

**Revista Colombiana de
Obstetricia y Ginecología**

Revista Colombiana de Obstetricia y
Ginecología
ISSN: 0034-7434
rcog@fecolsog.org
Federación Colombiana de Asociaciones de
Obstetricia y Ginecología
Colombia

Valderrama-Aguirre, Augusto; Gallo, Dahiana; Cifuentes B., Rodrigo
¿Cuáles son los avances de la genómica y la proteómica en el tamizaje y/o predicción de la
preeclampsia?

Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología, vol. 62, núm. 1, enero-marzo, 2011, pp. 64-70
Federación Colombiana de Asociaciones de Obstetricia y Ginecología
Bogotá, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195222491009>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



ARTÍCULO DE REFLEXIÓN

¿CUÁLES SON LOS AVANCES DE LA GENÓMICA Y LA PROTEÓMICA EN EL TAMIZAJE Y/O PREDICCIÓN DE LA PREECLAMPSIA?

What advances have been made in the areas of genomics and proteomics in screening and/or predicting preeclampsia?

Augusto Valderrama-Aguirre, MSc. PhD*, **Dahiana Gallo, MD.****,
Rodrigo Cifuentes B, MD. PhD***

Recibido: septiembre 28/10 – Aceptado: febrero 23/11

RESUMEN

Introducción: la preeclampsia constituye una causa importante de morbimortalidad materna y perinatal en el mundo. Su etiopatogenia es aún un enigma; sin embargo, los avances en genómica y proteómica prometen la identificación temprana de la enfermedad o del riesgo de padecerla.

Objetivo: hacer una reflexión sobre los avances más promisorios de la genómica y proteómica, en el tamizaje y/o predicción de la preeclampsia.

Conclusiones: dos polimorfismos funcionales, uno en el gen ACE (I/D) y otro en el gen COMT (Val158Met), poseen los resultados más promisorios para cumplir con el objetivo de identificar genéticamente a las mujeres con mayor riesgo de

desarrollar preeclampsia durante un embarazo. Por su parte, la proteómica ha identificado a la SERPINA-1 como un biomarcador útil para detectar en la orina de las embarazadas que estén desarrollando la preeclampsia, con al menos 10 semanas de antelación a las manifestaciones clínicas de la misma y la necesidad de finalizar el embarazo. En conjunto, estos avances llevados a la práctica clínica podrían reducir el impacto de esta patología en la salud materna.

Palabras clave: genómica, proteómica, salud materna, embarazo, preeclampsia, ACE, COMT, SERPINA-1.

SUMMARY

Introduction: preeclampsia is an important cause of maternal and perinatal morbi-mortality throughout the world. Its etiopathogeny still remains an enigma; however, the advances made in genomics and proteomics promise early identification of the disease or the risk of suffering from it.

Objective: thoughts on the most promising advances in genomics and proteomics regarding the pressing goal of early detection and/or prediction of preeclampsia risk.

Conclusions: two functional polymorphisms, one on the ACE gene (I/D) and another one in the

* Bacteriólogo y Laboratorista Clínico, Magíster en Ciencias Básicas Médicas Candidato a Doctor en Ciencias Biomédicas. Profesor Asociado, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Libre - Seccional Cali. Director Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB). Cali (Colombia). Correo electrónico: valderri@hotmail.com.

** Médico y Cirujano. Residente III año Ginecología y Obstetricia, Universidad Libre-Seccional Cali. Asistente Investigación Grupo Interinstitucional de Ginecología y Obstetricia (GIGYO). Cali (Colombia).

*** Médico y Cirujano. Especialista Ginecología y Obstetricia. Doctor en Biología de la Reproducción. Profesor Titular y Emérito de Ginecología y Obstetricia Universidad del Valle. Director del Posgrado de Ginecología y Obstetricia, Universidad Libre-Seccional Cali. Maestro Latinoamericano de Ginecología y Obstetricia FLASOG. Director del Grupo Interinstitucional de Ginecología y Obstetricia (GIGYO). Cali (Colombia).

COMT gene (Val158Met) are the most promising results of genomics for identifying women at genetically higher risk of developing preeclampsia during pregnancy. Proteomics has identified SERPINA-1 as a useful biomarker for detecting preeclampsia in the urine of pregnant women at least 10 weeks before clinical manifestations as well as the need for early termination of pregnancy. Such recent progress in genomics and proteomics adapted to clinical practice might reduce the impact of this disease on maternal health.

Key words: genomics, proteomics, maternal health, pregnancy, preeclampsia, angiotensin converting enzyme (ACE), catechol-O-methyltransferase (COMT), SERPINA-1.

INTRODUCCIÓN

Cada año mueren más de medio millón de mujeres en el mundo por causas relacionadas con el embarazo, 99% de ellas en países en vías de desarrollo. El 10% de las mujeres sufren hipertensión durante el embarazo, de las cuales de un 2 a un 8%, son debidos a preeclampsia a nivel mundial.¹ En Latinoamérica y el Caribe, los desórdenes hipertensivos son responsables del 25,7% de las muertes maternas.² Por estas razones, la preeclampsia es considerada como una de las enfermedades que demandan mayor atención en la ginecobstetricia. Sin embargo, sus mecanismos etiopatogénicos aún no están bien establecidos y hasta la fecha, no existen herramientas predictivas o preventivas lo suficientemente eficaces para disminuir el impacto en morbilidad de esta enfermedad.³

La genómica y la proteómica, gracias a sus capacidades de estudiar en detalle la influencia de los genes y proteínas sobre la fisiología general de un individuo bajo condiciones muy específicas, tienen las propiedades necesarias para proveer avances en la patofisiología de la enfermedad junto con el descubrimiento de biomarcadores, que pueden utilizarse como nuevas herramientas de tamizaje y/o predicción de la aparición de la preeclampsia.

La genómica se define como el estudio de los genomas de los organismos.⁴ Este campo incluye esfuerzos importantes en la secuenciación de grandes porciones de ADN, que después de ser ensamblados por herramientas de bioinformática, proveen un mapa genético detallado del genoma de un organismo.⁵ La principal aplicación de la genómica en la medicina moderna, ha sido la identificación de marcadores moleculares genéticamente heredados que se asocian con un riesgo más elevado (factor de riesgo), o significativamente menor (factor protector), de desarrollar en algún momento una enfermedad.

Por proteoma se entiende todo el conjunto de proteínas producidas por un organismo o sistema. La proteómica es entonces, el estudio a gran escala de las proteínas con particular énfasis en su estructura y función.⁶ El avance de esta ciencia está basado en el dogma central de la biología molecular, en el que mientras el ADN es el repositorio de la información genética; las proteínas son los verdaderos actores de la fisiología celular. La proteómica es considerada más compleja que la genómica, porque mientras el genoma de un organismo es constante y no se modifica significativamente durante la vida; el proteoma de una célula es absolutamente diferente en cada momento, bajo cada circunstancia y depende del tipo de célula especializada que se esté analizando.^{7,8} La principal aplicación de la proteómica en la salud humana se ha dado al nivel de identificación de biomarcadores de predicción y/o pronóstico,⁹ logrando identificar no sólo una proteína sino un grupo de ellas que se expresan (o también se inhiben), a muy bajas concentraciones durante las etapas iniciales de una enfermedad, lo cual por supuesto ayudará a entender la etiopatogenia de la enfermedad y a detectar rápidamente el estado que genera tal perfil proteómico específico y/o pronostican el curso del tratamiento.^{6,9}

El objetivo de este documento es hacer una reflexión acerca de: ¿Cuáles son los avances más significativos de la genómica y la proteómica hacia la identificación de genes y proteínas que permitan

realizar una predicción de la aparición de la enfermedad y/o su detección temprana?

Para resolver esta pregunta se realizó una búsqueda bibliográfica en la base de datos Medline vía Pubmed de artículos que incluyeran los términos *proteomics*, *genomics* y *preeclampsia*, sin especificar el momento de publicación. Los criterios de selección estuvieron basados en: 1) actualización de artículos publicados durante las dos últimas décadas y que hicieran uso de plataformas de experimentación de alto rendimiento (*high throughput*), 2) niveles de significancia estadística, que permitieran buena resolución entre los desenlaces estudiados, p. ej. detección temprana de la enfermedad, necesidad de desembarazar o riesgo elevado de desarrollar preeclampsia, y 3) impacto previsible del conocimiento, teniendo en cuenta conceptos como transferibilidad del hallazgo a pruebas de rutina del laboratorio clínico (p. ej. ELISA) y/o invasividad del proceso de toma de muestra (p. ej. orina vs tejido placentario).

Genómica y preeclampsia

Para que una enfermedad sea objeto de estudios genómicos o genéticos primero se le debe demostrar su heredabilidad, lo cual significa la proporción de variación fenotípica en una población que logra ser explicada o es atribuible a la variación genética entre individuos. En este caso, la naturaleza de distribución familiar de la preeclampsia ha sido suficientemente demostrada y un buen resumen de estas evidencias se encuentra en el documento publicado por Chesley y col.¹⁰ Se considera que el riesgo de desarrollar preeclampsia durante el embarazo, aumenta 2-5 veces en parientes de primer grado de mujeres afectadas. Adicionalmente, se han reportado riesgos que van desde 7,5% hasta 65% de recurrencia de preeclampsia.¹¹

Cada uno de los factores etiológicos implicados: desadaptación inmune, isquemia placentaria y estrés oxidativo, pueden tener una base genética. Así mismo, en la forma placentaria –de presentación

temprana–, existe un componente familiar claro y en la forma materna –de presentación tardía–, se ha implicado una predisposición genética.¹² De tal manera que es indiscutible el componente genético en la preeclampsia.¹³

Los experimentos de mapeo genético, de alcance genómico y de ligamiento, han identificado regiones cromosómicas asociadas a preeclampsia en todos los cromosomas, con un patrón leve de concentración hacia los brazos largos de los cromosomas 2 y 22; sin embargo, la identificación de los genes particularmente involucrados ha sido evasiva. Los polimorfismos génicos más estudiados se clasifican en cinco grupos, así: 1) polimorfismos de genes vasoactivos (p. ej. *M235T* del gen *AGT*, *I/D* del gen *ACE* y *E298D* del gen *eNOS*), 2) mutaciones y polimorfismos de genes trombofílicos (p. ej. *1691G>A* del factor *V Leiden*, *677C>T* del gen *MTHFR* y *20210G>A* del gen *protrombina*), 3) polimorfismos en genes del metabolismo lipídico y estrés oxidativo (p. ej. *Exon3 Tyr113His* del gen *EPHX* y *Exon 6 Asn291Ser* del gen *LPI*), 4) polimorfismos de genes involucrados en la respuesta inmune e inflamatoria (p. ej. *-308G>A* del gen *TNF α* y *-1082G>A* del gen de *IL10*), y 5) otros, entre los cuales se encuentran genes implicados en immunogenética, placentación e impronta y factores de crecimiento.^{13,14}

En términos generales los datos de todas estas aproximaciones son poco concluyentes e incluso contradictorias.¹³ Los resultados más promisorios, se han obtenido a partir de estudios de alcance genómico en los cuales se continua el análisis bajo priorización objetiva de genes candidatos. Algunos genes implicados en placentación como *ACVR2* y *STOX1*, así como otros implicados en angiogénesis (*PIGF*, *VEGF*, *Flt-1* y *ENG*) parecen ser los más indicados para investigaciones futuras en el largo camino de encontrar el gen o grupo de genes asociados al desarrollo de la preeclampsia.¹³

Dado el rol central que tiene el sistema Renina-Angiotensina (RAS) en la regulación de la presión sanguínea, el remodelamiento vascular y el volumen de fluidos corporales durante el

embarazo; los genes que expresan los componentes del RAS son candidatos plausibles para resolver el dilema de la etiología de la preeclampsia, de hecho se ha propuesto que debe existir una activación inadecuada del sistema en el origen de la preeclampsia.^{15,16}

El polimorfismo I/D del gen *ACE* consiste en la inserción (I) o supresión (D) de 287 pb en el intrón 16 del gen. Cuando existe el alelo D, en heterocigosis u homocigosis, se encuentra aumentada la actividad enzimática de ACE, lo cual se traduce en una tendencia más elevada a generar hipertensión arterial por vasoconstricción periférica.¹⁴ Múltiples estudios han logrado demostrar una asociación específica entre el alelo D del gen *ACE* y el desarrollo de preeclampsia.^{11,14,17-25} Sin embargo, otros estudios no han logrado establecer esta asociación.²⁶⁻²⁹ Las explicaciones posibles para esta discrepancia, incluyen sesgos potenciales de muestras muy pequeñas y el uso de técnicas de genotipificación incorrectas o de resultados ambiguos.²⁹⁻³¹ Una tercera explicación que ha sido poco explorada pero que ha sido corroborada por al menos tres estudios, es la estratificación nula o inadecuada de la población de los estudios de casos y controles, que en una gran cantidad de estudios podría conducir a sesgos en la información.^{32,33} Una situación típica es que se analizan las asociaciones entre los genes y la enfermedad, sin tener en cuenta el tipo de preeclampsia (inicio temprano o tardío) o su severidad (leve o severa). A este respecto, Mello *y col.* (2003, 2005) y Fatini *y col.* (2006) han encontrado una fuerte asociación del alelo D del gen *ACE* y la preeclampsia recurrente.²⁰⁻²² De aquí surge la hipótesis de que la asociación entre preeclampsia y el alelo D de *ACE*, se comporta de manera diferencial según el tipo de preeclampsia.

Finalmente, desde el año 2008 se viene dando un gran revuelo en la genómica de la preeclampsia por los hallazgos con el gen de *Catechol-O-methyltransferase* (*COMT*). Este gen produce una enzima que degrada 17-hidroxiestradiol, un producto de degradación del estradiol, y lo convierte en 2-metoxiestradiol (2-ME)

que en algunos casos funciona como antiangiogénico. La concentración de 2-ME durante el embarazo, en la circulación materna, aumenta paulatinamente hasta alcanzar un pico máximo entre las semanas 37 y 40 del embarazo.^{34,35} En preeclampsia severa, los niveles de 2-ME se suprimen. De hecho, recientemente se describió que la ausencia completa del gen *COMT* en un modelo murino, logra reproducir síntomas similares a la preeclampsia y a la hipoxia placentaria, incluyendo: hipertensión, proteinuria y pérdida fetal. Pero lo que es aún más interesante, es que la administración de 2-ME exógeno mejora la hipertensión y la proteinuria.³⁴

La variabilidad en los niveles de 2-ME parece ser consecuencia de un polimorfismo funcional en la secuencia codificante del gen *COMT*.³⁶ El polimorfismo consiste en una substitución nucleotídica de G por A en la posición 4680 del gen, lo que resulta en una substitución aminoacídica de Valina (Val 158) a Metionina (Met 158) en la posición 158 de la proteína. La forma Met 158 tiene más baja estabilidad y menor actividad enzimática a temperatura corporal. La frecuencia alélica de este polimorfismo es de 25-30% en la población humana y hasta la fecha solo se ha establecido claramente su asociación con restricción del crecimiento.³⁷ El impacto más fuerte de este nuevo conocimiento, hasta la fecha, ha sido que ha brindado una explicación para la asociación entre el tratamiento con hidralazina, un reconocido vasodilatador ampliamente aceptado como tratamiento de la preeclampsia y abruptio placentario.³⁸ Las evidencias sugieren que la hidralazina activa la expresión del gen *COMT* durante las primeras seis horas de la administración.³⁹

Proteómica y preeclampsia

Dado que la proteinuria es una de las características más notables de la preeclampsia, y a su vez el grado de proteinuria refleja la severidad de la enfermedad⁴⁰⁻⁴², muchos investigadores han analizado el perfil proteómico de la orina en embarazadas con diagnóstico de preeclampsia. Al respecto, Buhimschi *y col.* (2008), sugieren haber identificado un perfil de

biomarcadores apto para desarrollar una modalidad cualitativa, basada simplemente en la presencia o ausencia de los biomarcadores para el diagnóstico y pronóstico de la preeclampsia de manera rápida y no invasiva (en orina).⁴³ Ellos afirman haber identificado un perfil proteómico específico en embarazadas con diagnóstico de preeclampsia, que logra determinar los casos en los cuales es obligatorio finalizar la gestación [sensibilidad 85% (IC95%: 79-92%), especificidad 89% (IC95%: 82-94%)], lo cual se traduce en una precisión más alta (86.1%) que la obtenida con cualquiera de los indicadores usados en la actualidad (cocientes: proteína/creatinina, sFlt-1/creatinina, PIgf/creatinina o sFlt-1/PIgf).⁴³ Adicionalmente, este perfil logra diferenciar la preeclampsia de otros trastornos que cursan con hipertensión o proteinuria durante el embarazo, aunque a la fecha no hay datos disponibles de sensibilidad y especificidad. De acuerdo al reporte, las embarazadas que desarrollan preeclampsia comienzan a presentar perfiles urinarios anormales, 10 semanas antes de las manifestaciones clínicas.⁴³

En el contexto clínico, el perfil proteómico urinario identificado, funciona como el mejor indicador de necesidad de desembarazar comparativamente a otros indicadores usados en la actualidad, mejora sensiblemente la clasificación de la preeclampsia severa frente a la clasificación exclusivamente clínica (81% vs 67%, respectivamente) y está ausente en mujeres no embarazadas con proteinuria.⁴³

Los biomarcadores, identificados por espectrometría de masas (SELDI-TOF) seguida por secuenciación *de novo*, correspondieron a productos de clivaje proteolítico de SERPINA-1 (SwissProt P01009) y albúmina (SwissProt P02768). El perfil proteómico, en especial un fragmento de 21 aminoácidos del extremo C-terminal de la SERPINA-1 (aa 397-418), se asoció con las formas severas de preeclampsia que requerían finalizar la gestación inmediatamente [OR: 9.1 (CI 95%: 2.8-29.6)].

Una vez se obtienen resultados promisorios de carácter proteómico, lo que sigue en la ruta

investigativa es convertir este nuevo conocimiento a una tecnología menos compleja que sea fácilmente transferible y adaptable. Algo muy interesante del estudio de Buhimschi y col. (2008), es que describen la inmunorreactividad de la SERPINA-1 en suero y orina. De acuerdo a sus resultados, los niveles detectables en orina por ELISA aumentan hasta 450 veces ($p<0.001$) respecto a la inmunorreactividad casi nula detectada en los controles.⁴³ Básicamente, lo que esto significa, es que este nuevo hallazgo puede ser fácilmente transferido al laboratorio clínico a través de una técnica de ELISA diseñada específicamente para ello.

Otros tejidos y fluidos han sido sujeto de análisis proteómico, entre ellos trofoblastos primarios en cultivo,⁴⁴ membranas placentarias,⁴⁵ fluido amniótico⁴⁶ y sangre materna.⁴⁷ Wang y col. (2007) describieron un grupo de moléculas denominadas como ficolinas (FCN2 y FCN3), correspondientes a factores circulantes derivados de la placenta, como responsables de respuesta inflamatoria sistémica y el reconocimiento inmune local asociados al desarrollo de las manifestaciones clínicas de la preeclampsia.⁴⁴ Sun y col. (2007) reportaron un total de siete proteínas: PDIA3, PRDX2, ECH1, PDIA1, ERP27, DLDH y TI21L, con patrones de expresión alterados en pacientes con preeclampsia.⁴⁵ Vascotto y col. (2007) encontraron que la forma monomérica de la proteína transtiretina (TTR) se encuentra particularmente elevada en el fluido amniótico de mujeres con preeclampsia.⁴⁵ Más recientemente, Gharesi-Fard y col. (2010), analizando proteínas totales de placenta, describieron la expresión disminuida de proteínas con actividades antioxidantes (PRDX2 y PRDX3) y expresión alterada de repuesta a estrés celular (Hsc70, Hsp-gp96 y PDI).⁴⁸ Sin embargo, la aplicación práctica de todos estos marcadores está aún por establecerse.

CONCLUSIÓN

Los polimorfismos funcionales I/D del gen ACE y Val 158 Met del gen COMT, poseen los resultados más promisorios para cumplir con el objetivo de identificar genéticamente las gestantes con mayor

riesgo de desarrollar preeclampsia, ayudando a establecer acciones preventivas en esta población. Por su parte, la proteómica ha identificado a la SERPINA-1 como un biomarcador en orina útil para detectar a las embarazadas que estén desarrollando la enfermedad, con al menos 10 semanas de antelación a las manifestaciones clínicas de la misma, constituyendo una herramienta importante en el diagnóstico precoz. Igualmente, los niveles de SERPINA-1 son un indicador útil para decidir finalizar el embarazo. En conjunto, estos avances llevados a la práctica clínica podrían reducir el impacto de esta patología en la morbimortalidad materna.

REFERENCIAS

- Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Seminars in perinatology* 2009;33:130-7.
- Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gulmezoglu AM, Van Look PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet* 2006;367:1066-74.
- Steegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet* 2010;376:631-44.
- Yngvadottir B, Macarthur DG, Jin H, Tyler-Smith C. The promise and reality of personal genomics. *Genome Biol* 2009;10:237.
- Niculescu AB, Le-Niculescu H. Convergent Functional Genomics: what we have learned and can learn about genes, pathways, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 2009;35:355-6.
- Silberring J, Ciborowski P. Biomarker discovery and clinical proteomics. *Trends Analyt Chem* 2010;29:128.
- Latterich M, Abramovitz M, Leyland-Jones B. Proteomics: new technologies and clinical applications. *Eur J Cancer* 2008;44:2737-41.
- Nakamura K, Aebersold R, Bairoch A, et al. [From genome to proteome--aim of human proteomics]. *Seikagaku* 2004;76:1271-4.
- Levinson SS. Clinical validation of biomarkers for predicting risk. *Adv Clin Chem* 2009;48:1-25.
- Chesley LC, Annitto JE, Cosgrove RA. The familial factor in toxemia of pregnancy. *Obstet Gynecol* 1968;32:303-11.
- Benedetto C, Marozio L, Ciccone G, et al. Synergistic effect of renin-angiotensin system and nitric oxide synthase genes polymorphisms in pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2007;86:678-82.
- Kanasaki K, Kalluri R. The biology of preeclampsia. *Kidney Int* 2009;76:831-7.
- Mutze S, Rudnik-Schoneborn S, Zerres K, Rath W. Genes and the preeclampsia syndrome. *J Perinat Med* 2008;36:38-58.
- Sayed-Tabatabaei FA, Oostra BA, Isaacs A, van Duijn CM, Witteman JC. ACE polymorphisms. *Circ Res* 2006;98:1123-33.
- Shah DM. Preeclampsia: new insights. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2007;16:213-20.
- Irani RA, Xia Y. The functional role of the renin-angiotensin system in pregnancy and preeclampsia. *Placenta* 2008;29:763-71.
- Mandò C, Antonazzo P, Tabano S, Zanutto S, Pileri P, Somigliana E, et al. Angiotensin-converting enzyme and adducin-1 polymorphisms in women with preeclampsia and gestational hypertension. *Reprod Sci* 2009;16:819-26.
- Li H, Ma Y, Fu Q, Wang L. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion (ACE I/D) and angiotensin II type 1 receptor (AT1R) gene polymorphism and its association with preeclampsia in Chinese women. *Hypertens Pregnancy* 2007;26:293-301.
- Velloso EP, Vieira R, Cabral AC, Kalapothakis E, Santos RA. Reduced plasma levels of angiotensin-(1-7) and renin activity in preeclamptic patients are associated with the angiotensin I- converting enzyme deletion/deletion genotype. *Braz J Med Biol Res* 2007;40:583-90.
- Fatini C, Sticchi E, Gensini F, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene influences the risk of pre-eclampsia, the recurrence of negative pregnancy events, and the maternal-fetal flow. *J Hypertens* 2006;24:1823-9.
- Mello G, Parretti E, Fatini C, et al. Low-molecular-weight heparin lowers the recurrence rate of preeclampsia and restores the physiological vascular changes in angiotensin-converting enzyme DD women. *Hypertension* 2005;45:86-91.
- Mello G, Parretti E, Gensini F, et al. Maternal-fetal flow, negative events, and preeclampsia: role of ACE I/D polymorphism. *Hypertension* 2003;41:932-7.
- Miskovic B, Sertic J, Stavljenic-Rukavina A, Stipoljev F. Association of angiotensin-converting enzyme insertion-deletion polymorphism with preeclampsia. *Coll Antropol* 2008;32:339-43.
- Choi H, Kang JY, Yoon HS, et al. Association of Angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen gene polymorphisms with preeclampsia. *J Korean Med Sci* 2004;19:253-7.
- Gurdol F, Isbilen E, Yilmaz H, Isbir T, Dirican A. The association between preeclampsia and angiotensin-

- converting enzyme insertion/deletion polymorphism. *Clin Chim Acta* 2004;341:127-31.
26. Bai H, Liu X, Liu R, Liu Y, Li M, Liu B. [Angiotensinogen and angiotensin-I converting enzyme gene variations in Chinese pregnancy induced hypertension]. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2002;33:233-7.
 27. Kim YJ, Park MH, Park HS, Lee KS, Ha EH, Pang MG. Associations of polymorphisms of the angiotensinogen M235 polymorphism and angiotensin-converting-enzyme intron 16 insertion/deletion polymorphism with preeclampsia in Korean women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;116:48-53.
 28. Nalogska-Głosnicka K, Lacka B, Zychma M, et al. [Lack of relationship between angiotensinogen gene m235t polymorphism and gene insertion/deletion (I/D-intron 16) and Pst I RFLP (P/M-intron 7) polymorphisms of the angiotensin I converting enzyme(ACE) gene and the development of H-gestosis. Preliminary results]. *Pol Arch Med Wewn* 1998;100:19-26.
 29. Serrano NC, Diaz LA, Paez MC, Mesa CM, Cifuentes R, Monterrosa A, et al. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and preeclampsia risk: evidence of small-study bias. *PLoS Med* 2006;3:e520.
 30. Eisenmann JC, Sarzynski MA, Glenn K, Rothschild M, Heelan KA. ACE I/D genotype, adiposity, and blood pressure in children. *Cardiovasc Diabetol* 2009;8:14.
 31. Glenn KL, Du ZQ, Eisenmann JC, Rothschild MF. An alternative method for genotyping of the ACE I/D polymorphism. *Mol Biol Rep* 2009;36:1305-10.
 32. Evangelos E, Thomas T, Salanti G, Loannidis J. Family-based versus unrelated case-control designs for genetic associations. *PLoS Genet* 2006;2:1147-55.
 33. Evangelou E, Trikalinos TA, Salanti G, Ioannidis JP. Family-based versus unrelated case-control designs for genetic associations. *PLoS Genet* 2006;2:e123.
 34. Kanasaki K, Palmsten K, Sugimoto H, et al. Deficiency in catechol-O-methyltransferase and 2-methoxyoestradiol is associated with pre-eclampsia. *Nature* 2008;453:1117-21.
 35. Berg D, Sonsalla R, Kuss E. Concentrations of 2-methoxyestrogens in human serum measured by a heterologous immunoassay with an ¹²⁵I-labelled ligand. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1983;103:282-8.
 36. Tunbridge EM, Harrison PJ, Weinberger DR. Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond. *Biol Psychiatry* 2006;60:141-51.
 37. Sata F, Yamada H, Suzuki K, et al. Functional maternal catechol-O-methyltransferase polymorphism and fetal growth restriction. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16:775-81.
 38. Magee LA, Cham C, Waterman EJ, Ohlsson A, von Dadelszen P. Hydralazine for treatment of severe hypertension in pregnancy: meta-analysis. *BMJ* 2003;327:955-60.
 39. Barnea ER, Fakih H, Oelsner G, Walner S, DeCherney AH, Naftolin F. Effect of antihypertensive drugs on catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase activity in human term placental explants. *Gynecol Obstet Invest* 1986;21:124-30.
 40. Zamorski MA, Green LA. NHBPEP report on high blood pressure in pregnancy: a summary for family physicians. *Am Fam Physician* 2001;263-70.
 41. Lindheimer MD, Katz AI. The normal and diseased kidney in pregnancy. In: Diseases of the Kidney and Urinary Tract. 7th edition ed. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins; 2001:2129-65.
 42. Ferrazzani S, Caruso A, De Carolis S, Martino IV, Mancuso S. Proteinuria and outcome of 444 pregnancies complicated by hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 1990;366-71.
 43. Buhimschi IA, Zhao G, Funai E, et al. Proteomic profiling of urine identifies specific fragments of Serpina-1 and Albumin as biomarkers of Preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2008;199:551.e1-16.
 44. Wang CC, Yim KW, Poon TC, et al. Innate immune response by ficolin binding in apoptotic placenta is associated with the clinical syndrome of preeclampsia. *Clin Chem* 2007;53:42-52.
 45. Sun LZ, Yang NN, De W, Xiao YS. Proteomic analysis of proteins differentially expressed in preeclamptic trophoblasts. *Gynecol Obstet Invest* 2007;64:17-23.
 46. Vascotto C, Salzano AM, D'Ambrosio C, et al. Oxidized transthyretin in amniotic fluid as an early marker of preeclampsia. *J Proteome Res* 2007;6:160-70.
 47. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. *Obstet Gynecol* 2002;99:159-67.
 48. Gharezi-Fard B, Zolghadri J, Kamali-Sarvestani E. Proteome differences of placenta between pre-eclampsia and normal pregnancy. *Placenta* 2009;31:121-5.