

Fecha de recepción: junio 10 de 2020
Fecha de aceptación: agosto 12 de 2021

ARTÍCULO ORIGINAL

<https://dx.doi.org/10.14482/sun.38.1.618.361>

Niveles de homocisteína y factores de riesgo asociados con preeclampsia en gestantes de Santa Marta y Barranquilla (Colombia)

Levels of homocysteine and risk factors associated with preeclampsia in pregnant women of Santa Marta and Barranquilla (Colombia)

ENIO HERNÁNDEZ AGUIRRE¹, NURYS PEÑUELA GUERRERO²,
MARY VAN VLECK³, FRANCISCA ARRIETA DE CASTRO⁴

¹ MD. MSc. Docente, Universidad Cooperativa de Colombia, Santa Marta (Colombia). Grupo de investigación Ciencia y Pedagogía, Facultad de Medicina. Orcid: <http://orcid.org/0000-0003-1196-3956>. CvLAC: código (CCRG) col 0665509.

² MD. Docente, Universidad Cooperativa de Colombia, Santa Marta. nuryspenuelag@yahoo.com.ar. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-4068-231X>

³ MD. Docente, Seton Catholic Central, New York (E.U.A.). Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6526-3579>.

⁴ Psic. Clin. Psicóloga clínica, Fundación FUSORI, Barranquilla (Colombia). franciscaarrieta2@gmail.com. Orcid: <http://orcid.org/0000-0002-0491-5684>.

Correspondencia: Enio Hernández Aguirre. enarbulaver@gmail.com. Francisca Arrieta De Castro. franciscaarrieta2@gmail.com

RESUMEN

Fundamentos y objetivo: La preeclampsia o hipertensión arterial gestacional es una complicación del embarazo y en su etiología intervienen factores genéticos, metabólicos y ambientales. Globalmente ocurre en el 3-10 % de los embarazos, y en Colombia produce muerte materna en el 5-7 % de los embarazos. Entre las causas que favorecen su desarrollo se encuentra el estrés oxidativo generado por elevados niveles de homocisteína. El objetivo de este estudio fue establecer la relación de los niveles de homocisteína y otros factores entre gestantes con preeclampsia y sin preeclampsia en el tercer trimestre de la gestación.

Método: En una población de 47 gestantes sin preeclampsia y 41 gestantes con preeclampsia se realizó una encuesta con consentimiento informado y la medición de homocisteína plasmática mediante inmunoensayo de fluorescencia polarizada en un analizador IMx-System. La edad gestacional se determinó mediante ecografía; la tensión arterial y peso materno de la historia clínica. El análisis estadístico abarcó la prueba de Kruskal-Wallis, tablas de contingencia 2x2, Chi cuadrado de Pearson y análisis multivariado, utilizando el paquete estadístico SPSS 17.

Resultados: Se encontró diferencias significativas en los niveles de homocisteína entre casos y controles. Hubo correlación entre homocisteína con el índice de masa corporal y presión arterial. Se encontró que la hiperhomocisteinemia representa un riesgo para preeclampsia significativamente mayor en el grupo con antecedentes familiares en comparación con el grupo sin antecedentes.

Conclusiones: En la población estudiada, la hiperhomocisteinemia, el índice de masa corporal y los antecedentes familiares de preeclampsia representan factores de riesgo para esta patología.

Palabras clave: hipertensión gestacional, homocisteína, índice de masa corporal, presión arterial.

ABSTRACT

Fundamentals and objective: Preeclampsia, or gestational hypertension, is the most common complication of pregnancy. The etiology is affected by genetic, metabolic, and environmental factors. It occurs globally in 3-10% of pregnancies, and in Colombia it is an important cause of maternal death, occurring in 5-7 % of all pregnancies. Oxidative stress generated by high levels of homocysteine is one of the causes that contribute to the development of this complication. The objective of the present study was to establish the relationship of homocysteine levels and other factors between pregnant women with pre-eclampsia and without pre-eclampsia.

Method: In a population of 47 pregnant women without pre-eclampsia and 41 pregnant women with pre-eclampsia, a survey with informed consent and measurement of plasma homocysteine that was performed by polarized fluorescence immunoassay using an IMx-System analyzer. The gestational age was determined by obstetric ultrasound and the blood pressure and weight data of the clinical history. In the statistical analysis, the Kruskal-Wallis test, 2x2 contingency tables, Pearson's Chi square and multivariate analysis were performed, using the SPSS 17 statistical package.

Results: Significant differences were found between homocysteine values between cases and controls. There was a correlation between homocysteine values, body mass index, and blood pressure. It was also found that hyper-homocysteinemia represents a significantly higher risk of preeclampsia in the group with a family history, compared to the group with no history.

Conclusions: In our population, hyper-homocysteinemia, body mass index, and family history of preeclampsia represent risk factors for this pathology.

Keywords: gestational hypertension, homocysteine, body mass index, blood pressure.

INTRODUCCIÓN

La preeclampsia es la complicación médica más común del embarazo, caracterizado por hipertensión arterial, proteinuria, anomalías en la coagulación (1, 2) y disfunción hepática (3). Su frecuencia es mayor en primigestantes jóvenes y de mayor edad, hipertensas previas y diabéticas (4, 5). Su etiología es compleja, en la cual participan factores genéticos y ambientales (6, 7). Se calcula que cada año mueren alrededor de 50 000 mujeres a nivel mundial por causa de la preeclampsia, que afecta entre 3-10 % de los embarazos, siendo la principal causa de muerte materna en el mundo (8). En Colombia, la hipertensión gestacional y la preeclampsia producen el 19 % de las defunciones maternas (9).

En las primigestantes se asocia a complicaciones como desprendimiento placentario, falla renal aguda, accidente cerebro vascular, coagulación intravascular diseminada, retardo del crecimiento intrauterino, parto pretérmino y muerte materna (10). Si consideramos que en Colombia la mortalidad materna es 10 veces mayor que la observada en Estados Unidos (10 x 100.000), alcanzando una tasa de 130 muertes x 100 000 recién nacidos vivos (11), el impacto económico y social en nuestro país es de gran importancia, lo que justifica continuar investigando las posibles causas y factores asociados a la preeclampsia en nuestras gestantes.

Desde el punto de vista fisiopatológico, la preeclampsia se caracteriza por una invasión anormal del citotrofoblasto en las arterias espirales durante la placentación, y en una disfunción endotelial (12) que se evidencia por un estado de estrés oxidativo, disminución en la actividad del óxido nítrico sintetasa endotelial, aumento en las concentraciones de homocisteína circulante, dislipidemia y una mayor expresión de marcadores del daño endotelial (13); también ocurre elevación de las resistencias vasculares sistémicas, activación de la cascada de la coagulación e incremento de la agregación plaquetaria, por lo que se considera como una enfermedad del endotelio vascular materno (14).

Diversos estudios han demostrado que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo para el embarazo, y se ha relacionado con malformaciones congénitas, desprendimiento de la placenta, abortos repetitivos y el desarrollo de preeclampsia (15, 16, 17). El déficit de folatos es un factor de riesgo importante para el feto por la disminución en el nivel de nucleótidos y el aumento de la homocisteína plasmática (18). Los niveles elevados de homocisteína producen el daño endotelial a través de un mecanismo oxidativo, porque el grupo sulfidrilo de la homocisteína al oxidarse forma aniones superóxidos y peróxido de hidrógeno implicados en la lesión endotelial directa, debido a que incrementan la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y, por tanto, su captación por parte de los macrófagos en la pared vascular, estimulando la formación de la placa aterosclerótica, que a su vez estimula la generación de peróxido de oxígeno, llevando a la agresión endotelial sostenida (19), con liberación de citoquinas proinflamatorias y mediadores de la cascada de la coagulación. Las vitaminas B6, B12 y B9 (ácido fólico) son coenzimas en el metabolismo de la homocisteína, por lo tanto, sus niveles están relacionados con el nivel de homocisteína; una investigación demostró que 2/3 de las hiper-homocisteinemia se deben a niveles disminuidos de ácido fólico y vitamina B12 (20). El objetivo de este estudio fue establecer la relación entre los niveles de homocisteína y el desarrollo de hipertensión gestacional durante el tercer trimestre de la gestación.

METODOLOGÍA

Población objeto de estudio

Se realizó un estudio descriptivo y prospectivo de corte transversal con datos cuantitativos, teniendo en cuenta la evolución del embarazo durante el tercer trimestre. La población diana fueron 88 mujeres gestantes a partir de la semana 24, de cualquier edad, raza y estrato socioeconómico que acuden a la consulta de obstetricia en clínicas de las ciudades de Santa Marta y Barranquilla

(Colombia). Participaron 47 mujeres gestantes con tensión arterial normal y 41 con preeclampsia que firmaron un consentimiento informado y respondieron a un cuestionario que incluyó antecedentes personales, familiares y tipo de alimentación. Los datos de la tensión arterial (TA) e índice de masa corporal (IMC) se obtuvieron de la historia clínica. La edad gestacional se determinó mediante las ecografías obstétricas realizadas en el control prenatal. Todas las gestantes tomaban ácido fólico. No ingresaron al estudio gestantes con diagnóstico previo de hipertensión arterial, diagnóstico previo de colagenopatías, nefropatía crónica, embarazo múltiple, embarazo molar, tiroidopatía, epilepsia, antecedente personal de abortos recurrentes, y mujeres que se encuentran medicadas con cualquiera de estos medicamentos: Clorpromazina, ácido Valproico, Hidralazina, Amoxicilina, Propanolol, Estreptomina, Procainamida, Interferón, Quinidina, Sulfadoxina, Diltiazem, Pirimetamina, Metotrexato, óxido nítrico, Carbamazepina, Fenitoína.

Medición de Homocisteína

La muestra de sangre venosa fue tomada en ayunas con los procedimientos estandarizados globalmente. Se tomaron 10 cc de sangre periférica y se extrajo el suero mediante centrifugación. La medición de los niveles de homocisteína plasmática se realizó mediante inmunoensayo de fluorescencia polarizada comercializado y distribuido por ABBOT laboratorios empleando un analizador IMx-System, en un laboratorio clínico de tercer nivel de la ciudad de Cartagena (Colombia). Los niveles normales de homocisteína fueron determinados por el Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) entre 1991 y 1994 en una población de 8086 participantes con concentraciones de folatos, vitamina B12 y creatinina plasmática normales. El valor normal de homocisteína es de 3,3 a 7,2 $\mu\text{mol/L}$ en mujeres entre 12 y 19 años y de 4,9 a 11,6 $\mu\text{mol/L}$ en mayores de 60 años; la hiperhomocisteinemia se inicia con 10,4 $\mu\text{mol/L}$ en menores de 60 años. El valor normal en varones también varía con la edad y la hiperhomocisteinemia se inicia con 11,4 $\mu\text{mol/L}$ en menores de 60 años (20).

Análisis estadístico

Para conocer si los valores en la concentración de homocisteína se ajustaban a la normalidad, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis (K-W). Se evaluó el riesgo de preeclampsia y antecedentes familiares por medio de tablas de contingencia 2x2, test de Chi cuadrado de Pearson y análisis multivariado. Se utilizó el modelo de correlación de Pearson y se compararon medias por medio

de la prueba t de Student y ANOVA de un factor. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS 17 para Windows. INC.

RESULTADOS

Características generales de la población analizada

La población general, en la que participaron 47 (53.4 %) normotensas y 41 (46.6 %) pre eclámpticas, tenía un promedio de edad de 25,93 años (mínima 13, máxima 40); las relaciones de TA e IMC entre los grupos se muestran en la tabla 1. No se encontró diferencia estadísticamente significativa en el promedio de edad entre casos (preeclampsia) y controles (normotensas), pero sí hay diferencias significativas entre casos y controles con relación a la TA, IMC y niveles de homocisteína. Las diferencias estadísticamente significativas en los niveles de homocisteína entre normotensas y preeclámpticas leves y severas se muestran en la tabla 2 y en la figura 1.

Tabla 1. Valores promedios de Homocisteína, tensión arterial e IMC entre los grupos

	Normotensas	Preeclámpticas	p
	n (%)	n (%)	
N	47 (53,4)	41 (46,6)	0,522
Edad (X+/- DE)	25,94 (6,5)	25,93 (5,12)	0,994
Niveles de Homocisteína			
(X+/- DE)	5,17 (1,83)	10,28 (2,13)	< 0,001
Promedios			
PSS	109,78	144,87	< 0,001
PSD	69,97	94,14	< 0,001
IMC	24,92	30,53	< 0,001

DE: desviación estándar. PSS: presión sanguínea sistólica. PSD: presión sanguínea diastólica. IMC: índice de masa corporal.

Tabla 2. Distribución de la concentración media de homocisteína en normotensas y preeclámpticas leves y severas

	Concentración media de homocisteína			
	Normotensas	P. Leve	P. Severa	P
N	47	22	19	0,001
X (+/- DE)	5,17 (1,83)	9,29 (0,57)	11,42 (2,68)	

X (+/- DE): Concentración media de homocisteína con desviación estándar.

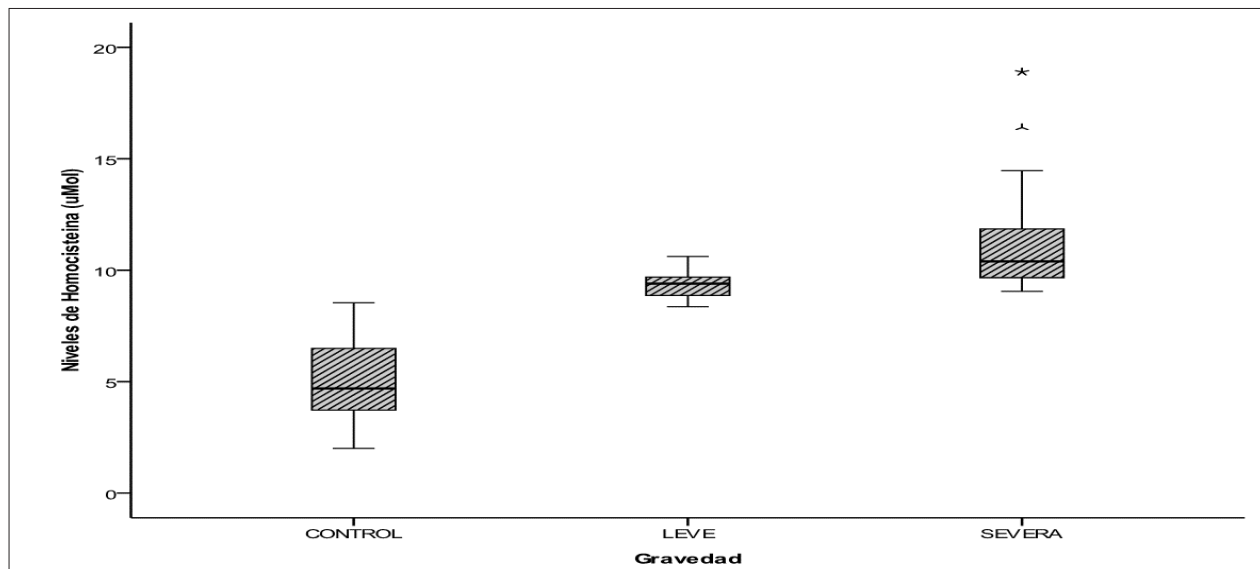


Figura 1. Medias de los niveles de homocisteína (µMol/L) en grupo control y preeclámpticas leves y severas

Correlación entre los niveles de homocisteína con IMC e hipertensión

Para realizar este análisis, se utilizó el índice de correlación de Pearson. Se correlacionaron los valores absolutos de los niveles de homocisteína (µmol/L) con el índice de masa corporal (kg/m²) y los valores de presión sanguínea sistólica. Se halló correlación estadísticamente significativa entre los niveles de homocisteína y el índice de masa corporal (IMC), entre homocisteína y presión sanguínea sistólica (PSS) y entre los valores de IMC y PSS (figuras 2, 3 y 4).

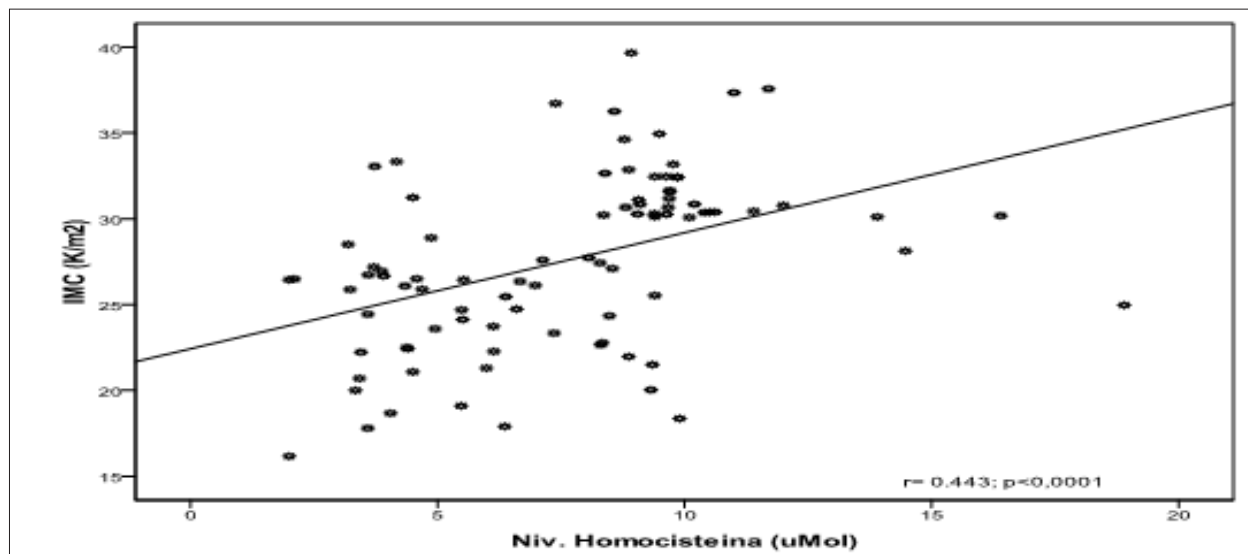


Figura 2. Correlación entre los niveles de homocisteína y el índice de masa corporal

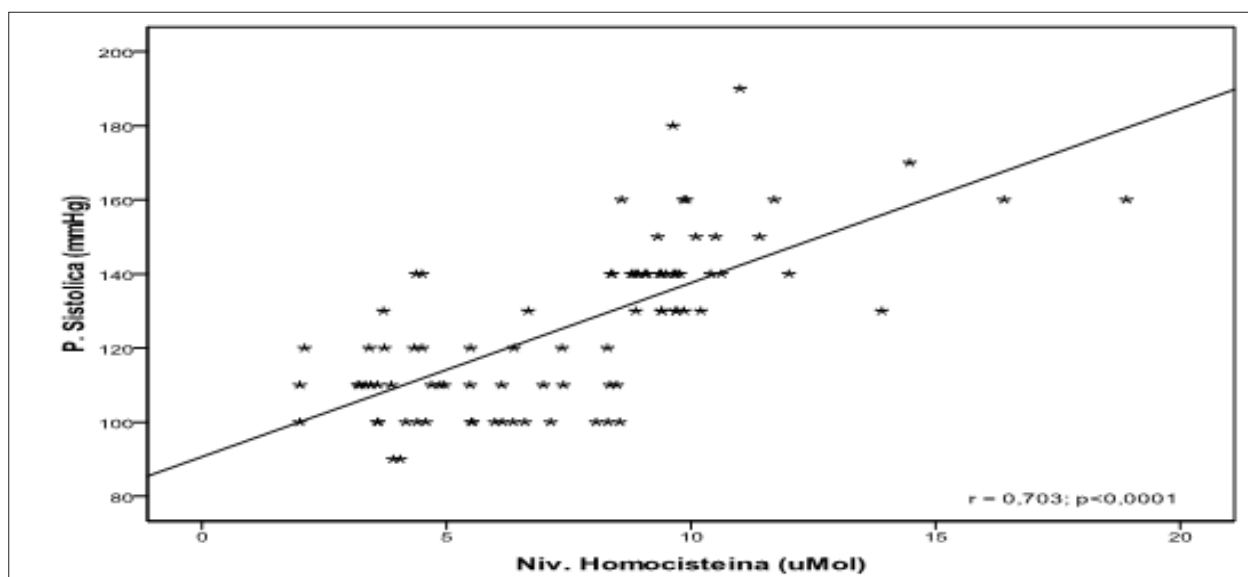


Figura 3. Correlación entre los niveles de Homocisteína con Hipertensión sistólica

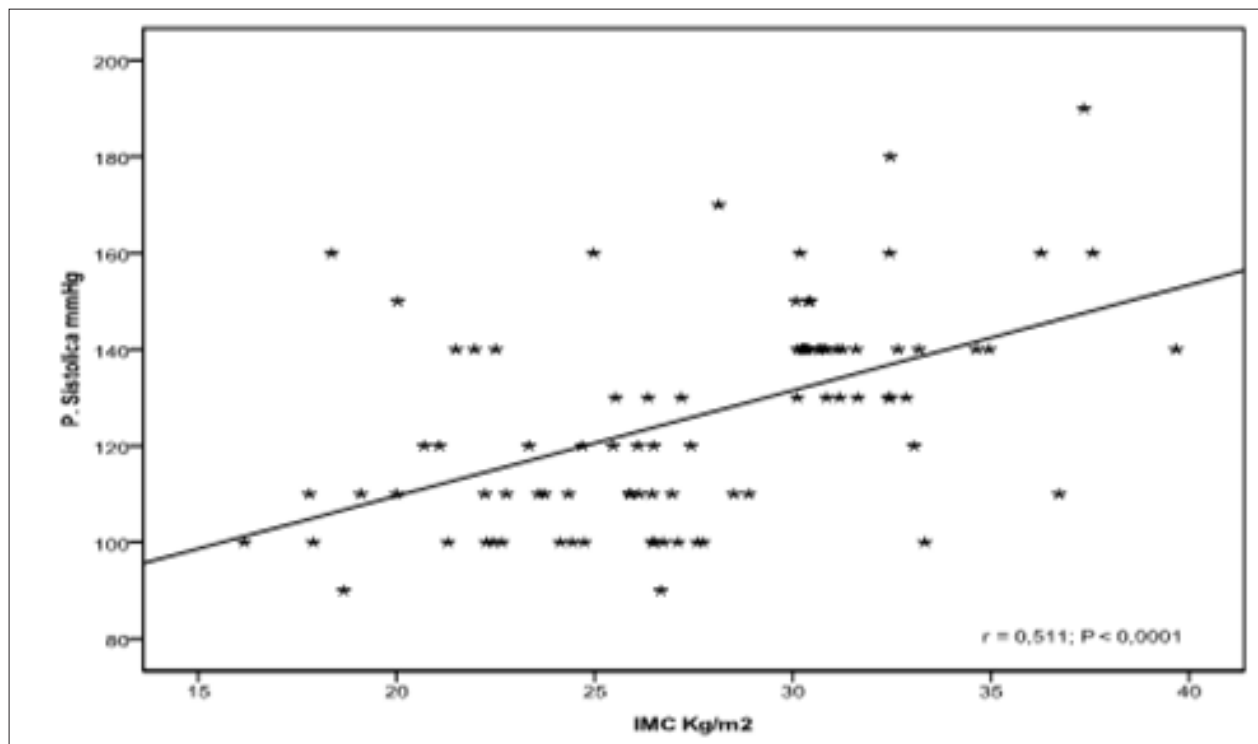


Figura 4. Correlación entre el índice de masa muscular y los valores de presión sanguínea sistólica

Asociación entre preclampsia y antecedentes familiares

Para realizar este análisis se utilizó la variable dicotómica antecedentes familiares con preeclampsia hasta segundo grado de consanguinidad y se comparó con los casos y controles por medio el test de Chi cuadrado de Pearson. El análisis de Chi cuadrado sugiere que poseer un miembro familiar hasta el segundo grado de consanguinidad representa un riesgo significativo para desarrollar preeclampsia (OR=3,815; IC 95 %: 1,433-10,159; p=0,006).

Asociación entre los niveles de homocisteína con preeclampsia y antecedentes familiares

Para comprobar si la asociación encontrada por el test de Chi cuadrado era cierta, se realizó un modelo de regresión logística múltiple enfrentando las variables dependientes antecedentes fa-

miliares, casos y controles con la covariable de niveles de homocisteína. Para evitar sesgos, este modelo fue controlado por las variables edad, peso e IMC.

La regresión logística indica una asociación entre preeclampsia y niveles de homocisteína; pacientes con niveles elevados de homocisteína presentan un riesgo de 1,372 de desarrollar preeclampsia (IC95 % 1,195-1,577; $p < 0,001$). De igual manera, los niveles elevados de homocisteína representan un riesgo para preeclampsia significativamente mayor en el grupo que presenta antecedentes familiares en comparación con el grupo que no tiene antecedentes; el valor OR para este grupo es 2.176 a un nivel de significancia estadística $p = 0,015$ con intervalos de confianza al 95 % de 1,025 - 1,258. Por tanto, los niveles de homocisteína elevados y los antecedentes familiares pueden ser considerados como factores de riesgo para la preeclampsia en la población estudiada (tabla 3).

Tabla 3. Análisis de regresión logística para casos, controles antecedentes familiares

	Grupo Control (%)	Grupo Pre e clampsia (%)	OR (IC 95%)	p†
N	47 (53,4)	41 (46,6)	1,37 (1,195 – 1,577)	< 0,001
Ante ce de nte Familiar Pre e clamnsia				
NO	39 (83)	23 (56,1)	2,176 (1,025 – 1,258)	0.015
SI	8 (17)	18 (43,9)		
p† valor p corregido por edad, peso e IMC.				

DISCUSIÓN

En este estudio encontramos la media de los niveles de homocisteína incrementados en los casos de preeclampsia, lo cual indica que la hiperhomocisteinemia está relacionada con la hipertensión gestacional. Nuestros datos son consistentes con los reportados por otros (17, 21). Mujawar y col hallaron diferencias en la concentración media de homocisteína entre normotensas y preclámp-

ticas con una significancia menor 0,0001 en una población de 50 casos y 50 controles; concluyen que la homocisteína es un riesgo para preeclampsia y la enfermedad cardiovascular; conclusión respaldada por los resultados obtenidos en nuestro estudio (22).

Por otro lado, las gestantes preeclámplicas, comparadas con las normotensas, mostraron incremento significativo en el IMC. El IMC es un parámetro relacionado con el grado de obesidad, y es considerado factor de riesgo para la eclampsia (23, 24). Nuestros datos sugieren que un aumento en los niveles de homocisteína puede relacionarse con obesidad, aumento de la respuesta inflamatoria y elevación de la presión sanguínea debida a los cambios metabólicos inducidos por estrés oxidativo (25). La correlación obtenida entre hipertensión y concentración de homocisteína, IMC e hipertensión y concentración de homocisteína e IMC respaldan este planteamiento. Con relación a la asociación hallada entre niveles elevados de homocisteína y severidad de la enfermedad, podemos inferir que esto obedece a la pérdida de la función endotelial debido a la hiperhomocisteinemia. Se considera que la homocisteína incrementa el estrés oxidativo (19, 25), y esto conduce a un desbalance de factores que regulan la función del endotelio vascular, trayendo como consecuencia la aparición de fenotipos bioquímicos asociados a la preeclampsia, como el incremento de citoquinas proinflamatorias, activación de proteínas del choque térmico, aumento del infiltrado leucocitario, formación de ateromas y aumento de la presión sanguínea, elementos que inducen a la exacerbación y severidad de la enfermedad (26, 27). Es posible que en nuestras gestantes la hipertensión resulte como consecuencia del aumento en los niveles de homocisteína; hipótesis respaldada por la relación estadísticamente significativa demostrada en los resultados, por lo que hay que considerar estos factores en el control de toda gestación. Además, los valores de homocisteína obtenidos en este estudio en las gestantes normotensas tienen un promedio de 5,17 $\mu\text{mol/L}$ con desviación estándar (DE) de 1,83, que nos ofrece un rango de 3,34 a 7 $\mu\text{mol/L}$, que concuerda perfectamente con los resultados de normalidad del estudio NHANES III. En las preeclámplicas leves, el promedio fue de 9,29 $\mu\text{mol/L}$, con un rango entre 8,72 y 9,86 (DE 0,57)), que son valores intermedios entre la normalidad y la hiperhomocisteinemia. En las severas, el promedio fue de 11,42 $\mu\text{mol/L}$ (DE 2,68), superando el valor de 10,4 $\mu\text{mol/L}$, característico de la hiperhomocisteinemia. El análisis de estos resultados sugiere que hay un aumento paulatino de los niveles de homocisteína que se inicia al comienzo del tercer trimestre en la gestante predispuesta a la preeclampsia, por lo tanto, este estudio debe realizarse a toda gestante en este periodo de la gestación como un tamizaje del embarazo de alto riesgo.

El padecimiento de una enfermedad compleja, en un grupo familiar, sugiere una fuerte participación de la interacción gen-ambiente. En nuestra población, los antecedentes familiares pueden ser considerados como factor de riesgo para la preeclampsia. Los niveles elevados de homocisteína significativamente mayor en el grupo que presenta antecedentes familiares, en comparación con el grupo que no presenta antecedentes (OR =2.176; IC95% de 1,025 - 1,258; p=0,015), sugiere que genes heredados tienen un papel en el desarrollo de la enfermedad. Diversos estudios en diferentes poblaciones han encontrado asociación entre los niveles altos de homocisteína con polimorfismos genéticos; por ejemplo, se han publicado asociación entre hiperhomocisteinemia y polimorfismos en el gen que codifica para la Metilen-tetrahidro-folato-reductasa (MTHFR), enzima importante en la ruta metabólica de la homocisteína implicada en el incremento de los niveles de homocisteína y desarrollo de la preeclampsia (28, 29). Serrano y col. en un estudio de casos y controles con 884 gestantes (322 afectadas y 522 controles) hallaron que la condición homocigótica en el alelo Asp298 del gen eNOS (Sintetasa de óxido nítrico endotelial) representa un riesgo para preeclampsia de 4,6 (IC95 %= 1.73-12.22). De igual manera, encontraron que el haplotipo Asp298-786C-4b incrementa el riesgo de padecer la enfermedad (OR, 2.11 [95 % CI, 1.33 to 3.34]), llegando a la conclusión que el polimorfismo Glu298Asp y el haplotipo Asp298-786C-4b del gen eNOS son factores de riesgo para la preeclampsia (30).

Es posible que nuestra población posea variantes polimórficas de los genes MTHFR y eNOS que induzcan aumento en los niveles de homocisteína y, por tanto, incrementan el riesgo etiológico de la enfermedad. Esto sugiere que existe un papel importante de factores genéticos en el desarrollo de preeclampsia que puede ser transmitido a través de las generaciones de parentesco, señalando que el antecedente familiar es un factor que debe ser considerado en el control prenatal. Es pertinente mencionar que en el embrión el desarrollo de la placenta está orientado por genes paternos (mecanismo de impronta genómica), y en la población de estudio se encontró dos gestantes con preeclampsia fecundadas por el mismo individuo. Investigaciones recientes han identificado modificaciones epigenéticas y microARN (miARN) en el genoma del trofoblasto implicadas en el desarrollo de la hipertensión gestacional y otras enfermedades del embarazo (31). Se ha reportado que la hipometilación de los genes RUNX3 , LINE-1 y HSD11B2 previene la activación del receptor de mineralocorticoides en la placenta; la hipermetilación del gen ADORA2B se ha relacionado con hipoxia, preeclampsia y aumento de la sensibilidad a contaminantes atmosféricos; la hipermetilación del gen BVS está implicada en el desarrollo placentario y la hipermetilación del gen MMP-9 en la invasión de las células trofoblásticas; con respecto a los miARN también se han descrito relacionados con la preeclampsia, como el

aumento del miR-218-5p, que juega un papel en el desarrollo normal de la placenta; la disminución del miR-34^a-p, que inhibe la migración de las células del trofoblasto; el aumento del miR-517-5p, que altera la expresión del gen MMP-2, y la migración de las células trofoblásticas (32). También hay otras hipótesis sobre la etiología de la preeclampsia con respecto a las vesículas extracelulares (VE), que es un medio de comunicación intercelular que interviene en procesos fisiológicos y fisiopatológicos al transportar moléculas como lípidos, ARN y proteínas. En la gestación, el trofoblasto genera VE, que circula en sangre, líquido amniótico y orina, transportando HLA-G y la fosfatasa alcalina placentaria (PLAP-1), además de otras. Las VE pueden cruzar la membrana placentaria, ejerciendo una comunicación fetomaterna constante, regulando el endometrio, la remodelación de las arterias espirales e interviene en la regulación inmunitaria; se han reportado variaciones en el número, en el contenido y función bioactiva de las VE en preeclampsia y otras complicaciones del embarazo (33).

CONCLUSIONES

Se halló correlación estadísticamente significativa entre los niveles de homocisteína y el índice de masa corporal (IMC), entre homocisteína y presión sanguínea sistólica (PSS) y entre los valores de IMC y PSS.

La diferencia significativa en la media de la concentración de homocisteína *entre casos y controles* y la severidad de la enfermedad permiten concluir que la homocisteína es una variable para tener en cuenta en un programa de tamizaje para la preeclampsia.

Se observó correlación entre la concentración de homocisteína, hipertensión e índice de masa corporal.

Se encontró que los antecedentes familiares son un factor de riesgo para preeclampsia en nuestra población. Los niveles elevados de homocisteína significativamente mayor en el grupo que presenta antecedentes familiares, en comparación con el grupo que no presenta antecedentes, sugieren que genes heredados poseen un papel en el desarrollo de la enfermedad.

Agradecimientos: A la Universidad Cooperativa de Colombia por la financiación del proyecto cuyos resultados se expresan en este artículo.

Álvaro Acosta. Biol. MSc. por su orientación en el análisis estadístico.

REFERENCIAS

1. Martínez-Zamora MA, Tassies D, Carmona F, Espinosa G, Cervera R, Reverter JC, Balasch J. Clot lysis time and thrombin activatable fibrinolysis inhibitor in severe preeclampsia with or without associated antiphospholipid antibodies. *J Reprod Immunol*, 2010; 86(2): 133-140. Doi: 10.1016/j.jri.2010.05.002
2. Ducloy-Bouthors AS. [Clotting disorders and preeclampsia]. *Ann Fr Anesth Reanim*. 2010; 29:e121-134. Doi: 10.1016/j.annfar.2010.03.012. Epub 2010 May 15.
3. Kozic JR, Benton SJ, Hutcheon JA, Payne BA, Magee LA, Von Dadelszen. Abnormal liver function tests as predictors of adverse maternal outcomes in women with preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Can*. 2011; 33(10):995-1004. Doi: 10.1016/S1701-2163(16)35048-4.
4. Du M, Basu A, Fu D, Wu M, Centola M, Jenkins AJ, et al. Serum Inflammatory Markers and Preeclampsia in Type 1 Diabetes: A prospective study. *Diabetes Care*. 2013 July; 36(7): 2054-61. Doi: 10.2337/dc12-1934. Epub 2013 Feb 7.
5. Basu A, Alaupovic P, Wu M, Jenkins AJ, Yu Y, Nankervis AJ, et al. Plasma lipoproteins and preeclampsia in women with type 1 diabetes: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 mayo; 97(5):1752-1762. Doi: 10.1210/jc.2011-3255. Epub 2012 Mar 21.
6. Chelbi ST, Vaiman D. Genetic and epigenetic factors contribute to the onset of preeclampsia. *Mol Cell Endocrinol*. 2008 Jan; 282(1-2):120-129. Doi: 10.1016/j.mce.2007.11.022. Epub 2007 Nov 26.
7. Valenzuela FJ, Pérez-Sepúlveda A, Torres M, Correa P, Repetto GM, LLanes SE. Pathogenesis of preeclampsia: the genetic component. *J Pregnancy*. 2012;2012: 632732. Doi: 10.1155/2012/632732. Epub 2011 Dec 1
8. Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. *Semin Perinatol*. 2012 feb; 36(1):56-59. Doi: 10.1053/j.semperi.2011.09.011
9. Chicaíza-Becerra L, García-Molina M, Oviedo-Ariza SP, Urrego-Novoa JR, Rincón-Rodríguez CJ, Rubio-Romero JA, et al. Costo efectividad del suplemento de calcio para reducir la mortalidad materna asociada a preeclampsia en Colombia. *Rev. Salud Pública*. 2016;18(2): 300-310. Doi: <http://dx.doi.org/10.15446/rsap.v18n2.48776>.
10. Robillard PY, Dekker G, Chaouat G, Hulsey TC, Saftlas A. Epidemiological studies on primipaternity and immunology in preeclampsia-a statement after twelve years of workshops. *J Reprod Immunol*. 2011; 89:104-117.

11. Gálvez-Vengoechea M, Arreaza-Graterol M, Rodríguez-Ortiz, J. Mortalidad materna de pacientes atendidas en la uci del hospital simón bolívar, Bogotá (Colombia) 2004 - 2006. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología* [Internet]. 2009; 60 (2): 152-158. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195214328005>
12. Dusse LM, Nessralla Alpoin P, Lwaleed BA, De Sousa LP, Das Gracias Carvalho M, Bragas Gómez K. Is there a link between endothelial dysfunction, coagulation activation and nitric oxide synthesis in preeclampsia? *Clin Chim Acta*. 2013; 415:226-229. doi.org/10.1016/j.cca.2012.10.006
13. Jobe SO, Tyler CT, Magness RR. Aberrant synthesis, metabolism, and plasma accumulation of circulating estrogens and estrogen metabolites in preeclampsia implications for vascular dysfunction. *Hypertension*. 2013 Feb; 61(2):480-487. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.201624
14. Scholten RR, Hopman HT, Sweep FC, Van de Vlught MJ, Van Dijk AP, Oven WJ, et al. Co-occurrence of cardiovascular and prothrombotic risk factors in women with a history of preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2013 Jan; 121(1):97-105. Doi: <http://10.1097/AOG.0b013e318273764b>.
15. Laskowska M, Laskowska K, Terbash M, Jan Oleszczuk JA comparasion of maternal serum levels of endothelial nitric oxide synthase, asymmetric dimethylarginine and homocysteine in normal and preeclamptic pregnancies. *Med Sci Monit*. 2013; 19:430-437. Doi:10.12659/MSM.883932.
16. Guven MA, Coskun A, Ertas IE, Aral M, Zencirci B, Oksuz H. Association of maternal serum CRP, IL-6, TNF-alpha, homocysteine, folic acid and vitamin B12 levels with the severity of preeclampsia and fetal birth weight. *Hypertens Pregnancy*. 2009 May; 28(2):190-200. Doi: 10.1080/10641950802601179.
17. Khosrowbeygi A, Ahmadvand H. Positive correlation between serum levels of adiponectin and homocysteine in pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2012 March; 39(3). Doi: 10.1111/j.1447-0756.2012.02015. x. Epub 2012 Oct 29.
18. Gu Q, Li Y, Cui ZL, Luo XP. Homocysteine, folate, vitamin B12 and B6 in mothers of children with neural tube defects in Xinjiang, China. *Acta Paediatr*. 2012; 101: e486-490.
19. Perna A F, Ingrosso D, Lombardi C, Acanfora F, Satta E, Casare CM, et al. Possible mechanisms of homocysteine toxicity. *Kidney Int Suppl*. 2003 May; 84: S137-S140. Doi: 10.1046/j.1523-1755.63.s84.33.x
20. Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, Rogers G, Bowman BA, Gunter EW, Wright JD, Johnson CL. Serum total Homocysteine concentrations in the third National health and nutrition examination survey (1991-1994): population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum

- concentration. *Annals of internal Medicine*. 1999Sep; 131(5):331-339. Doi: 10.7326/0003-4819-131-5-199909070-00003.
21. Braekke K., Veland PM., Harsen NK., Karlsen A., Blomhoff R., Staff AC. Homocysteine, Cysteine, and Related Metabolites in Maternal and Fetal Plasma in Preeclampsia. *Pediatr Res*. 2007; 62(3):319-324. Doi: 10.1203/PDR.0b013e318123fba2
 22. Mujawar S, Patil V, Daver R. Study of Serum Homocysteine, Folic Acid and Vitamin B12 in Patients with Preeclampsia. *Ind J Clin Biochem*. 2011 July; 26(3):257-260. Doi:10.1007/s12291-011-0109-3
 23. Reyes LM, Garcia R G, Ruiz S I, Camacho P, Ospina B M, Aroca G, et al. Risk factors for preeclampsia in women from Colombia: a case-control study. *PLoS One*. 2012 July; 7(7): e41622. doi.org/10.1371/journal.pone.0041622
 24. Roberts J, Bodnar L, Patrick T, Powers R. The role of obesity in preeclampsia. *Pregnan Hypertens: Int J Women's Cardiovascular Health*. 2011 Jan; 1(1):6-16. Doi: 10.1016/j.preghy.2010.10.013.
 25. Ouyang YQ, Li SJ, Zhang Q, Cai HB, Chen HP. Interactions between inflammatory and oxidative stress in preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2009 Feb; 28(1):56-62. Doi: 10.1080/10641950802233064.
 26. Xiao JP, Yin Y X, Gao Y F, Lau S, Shen F, Zhao M, Chen Q. The increased maternal serum levels of IL-6 are associated with the severity and onset of preeclampsia. *Cytokine*. 2012; 60(3):856-860. Doi: 10.1016/j.cyto.2012.07.039
 27. Molvarec A, Rigó JJr, Lazar L, Balogh K, Makó V, Cervenak L, et al. Increased serum heat-shock protein 70 levels reflect systemic inflammation, oxidative stress and hepatocellular injury in preeclampsia. *Cell Stress Chaperones*. 2009 March; 14(2):151-159. Doi: 10.1007/s12192-008-0067-8
 28. Ibrahim Z, Metawie M, El-Baz A, El-Bahie M. Methylenetetrahydrofolate C677T polymorphism and pre-eclamptic Egyptian women. *Mid East Fert Soc J*. 2012; 17:05-110.
 29. Canto P, Canto-Cetina T, Juárez-Velasquez R, Rosas-Vargas H, Rangel-Villalobos H, Canizales-Quintero S, et al. Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T and Glutathione S-Transferase P1 A313G Are Associated with a Reduced Risk of Preeclampsia in Maya-Mestizo Women. *Hypertens Res*. 2008 May; 31(5):1015-1019. Doi: 10.1291/hypres.31.1015.
 30. Serrano NC, Casas JP, Diaz LA, Páez C, Mesa CM, Cifuentes R, et al. Endothelial NO Synthase Genotype and Risk of Preeclampsia A Multicenter Case-Control Study. *Hypertension*. 2004May; 44(5):702-707. doi: 10.1161/01.HYP.0000143483.66701.ec

31. Choudhury M., Friedman J.E. Epigenetics and microRNAs in preeclampsia. *Clin Exp Hypertens* 2012; 34(5):334-341. Doi: 10.3109/10641963.2011.649931. Epub 2012 Apr 2.
32. Kamrani A, Alipourfard I, Ahmadi-Khiavi H, Yousefi M, Rostamzadeh D, Izadi M, Ahmadi M. The role of epigenetic changes in preeclampsia. *Biofactors*. 2019 Sep; 45(5):712-724. Doi: 10.1002/biof.1542. Epub 2019 Jul 25. PMID: 31343798.
33. Natalia Gebara, Yolanda Correia, Keqing Wang and Benedetta Bussolati. Angiogenic Properties of Placenta-Derived Extracellular Vesicles in Normal Pregnancy and in Preeclampsia. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 5402. <https://doi.org/10.3390/ijms22105402>.