

Parámetros hemostáticos en placenta de pacientes con embarazo normal y con preeclampsia severa.

Ysabel López-Ramírez, Zoila Carvajal y Carmen Luisa Arocha-Piñango.

Centro de Bioquímica y Biofísica y Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, Venezuela. Correo electrónico: ysabel_lopez@hotmail.com, islopez@ivic.ve.

Palabras clave: Parámetros hemostáticos, placenta, preeclampsia.

Resumen. Con el objeto de buscar el mejor entendimiento del mecanismo hemostático en la preeclampsia, se estudiaron extractos de placentas obtenidos de 26 mujeres embarazadas normales (EN) y 12 pacientes con preeclampsia severa (PES), en los cuales se determinaron trombomodulina (TM), factor tisular (FT), activador tisular del plasminógeno (t-PA), inhibidores del activador del plasminógeno 1 y 2 (PAI-1 y PAI-2) y el inhibidor del factor tisular (TFPI). Los resultados mostraron concentraciones similares de FT, TM y PAI-2 en ambos grupos, t-PA incrementado no significativamente y el TFPI y el PAI-1 presentaron un incremento significativo en las placentas de PES.

Hemostatic system parameters of placental extracts in normal pregnancy and severe preeclampsia.

Invest Clin 2006; 47(3): 233 - 240

Key words: Hemostatic parameters, placenta, preclampsia.

Abstract. To better understand the role of the hemostatic mechanism in preeclampsia, placental extracts obtained from 26 normal pregnant women (NP) and 12 patients with severe pre-eclampsia (SPE) were analyzed to determine thrombomodulin (TM), tissue factor (TF), tissue-type plasminogen activator (tPA), plasminogen activator inhibitor (PAI) 1 and 2, and TF pathway inhibitor (TFPI). The results showed similar concentrations of TF, TM and PAI-2 in both groups, while tPA increased no significantly and TFPI and PAI-1 increased significantly in SPE placentas.

Recibido: 12-04-2005. Aceptado: 29-09-2005.

INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista de la hemostasia, los desórdenes hemorrágicos y trombóticos son las más serias amenazas que pueden presentarse durante el embarazo y el parto (1,2). El estado de hipercoagulación existente durante el embarazo normal parece estar relacionado con la formación del lecho placentario y con la preparación materna para la separación de la placenta (3-6).

Los cambios de los factores del mecanismo de la coagulación durante el embarazo se pueden detectar desde el tercer mes de la gestación (7-9). En embarazadas normotensas, la fibrinólisis está disminuida, pero retorna a la normalidad una hora después del alumbramiento (10). La placenta en el embarazo normal puede actuar como sitio de origen del factor tisular, el cual estimula la formación de trombina a través de la vía extrínseca de la coagulación (11).

La cuantificación del TFPI en tejido placentario no ha sido reportada, solo se ha determinado una elevada presencia de su ARNm en placenta normal, en comparación con otros tejidos y con el ARNm de la trombosmodulina (TM) y del factor von Willebrand (FvW) (12, 13). La concentración de TM en la placenta se incrementa a lo largo de la gestación, lo cual pudiera ser esencial para mantener su funcionalidad, así como su disminución podría favorecer una disfunción de la placenta. (1, 14, 15). En el tejido placentario el PAI-1, PAI-2, t-PA y u-PA forman complejos que controlan la actividad fibrinolítica, previniendo la adhesión de la placenta al útero (16, 17).

La preeclampsia es exclusiva del embarazo humano representa una de las principales causas de morbi-mortalidad materno-fetal en el mundo (18-20). Debido a las relaciones existentes entre la preeclampsia, el sistema hemostático y la placenta se han realizado en los últimos años, estudios para

tratar de encontrar posibles respuestas a las múltiples interrogantes existentes, con relación a la patología de la preeclampsia (21, 22).

Las placentas de mujeres con preeclampsia, presentan anomalías en la vascularización, vasculitis, trombosis de las arterias espirales, infartos además de incremento de la expresión del FT. Este aumento de FT puede contribuir a la formación de depósitos de fibrina y lesiones oclusivas que son observadas en el tejido placentario de preeclámpticas; además este factor puede jugar un papel primordial en las complicaciones trombóticas asociadas con esta enfermedad (23-27). El FT es requerido en el epitelio y decidua uterina para prevenir la hemorragia en el puerperio inmediato, y desempeña un papel aún no explicado en el mantenimiento del lecho placentario (28).

En extractos de placentas y en el líquido amniótico de estas pacientes también se ha descrito un incremento en los niveles del PAI-1, y una disminución significativa del PAI-2, contribuyendo estos resultados a la teoría del infarto placentario en la preeclampsia, debido a que es la placenta la única fuente de producción de PAI-2 durante la gestación normal (29, 33).

La revisión de todos estos trabajos nos ha inducido a realizar un estudio similar comparando placentas de embarazadas normales con placentas de preeclámpticas determinando el FT, el tPA, PAI-1 y PAI-2 que han sido estudiados por otros autores, además de la concentración del TFPI, la TM y el FvW en los extractos de placenta con el fin de obtener nueva información que permita comprender mejor la fisiopatología de esta entidad nosológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

La obtención de los extractos de placentas se hizo de placentas tomadas inmediatamente después del alumbramiento, de

embarazadas que acudieron a la Maternidad Concepción Palacios, Caracas-Venezuela desde el mes de noviembre de 2000 hasta septiembre de 2001.

Los criterios de inclusión fueron: embarazadas primigestas, sin ninguna enfermedad conocida, no fumadoras, con edades de 15 a 39 años, y una edad gestacional de 36 a 41 semanas. Se les explicó el objetivo e importancia del estudio y se les solicitó llenar el consentimiento válido el cual fue avalado por la comisión de Bioética de la Maternidad Concepción Palacios e Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. El grupo estuvo formado por 26 embarazadas normales (EN), y 12 embarazadas con preeclampsia (PES). Las embarazadas preeclámpticas fueron definidas por tener tensión arterial mayor o igual a 160/110 mmHg, edema y proteinuria mayor o igual a 5 g en orina de 24h o mayor de tres cruces (18-20).

Para la preparación de las placentas y posterior obtención de sus extractos, se utilizó el Método de Kanfer (22). Como no se pudo obtener una buena recuperación de las proteínas, se hizo necesario modificarlo, realizando sonicación de los extractos, y así se obtuvo una mayor recuperación de las proteínas. Una vez obtenidas las placentas fueron inmediatamente perfundidas a través del cordón umbilical con 3 L de NaCl al 0,85% frío, para eliminarles la mayor cantidad de sangre, luego se perfundieron con 1 L de una solución que contenía: Tris-HCl 20 mM - Sacarosa 0,125 M - Benzamidina 1 mM, pH 7,4 (Tampón 1), y finalmente fueron congeladas a -80°C , hasta su procesamiento.

Inmediatamente después de descongelar, las placentas fueron cortadas en piezas de 80 g, licuadas en 100 mL de Tampón 1, y centrifugadas a $3000\text{ g} \times 20$ minutos a 4°C en centrífuga refrigerada 4227 (RCF. Meter, USA). Se descartaron los sobrenadantes y se homogeneizó el precipitado por 3 veces con Tampón 1 utilizando un homo-

geneizador de tejidos (Powergen 125 Fisher Scientific, USA). Se resuspendió el precipitado en proporción peso/volumen (p/v) en: Tris-HCl 20 mM, NaCl 0,14 M, NaN_3 0,02%, PMSF 1 mM, pH 7,4, frío (Tampón 2). Se homogeneizó a baja velocidad por 1 minuto, en frío, se centrifugó a $30.000\text{ g} \times 20$ minutos a 4°C , luego el precipitado fue resuspendido en: Tris-HCl 20 mM, NaCl 50 mM, NaN_3 0,02%, IGEPAL 0,5%, pH 7,4, frío (Tampón 3). Se dejó rotando toda la noche a 4°C .

Al siguiente día este homogeneizado se sonicó, en frío, con un sonicador Bransonic 2200 (Bransonic Ultrasonics, Corporation Eagle Road, USA) con 5 toques de 90 segundos c/u. Se centrifugó a $30.000\text{ g} \times 30$ minutos a 4°C . Se tomaron 20 mL del sobrenadante de cada muestra, y se concentraron hasta 3 mL por ultrafiltración, usando membranas DIAFLO[®] PM 10,43 CM (Amicon, Danvers, Massachusetts, USA); y luego se dializaron con: Tris-HCl 20 mM, IGEPAL 1%, pH 7.4 (Tampón 4). A cada extracto se le determinó las proteínas totales por el método de Lowry (34); finalmente se almacenaron a -80°C , hasta su posterior uso.

Se hicieron determinaciones antigénicas del FvW por el método de ELISA, utilizando el kit comercial Asserachrom para FvW de Diagnostica Stago, (Asnieres, France), y leídos en un Titertec Multiskan[®] Mcc/340, EFLAB (Finland).

Las determinaciones antigénicas de FT, TFPI, TM, tPA, PAI-1 y PAI-2 se realizaron por el método de ELISA, utilizando kits comerciales específicos para cada una de ellas obtenido de American Diagnostica (Greenwich, USA) y Diagnostica Stago (Asnieres, France) y la lectura se efectuó en un TITERTEC MULTISKAN[®] MCC/340, EFLAB (Finland). Todos los valores se expresaron por mg de proteínas en el extracto.

Se utilizó la prueba t-student, y correlación de Pearson. Valores de $p < 0,05$ fueron considerados como significativos.

RESULTADOS

Los datos clínicos se muestran en la Tabla I. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a edad de la paciente, edad gestacional y peso fetal, en los dos grupos de estudio.

En los extractos de placentas de embarazadas normales, la concentración promedio de proteínas fue de $13,82 \pm 5,2$ mg/mL y en los extractos de placentas de embarazadas preeclámpticas, de $12,88 \pm 3,0$ mg/mL ($p = \text{NS}$).

En la Tabla II se muestran los valores de cada uno de los parámetros estudiados en los dos grupos. Entre ambos grupos no se observaron diferencias significativas entre los valores de FT, PAI-2, FvW y TM. En las pacientes

preeclámpticas el tPA mostró un incremento aunque no significativo, y en cambio el TFPI y el PAI-1 mostraron incremento estadísticamente significativo ($p = 0,0076$ y $p = 0,04$ respectivamente).

Al correlacionar los distintos parámetros estudiados solo se observó en los extractos de placentas de preeclámpticas una correlación negativa ($-0,759$) entre el tPA y el FT ($p < 0,05$). No hubo correlación entre los otros valores en cada grupo entre sí.

DISCUSIÓN

La preeclampsia es una patología cuya etiología está aún por establecerse, se han implicado numerosas causas para tratar de

TABLA I
DATOS CLÍNICOS DE PACIENTES CON EMBARAZO NORMAL Y CON PREECLAMPSIA SEVERA

Datos clínicos	Embarazo normal (n = 26)		Preeclampsia severa (n = 12)		Valor de p
	X ± DE	Rango	X ± DE	Rango	
Edad (años)	$20,8 \pm 5$	15,0-39,0	$22,8 \pm 4,8$	16,0-35,0	NS
Edad gestacional (semanas)	$38,6 \pm 1,3$	37,0-41,0	$38,0 \pm 1,7$	36,0-41,0	NS
Peso fetal (gramos)	$3150,0 \pm 378,8$	2450,0-4050,0	$3126,6 \pm 689,4$	1750,0-4450,0	NS

n: tamaño de la muestra. DE: desviación estándar. NS: no significativo.

TABLA II
CONCENTRACIÓN DE FACTORES HEMOSTÁTICOS EN PLACENTAS DE EMBARAZADAS NORMALES Y CON PREECLAMPSIA SEVERA

Parámetros hemostáticos	Embarazo normal			Preeclampsia severa			Valor de p
	n	X ± DE	Rango	n	X ± DE	Rango	
FvW (mg) ELISA	17	$23,5 \pm 8,2$	2,4-32,9	9	$22,32 \pm 9,9$	5,6-38,1	NS
TM (ng/mg)	25	$1,6 \pm 1,6$	0,5-9,0	12	$1,53 \pm 1,1$	0,42-3,6	NS
tPA (ng/mg)	15	$0,14 \pm 0,12$	0,01-0,5	7	$0,23 \pm 0,18$	0,03-0,6	NS
PAI-1 (ng/mg)	17	$9,05 \pm 4,5$	1,3-18,1	8	$11,9 \pm 5,06$	6-19	0,048
PAI-2 (ng/mg)	24	$8,15 \pm 8,1$	3,6-33,3	12	$15,15 \pm 10,1$	4-35	NS
FT (ng/mg)	9	$19,2 \pm 6,8$	11,6-30,7	9	$20,7 \pm 8,9$	3,79-33,1	NS
TFPI (ng/mg)	24	$11,84 \pm 2,7$	7,5-17,7	10	$15,1 \pm 3,7$	9,4-21,0	0,0076

n: tamaño de la muestra. DE: desviación estándar. NS: no significativo. Los datos están expresados por miligramos de proteínas.

explicar esta enfermedad, que afecta de un 6 a 8% de las embarazadas en el mundo, y que representa una de las principales causas de morbi-mortalidad materno-fetal (10, 35).

No existe preeclampsia sin la presencia de placenta y por esto se la ha relacionado como el origen de esta entidad. Roberts y col. (36), propusieron que alteraciones en la función de las células endoteliales, por agentes circulantes producidos por la placenta, inician este síndrome clínico; por lo que la disfunción de las células endoteliales podría explicar muchos de los cambios fisiopatológicos observados en la preeclampsia. Se ha descrito en la preeclampsia un mayor estado de hipercoagulabilidad con respecto al embarazo normal, encontrándose diferencias en la concentración de varios factores hemostáticos, a nivel plasmático (37-39).

En nuestro estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas en la concentración de proteínas entre los extractos de placentas de embarazadas normales en relación con los extractos de placentas de preeclámpticas severas; estos resultados son similares a los encontrados por Estellés y col. (30) y Kawano y col. (40). El escaso número de pacientes con preeclampsia, utilizado en nuestro estudio probablemente se debió a los múltiples criterios de exclusión y al tiempo destinado para el estudio el cual fue de 11 meses.

No hay reportes en la literatura de la concentración del TFPI, la TM y el FvW en los extractos de placentas de embarazadas normales y con preeclampsia severa. Bajaj y col. (13) reportan una alta concentración de ARNm de TFPI en tejido placentario normal. Nosotros encontramos un aumento significativo del TFPI en las PES, éste incremento podría indicar un aumento en la síntesis de este factor en las células endoteliales a nivel placentario, lo cual podría deberse a un estado compensatorio existente en esta patología.

La concentración del FvW, determinado por el método de ELISA, reveló una disminución no significativa en los extractos de placentas de PES.

El incremento de la TM plasmática (1, 14, 15) y placentaria se observa a medida que avanza el embarazo, aumentando aún más, cuando éste se complica con preeclampsia. Nosotros no observamos diferencias estadísticamente significativas en los extractos de placentas de los dos grupos estudiados.

Estellés y col. (30) en un estudio realizado en extractos de placentas de 6 embarazadas con preeclampsia y de 7 embarazos normales, reportaron un incremento significativo del FT en extractos de placentas de PES. Nosotros con un grupo discretamente mayor de casos no observamos diferencias entre ambos grupos; esto podría deberse en parte al número de casos estudiados.

Los componentes de la actividad fibrinolítica, como lo son PAI-1, PAI-2, tPA y uPA, se conoce que previenen la adhesión de la placenta al útero (16, 41). Nosotros, al igual que Kanfer y col. (22) encontramos una tendencia al aumento de tPA en PES, aunque no estadísticamente significativa, además de una correlación negativa del tPA y el FT, lo cual puede ser igualmente un fenómeno compensatorio del embarazo con preeclampsia. Al igual que Estellés y col. (30), (quienes utilizaron 15 extractos de PES y 17 de EN, nosotros utilizamos 8 de PES y 17 de EN); observamos un incremento del PAI-1 en extractos de placentas de PES, que para nosotros fue significativo, y no encontramos diferencias en la concentración de PAI-2, aunque se ha reportado que bajos niveles de PAI-2 está asociado con evidencia macroscópica de infarto placentario y bajo peso al nacer (42).

El incremento, no significativo, del tPA y significativo de TFPI puede interpretarse como un fenómeno compensatorio; cabría pensar que con un mayor número de

pacientes el incremento de tPA se haría significativo.

En conclusión se hacen necesarias investigaciones posteriores con mayor número de muestras, para poder dilucidar si se mantienen o varían las diferencias observadas por nosotros y otros investigadores, en cuanto a varios de los factores estudiados, para de esta forma contribuir a develar los posibles factores que intervienen en el desarrollo de la preeclampsia.

AGRADECIMIENTO

Este estudio es parte de la tesis para obtener el Título de Magíster Scientiarum en Biología de la Reproducción Humana en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela (Coordinadores Académicos Drs. Fulgencio Proverbio y Reinaldo Marín).

Se agradece la colaboración del Personal de la Maternidad Concepción Palacios y a las pacientes incluidas en el estudio.

REFERENCIAS

1. **Pérez-Requejo J.** Hematología. Tercera edición. Caracas: editorial Disinlimed C.A., 1995.
2. **Deitcher S, Gardner J.** Pregnancy and liver disease. Clinics in liver disease, 1999; 3: 1-12.
3. **McKay D.** The clinical spectrum and management of acquired coagulopathy in pregnancy. En: Reid D.E., Christian, c.d. eds: Controversy in obstetrics and gynecology II. Philadelphia: W.B. Saunders & co 1974; 285.
4. **Arocha-Piñango C, Linares J.** Coagulación y Fibrinólisis en Obstetricia y Ginecología. Rev Obstet Ginecol Venez, 1982; XLII: 1-6.
5. **Flecher A, Alkjaersig N, Burstein R.** The influence of pregnancy upon blood coagulation and plasma fibrinolytic enzyme function. Am J Obstet Gynecol 1979; 134:743.
6. **Graeff F, Kuhn J.** Coagulation disorders in obstetric. En: Friedman E.A. ed: Major Problems in obstetrics and gynecology, Philadelphia. W B Saunders CO 1980; 13:342-347.
7. **Sandset P, Hellgren M, Uvebrandt M, Bergström H.** Extrinsic coagulation pathway inhibitor and heparin cofactor II during normal and hypertensive pregnancy. Thromb Res 1989; 55: 665-670.
8. **Perry K, Martin J.** Abnormal hemostasis and coagulopathy in preeclampsia and eclampsia. Clin Obstet Gynecol 1992; 35: 317-337.
9. **Kobayashi T, Tokunaga N, Sugimura M, Suzuki K, Kanayama N, Nishiguchi T, Terao T.** Coagulation/fibrinolysis disorder in patients with severe preeclampsia. Sem Thromb Hemost 1999; 25:451-454.
10. **Zeeman G, Dekker G.** Pathogenesis of preeclampsia: An hypothesis. Clin Obstet Gynecol 1992; 35: 317-337.
11. **Kaibara M, Mitsuhashi Y, Watanabe T, Tamiaki F, Nishihira M, Sadatsuki M, Aisaka K.** Effects of red blood cells on the coagulation of blood in normal and preeclamptic pregnancies. Am J Obstet Gynecol 1999; 180:402-405.
12. **Maruyama I, Bell E, Majerus P.** Thrombomodulin is found on endothelium of arteries, veins, capillaries, and lymphatics, and on syncytiotrophoblast of human placenta. J Cell Biology 1985; 101:363-371.
13. **Bajaj M, Kuppuswamy M, Manepalli A, Bajaj S.** Transcriptional expression of Tissue Factor Pathway Inhibitor, thrombomodulin and von Willebrand Factor in normal human tissues. Thromb Haemost 1999; 1047-1052.
14. **Pérez-Requejo J, Pérez-García M.** Inhibidor de la vía extrínseca. Rev Iberoamer Tromb Hemostasia 1990; 3-4:161-166.
15. **López A, Arocha-Piñango C, Campos C, Parreira A, Pavlosky S, Ruiz G, San Miguel J.** Enciclopedia Iberoamericana de Hematología, Vol. III. Ediciones Universidad de Salamanca. España, 1992.
16. **Lindheimer M, Katz A.** Hypertension in pregnancy. N Eng J Med 1985; 313:675-680.

17. **Kruithof C, Tran-Thang C, Gudinchet A, Havert J, Nicoloso G, Genton C, Welti H, Bachmann F.** Fibrinolysis in pregnancy: a study of plasminogen activator inhibitors. *Blood* 1987; 69:460-466.
18. **Duley L.** Maternal mortality associated with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Asia, Latin America, and Caribbean. *Br J Obstet Gynecol* 1992; 99: 547-553.
19. **Weibezahn H, Serfati M, García M, Llovera A, Machado A, Fleitas F.** Hipertensión inducida por el embarazo en la Unidad de Sala de Partos: 1991-1993. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1997; 57:237-242.
20. **Myatt L, Miodovnik M.** Prediction of Preeclampsia. *Seminars in Perinatology* 1999; 23:45-57.
21. **Redman C.** Current topic: preeclampsia and the placenta. *Placenta* 1991; 12: 301-308.
22. **Kanfer A, Bruch J, Nguyen G, He C, Delaure F, Flahault A, Nessmann C, Uzan S.** Increased placental antifibrinolytic potential and fibrin deposits in pregnancy-induced hypertension and preeclampsia. *Lab Invest* 1996; 74:253.
23. **Villanueva L, Pedernera E, García-Lara E.** Bases fisiológicas de la preeclampsia: una hipótesis. *Ginec Obst Mex* 1999; 67: 246.
24. **Dechend R, Homuth V, Wallukat G, Kreuzer J, Koon J, Theuer J, Juepner A, Gulba D, Mackman N, Haller H, Luft F.** AT₁ Receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients cause vascular cells to express tissue factor. *Circulation* 2000; 101:2382-2387.
25. **Soto I.** Trombofilia y complicaciones del embarazo. *Rev Iberoamer Tromb Hemostasia* 2000; 13:71-96.
26. **Reverdiau P, Jarousseau A, Thibault G, Khalfoun B, Watier H, Lebranchu Y, Bardos P, Gruel Y.** Tissue factor activity of syncytiotrophoblast plasma membranes and tumoral trophoblast cells in culture. *Thromb Haemost* 1995; 73:49-54.
27. **Djelmis J, Kendié S, Bukovic D, Pfeifer D, Ivanisevic M.** The effect of coagulation parameters on the placental respiratory and nutritive function in women having chronic hypertension with superimposed preeclampsia. *Coll Antropol* 1997; 1:127-137.
28. **Erlich J, Parry G, Fearn C, Muller M, Carmeliet P, Luther T, Mackman N.** Tissue factor is required for uterine hemostasis and maintenance of the placental labyrinth during gestation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 8138-8143.
29. **Estellés A, Gilabert J, Keeton M, Eguchi Y, Aznar J, Trancha F, España F, Loskutoff D, Schleef R.** Altered expression of plasminogen activator inhibitor type 1 in placentas from pregnant women with preeclampsia and/or intrauterine fetal growth retardation. *Blood* 1994; 84:143-150.
30. **Estellés A, Gilabert J, Grancha S, Yamamoto K, Thinnis T, España F, Aznar J, Loskutoff D.** Abnormal expression of type 1 plasminogen activator inhibitor and tissue factor in severe preeclampsia. *Thromb Haemost* 1998; 79:500-508.
31. **Gao M, Nakabayashi M, Sakura M.** The imbalance of plasminogen activators and inhibitor in preeclampsia. *J Obstet Gynecol Res* 1996; 22: 9-16.
32. **Boer K, Lecander I, Cate J, Borm J, Treffers P.** Placental-type plasminogen activator inhibitor in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 518-22.
33. **Gilabert J, Estellés A, España F, Grancha S, Aznar J.** Modificaciones de la hemostasia en obstetricia. *Rev Iberoamer Tromb Hemostasia* 1995; 8:102-112.
34. **Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall SJ.** Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
35. **Dekker GA, Sibai BM.** Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 1359-1375.
36. **Roberts J, Edep M, Goldfien A, Taylor R.** Sera from preeclamptic women specifically activate human umbilical vein endothelial cells in vitro: morphological and biochemical evidence. *Am J Reprod Immunol* 1992; 27:101-108.
37. **Saleh A, Bottoms S, Welch R, Ali A, Mariona F, Mammeo E.** Preeclampsia, delivery, and the hemostatic system. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157: 331-336.

38. **Nakashima A, Kobayashi T, Terao T.** Fibrinolysis during normal pregnancy and severe preeclampsia relationships between plasma levels of plasminogen activators and inhibitors. *Gynecol Obstet Invest* 1996; 42:95-101.
39. **Van Beek E, Peeters L.** Pathogenesis of preeclampsia: a comprehensive model. *Obstet Gynecol Survey* 1998; 53:233-239.
40. **Kawano T, Morimoto K, Uemura Y.** Urokinase inhibitor in human placenta. *Nature* 1968; 217:253-254.
41. **Kobayashi T, Terao T.** Coagulation and fibrinolysis in severe preeclampsia: Placental activators and inhibitors. *Jpn J Obstet Gynecol Neonatal Hematol* 1986; 10: 331-341.
42. **Schjetlein R, Abdelnoor M, Haugen G, Husby H, Sandset PM, Wisloff F.** Hemostatic variables as independent predictors for fetal growth retardation in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78:191-7.