

Procedimientos, técnicas y comunicaciones en medicina molecular y cibernética en cirugía

Medicina molecular

Non multum sed multa et nos mutamur

Morfogénesis placentaria en embarazo normal y en preeclampsia

Cor. M.C. Ret. Mario Castañeda Morales

Hospital Militar Regional, Veracruz, Ver.

El área de biología del desarrollo adquiere cada vez mayor fuerza e interés dentro de la biomedicina y sobre todo a partir de la gran infusión, conceptual y técnica, proveniente de biología molecular. Sólo recordar datos recientes como Dolly y ahora las clonas transfectadas de Polly y Molly y los hijos de Dolly esperados para este mayo; la versión vacuna escalada (por mayor producción de leche) de Charlie y George que auguran la remodelación de las industrias lechera y farmacéutica hacia la lactofarmacéutica; factores de transcripción en carcinogénesis; adhesividad celular y metástasis; IGF-1 (Insulin-like Growth Factor 1) en cáncer de próstata y de otros sitios; mecanismos supresores en el desarrollo de cáncer y en el establecimiento de memoria de largo plazo; defectos del desarrollo del tubo neural; telomerasa y longevidad celular *in vitro*; en fin: procesos de diferenciación celular, división celular y morfogénesis. Y placenta, «cosa» que siempre tiré a la basura durante mi estancia en el HCM, ahora despidiendo olores inusitados de procesos de diferenciación celular realizados por el penoso y reducido avance en el tratamiento de preeclampsia. Como aclaración, permítanme ustedes usar este término para referirme, de manera general y no sólo por motivos de brevedad, a la hipertensión inducida por embarazo en sus varias formas de hipertensión gestacional, preeclampsia y eclampsia.

De manera también general, preeclampsia, que participa en la tríada negra de gineco-obstetricia (hemorragia, sepsis e hipertensión), presenta incidencias geográficas variables¹ que no pueden ser atribuidas a los niveles basales de presión arterial (PA) de las diferentes poblaciones (la mayor prevalencia de hipertensión en China, por ejemplo); tiene factores de riesgo, entre otros varios, de tipo laboral² en ausencia de entrenamiento físico (mayor respuesta presora), en trabajo por turnos donde aumenta la concentración sérica de triglicéridos y los ácidos grasos

no sólo modifican metabolismo intermedio e inducen resistencia a insulina³ sino también aumentan la reactividad adrenérgica vascular,⁴ en situaciones de aumento de la ingesta de café (turnos, tabaco; por actividad presora de cafeína y nicotina); y de tipo obesidad con distribución superior de la grasa corporal,⁵ situación donde los ácidos grasos portales aumentan y son más tóxicos al metabolismo hepático.³ La relación neuroendocrina con PA fue reconocida desde 1956 por Hans Selye y el papel del simpático en preeclampsia ha retomado interés con reportes de aumento de la actividad vasoconstrictora del simpático en nervios periféricos, aunque no en la frecuencia cardíaca.⁶ Pero estos datos pertenecen ya a los efectos de los mediadores putativos del producto hipóxico de la concepción. Otras condiciones maternas y embrionarias aumentan también el riesgo. En los últimos 3-5 años la homocisteína ha adquirido relevancia médica por su conexión con enfermedad cardiovascular al inducir lesión endotelial a través de radicales libres. En cerca de un 20% de pacientes preeclámpticas se ha reportado la existencia de hiperhomocisteinemia⁷ definida ésta como concentraciones mayores de 11 μM en ayuno o de 40 μM postcarga (L-metionina 0.1 g/kg de peso corporal 6 horas antes de la determinación). La administración de fólico y B6 (5 y 250 mg/día) parece mejorar las condiciones clínicas. El problema con homocisteína es más extenso ya que parece indicar también un metabolismo sulfhidrilo alterado y reflejo de reacciones sulfhidrilo-disulfuro en las que intervienen los sistemas de tiorredoxina, glutarredoxina y disulfuro isomerasa. La tiorredoxina reductasa contiene Se y su suplementación alimentaria parece reducir la incidencia de preeclampsia en regiones geográficas donde es relativamente escaso.⁸ Los sulfhidrilos oxidados pudieran modificar la liberación endotelial regional de óxido nítrico (NO) pues las vitaminas E y C carecen de efecto. Con respecto al embrión, la triploidía (69XXX, o 69XXY) produce preeclampsia en un 35% de los casos cuando el embrión llega a continuar viable.⁹ La contribución paterna o materna de los 23 cromosomas extras parece determinar el sitio, fetal o placentaria-

Correspondencia:

Cor. MC Ret. Mario Castañeda Morales
Hospital Militar Regional, Veracruz, Ver.

rio, de mayor patología. En la digénica hay restricción del crecimiento fetal y la placenta es pequeña o de apariencia normal. En la diádrica el crecimiento fetal se afecta poco y la placenta es grande, quística y/o con cambios hidatidiformes (mola parcial); además, los niveles de hCG son muy altos (>2 múltiplos de la media y quizá debido a una impronta paterna). Por otra parte, si los niveles de hCG son muy bajos hay un alto riesgo de trisomía 18 y como en los triploides con hCG baja y sin placentomegalia, el riesgo de preeclampsia disminuye de manera importante.

La mola completa (46XX en la mayoría de los casos, con genoma nuclear 100% paterno y sin embrión; cuando los nucleares son maternos hay desarrollo embrionario hasta la etapa de 25 somitas y el tejido extraembrionario es escaso) produce preeclampsia en el 25% de los casos¹⁰ además de niveles elevados de hCG (fundamentalmente de β libre). La elevación de hCG en el 2o trimestre se asocia a un riesgo mayor de preeclampsia (aun en productos con cariotipo normal) y la antecede. La hCG es una glicoproteína producida por el sinciciotrofoblasto (manteniendo la producción de esteroides en el cuerpo lúteo) y compuesta de dos subunidades: la α de 92 aa y la β con 145 aa unidas por enlaces no covalentes; su camino degradativo¹¹ no parece estar afectado en preeclampsia por lo que su aumento representa síntesis. El sinciciotrofoblasto (STB) produce también estrógenos, progesterona, somatomotropina (hCS) o lactógeno placentario (hPL) y hormona del crecimiento (pGH). Esta última reemplaza a la GH materna hipofisaria, sólo se detecta en circulación materna (no en la fetal) y sus valores correlacionan con IGF-1 materno; el STB presenta receptores para GH por lo que ésta actúa de manera auto- y paracrina con influencia en el crecimiento placentario. En la enfermedad molar las alteraciones histopatológicas son mayores en el STB que en el citotrofoblasto (CTB) pero este último se diferencia rápidamente a STB y las pérdidas son ampliamente reabastecidas.

La severidad de las lesiones histopatológicas de los vasos placentarios correlaciona con preeclampsia. Una fracción mínima (4%) de pacientes con preeclampsia no presenta lesiones vasculares y otra semejante aparece con lesiones severas y sin preeclampsia, aunque con restricción del crecimiento fetal.¹²

Esa ausencia de lesiones vasculares en preeclampsia apoya a otros datos en la percepción de que preeclampsia es un síndrome;¹³ aunque las otras posibles causas son minoría. Por otra parte, preeclampsia muestra ser pleomorfa en sus manifestaciones clínicas por lo que los requerimientos de hipertensión $\geq 140/90$, proteinuria ≥ 300 mg/d, edema, disminución plaquetaria y de antitrombina III, aumento de trombina-antitrombina III, enzimas hepáticas (aunque constituyen los tres primeros una buena regla práctica en la clínica no deja esta regla de ser cruda) deben tomarse con juicio. Se ha reportado por ejemplo, convulsiones eclámpticas en ausencia de manifestaciones clínicas de preeclampsia.¹⁴ Los cambios característicos en endotelio glomerular (no vistos en otras formas de hipertensión) o, por mayor facilidad, los de histopatología de

placenta pueden ayudar a establecer un diagnóstico. La relación entre vascularización y preeclampsia se ve reforzada por el dato de que placenta previa disminuye la frecuencia de preeclampsia por un probable mejor flujo sanguíneo en función de razones anatómicas.¹⁵

Lo anterior, aunado de los datos de que preeclampsia se puede presentar hasta en el embarazo abdominal, desaparece con el parto (síntomas y datos histopatológicos en unos 3 y 6 meses, respectivamente), cuadros semejantes se presentan en animales al disminuir experimentalmente el flujo sanguíneo uterino, condiciones como embarazo múltiple, hipertensión previa y diabetes predisponen a preeclampsia, apunta inescapablemente a la placenta como el sustrato anatómico responsable y entonces poseedor del secreto fisiopatológico, con involucración endotelial importante (hipersensibilidad presora a adrenalina, noradrenalina, angiotensina II, vasopresina y pitresina con respuesta disminuida a la acetil colina) y complicado todo ello con afección materna multisistémica por disminución de perfusión, vasoconstricción y consecuente hemorragia, trombosis y necrosis focales. La conclusión adquiere todavía mayor fuerza al explicar también, por disminución del flujo sanguíneo placenta-feto, la complicación fetal de disminución del crecimiento intrauterino. A nivel más cercano, la porción más modificada de la placenta es la que se adhiere al útero e implica entonces al CTB cuya invasión es sólo superficial y las arterias espirales retienen sus características de luz estrecha y de alta muscularidad y resistencia, además de su endotelio. En suma, el embrión, de cariotipo normal, ha fallado en el establecimiento de una buena cabeza de playa. Aunque para muchos lectores todo esto haya representado sólo pérdida de tiempo dado que la reducida invasión del CTB (invasión que establece el flujo sanguíneo materno hacia placenta y embrión) se conoce desde hace unos 20 años,¹⁶ me ha parecido necesario presentarlo pues varios grupos favorecen mecanismos inmunes como causales. Si bien el embrión es un semialoinjerto y algunas arterias espirales se ocluyen con fibrinoide y hay migración de células espuma dando una impresión histopatológica de aterosclerosis semejante a lesiones encontradas en el rechazo de aloinjertos, las manifestaciones celulares de tipo inmune que llegan a ocurrir en preeclampsia pueden explicarse dentro del cuadro más incluyente de disfunción trofoblástica y en particular, a la diferenciación exitosa o no del CTB (ver adelante) con la adquisición total o parcial de nuevas funciones (lo cual explica el pleomorfismo) dentro de un fenotipo complejo. La invasión intersticial del CTB al endometrio decidualizado lo pone en contacto con un subgrupo de leucocitos maternos que migran al sitio (un dato histológico de embarazo) y la invasión endovascular a las espirales con la sangre total (exposición a los 2 mecanismos de respuesta inmune) de un hospedero materno inmunocompetente con un compartimento fetal inmunoprivilegiado. Las moléculas clase I del complejo MHC (Major Histocompatibility Complex) y los péptidos que presentan son esenciales en la respuesta alorreactiva. La subclase 1a (HLA-A, -B y -C;

Human histocompatibility Leukocyte Antigens) no se detecta en placenta pero la HLA-G, de la subclase 1b, es específicamente expresada por el CTB invasor (no en las vellosidades libres) durante todo el embarazo (a diferencia de las señales de invasión que desaparecen en el 3er trimestre, ver adelante) aunque disminuye al 2o y 3er trimestres pero, de manera importante, su expresión permanece inducible con regulación tanto transcripcional como traduccional.¹⁷ Su organización molecular de intrones/exones es semejante a la de las 1a pero tiene un codón de terminación en posición previa en el exón 6 (en situación intracitoplásmica) y su promotor en DNA carece del elemento de respuesta a interferón por lo que su regulación es diferente a la de las 1a (células con respuesta específica a un antígeno liberan IFN). Su función implicada en inmunotolerancia es reforzada al encontrar que cuando su gen se transfecta a células nulas para la subclase la induce resistencia a la acción de células T tipo NK (no restringidas a MHC) y a otras clonas citotóxicas de células T.

La placenta es un órgano fetal que forma la interfase física y funcional entre la madre y el embrión y feto posterior. En la interfase contiene sangre materna, vellosidades flotando en esa sangre y vellosidades unidas a la pared uterina y llamadas de anclaje. El compartimento sanguíneo materno se forma por la destrucción trofoblástica de la red materna de vénulas postcapilares y arteriolas distales de las espirales terminales de las uterinas que alimentan finalmente este recinto. Las vellosidades flotantes, que no hacen contacto con pared uterina, contienen en su periferia células epiteliales especializadas y en su interior el estroma veloso y los vasos sanguíneos fetales. Las células epiteliales forman dos monocapas de organización regular. La capa interna contiene células mononucleares polares firmemente adheridas a la membrana basal que rodea al estroma y son células CTB progenitoras con un solo camino de diferenciación (como en piel) que dirige a la fusión intercelular y formación del STB (una pregunta importante en biología del desarrollo fue el origen de los sincicios si por endomitosis o por fusión de células independientes) que forma ahora la capa externa en contacto directo con sangre materna. Las vellosidades de anclaje contienen CTB progenitor que expresa dos caminos diferenciativos: a) en la mayor parte de la vellosidad forma STB, y b) en sitios discretos pierde su polaridad, prolifera intensamente, irrumpe a través del STB y forma verdaderas columnas romanas cuyas células integrantes migran e invaden el tejido uterino en dos direcciones; una intersticial lateralizada hacia el endometrio y tercio interno del miometrio (células conocidas como trofoblastos intermedios) y otra endovascular de profundidad en las arterias espirales. En las zonas más avanzadas de invasión intersticial la estructura columnar se pierde y el CTB se encuentra en pequeños grupos o en células aisladas interdisperso entre leucocitos y células deciduales. La invasión endovascular desplaza al endotelio materno formando un pseudoendotelio trofoblástico, la capa muscular (túnica media) prácticamente desaparece, el diámetro y la luz arterio-

lares aumentan 4-6 veces y las arterias espirales invadidas se convierten, por esta remodelación, en arterias de características opuestas a las no invadidas, es decir, de gran flujo y baja resistencia. Esta proliferación e invasión es muy activa en las semanas 6-20 de gestación (con gran expansión placentaria) y el cuadro histológico se encuentra ya bien establecido hacia las 10 semanas. Si el plan de desarrollo y diferenciación falla, las probabilidades de un producto final de preeclampsia o de placenta acreta o de coriocarcinoma (dependiendo de la intensidad y de la(s) acción(es) particular(es) fallida(s) aumentan.

¿Cuáles son las señales celulares que regulan estas actividades de conquista, de posesión y de empresas expedicionarias que aseguran las vías de comercio importantes y por lo tanto la autodependencia de estas poblaciones y los intereses fetales que sirven? El cambio fenotípico celular más relevante es pues el de motilidad y de invasión (asemejándose en esto a cáncer). Las células de tejidos sólidos se localizan en sitios particulares tanto de posición tisular como de vecindad intercelular y de organoarquitectura en función del tipo de moléculas extracelulares que expresen y del tipo de sustrato pericelular con el que hagan contacto; además, claro, de poseer la capacidad de modificar su propio microambiente. En la actualidad se conoce una serie de moléculas que intervienen en el reconocimiento célula-célula y célula-sustrato (célula-matriz extracelular). De manera sucinta, las integrinas (In) son receptores heterodiméricos (monómeros α y β) que reconocen sustratos de la matriz extracelular (MEC) y otros receptores o contrarceptores (término empleado en sentido direccional indistinto) de otras células; su porción intracitoplásmica puede transmitir al interior señales externas (los adenovirus usan estas In en su adherencia y toma celular). Las cadherinas, en adhesión intercelular dependiente de Ca^{++} , reconocen también moléculas de la MEC e intracitoplásmicamente forman un complejo con las cateninas que interactúa con el citoesqueleto y contribuye a la plasticidad de este último. Y receptores de adhesión CAM (Cell Adhesion Molecules) que pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas e interactúan con los contrarceptores de las integrinas. La membrana basal de epitelios y endotelios es rica en laminina (Ln), moderada en colágena IV (Col IV) y pobre en fibronectina (Fn); la MEC es rica en Fn y Col IV (un componente, condroitin-6-sulfato, inhibe regeneración axonal en SNC); las células epiteliales expresan la cadherina epitelial E-Cad y la integrina $\alpha 6 \beta 4$ (In64); y las endoteliales la cadherina endotelial VE-Cad, las integrinas $\alpha v \beta 3$ (αv receptor de vitronectina; Inv3), In41 e In47 y los receptores de adhesión vascular VCAM-1 (que interacciona con el contrarceptor In41 de leucocitos cuando son adherentes y con PECAM-1 en interacciones plaquetarias) y de adhesión plaqueta-endotelio PECAM-1. La VE-Cad, PECAM-1 e Inv3 son los primeros receptores de adhesión que las células endoteliales inducen durante angiogénesis embrionaria y tumoral. La Inv3 es esencial para la resorción de matriz ósea por osteoclastos y la conversión metastásica de células de melanoma.

Bien, el CTB progenitor en las vellosidades flotantes produce Ln en toda su periferia (incluyendo caras laterales y apicales) y expresa la In64 (receptor de Ln y Co1 IV) y la E-Cad. Esta última se detecta en el CTB del 1er trimestre de embarazo en las áreas de no invasión, en el 3er trimestre en todas las áreas y poco en el 2o, siendo ahí nula en las áreas de invasión. O sea, que la expresión de E-Cad correlaciona en forma negativa, en tiempo y en espacio, con la actividad de invasión trofoblástica y la pérdida de arquitectura de epitelio polar estable. En las vellosidades de anclaje el CTB proliferante e invasor regula recíprocamente estas dos actividades a medida que se aleja del CTB progenitor; se diferencia distalmente inhibiendo su proliferación, induciendo la expresión de colagenasa IV (MMP-9, Matrix Metallo Proteinase-9), HLA-G, hPL y cambiando sus moléculas de adhesión celular. Las células de la región columnar, en su invasión intersticial, disminuyen la expresión de E-Cad e In64, inducen la síntesis de Fn y de su receptor In51, y a medida que las células progresan en su invasión en grupos más pequeños y se ponen en contacto más íntimo con la MEC uterina que contiene Ln y Co1 IV, la de In11 que reconoce estas dos últimas proteínas maternas. La interacción de In51 con Fn restringe invasión y la de In11 con Ln y Co1 IV facilita dicha invasión. El balance de estas dos acciones opuestas regula la intensidad de la progresión trofoblástica dentro del tejido uterino. La invasión arterial materna y el desplazamiento del endotelio materno requiere un cambio fenotípico adicional. La Inv5 sólo se expresa por el CTB de vellosidades flotantes y la Inv6 por CTB en las de anclaje y sólo en las células cercanas a las progenitoras. La expresión de Inv6 se inhibe en las invasoras y se induce la de Inv3 y de In41 que reconocen, respectivamente, PECAM-1 y VCAM-1 las cuales son también inducidas junto con VE-Cad. Es decir, el CTB se despoja de su fenotipo de reconocimiento epitelial y adquiere (se disfraza de) el endotelial, ya mencionado en el párrafo anterior. La ganancia de VE-Cad, In41 e Inv3 le permite a las células del CTB interactuar íntimamente con el endotelio materno y la de In11 adherirse a Ln y Co1 IV de MEC subendotelial e invadir la túnica media. La angiogénesis embrionaria y la tumoral requieren para esa inducción de factores angiogénicos como el factor de crecimiento endotelial VEGF. El CTB invasor (además de macrófagos fetales y maternos) expresa este factor y responde auto- y paracrinamente a él. Los mecanismos angiogénicos utilizados por el CTB, el embrión temprano, el saco embrionario y el tejido adulto normal y canceroso son semejantes. Como reafirmación al mecanismo invasor, la inhibición experimental *in vitro* de In11 e Inv3 anula la conducta invasora del CTB.¹⁸ En placentas de embarazos preeclámpicos la expresión de la E-Cad y de la In64 permanece fuerte en el CTB de la decidua y en las pocas células que alcanzan las arterias espirales; el CTB invasor permanece en agregados celulares grandes. La activación de In11, Inv3, VE-Cad, PECAM-1 y VCAM-1 no se realiza (VCAM-1 llega débilmente a detectarse en el escaso CTB endovascular). La invasión in-

tersticial es superficial y la endovascular muy variable. La diferenciación del CTB epitelial hacia CTB invasor, intersticial y endovascular, es defectuosa y la falta de adquisición del fenotipo vascular impide la remodelación de las espirales maternas con la consecuente deficiencia en la perfusión placentaria.¹⁹ En respuesta a la hipoxia fetal, parece ser que el endotelio fetal empieza a sintetizar citocinas presoras exportadas a la circulación materna provocando, en una cascada de interacciones, las alteraciones maternas preeclámpicas y la madre, a su vez, intenta deshacerse del feto al inducir NO que reblandece el cuello uterino.²⁰

Lo interesante de este modelo es que explica, con una sola causa, tanto las alteraciones fetales como las maternas. Si bien es cierto que preeclampsia es más que hipertensión arterial en cuanto a lesiones maternas,²¹ preeclampsia es más que todo ello; es el resultado de una falla básica en el desarrollo morfogénico del tejido placentario debida a la diferenciación incompleta del CTB invasor que impide una coexistencia amistosa entre el feto y la madre.

La posible intervención médica a nivel de este proceso de diferenciación celular, que apenas empieza a conocerse en sus interacciones moleculares, es nula en el presente y los esfuerzos médicos tendrán que seguir sofisticándose en cuanto a conductas ya probadas y otras innovativas. Una de ellas es el pronóstico del desarrollo de preeclampsia. La acción en sí de pronosticar es uno de los sueños celestiales del humano; y por ello se aventura en empresas de tipo científico. Mas en el caso de preeclampsia, es una necesidad médica diaria por su gran valor en la atención de estas pacientes; en verdad pacientes porque en ellas el embarazo resulta ser una enfermedad. La velocimetría Doppler de las arterias uterinas ha dado resultados inconsistentes. El seguimiento de β hCG total (libre y en complejo con α) durante el 2o trimestre (con umbral 2 veces el valor de la media) muestra un valor de sensibilidad bajo; sobre todo en multíparas donde la lesión renal crónica se presenta con una frecuencia del doble a la de glomérulo endoteliosis.²² Por lo anterior, resulta muy interesante y promisorio el reporte reciente de un estudio prospectivo que obtiene, desde el 1er trimestre de embarazo, una sensibilidad mayor del 90%, especificidad del 100% y valores altos de predicción.²³ El diagnóstico de preeclampsia fue posible tan temprano como en la semana 8 y más de la mitad de los casos fueron diagnosticados antes de la semana 16 (el diagnóstico clínico fue hasta a partir de la semana 32). Esos tiempos coinciden con el periodo de mayor actividad del CTB invasor normal. El tiempo de anticipación al diagnóstico clínico fue de 10 a 34 semanas con una media de 23 semanas. El método emplea el monitoreo de PA durante 48 horas cada 4 semanas y el cálculo computacional del índice hiperbárico definido como el área de exceso de PA por arriba del límite superior del intervalo de tolerancia el cual está sujeto a un proceso de normalización.²⁴ Ante dichas cifras, será de gran utilidad la validación de esos resultados por otros grupos de gineco-obstetricia.

Referencias

1. WHO. International collaborative study of hypertensive disorders of pregnancy. Geographical variation in the incidence of hypertension in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 80-83.
2. Wergeland E, Strand K. Working conditions and prevalence of pre-eclampsia, Norway 1989. *Int J Gynecol Obstet* 1997; 58: 189-196.
3. Castañeda M. Envejecimiento: la última aventura, México DF, Fondo de Cultura Económica, 1995: 287-300.
4. Stepiakowski KT, Lu G, Miller GD, Egan BM. Fatty acids, not insulin, modulate α 1-adrenergic reactivity in dorsal hand veins. *Hypertension* 1997; 30: 1150-1155.
5. Juin HI, Douchi T, Nakamura S, Oki T, Yamamoto S, Nagata Y. Possible association of body fat distribution with preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Res* 1997; 23: 45-49.
6. Schobel HP, Fisher T, Heuszer K, Geiger H, Schneider RE. Preeclampsia - a state of sympathetic over-activity. *N Eng J Med* 1997; 335: 1480-1485.
7. Dekker GA, DeVries JIP, Doelitzsch PM, Huijgens PC, Von Blomberg BME. Underlying disorders associated with severe early onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1042-1048.
8. Li H, Zhou S. Selenium supplement in the prevention of pregnancy-induced hypertension. *China Med J* 1994; 107: 870-871.
9. Righsinghani A, Yankowitz J, Strauss R, Kuller JA, Patif S, Williamson RA. Risk of preeclampsia in second-trimester triploid pregnancies. *Obstet Gynecol* 1997; 90: 884-888.
10. Goldstein DP, Berkowitz RS. Current management of complete and partial molar pregnancy. *J Reprod Med* 1994; 39: 139-146.
11. Cole LA, Kardana A, Park SY, Brauntein GD. The deactivation of hCG by nicking and dissociation. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 704-710.
12. Ghidini A, Salafia C, Pezzullo J. Placental vascular lesions and likelihood of diagnosis of preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1997; 90: 542-545.
13. Ness RB, Roberts JM. Heterogenous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: A hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 1365-1370.
14. Sibai BM, McCubbin JH, Anderson GD, Lipshitz j, Dilts PV. Eclampsia I. Observations from 67 recent cases. *Obstet Gynecol* 1981; 588: 609-613.
15. Ananth CV, Bowes WA, Savitz DA, Luther ER. Relationship between pregnancy-induced hypertension and placenta previa: A population-based study. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 997-1002.
16. Brosens IA. Morphological changes in the utero-placental bed in pregnancy hypertension. *Clin Obstet Gynecol* 1977; 4: 573-593.
17. McMaster MT, Librach CL, Zhou Y, Lim K-H, Janatpour MJ, DeMars R, Kovats S, Damsky C, Fisher SJ. Human placental HLA-G expression is restricted to differentiated cytotrophoblasts. *J Immunol* 1995; 154: 3771-3778.
18. Zhou Y, Fisher SJ, Janatpour M, Genbacev O, Dejana E, Wheelock M, Damsky CH. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. *J Clin Invest* 1997; 99: 2139-2151.
19. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. *J Clin Invest* 1997; 99: 2152-2164.
20. Smarason AK, Allman KG, Young D, Redman CWG. Elevated levels of serum nitrate, a stable end product of nitric oxide, in women with pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynecol* 1997; 104: 538-543.
21. Robert JM, Redman CWG. Pre-eclampsia: More than pregnancy-induced hypertension. *Lancet* 1993; 341: 1447-1451.
22. Ashour AMN, Lieberman ES, Wilkings Haug LE, Repke JT. The value of elevated second-trimester beta human chorionic gonadotropin in predicting development of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 438-442.
23. Hermida RC, Ayala DE, Mojón A, Fernández JR, Silva I, Ucie-da R, Iglesias M. Blood pressure excess for the early identification of gestational hypertension and preeclampsia. *Hypertension* 1998; 31: 83-89.
24. Hermida RC, Fernández JR, Mojón A. High sensitivity test for the early diagnosis of gestational hypertension and preeclampsia III: computation of time-specified tolerance intervals as reference for blood pressure excess in the diagnosis of gestational hypertension. *J Perinat Med* 1997; 25: 237-253.