS, M. A., MOR, G. & VON DADELSZEN, P. 2010. Toll-like receptor signaling and pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*, 63, 7-16.
- YANG, J. C., HAWORTH, L., SHERRY, R. M., HWU, P., SCHWARTZENTRUBER, D. J., TOPALIAN, S. L., STEINBERG, S. M., CHEN, H. X. & ROSENBERG, S. A. 2003. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med*, 349, 427-34.
- YOUNG, B. C., LEVINE, R. J. & KARUMANCHI, S. A. 2010. Pathogenesis of preeclampsia. *Annu Rev Pathol*, 5, 173-92.
- YU, C. K., PAPAGEORGHIU, A. T., PARRA, M., PALMA DIAS, R., NICOLAIDES, K. H. & FETAL MEDICINE FOUNDATION SECOND TRIMESTER SCREENING, G. 2003. Randomized controlled trial using low-dose aspirin in the prevention of pre-eclampsia in women with abnormal uterine artery Doppler at 23 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 22, 233-9.
- YUAN, H. T., HAIG, D. & ANANTH KARUMANCHI, S. 2005. Angiogenic factors in the pathogenesis of preeclampsia. *Curr Top Dev Biol*, 71, 297-312.
- YUI, J., GARCIA-LLORET, M., WEGMANN, T. G. & GUILBERT, L. J. 1994. Cytotoxicity of tumour necrosis factor-alpha and gamma-interferon against primary human placental trophoblasts. *Placenta*, 15, 819-35.