

Avances de la genética de la preeclampsia

Elith Yazmín Valencia Villalvazo,^{*,**,***} Thelma Canto Cetina,^{****} Luz Berenice López Hernández,^{**,***} Ramón Mauricio Coral Vázquez,^{***,1} Patricia Canto Cetina^{**,***}

RESUMEN

La preeclampsia es una enfermedad específica del embarazo que se distingue por presión arterial elevada y proteinuria después de la vigésima semana de embarazo, en la cual los componentes etiológicos pueden variar dependiendo de la población. Se ha propuesto que existen factores genéticos predisponentes, ya que algunos estudios de asociación sugieren que los polimorfismos en genes que codifican para diversos factores implicados en la regulación de la presión arterial participan en el origen de este síndrome, como: MTHFR, AGT, ACE, GSTP1, eNOS, TNF- α e IL-6, entre otros. La mayor parte de estos estudios se ha llevado a cabo principalmente en poblaciones sajonas y asiáticas con resultados diversos, lo que sugiere que sí existe relación entre los polimorfismos y el grupo étnico. El objetivo principal de esta revisión es mostrar el papel que juegan los factores genéticos en la preeclampsia, y los estudios realizados en población mestiza mexicana.

Palabras clave: preeclampsia, polimorfismos, mestizas mexicanas, mestizas mayas.

ABSTRACT

Preeclampsia, a common complication of pregnancy, is characterized by elevated blood pressure and proteinuria developing after 20 weeks of gestation, in which the etiological components may vary in different populations. Susceptibility to preeclampsia is believed to have a genetic component, as several studies have reported associations between polymorphisms of different genes such as MTHFR, AGT, ACE, GSTP1, eNOS, TNF- α , IL-6, and others. However, most of the studies have been performed on populations of European and Asian ancestry with varying results; this suggests a possible relationship between polymorphisms and ethnic groups in the different populations studied. The aim of this review is to show the role of the genetics factors in preeclampsia, as well as studies performed in Mexican-Mestizo women with this syndrome.

Key words: preeclampsia, polymorphisms, Mexican-Mestizo women, Mayan-Mestizo women.

* Doctorado en genética humana, Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Guadalajara Jalisco, México.

** División de Investigación Biomédica.

*** Subdirección de Enseñanza e Investigación. Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE, México, DF.

**** Laboratorio de Biología de la Reproducción, Departamento de Salud Reproductiva y Genética, Centro de Investigaciones Regionales Dr. Hideyo Noguchi, Mérida Yucatán, México.

¹ Sección de posgrado, Escuela Superior de Medicina, IPN, México, DF.

Correspondencia: Dra. Patricia Canto. División de Investigación Biomédica, CMN 20 de Noviembre. San Lorenzo 502, 2º piso, colonia del Valle, CP 03100, México, DF, México. Correo electrónico: ipcanto@yahoo.com.mx

Recibido: julio, 2011. Aceptado: agosto, 2011.

Este artículo debe citarse como: Valencia-Villalvazo EY, Canto-Cetina T, López-Hernández LB, Coral-Vázquez RM, Canto-Cetina P. Avances de la genética de la preeclampsia. Rev Esp Med Quir 2011;16(3):163-168.

La preeclampsia es un síndrome multisistémico de severidad variable, específico del embarazo, que se manifiesta generalmente a partir de la semana 20 de embarazo, durante el parto o en las primeras dos semanas después de éste. Se distingue por aumento de la presión arterial (elevación de la presión sanguínea gestacional), acompañado de proteinuria. Se define como elevación de la presión sanguínea gestacional cuando la sistólica es mayor o igual a 140 mmHg o la diastólica es mayor o igual a 90 mmHg en una mujer que fue normotensa antes de las 20 semanas de embarazo. Es recomendable que la elevación de la presión arterial se defina con base en cuando menos dos determinaciones.¹ La proteinuria se define como la excreción urinaria de más de 0.3 g de proteínas en 24 horas, que equivale a más de 30 mg/dL ($\geq 1+$ por tira reactiva) en una muestra al azar. En ausencia de pro-

teinuria, se debe sospechar fuertemente la enfermedad cuando la hipertensión se acompaña de: dolor de cabeza, visión borrosa, dolor abdominal o resultados anormales de laboratorio, como trombocitopenia y concentraciones anormales de enzimas hepáticas.¹⁻⁴ Aún se desconoce mucho sobre este síndrome y su origen, aunque se sabe que aumenta el riesgo de parto prematuro, cesárea de urgencia o bajo peso al nacer, con el consiguiente incremento de la morbilidad y la mortalidad infantiles.

Se sugiere que en la patogenia de la preeclampsia intervienen polimorfismos en genes que codifican para diferentes factores; estos genes pueden ser maternos o fetales y cada alteración genética puede categorizarse según su papel en el origen de la enfermedad. Los trabajos de asociación de diversos polimorfismos y la preeclampsia son múltiples y arrojan resultados diversos; la mayor parte de estos estudios se ha realizado principalmente en poblaciones sajonas y asiáticas. Entre los genes analizados se encuentran los relacionados con la hipertensión, los genes reguladores del sistema inmunológico y los genes implicados con el estrés oxidativo, entre otros; sin embargo, los resultados son variables, lo que sugiere que existe relación entre los polimorfismos y los grupos étnicos de las diferentes poblaciones estudiadas.

El objetivo principal de esta revisión es mostrar el papel que juegan los factores genéticos en la aparición de la preeclampsia, así como los estudios realizados en población mestiza mexicana.

POLIMORFISMOS EN GENES QUE REGULAN LA PRESIÓN ARTERIAL

Se ha descrito que las mujeres con preeclampsia con concentraciones plasmáticas elevadas de homocisteína experimentan cambios metabólicos y vasculares que pueden dar lugar a infartos placentarios y abortos espontáneos recurrentes.⁵ Asimismo, se ha sugerido que la hiperhomocisteinemia probablemente es causada por el polimorfismo C-677T (p.A222V) de la 5,10-metilen tetrahidrofolato reductasa (MTHFR), y que la homocigocidad TT para la sustitución C-677T da lugar a la reducción de la actividad de la enzima, lo que hace a la proteína más lábil.⁶ No obstante, los estudios de asociación entre dicho polimorfismo de MTHFR y la preeclampsia realizados en diversas poblaciones,^{7,8} in-

cluso en mujeres de origen étnico mestizo mexicano,⁹ muestran resultados contradictorios.

Se tomó en consideración que en México la población tiene un acervo genético distinto determinado por el mestizaje que se dio entre las etnias mexicanas con los españoles y algunos grupos de origen africano,¹⁰ para llevar a cabo un estudio de asociación entre el polimorfismo C-677T de la MTHFR y la preeclampsia en mujeres de origen étnico mestizo maya.¹¹ En forma interesante, se encontró una relación protectora inversa a lo descrito en la bibliografía de dicho polimorfismo, considerando el alelo T de riesgo en el modelo recesivo, la cual fue significativa ($p < 0.017$). Estos resultados podrían deberse a un efecto de la modificación de alelos aún desconocidos de otros genes presentes en esta población, así como a otros factores ambientales.¹¹ Este fenómeno de asociación inversa se ha descrito previamente en enfermedades, como la leucemia linfoblástica y el cáncer colorrectal.^{12,13}

Otros genes que regulan la presión arterial son el angiotensinógeno y el gen que codifica para la enzima convertidora de angiotensina. El angiotensinógeno es uno de los principales componentes del sistema renina-angiotensina-aldosterona, el cual contribuye con la homeostasia del sistema cardiovascular, regula el volumen de líquidos corporales y desempeña un papel importante en el remodelamiento vascular.¹⁴ El angiotensinógeno se expresa en el hígado y es dividido por la enzima renina en respuesta a presiones sanguíneas bajas. El producto resultante, la angiotensina I, es entonces escindido por la enzima convertidora de angiotensina para generar la enzima angiotensina II, que es un potente vasoconstrictor que estimula la aldosterona.¹⁵ En la última década, diversos estudios han sugerido que los polimorfismos en el angiotensinógeno participan en la fisiopatología de la preeclampsia, la variante M235T es una de las más analizadas en relación con este síndrome,^{16,17} aunque también se han descrito estudios realizados en mujeres de poblaciones diversas, en los cuales no se encontró asociación entre M235T y la preeclampsia.^{18,19}

También se ha relacionado la presencia o ausencia de un fragmento de 287 pares de bases de repetición Alu en la enzima convertidora de angiotensina con las concentraciones de enzima circulante y con la fisiopatología cardiovascular; por lo que este mecanismo debe conside-

rarse un factor de riesgo de preeclampsia.²⁰ La variante más estudiada de enzima convertidora de angiotensina en relación con este padecimiento es el fragmento de inserción/delección (I/D), el cual se ha sugerido que afecta el flujo útero-placentario y, de esta forma, se vincula con la recurrencia de embarazos adversos;²¹ sin embargo, al igual a lo descrito para otros polimorfismos en otros genes, los resultados de la asociación son contradictorios y dependen de la población de estudio y la ubicación geográfica.^{22,23}

GENES QUE PARTICIPAN EN LA REGULACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo juega un papel importante en la fisiopatología de la preeclampsia.²⁴ La familia de enzimas que pertenecen a glutatión S transferasas (GSTs) cataliza la adición nucleofílica del glutatión a numerosos componentes electrofílicos. Asimismo, las GSTs participan en la protección de las células en contra de los efectos citotóxicos de numerosos componentes electrofílicos.²⁵ Un polimorfismo común en el gen de la GSTP1 es el A-313G (p.I105V), el cual, en su forma homocigota para GG, se ha vinculado con la reducción de la actividad catalítica de la enzima y con la manifestación de la preeclampsia.²⁶

Al igual que lo observado en el polimorfismo del gen MTHFR, este grupo de investigación encontró una asociación protectora significativa inversa a lo descrito en la bibliografía con respecto a la susceptibilidad de padecer preeclampsia, considerando el alelo G de riesgo ($p < 0.013$).¹¹ De forma semejante, este genotipo se ha relacionado con un pronóstico favorable después de la quimioterapia con medicamentos que son específicos GSTP1-sustratos en una variedad de cánceres, como leucemia linfoblástica aguda pediátrica, mieloma y linfoma de Hodgkin.²⁷⁻²⁹

Se ha descrito que la activación endotelial-disfunción es una característica central de la preeclampsia.³⁰ El óxido nítrico (ON) induce vasodilatación, inhibe la agregación plaquetaria y evita la adhesión de las plaquetas a las células endoteliales.³¹ La ON sintasa endotelial (eNOS) es la enzima que genera óxido nítrico en los vasos sanguíneos y regula la función vascular, por lo que juega un papel protector de las células endoteliales.³² Con respecto a la eNOS, existen diversos polimorfismos,

de los cuales tres son los más estudiados en relación con la preeclampsia: el -786T→C en el promotor, las repeticiones en tándem de 27 pares de bases en el intrón 4, y Glu298Asp (E298D) en el exón 7;³³ sin embargo, los resultados no siempre han sido consistentes y dependen del grupo étnico analizado,^{34,35} por lo que se ha propuesto que pueden ser consecuencia de que el análisis de los genotipos se hace de un solo polimorfismo en lugar de evaluar la asociación de los haplotipos de eNOS con preeclampsia.³⁶

Los estudios de estos polimorfismos indican que modifican la función de la enzima; por ejemplo, estudios *in vitro* han demostrado que el alelo C de la variante -786T→C en el promotor reduce la actividad del mismo.³⁷ Con respecto a la variante de repeticiones en tándem en el intrón 4, se sugiere que los portadores tienen concentraciones más bajas de óxido nítrico en el plasma y una disminución de la expresión de la proteína.³⁸ Asimismo, se ha descrito que el alelo Asp del polimorfismo Glu298Asp hace a la proteína más lábil;³⁹ sin embargo, algunos estudios no han confirmado los resultados anteriores.⁴⁰

Además, los estudios de asociación entre los haplotipos obtenidos de esos tres polimorfismos en mujeres con preeclampsia de diversos grupos étnicos indicaron una asociación positiva entre algunos de estos haplotipos y el padecimiento.^{35,36} Con base en lo anterior, este grupo de investigación realizó un estudio de asociación entre esos tres polimorfismos y sus haplotipos y la preeclampsia en mujeres de origen mestizo maya.⁴¹ En el modelo recesivo se encontró una asociación significativa entre el alelo 298Asp y la preeclampsia ($p = 0.047$). También se halló una relación, pero más importante, entre un haplotipo obtenido de esos tres polimorfismos y la preeclampsia, la cual se mantuvo significativa después de ajustar por factores de confusión ($p = 2.9 \times 10^{-4}$); por lo que se propone que para esta población de mujeres de origen mestizo maya, los haplotipos de eNOS son un mejor marcador genético para preeclampsia.⁴¹

GENES QUE PARTICIPAN EN EL SISTEMA INMUNOLÓGICO

El factor de necrosis tumoral α (TNF- α) es una citocina proinflamatoria implicada en la patogénesis de un gran

número de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias y en la placentación anormal característica de la preeclampsia.⁴² Los polimorfismos G-308A y C-850T, localizados en el promotor de TNF- α , son los analizados más comúnmente en mujeres de origen caucásico con preeclampsia, con resultados contradictorios.^{43,44} Con base en esos resultados, se realizó un estudio de asociación entre los dos polimorfismos anteriores y la preeclampsia en mujeres de origen mestizo maya; sin embargo, no se encontró ningún vínculo. A pesar de esos resultados, esta población en particular mostró una distribución alélica y de genotipos completamente diferente a la descrita en mujeres de origen caucásico.⁴⁵

Finalmente, otro gen implicado en la génesis de la preeclampsia es la interleucina 6 (IL-6), que codifica para una citocina proinflamatoria, interviene principalmente en la activación inmunitaria, el correcto funcionamiento de la pared vascular y la producción y modulación de TNF- α .⁴⁶ El polimorfismo más estudiado en este gen en relación con la preeclampsia en diferentes poblaciones es el -174G/C localizado en el promotor,⁴⁶ con resultados contradictorios.^{44,47}

CONCLUSIONES

En diversos trabajos se ha estudiado la posible asociación entre la preeclampsia y los polimorfismos en numerosos genes con resultados variables; no obstante, la mayor parte de ellos se ha llevado a cabo principalmente en poblaciones sajonas y asiáticas. Debido a que en México la población tiene un acervo genético distinto determinado por el mestizaje que se dio entre las etnias mexicanas con los españoles y algunos grupos de origen africano,¹⁰ es importante efectuar la búsqueda de polimorfismos implicados en la preeclampsia en dicha población. Lo anterior se refuerza con los resultados obtenidos en los estudios de asociación de polimorfismos en diversos genes realizados en mujeres con preeclampsia de origen mestizo maya, en las cuales se observa que la distribución alélica y genotípica, y la asociación de los polimorfismos con preeclampsia, fueron diferentes a lo descrito en la población de origen caucásico y asiático.^{11,41,45}

Sin embargo, para confirmar estos hallazgos, es necesario llevar a cabo otros estudios de asociación

transversales y prospectivos en diversas poblaciones mestizas mexicanas y mexicanas con un componente genético indígena principal.

Los resultados contradictorios de los estudios de asociación analizados en esta revisión podrían deberse a que los polimorfismos participan en la manifestación de la preeclampsia, junto con otros factores genéticos y ambientales aún por determinar.

REFERENCIAS

1. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:S1-S22.
2. Brown MA, Hague WM, Higgins J, Lowe S, et al. The detection, investigation and management of hypertension in pregnancy: executive summary. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2000;40:133-138.
3. Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of HELLP syndrome. *Obstet Gynecol* 2004;103:981-991.
4. Sibai BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;102:181-192.
5. Vollset SE, Refsum H, Irgens LM, Emblem BM, et al. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine study. *Am J Clin Nutr* 2000;71:962-968.
6. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10:111-113.
7. Kosmas IP, Tatsioni A, Ioannidis JP. Association of C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene with hypertension in pregnancy and preeclampsia: a meta-analysis. *J Hypertens* 2004;22:1655-1662.
8. Kobashi G, Yamada H, Asano T, Nagano S, et al. Absence of association between a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and preeclampsia in Japanese women. *Am J Med Genet* 2000;93:122-125.
9. Dávalos IP, Morán MC, Martínez-Abundis E, González-Ortiz M, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and factor V Leiden variant in Mexican women with preeclampsia/eclampsia. *Blood Cells Mol Dis* 2005;35:66-69.
10. Lisker R, Ramírez E, Pérez-Briceño R, Granados J, Babin-sky V. Gene frequencies and admixture estimates in four Mexican urban centers. *Hum Biol* 1990;62:791-801.
11. Canto P, Canto-Cetina T, Juárez-Velázquez R, Rosas-Vargas H, et al. Polymorphisms C-677T of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase and A-313G of glutathione s-transferase P1 are associated with preeclampsia in Maya-Mestizo women. *Hypert Res* 2008;31:1015-1019.
12. Hubner RA, Houlston RS. MTHFR C677T and colorectal cancer risk: A meta-analysis of 25 populations. *Int J Cancer* 2006;120:1027-1035.
13. Zintzaras E, Koufakis T, Ziakas PD, Rodopoulou P, et al. A meta-analysis of genotypes and haplotypes of methylene-

- tetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Epidemiol* 2006;21:501-510.
14. Morgan T, Ward K. New insights into the genetics of preeclampsia. *Semin Perinatol* 1999;23:14-23.
15. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343-1346.
16. Zafarmand MH, Nijdam ME, Franx A, Grobbee DE, Bots ML. The angiotensinogen gene M235T polymorphism and development of preeclampsia/eclampsia: a meta-analysis and meta-regression of observational studies. *J Hypertens* 2008;26:1726-1734.
17. Zafarmand MH, Franx A, Sabour S, van der Schouw YT, et al. The M235T variant of the angiotensinogen gene is related to development of self-reported hypertension during pregnancy: the Prospect-EPIC cohort study. *Hypertens Res* 2008;31:1299-1305.
18. Bashford MT, Hefler LA, Vertrees TW, Roa BB, Gregg AR. Angiotensinogen and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms among Hispanic patients with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1345-1350.
19. Jenkins LD, Powers RW, Cooper M, Gallaher MJ, et al. Preeclampsia risk and angiotensinogen polymorphisms M235T and AGT -217 in African American and Caucasian women. *Reprod Sci* 2008;15:696-701.
20. Podymow T, August P. Hypertension in pregnancy. *Adv Chronic Kidney Dis* 2007;14:178-190.
21. Mello G, Parretti E, Gensini F, Sticchi E, et al. Maternal-fetal flow, negative events, and preeclampsia: role of ACE I/D polymorphism. *Hypertension* 2003;41:932-937.
22. Medica I, Kastrin A, Peterlin B. Genetic polymorphisms in vasoactive genes and preeclampsia: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007;131:115-126.
23. Li H, Ma Y, Fu Q, Wang L. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion (ACE I/D) and angiotensin II type 1 receptor (AT1R) gene polymorphism and its association with preeclampsia in Chinese women. *Hypertens Pregnancy* 2007;26:293-301.
24. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1359-1375.
25. Zusterzeel PL, Peters WH, De Bruyn MA, Knapen MF, et al. Glutathione S-transferase isoenzymes in decidua and placenta of preeclamptic pregnancies. *Obstet Gynecol* 1999;94:1033-1038.
26. Zusterzeel PL, Visser W, Peters WH, Merkus HW, et al. Polymorphism in the glutathione S-transferase P1 gene and risk for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2000;96:50-54.
27. Stanulla M, Schrappe M, Brechlin AM, Zimmermann M, Welte K. Polymorphisms within glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and risk of relapse in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: a case-control study. *Blood* 2000;95:1222-1228.
28. Dasgupta RK, Adamson PJ, Davies FE. Polymorphic variation in GSTP1 modulates outcome following therapy for multiple myeloma. *Blood* 2003;102:2345-2350.
29. Hohaus S, Di Ruscio A, Di Febo A, Massini G, et al. Glutathione S-transferase P1 genotype and prognosis in Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res* 2005;11:2175-2179.
30. Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, et al. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:1200-1204.
31. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet* 1987;2:1057-1058.
32. Wang Y, Gu Y, Zhang Y, Lewis DF. Evidence of endothelial dysfunction in preeclampsia: decreased endothelial nitric oxide synthase expression is associated with increased cell permeability in endothelial cells from preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:817-824.
33. Sandrim VC, Palei AC, Sertorio JT, Cavalli RC, et al. Effects of eNOS polymorphisms on nitric oxide formation in healthy pregnancy and in pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod* 2010;16:506-510.
34. Landau R, Xie HG, Dishy V, Wood AJ, et al. No association of the Asp298 variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with preeclampsia. *Am J Hypertens* 2004;17:391-394.
35. Serrano NC, Casas JP, Díaz LA, Páez C, et al. Endothelial NO synthase genotype and risk of preeclampsia: a multicenter case-control study. *Hypertension* 2004;44:702-707.
36. Sandrim VC, Palei AC, Cavalli RC, Araújo FM, et al. eNOS haplotypes associated with gestational hypertension or preeclampsia. *Pharmacogenomics* 2008;9:1467-1473.
37. Miyamoto Y, Saito Y, Nakayama M, Shimasaki Y, et al. Replication protein A1 reduces transcription of the endothelial nitric oxide synthase gene containing a -786T3C mutation associated with coronary spastic angina. *Hum Mol Genet* 2000;9:2629-2637.
38. Wang XL, Sim AS, Wang MX, Murrell GA, et al. Genotype dependent and cigarette specific effects on endothelial nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *FEBS Lett* 2000;471:45-50.
39. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A, et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298-->Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation* 1999;100:1515-1520.
40. Yoon Y, Song J, Hong SH. Plasma nitric oxide concentrations and nitric oxide synthase gene polymorphisms in coronary artery disease. *Clin Chem* 2000;46:1626-1630.
41. Díaz-Olguín L, Coral-Vázquez RM, Canto-Cetina T, Canizales-Quinteros S, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes are associated with preeclampsia in Mayamestizo women. *Dis Mark* 2011;in press.
42. Bauer S, Pollheimer J, Hartmann J, Husslein P, et al. Tumor necrosis factor-alpha inhibits trophoblast migration through elevation of plasminogen activator inhibitor-1 in first-trimester villous explant cultures. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:812-822.
43. Saarela T, Hiltunen M, Helisalmi S, Heinonen S, Laakso M. Tumour necrosis factor-alpha gene haplotype is associated with preeclampsia. *Mol Hum Reprod* 2005;11:437-440.
44. Stonek F, Hafner E, Metzenbauer M, Katharina S, et al. Absence of an association of tumor necrosis factor (TNF)-alpha G308A, interleukin-6 (IL-6) G174C and interleukin-10 (IL-10) G1082A polymorphism in women with preeclampsia. *J Reprod Immunol* 2008;77:85-90.

45. Canto-Cetina T, Canizales-Quinteros S, de la Chesnaye E, Coral-Vázquez R, et al. Analysis of C-850T and G-308A polymorphisms of the tumor necrosis factor- α gene in Maya-Mestizo women with preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2007;26:283-291.
46. Pfab T, Chen YP, Slowinski T, Richter CM, et al. Impact of genes related to immune tolerance and inflammation (tumour necrosis factor- α , interleukin-6) on blood pressure, protein excretion and oedema in pregnancy. *J Hypertens* 2005;23:2187-2191.
47. Saarela T, Hiltunen M, Helisalmi S, Heinonen S, Laakso M. Polymorphisms of interleukin-6, hepatic lipase and calpain-10 genes, and preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006;128:175-179.