

<http://hdl.handle.net/1765/127108>

## Summary

## Samenvatting



## SUMMARY

Preeclampsia (PE) is a common but potentially severe placenta-related complication of pregnancy, that accounts for a substantial part of perinatal and maternal morbidity and mortality worldwide. To date, no cure is available for PE, except for termination of pregnancy, often leading to preterm birth.

Many pathophysiological pathways have been proposed, such as oxidative stress, immunological imbalance, and environmental and genetic factors, all contributing to inadequate development of the placenta. Instead of the low-resistance circulation that is seen in healthy placentas, PE is characterized by increased placental vascular resistance and hypoperfusion, leading to generalized endothelial dysfunction and endovascular inflammation. In **Chapter 1** we presented (historical) background on PE and explained the experimental model that was used in this thesis.

In **Chapter 2**, the most important vascular reactivity pathways of the placenta were summarized, which are the nitric oxide (NO) pathway and its NO-dependent vasodilators, vascular endothelial growth factor and the endothelin (ET) system, the renin-angiotensin system, prostaglandins, serotonin and tryptophan, and calcitonin gene-related peptide. Many of these pathways show alterations in PE, that are a consequence of, or could have attributed to the pathogenesis of this disease. Targeting these disturbances could be a promising strategy in developing novel treatments for PE.

**Chapter 3** focused on the NO pathway. One of the novel therapeutic strategies that had emerged over the last years is the phosphodiesterase (PDE)5 inhibitor sildenafil. Sildenafil enhances systemic vasodilation through the NO pathway, and because of its promising effects in PE animal studies, a large randomized controlled clinical trial was started (the STRIDER study). Unfortunately, this trial was halted due to futility to show beneficial effects and increased neonatal morbidity. Beforehand, not much was known about the transfer and effect of sildenafil in the human placenta, especially in the case of PE, as studied in this chapter. We found that although sildenafil improved NO-mediated vasodilation in isolated chorionic plate arteries of healthy placentas, this was not the case in arteries of PE placentas. The lack of this NO-potential by sildenafil in PE placentas, and the fact that there was no PDE5 upregulation on gene – or protein level in PE, made us question sildenafil as a suited therapy for this disease. Furthermore, placental transfer of sildenafil was highest in the PE placentas, which could (partially) explain the increased neonatal morbidity as seen in the STRIDER study.

In **Chapter 4** we described the effect of another potential therapeutic for PE, the non-selective PDE inhibitor pentoxifylline on porcine coronary arteries and human chorionic plate arteries. We found that its vasodilator effect is mainly cGMP-mediated, and that it is more pronounced in vasculature of preeclamptic placentas.

In **Chapters 5 & 6** we focused on targeting the ET system. Increased activity of the ET system plays a role in the pathogenesis of PE, and blocking this system with endothelin receptor antagonists (ERAs) would be a logical step. However, although ERAs indeed attenuated hypertension and proteinuria in PE animal studies, they also caused severe teratogenic effects on offspring (mainly craniofacial malformations) in developmental toxicity studies. Therefore, no clinical trials have been performed with these drugs. In **Chapter 5** we discussed the involvement of the ET system in normal pregnancy, the pathophysiology of PE, and embryogenesis, to evaluate if possibly a therapeutic window exists in which ERAs could be safely administered during human pregnancy. Through a systematic review of literature we found 39 reported cases of women who were exposed to ERAs during pregnancy. All these women were treated with ERAs because of its registered indication (pulmonary arterial hypertension) and there was no increased incidence of congenital malformations. Although in most cases exposure was of short duration and the rate of elective termination of pregnancy was high (31%), this supported the theory that ERA treatment could be safe, when started after organogenesis is completed to avoid teratogenic risks. To further study this possibility, we investigated the placental transfer and effects of three ERAs (sitaxentan, ambrisentan and macitentan) in **Chapter 6**. We found that sitaxentan and ambrisentan both substantially passed the placental barrier, however the transfer of macitentan was very limited. All three blockers were capable of blocking the vasoconstrictive effect of ET-1 in the chorionic plate arteries, which seems to be solely mediated by the ET type A receptor. Furthermore, we confirmed that gene expression of ET-1 is increased in PE placentas, but that there is no difference in receptor expression.

In **Chapter 7** we explored the correlation between placental volumetric parameters, measured by ultrasound in the first trimester of pregnancy, and parameters of fetoplacental vascular function, measured using placental perfusion after delivery. We found that, mainly early in the first trimester, larger placental volumetric parameters are associated with better vascular function (lower pressure and more vasodilation in response to flow increase) at placental perfusion. This suggests that larger and/or more vascularized placentas in early pregnancy have better adaptive mechanisms, which could possibly lead to better pregnancy outcomes.

Finally, in **Chapter 8** we discussed the clinical implications and addressed the strengths and limitations of the studies in this thesis. Furthermore, we have elaborated on what our research has added and made suggestions for future research.

## SAMENVATTING

Pre-eclampsie (PE) is een veelvoorkomende, maar potentieel ernstige, placenta-gereleerde zwangerschapscomplicatie, die wereldwijd verantwoordelijk is voor een substantieel deel van de perinatale en maternale morbiditeit en mortaliteit. Tot op heden is er geen adequate behandeling voor PE, behalve beëindiging van de zwangerschap, wat vaak leidt tot vroeggeboorte.

Er zijn vele oorzakelijke factoren die bijdragen aan het ontstaan van PE, zoals oxidatieve stress, immunologische onbalans, omgevingsfactoren en genetische factoren. Al deze factoren samen leiden tot een inadequate ontwikkeling van de placenta. In plaats van de lage weerstandscirculatie die normaliter ontstaat in gezonde placenta's, wordt PE juist gekenmerkt door verhoogde vaatweerstand en verminderde perfusie, hetgeen leidt tot generaliseerde endotheel disfunctie en endovasculaire ontsteking. In **Hoofdstuk 1** presenteren we de (historische) achtergrond van PE en hebben we het experimentele model besproken dat is gebruikt voor een groot deel van het onderzoek in dit proefschrift.

In **Hoofdstuk 2** zijn de belangrijkste factoren die betrokken zijn bij de vasculaire reactiviteit van de placenta samengevat, namelijk stikstof en stikstof-afhankelijke vaatverwijders, 'vascular endothelial growth factor' en het endotheline (ET)-systeem, het renine-angiotensine-systeem, prostaglandines, serotonine en tryptofaan en 'calcitonin gene-related peptide'. Veel van deze factoren vertonen veranderingen bij PE, als gevolg van, of die juist kunnen hebben bijgedragen aan het ontstaan van deze ziekte. Het proberen te herstellen van de verstoringen in deze factoren zou een veelbelovende strategie kunnen zijn in de ontwikkeling van nieuwe behandel mogelijkheden voor PE.

In **Hoofdstuk 3** lag de focus op stikstof. Een van de nieuwe behandelstrategieën die de laatste jaren in opkomst was, is behandelen met de fosfodiësterase (PDE)5 remmer sildenafil. Sildenafil stimuleert de systemische vaatverwijding door stikstof en vanwege veelbelovende effecten in dierstudies was een grote gerandomiseerde klinische studie gestart (de STRIDER studie). Helaas is deze studie voortijdig gestaakt, omdat er geen gunstige effecten werden gezien en zelfs een toename van neonatale complicaties in één van de cohorten. Voorafgaand aan deze studie was er weinig bekend over de effecten van sildenafil op de placenta en de passage van moeder naar kind, vooral in het geval van PE, zoals we in dit hoofdstuk hebben bestudeerd. In onze studie vonden we dat sildenafil de vaatverwijding niet stimuleert in bloedvaten van PE placenta's, in tegenstelling tot in vaten van gezonde placenta's. Dit in combinatie met het gebrek aan PDE5 opregulatie op gen- of eiwitniveau, suggereert dat sildenafil wellicht geen geschikte behandeling is voor PE. Bovendien was de placentapassage van sildenafil het hoogste in de PE placenta's, wat deels een verklaring zou kunnen zijn voor de toename aan neonatale complicaties in de STRIDER studie.

**Hoofdstuk 4** beschrijft de effecten van de non-selectieve PDE-remmer pentoxifylline op coronairvaten van varkens en humane placentavaten. We hebben in dit hoofdstuk aangetoond dat de vaatverwijding die wordt veroorzaakt door pentoxifylline met name cGMP-gemedieerd is, en versterkt is in vaten van PE placenta's.

In **Hoofdstuk 5 & 6** hebben we ons gericht op het ET-systeem. Verhoogde activiteit van het ET-systeem speelt een rol in het ontstaan van PE, dus behandeling middels blokkade van dit systeem met endotheline receptorantagonisten (ERA's) zou een logische stap zijn. Echter, hoewel ERA's inderdaad de symptomen van PE verbeterden in dierstudies, gingen ze ook gepaard met ernstige aangeboren afwijkingen bij het nageslacht (voornamelijk afwijkingen aan de botten van het gezicht). Vanwege deze teratogene effecten zijn er geen klinische studies uitgevoerd met deze medicijnen. Om te evalueren of er tijdens humane zwangerschappen een window bestaat waarin ERA's veilig gegeven kunnen worden, werd in **Hoofdstuk 5** de rol van het ET-systeem in normale zwangerschappen, in het ontstaan van PE en in de ontwikkeling van het embryo bediscussieerd. Door middel van een systematisch review van de literatuur vonden we 39 gerapporteerde casussen van vrouwen die zijn blootgesteld aan ERA's tijdens de zwangerschap. Al deze vrouwen werden behandeld met ERA's vanwege pulmonale arteriële hypertensie, waarvoor deze medicijnen ook geregistreerd zijn. Er werd geen verhoogde incidentie gezien van aangeboren afwijkingen. Hoewel er in de meeste casussen slechts kortdurig blootstelling was aan ERA's en er een hoog percentage (31%) van de zwangerschappen werd afgebroken op medische indicatie, ondersteunt het gebrek aan aangeboren afwijkingen de theorie dat behandeling met ERA's veilig kan zijn wanneer ze gegeven worden nadat de foetale organen zijn aangelegd. Om dit verder te onderzoeken hebben we in **Hoofdstuk 6** de placentaire passage en effecten van drie ERA's (sitaxentan, ambrisentan en macitentan) onderzocht. We vonden dat substantiële hoeveelheden van sitaxentan en ambrisentan de placenta barrière passeren, maar dat de passage van macitentan zeer beperkt is. Alle drie de ERA's konden het effect van ET-1 nagenoeg compleet blokkeren in placentavaten, wat volledig afhankelijk lijkt van de ET type A receptor. Ook hebben we bevestigd dat de genexpressie van ET-1 verhoogd is in weefsel van PE placenta's, maar vonden we geen verschil in receptorexpressie.

**Hoofdstuk 7** exploreerde de correlatie tussen volume parameters van de placenta, gemeten middels echografie in het eerste trimester van de zwangerschap, en placentaire vaatfunctie, gemeten met placenta perfusie na de geboorte. Het blijkt dat grotere placenta (vasculaire) volumes, met name vroeg in het eerste trimester, geassocieerd zijn met betere vaatfunctie (lagere druk en meer vaatverwijding in reactie op verhoging van de stroomsnelheid) bij placenta perfusie. Dit suggereert dat grotere en/of meer gevasculariseerde placenta's mogelijk betere aanpassingsmechanismes hebben, wat zou kunnen leiden tot een betere zwangerschapsuitkomst.

Tenslotte hebben we in **Hoofdstuk 8** de klinische implicaties van dit proefschrift bediscussieerd, evenals de sterke en zwakke punten van de beschreven studies. We hebben besproken wat het onderzoek in dit proefschrift heeft toegevoegd aan de huidige kennis en hebben suggesties gedaan voor toekomstig onderzoek.