



Comparación de las concentraciones séricas maternas de quimasa en pacientes con y sin preeclampsia

Lara-Ávila L,¹ Herrera-Salazar A,¹ Morgan-Ortiz F,¹ Medina-Bastidas D,² Arámbula-Meráz E,² Osuna-Ramírez I²

Resumen

ANTECEDENTES: se ha demostrado la actividad angiogénica de la quimasa y su capacidad para estimular la proliferación vascular, similar a la del factor de crecimiento endotelial vascular. Durante el embarazo se eleva la actividad enzimática de la quimasa en suero de mujeres con y sin preeclampsia.

OBJETIVO: evaluar las diferencias en las concentraciones séricas de quimasa en pacientes con preeclampsia *versus* embarazadas normotensas, y estimar su utilidad como un marcador bioquímico de la enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS: estudio de casos y controles en el que se analizó, con ELISA, la concentración de quimasa en suero materno de pacientes con preeclampsia (grupo de casos) *versus* embarazadas sanas (grupo control) pareadas por edad gestacional, edad materna y número de embarazos. Como variable de interés se compararon las concentraciones séricas de quimasa en pacientes con preeclampsia, según la coexistencia o no de criterios de severidad de la enfermedad.

RESULTADOS: se asignaron 15 pacientes por grupo. La media de concentración de quimasa del grupo de casos fue de 4.38 vs 1.2 ng/dL del control ($p=0.006$), con diferencias estadísticamente significativa entre los grupos. Al comparar al grupo de casos de acuerdo con los criterios de severidad de la preeclampsia no se encontraron diferencias significativas entre los grupos; con promedio de concentración sérica de 5.5 ng/dL ($DE \pm 4.7$) en el grupo sin criterios de severidad y de 3.6 ng/dL ($DE \pm 2.9$) con criterios de severidad ($p=.342$).

CONCLUSIONES: las concentraciones séricas de quimasa se encuentran significativamente más elevadas en pacientes con preeclampsia que en mujeres con embarazos sin hipertensión.

PALABRAS CLAVE: preeclampsia, quimasa, quimasa, embarazo, hipertensión.

¹Departamento de Ginecología y Obstetricia, Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Sinaloa, Hospital Civil de Culiacán.

²Maestría en Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, México.

Recibido: enero 2016

Aceptado: marzo 2016

Correspondencia

Dr. Fred Morgan Ortiz
Eustaquio Buelna 91
80030 Culiacán, Sinaloa, México
fmorganortiz@hotmail.com

Este artículo debe citarse como

Lara-Ávila L, Herrera-Salazar A, Morgan-Ortiz F, Medina-Bastidas D, Arámbula-Meráz E, Osuna-Ramírez I. Comparación de las concentraciones séricas maternas de quimasa en pacientes con y sin preeclampsia. Ginecol Obstet Mex. 2016 jun;84(6):354-360.



Ginecol Obstet Mex. 2016 Jun;84(6):354-360.

Comparison of maternal serum level of chymase in patients with and without preeclampsia

Lara-Ávila L,¹ Herrera-Salazar A,¹ Morgan-Ortiz F,¹ Medina-Bastidas D,² Arámbula-Meráz E,² Osuna-Ramírez I²

Abstract

BACKGROUND: Recently, the angiogenic activity of chymase and its ability to promote similar to the vascular endothelial growth factor vascular proliferation was demonstrated. During pregnancy, it has been reported elevated enzyme activity of chymase in serum of women with and without preeclampsia.

OBJECTIVE: To evaluate whether there are differences in serum chymase among women with preeclampsia and healthy pregnant women and its usefulness as a biochemical marker of disease.

MATERIAL AND METHODS: It was conducted study of cases and controls, in which the concentration of chymase was analyzed with ELISA in maternal serum of 15 patients with preeclampsia (cases) and 15 healthy pregnant women (controls) matched for gestational age, maternal age and number of pregnancies. Serum chymase in patients with preeclampsia according to the presence or absence of severity criteria was compared.

RESULTS: The mean in the case group was 4.38 ng / dl and 1.2 ng / dl in the control group ($p = 0.006$) were statistically significant differences between groups. When making a comparison between the case group according to the presence of criteria of severity of preeclampsia were no significant differences between groups with an average serum level of 5.5 ng (SD: 4.7) were found in the group without criteria of severity and of 3.6ng (SD: 2.9) in patients with severity criteria ($p=.342$).

CONCLUSIONS: Serum levels of chymase are significantly higher in patients with preeclampsia than in patients with pregnancies without hypertension.

KEY WORDS: Preeclampsia, chymase; pregnancy; hypertension

¹ Departamento de Ginecología y Obstetricia, Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Sinaloa, Hospital Civil de Culiacán.

² Maestría en Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, México.

Correspondencia

Dr. Fred Morgan Ortiz
Eustaquio Buelna 91
80030 Culiacán, Sinaloa, México
fmorganortiz@hotmail.com

ANTECEDENTES

La mayor parte de los resultados adversos del embarazo, como la preeclampsia y la restricción del crecimiento intrauterino, tienen un origen común: alteración en el desarrollo placentario

temprano (invasión trofoblástica deficiente al interior de las arterias espirales, vasoconstricción, aumento del estrés oxidativo, etc.).¹

El entendimiento de las bases moleculares de estas alteraciones ha tenido grandes progresos,

principalmente los relacionados con las vías moleculares fisiopatológicas que originan la preeclampsia, como el estudio de los factores angiogénicos (factor de crecimiento placentario) y antiangiogénicos (sFlt-1 y endoglin soluble) derivados de la placenta y que pueden provocar disfunción vascular sistémica.^{1,2}

La quimasa es una serina proteasa similar a la quimiotripsina encontrada en los mastocitos y ampliamente expresada en los tejidos humanos.² La quimasa, por la vía no enzimática de la enzima convertidora de angiotensina (No-ECA), convierte la angiotensina I (Ang-I) en angiotensina II (Ang-II). Debido a la relación de la quimasa con otras sustancias reguladoras del endotelio, como la endotelina-1 (ET-1), se sugiere su posible participación en la respuesta presora de la vasculatura materna y, por lo tanto, en la fisiopatogenia de la preeclampsia.³⁻⁶

Los estudios de cultivos celulares en tejido de miometrio, placenta y cordón umbilical demuestran mayor actividad del sistema quimasa-endotelina-1 en el miometrio de mujeres con embarazo complicado con preeclampsia severa, comparado con el de mujeres embarazadas sanas.^{5,7}

El tejido placentario no solo es capaz de producir diversos agentes vasoactivos (Ang-II,⁸⁻¹⁰ tromboxano¹¹⁻¹³ y endotelina^{14,15}), sino también posee receptores para cada uno de ellos, que aseguran que la actividad vasomotora de la placenta se controle de manera autocrina o paracrina. Los vasoconstrictores producidos por la placenta de mujeres con preeclampsia pueden inducir constricción de las arterias de la placa coriónica. La quimostatina, un inhibidor específico de la quimasa, ejerce un efecto inhibitor más fuerte que el captopril (un inhibidor específico de la enzima convertidora de angiotensina), con notorio incremento de la vasoactividad de las arterias en la placa coriónica inducidas por estímulos

en la placenta, con medio acondicionado de preeclampsia.¹⁶

La quimasa es una enzima con gran potencial para producir angiotensina, incluso se ha demostrado que origina de 70 a 80% de la angiotensina II (Ang-II) en el corazón humano.^{17,18} El gen de quimasa es activo en la placenta.¹⁹ Sorprendentemente, el marco de lectura abierto del gen de quimasa en el trofoblasto es 100% homólogo al descrito en el corazón humano,^{17,19} lo que sugiere que esta enzima puede tener función importante en la generación y regulación de la reactividad vascular placentaria para su conversión en Ang-II durante el embarazo. La Ang-I y Ang-II están presentes en la placenta; además, la unidad útero-placentaria posee todos los componentes necesarios del sistema renina-angiotensina.^{8,10}

Existe un incremento en la expresión de moléculas de adhesión P-selectina, E-selectina, VCAM-1 y de la inducción de fosforilación por la vía ERK, dependientes de quimasa en cultivos celulares con suero de mujeres con preeclampsia; por tanto, puede considerarse la enzima responsable de inducir el fenotipo inflamatorio endotelial vascular en estas mujeres.²⁰ Así mismo se ha demostrado que la proteína de unión endotelial específica VE-cadherina, se encuentra con distribución desorganizada durante la inflamación del endotelio vascular en pacientes con preeclampsia, efecto ligado al incremento de actividad de la proteasa PAR-2 mediante la vía de la quimasa.²¹

La quimasa y el inhibidor de metaloproteasas también pueden inducir la liberación del receptor soluble del factor de crecimiento vascular (sFlt-1), implicado en la patogénesis de la preeclampsia.^{1,22} Un estudio que determinó las concentraciones séricas de quimasa en pacientes con preeclampsia reportó aumento significativo de la actividad de la enzima en suero materno.³



El objetivo de este estudio es evaluar la concentración sérica materna de quimasa mediante un anticuerpo específico para esta enzima en pacientes con y sin preeclampsia, además de estimar su utilidad como marcador bioquímico.

MATERIAL Y METODOS

Estudio observacional, longitudinal, retrospectivo y comparativo, efectuado en pacientes con preeclampsia que acudieron a la Unidad de Tococirugía del Hospital Civil de Culiacán para finalización del embarazo. Se determinó la concentración de quimasa en suero materno. El grupo de casos lo conformaron las pacientes con preeclampsia y el grupo control las pacientes embarazadas con presión arterial normal, sin enfermedad materna previa conocida. Las pacientes del grupo control fueron pareadas por edad materna y número de embarazos. Los criterios de inclusión fueron: pacientes con hipertensión arterial igual o mayor de 140/90 mmHg en dos tomas consecutivas, con diferencia de 4 a 6 horas entre una y otra, concomitante con proteinuria (++ o más cruces) y determinada en dos muestras aleatorias: la primera al momento de ingresar a la sala de trabajo de parto y la segunda después de 4 horas de su ingreso. Las pacientes firmaron el consentimiento informado para participar en el estudio. También se evaluó la presencia o ausencia de criterios de severidad de hipertensión como: cefalea intensa, acúfeno, fosfeno, dolor epigástrico en barra, concentración de plaquetas por debajo de 100,000/mm³, elevación de enzimas hepáticas (aspartato amino-transferasa \geq 70 UI/L, alanino amino-transferasa \geq 40 UI/L y deshidrogenasa láctica \geq 600 UI/L), creatinina $>$ 1.2 mg/dL, edema pulmonar agudo y oliguria (gasto urinario $<$ 25 mL/h o volumen $<$ 500 mL/24 h de orina). Las muestras de sangre periférica se obtuvieron antes de la interrupción del embarazo y 4 horas máximo después del parto. La muestra de sangre se colectó en tubos con anticoagulante y el plasma se congeló a -80°C.

La determinación de quimasa en suero se realizó mediante inmuno-ensayo enzimático específico para quimasa en un lector de micro-placas de ELISA (ELISA, USCN *lifescience inc*). El estudio fue aprobado y registrado por el comité de ética del Hospital Civil de Culiacán.

Para el análisis de los datos se utilizó estadística descriptiva, mediante el cálculo de medias para variables numéricas y de proporciones para variables categóricas. Las variables categóricas se analizaron con la prueba de χ^2 y la comparación de medias con la t de Student para muestras dependientes. Se consideró con significación estadística la $p \leq 0.05$. Los datos se analizaron con el programa *Epi-info*, versión 6.04.

RESULTADOS

Se registraron 30 pacientes, 15 asignadas al grupo de casos y 15 al grupo control. La edad promedio fue de 25.3 (DE \pm 6.5) vs 25.4 años (DE \pm 6.5), respectivamente; no se observaron diferencias significativas entre los grupos ($p=.977$).

El índice de masa corporal (IMC) promedio fue de 26.7 kg/m²SC (DE \pm 4.6) para el grupo de casos y de 24.7 kg/m²SC (DE \pm 4.4) para el grupo control ($p=.235$). La distribución por grupos para IMC fue normal en 40 y 60%, con sobrepeso en 40 y 26.6% y con obesidad en 20 y 13.3%, respectivamente ($p=.595$). No se encontraron diferencias en la ocupación ni el grado de escolaridad ($p=.720$); la frecuencia de tabaquismo (.464) y alcoholismo (.648) fue similar en ambos grupos (Cuadro 1).

En cuanto a las características obstétricas, el promedio de número de embarazos fue de 3.0 (DE \pm 2.4) y 2.2 (DE \pm 1.1), en el grupo de casos y control ($p=.299$), respectivamente. La paridad fue similar en ambos grupos ($p=.881$). El antecedente de uno o más abortos fue similar, con 26.6% para los dos grupos ($n=4$ en cada uno; $p=.249$). La frecuencia de cesárea previa

Cuadro 1. Características generales por grupo de estudio

Características	Preeclampsia n (%)	Controles n (%)	p
Edad (media y DE)	25.3 ± 6.5	25.4 ± 6.5	0.977 [§]
IMC (media y DE)	26.7 ± 4.6	24.7 ± 4.4	0.235 [§]
IMC por grupo			0.595 [§]
Peso normal	6 (40%)	9 (60%)	
Sobrepeso	6 (40%)	3 (26.6%)	
Obesidad	3 (20%)	2 (13.3%)	
Ocupación			.595.595
Ama de casa	13 (93.3%)	12 (86.6%)	
otro	2 (7.7%)	3 (14.4%)	
Tabaquismo			0.464 [§]
Sí	4 (26.6%)	2 (13%)	
No	11 (73.3%)	13 (87%)	
Alcoholismo			0.648 [§]
Sí	2 (13%)	0	
No	13 (87%)	15 (100%)	

[§] t Student para muestras independientes; [§] χ^2

fue similar entre los grupos (53.3%; $p=.835$). El antecedente de preeclampsia en embarazo previo sólo se registró en el grupo de casos (26.6% [$n=4$]; $p=.107$).

El promedio de parejas sexuales fue de 1.5 vs 1.6, sin observarse diferencias significativas entre los grupos ($p=.793$): 40% ($n=6$) de los casos con 2 o más parejas sexuales versus 53.3% ($n=8$) del control. El tiempo promedio de cohabitación sexual con la pareja actual, responsable del embarazo índice, fue de 6.8 años en el grupo de casos y de 4.6 en el control ($p=.217$).

De acuerdo con la severidad de la preeclampsia, se registraron 40 vs 60% de pacientes con y sin criterios de severidad (control vs casos), respectivamente. El promedio de edad gestacional al momento del diagnóstico de preeclampsia fue de 36.4 semanas ($DE \pm 4.3$). La vía de finalización del embarazo por cesárea fue de 80 vs 66% del grupo de casos y control, respectivamente ($p=.679$).

En cuanto a los resultados perinatales, no se encontraron diferencias en el género de los recién nacidos de ambos grupos ($p=.709$). El peso promedio de los neonatos fue de 3011.7 ($DE \pm 734$) vs 3144.6 g ($DE \pm 333$), respectivamente; sin registrar diferencias significativas entre los grupos ($p=.528$). El promedio de edad gestacional fue de 37.6 ($DE \pm 1.6$) semanas en el grupo de casos y de 39 semanas ($DE \pm 1.0$) en el control, con diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p=.008$).

El promedio de la concentración de quimasa al término del embarazo fue de 4.3 ng/dL ($DE \pm 3.7$) vs 1.2 ng/dL ($DE \pm 0.7$) de las pacientes con y sin preeclampsia, respectivamente, con diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p=.006$). Al realizar el análisis de eficacia diagnóstica de las concentraciones séricas de quimasa al finalizar el embarazo se encontró sensibilidad de 80%, especificidad de 66.6%, valor predictivo positivo de 70.5% y negativo de 73.3%. La eficacia global de la prueba fue de 73.3% (Cuadro 2).

De acuerdo con la severidad de la preeclampsia, las concentraciones de quimasa fueron de 5.5 ($DE \pm 4.7$) vs 3.6 ng/dL ($DE \pm 2.9$) en las pacientes sin y con criterios de severidad, respectivamente, sin registrar diferencias significativas entre los grupos ($p=.342$).

Cuadro 2. Eficacia de la determinación de las concentraciones de quimasa al finalizar el embarazo, para establecer el diagnóstico de preeclampsia

Resultado de quimasa	Casos	Control	Total
≥ 1.15 ng/dL (+)	12	5	17
< 1.15 ng/dL	3	10	13
	15	15	30

Sensibilidad: 80%; especificidad: 66.6%; valor predictivo positivo: 70.5%, valor predictivo negativo: 76.9%. Eficacia: 73.3%.



DISCUSIÓN

En México, al igual que en el resto del mundo, la preeclampsia representa un gran problema de salud pública debido a su repercusión en el desenlace del binomio madre-hijo, pero principalmente en relación con la muerte materna. Datos recientes estiman que cada año se registran 529,000 defunciones maternas, la mayor parte en países en desarrollo, y un número importante de éstas pudieran evitarse.⁸ Algunas investigaciones han descrito la expresión del gen de quimasa en el tejido trofoblástico.^{5,6} Hasta el momento no existen estudios relacionados con la concentración sérica de quimasa estimada en ng/dL y su asociación con preeclampsia.

En el estudio aquí realizado, mediante la técnica de ELISA y un anticuerpo específico para quimasa, encontramos diferencias significativas en el promedio de las concentraciones séricas de quimasa de pacientes con preeclampsia *versus* embarazadas sanas (4.38 vs 1.2 ng/dL). Nuestros resultados coinciden con el estudio de Wang y su grupo,³ quienes encontraron actividad significativamente más alta de quimasa en suero venoso de pacientes con preeclampsia.³

Al comparar las concentraciones séricas de quimasa en las pacientes con preeclampsia leve y severa, no se encontraron diferencias significativas (5.5 vs 3.6 ng/dL; $p=.342$), lo que permite inferir que tal enzima no muestra relación con la severidad de la enfermedad.

Los anticuerpos inmuno-específicos para quimasa utilizados en este estudio, comparados con los de Wang y sus colaboradores³ quienes utilizaron un sustrato, representan una importante técnica, ya que no se ven afectados por otros factores que pudieran degradar el sustrato y permitir, además, un grado de medición clínicamente reproducible en ng/dL.

Los resultados de esta investigación permiten continuar con la hipótesis de que la fisiopatología de la hipertensión en pacientes con preeclampsia tiene vías alternas a la de la enzima convertidora de angiotensina y pueden indicar que esa vía alterna sea la vía no ECA de quimasa.^{22,23}

CONCLUSION

Las diferencias significativas en las concentraciones séricas de quimasa en pacientes con y sin preeclampsia sugieren alguna función de la enzima dentro de la fisiopatología de la enfermedad, aunque aún no se sabe con precisión cuál pudiera relacionarse con el riesgo o evolución de preeclampsia; no obstante, su asociación con otras sustancias reguladoras del endotelio vascular implicadas en la cascada de los reguladores de la inflamación (angiotensina-II) y que se encuentra elevada en pacientes con preeclampsia, puede sugerir que esta enzima participa en la respuesta presora de la vasculatura materna.²⁴

Durante muchos años se ha insistido en la búsqueda de marcadores séricos para identificar pacientes con riesgo de trastornos hipertensivos durante el embarazo. Las diferencias en las concentraciones séricas de quimasa pueden sugerir que esta enzima se utilice como marcador sérico, ya sea de manera independiente o combinado con otros biomarcadores, incluso para identificar los casos con riesgo de preeclampsia; sin embargo, se requieren estudios adicionales, donde se determine la concentración de quimasa en etapas más tempranas de la enfermedad.

REFERENCIAS

1. Ilekis JV, Tsilou E, Fisher S, Abrahams VM, Soares MJ, Cross JC, et al. Placental origins of adverse pregnancy outcomes: potential molecular targets: an Executive Workshop Summary of the Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development. *Am J Obstet Gynecol* 2016; doi: 10.1016/j.ajog.2016.03.001. [Epub ahead of print]

2. Andraweera PH, Dekker GA, Roberts CT. The vascular endothelial growth factor family in adverse pregnancy outcomes. *Hum Reprod Update* 2012;18(4):436-57.
3. Wang Y, Gu Y, Lewis DF, Alexander JS, Granger DN. Elevated plasma chymotrypsin-like protease (Chymase) activity in women with preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2010;29(3):253-261.
4. Urata H, Kinoshita A, Misono KS, Bumpus FM, Husain A. Identification of a highly specific chymase as the major angiotensin II-forming enzyme in the human heart. *J Biol Chem* 1990;265(36):22348-22357.
5. Wang Y, Alexander JS. Role of chymase in preeclampsia. *Curr Vasc Pharmacol* 2013;11(5):606-15.
6. Wang Y, Gu Y, Lewis D. Endothelial angiotensin II generation induced by placenta-derived factors from preeclampsia. *Reprod Sci* 2008;15(9):932-938.
7. Mitani R, Maeda K, Fukui R, Endo S, Saijo Y, Shinohara K, Kamada M, Irahara M, Yamano S, Nakaya Y, Aono T. Production of human mast cell chymase in human myometrium and placenta in cases of normal pregnancy and preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;101(2):155-60.
8. Nielsen AH, Schauser KH, Poulsen K. Current topic: the uteroplacental renin-angiotensin system. *Placenta* 2000;21(5-6):468-77.
9. Broughton Pipkin F, Craven DJ, Symonds EM. The uteroplacental renin-angiotensin system in normal and hypertensive pregnancy. *Contrib Nephrol* 1981;25:49-52.
10. Taira H, Mizutani S, Narita O, Tomoda Y. Angiotensin I-converting enzyme in human placenta. *Placenta* 1985;6(6):543-9.
11. Walsh SW. Preeclampsia: an imbalance in placental prostacyclin and thromboxane production. *Am J Obstet Gynecol* 1985;152(3):335-40.
12. Nelson DM, Walsh SW. Thromboxane and prostacyclin production by different compartments of the placental villus. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68(3):676-83.
13. Walsh SW, Wang Y. Trophoblast and placental villous core production of lipid peroxides, thromboxane, and prostacyclin in preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80(6):1888-93.
14. Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995; 333:356-63.
15. Le SQ, Wasserstrum N, Mombouli JV, Vanhoutte PM. Contractile effect of endothelin in human placental veins: role of endothelium prostaglandins and thromboxane. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169(4):919-24.
16. Benoit C, Zavec J, Wang Y. Vasoreactivity of chorionic plate arteries in response to vasoconstrictors produced by preeclamptic placentas. *Placenta* 2007;28(5-6):498-504.
17. Urata H, Kinoshita A, Perez DM, Misono KS, Bumpus FM, Graham RM, et al. Cloning of the gene and cDNA for human heart chymase. *J Biol Chem* 1991;266(26):17173-9.
18. Urata H, Boehm KD, Philip A, Kinoshita A, Gabrovsek J, Bumpus FM, et al. Cellular localization and regional distribution of an angiotensin II-forming chymase in the heart. *J Clin Invest* 1993;91(4):1269-81.
19. Wang Y, Gu Y, Zhang Y, Lewis DF, Alexander JS, Granger DN. Increased chymotrypsin-like protease (chymase) expression and activity in placentas from women with preeclampsia. *Placenta* 2007;28(4):26-9.
20. Gu Y, Liu C, Alexander JS, Groome LJ, Yuping Wang. Chymotrypsin-Like Protease (Chymase) mediates endothelial activation by factors derived from preeclamptic placentas. *Reprod Sci* 2009;16(9):905-913.
21. Gu Y, Groome LJ, Alexander JS, Wang Y. PAR-2 triggers placenta-derived protease-induced altered VE-cadherine reorganization at endothelial junctions in preeclampsia. *Placenta* 2012;33(10):803-809.
22. Zhao S, Gu Y, Fan R, Groome LJ, Cooper D, Wang Y. Proteases and sFlt-1 release in the human placenta. *Placenta* 2010;31(6):512-518.
23. Nakano A, Kishi F, Minami K, Wakabayashi H, Nakaya Y, Kido H. Selective conversion of big endothelins to tracheal smooth muscle-constricting 31-amino acid-length endothelins by chymase from human mast cells. *J Immunol* 1997; 159(4):1987-1992.
24. Leik CE, Walsh SW. Neutrophils infiltrate resistance-sized vessels of subcutaneous fat in women with preeclampsia. *Hypertension*. 2004;44(1):72-77.