



Severidad de la preeclampsia y su relacion con volumen plaquetario y ancho de distribucion eritrocitaria

Relation of red cell distribution width and mean platelet volume with the severity of preeclampsia

Jesús Antonio Viana-Rojas,^a Alejandro Rosas-Cabral,^a Jorge Prieto-Macías,^b Ma. Del Carmen Terrones-Saldivar,^a Patricia Arcos-Nogues,^a Julieta Bermúdez-Gómez,^a Lidia Estephane Martínez-Padilla,^a Dario Alejandro Sandoval-Valdez,^a Flavio Hernández González,^a Leopoldo César Serrano-Díaz^c

Introducción: se ha establecido fuertemente la asociación entre el ancho de distribución eritrocitaria (ADE) y el volumen plaquetario medio (VPM) con la hipertensión arterial sistémica. Sin embargo, se han realizado pocos estudios en pacientes con preeclampsia, obteniéndose resultados inconsistentes. Nuestro objetivo es evaluar la relación entre el ADE y el VPM con la severidad de la preeclampsia.

Métodos: incluimos 64 pacientes con preeclampsia (26 leve, 38 severa) y 70 pacientes con embarazo normotenso. Los datos clínicos, características sociodemográficas y valores de laboratorio, incluyendo ADE y VPM, fueron registrados en cada paciente.

Resultados: las medidas de hemoglobina y conteo plaquetario fueron similares entre ambos grupos. Las pacientes con preeclampsia tuvieron niveles de ADE (14.7 ± 1.4 frente a 13.4 ± 0.7 , $p = 0.0001$) y VPM (11.8 ± 2.4 frente a 11.0 ± 1.4 , $p = 0.03$) más elevados que el grupo control. El subgrupo de preeclampsia severa tuvo niveles más elevados de ADE (15.0 ± 1.6 frente a 14.0 ± 0.6 , $p = 0.001$) y VPM (12.7 ± 2.8 frente a 10.8 ± 1.8 , $p = 0.01$) que las pacientes con preeclampsia leve.

Conclusiones: se demuestra que el ADE y el VPM son medidas accesibles asociadas a la severidad de la preeclampsia.

Keywords Palabras clave

Pre-eclampsia	Preeclampsia
Blood platelets	Plaquetas
Pregnancy complications	Complicaciones en el embarazo

Introducción

La preeclampsia es un desorden multisistémico que complica del 2 al 8% de los embarazos.¹ Es la principal causa de mortalidad materna y perinatal en el mundo.^{2,3} Aunque la causa de la preeclampsia es incierta, se reconocen algunos mecanismos patogénicos: el estrés oxidativo, la inflamación, una placenta deficiente, así como factores inmunológicos y antiangiogénicos.

El ancho de distribución eritrocitaria (ADE) -coeficiente de variación del tamaño de los eritrocitos- y el volumen plaquetario medio (VPM) -promedio del tamaño de las plaquetas-, son reportados de manera rutinaria en la biometría hemática; aunque son empleados comúnmente en el diagnóstico diferencial de la anemia y la trombocitopenia, recientemente han sido estudiados como marcadores asociados a mortalidad cardiovascular en pacientes con insuficiencia cardíaca, angina inestable, infarto cardíaco, evento cerebrovascular y en la población general.^{4,5,6,7,8}

Se ha establecido una fuerte asociación entre el ADE y el VPM con la hipertensión arterial sistémica en pacientes sin embarazo;^{9,10,11,12} sin embargo, pocos estudios han sido realizados en pacientes con preeclampsia, obteniéndose resultados inconsistentes.^{13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26} El propósito de este estudio es aumentar el conocimiento acerca de esta asociación, por lo que investigamos la relación entre el ADE y VPM con la severidad de la enfermedad en pacientes con preeclampsia.

Métodos

Población en estudio

Se realizó un estudio transversal y analítico de casos y controles, de marzo de 2014 a junio de 2015, incluimos a 64 pacientes con preeclampsia y 70 pacientes con embarazo normotenso. El diagnóstico de pree-

^aDepartamento de Medicina, Universidad Autónoma de Aguascalientes

^bUnidad de Terapia Intensiva, Hospital General de Zona No. 1, Instituto Mexicano del Seguro Social

^cClínica de Embarazo de Alto Riesgo, Hospital de la Mujer

^{a-c}Aguascalientes, Aguascalientes, México

Comunicación con: Alejandro Rosas Cabral

Teléfono y fax: (449) 910 8440

Correo electrónico: drrosascabral@gmail.com

Background: It has been established a strong association between the red cell distribution width (RDW) and mean platelet volume (MPV) with hypertension in non-pregnant patients. However, few studies have been performed in patients with preeclampsia, yielding inconsistent results. Our aim is to evaluate the relationship between RDW and MPV with the severity of preeclampsia.

Methods: Analytic cross-sectional study. We include 64 patients with preeclampsia (26 mild, 38 severe) and 70 patients with normotensive pregnancy. Clinical data, sociodemographic characteristics and laboratory measures, including RDW and MPV, were recorded for

each patient.

Results: Hemoglobin and platelet count measures were similar between groups. Preeclamptic patients had levels of RDW (14.7 ± 1.4 vs. 13.4 ± 0.7 , $p = 0.0001$) and MPV (11.8 ± 2.4 vs. 11.0 ± 1.4 , $p = 0.03$) more elevated than control group. Moreover, severe preeclamptic subgroup had more elevated levels of RDW (15.0 ± 1.6 vs. 14.0 ± 0.6 , $p = 0.001$) and MPV (12.7 ± 2.8 vs. 10.8 ± 1.8 , $p = 0.01$) in comparison with mild preeclamptic patients.

Conclusions: We demonstrate that RDW and MPV are accessible and inexpensive measures associated with the severity of preeclampsia.

Abstract

clampsia fue realizado con base en los criterios del American College of Obstetricians and Gynecologists del 2002:¹⁷ dos mediciones de tensión arterial sistólica ≥ 140 mm Hg, o de tensión arterial diastólica ≥ 90 mm Hg tomadas con 4 horas de diferencia y una proteína en orina de 24 h ≥ 300 mg.

Clasificamos un caso como preeclampsia severa si cumplía alguno de los siguientes criterios: tensión arterial $\geq 160/110$ mm Hg, edema pulmonar, incremento al doble de la creatinina sérica, oliguria, cuenta plaquetaria < 100 mil, eclampsia, restricción en el crecimiento intrauterino u oligohidramnios. Las pacientes con preeclampsia que no cumplieron ninguno de estos criterios fueron clasificadas como preeclampsia leve. Las pacientes con embarazo múltiple, diabetes mellitus, enfermedad renal, enfermedades autoinmunes, infecciones agudas o crónicas, neoplasias con metástasis a médula ósea, anemia, hemólisis, enfermedades hematológicas, tiroideas y hepáticas conocidas fueron excluidas.

El grupo control consistió en pacientes con embarazo normotenso que cursaban la segunda mitad de su embarazo sin complicaciones. El comité de ética local proporcionó la aprobación del estudio.

Recolección de los datos y toma de muestras de laboratorio

Se evaluó el expediente médico de cada paciente a su ingreso al hospital (casos) o su consulta prenatal (controles) para obtener información relevante sobre su historial obstétrico. Se registró la edad gestacional de cada paciente al momento de la toma de sus exámenes de laboratorio. La medición de la tensión arterial fue realizada al ingreso al hospital (casos) o durante la consulta prenatal (controles). En pacientes con preeclampsia, esta medición fue realizada en dos ocasiones separadas por un periodo de 4 horas; se registró la cifra más elevada.

Se obtuvo sangre venosa de todas las pacientes en el estudio. La medición de hemoglobina, volumen globular medio, ancho de distribución eritrocitario, conteo plaquetario, volumen plaquetario medio, ácido úrico, creatinina, albúmina y proteína en orina de 24 horas fueron llevadas a cabo por el laboratorio de nuestra institución utilizando métodos estandarizados.

Análisis estadístico

Las variables continuas son expresadas como promedio y desviación estándar (DE) en caso de seguir una distribución paramétrica; y como mediana y rango, en caso de seguir una distribución no paramétrica. Las variables categóricas son expresadas en frecuencia y porcentaje (%). Realizamos la comparación de valores continuos entre dos grupos con la prueba *t* de Student o con la prueba de *U* de Mann-Whitney según correspondiera. Las variables categóricas fueron comparadas usando la prueba de Chi cuadrada.

Finalmente, realizamos un análisis de curva ROC (Receiver Operating Characteristic) con el fin de identificar un punto de corte efectivo para el valor de ADE y VPM como predictores de preeclampsia severa.

El análisis estadístico se llevó a cabo con el paquete GraphPad Prism versión 5.0 para Windows.¹⁸ Un valor de $p < 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

Resultados

Comparación entre pacientes con preeclampsia y embarazo normotenso

Incluimos un total de 64 pacientes con preeclampsia y 70 pacientes con embarazo normotenso. Las características iniciales de las pacientes en estudio se

Cuadro I Características basales de 134 pacientes con preeclampsia y embarazo normal

Parámetro	Casos (n = 64)	Controles (n = 70)	p
Edad (años)	24.8 (5.1)	21.5 (5.6)	0.16
Primigestas	36 (56.2)	36 (51.4)	0.87
Gestaciones	2 (1-6)	1 (1-3)	0.97
Partos	0 (0-3)	0 (0-1)	0.75
Cesáreas	1 (0-3)	0 (0-2)	0.99
Abortos	0 (0-2)	0 (0-1)	0.64
Edad gestacional			
20-34 SDG	20 (31.2)	11 (15.7)	
34.1-42 SDG	44 (68.7)	59 (84.2)	0.12
TA Sistólica (mm Hg)	160 (18.7)	107.5 (9.0)	0.0001
TA Diastólica (mm Hg)	103 (15.7)	67.5 (9.6)	0.0001
Hb (g/dL)	12.9 (1.1)	12.9 (0.8)	0.86
VGM (fl)	87.9 (2.8)	88.9 (4.1)	0.12
Plaquetas (mil)	193 (102)	221 (69)	0.15
ADE (%)	14.7 (1.4)	13.4 (0.7)	0.0001
VPM (fl)	11.8 (2.4)	11.0 (1.4)	0.03

Las variables categóricas son reportadas como número (%)

Las variables continuas son reportadas como promedio (DE) y mediana (rango) según su normalidad

SDG = semanas de gestación; TA = tensión arterial; mm Hg = milímetros de mercurio; Hb = hemoglobina; VGM = volumen globular medio; ADE = ancho de distribución eritrocitario; VPM = volumen plaquetario medio

muestran en el cuadro I. No encontramos diferencias significativas entre los grupos en términos de edad, gestaciones, partos, cesáreas, abortos, hemoglobina y conteo plaquetario. Sin embargo, en comparación con el grupo control, las pacientes con preeclampsia tuvieron

niveles de tensión arterial sistólica y diastólica, ADE y VPM más elevados. Otras características iniciales no fueron estadísticamente significativas entre los grupos.

Comparación entre pacientes con preeclampsia leve y severa

Entre las pacientes con preeclampsia, el 59% tenía preeclampsia severa. En el análisis de subgrupos no encontramos diferencias significativas en términos de edad, gestaciones, partos, cesáreas, abortos, hemoglobina, conteo plaquetario, creatinina y albúmina. Sin embargo, los pacientes con preeclampsia severa mostraron mayores niveles de ADE, VPM, ácido úrico, proteinuria y tensión arterial sistólica (cuadro II, figura 1).

Valor predictor del ancho de distribución eritrocitario y volumen plaquetario medio

En el análisis de curva ROC, un valor de ADE de 14.95 fue identificado como un punto de corte efectivo para definir la severidad en pacientes con preeclampsia (área bajo la curva = 0.78; IC 95%: 0.62-0.94). Asimismo, un valor de VPM de 11.45 fue identificado como el punto de corte más efectivo (área bajo la curva = 0.76; IC 95%: 0.59-0.94). La razón de verosi-

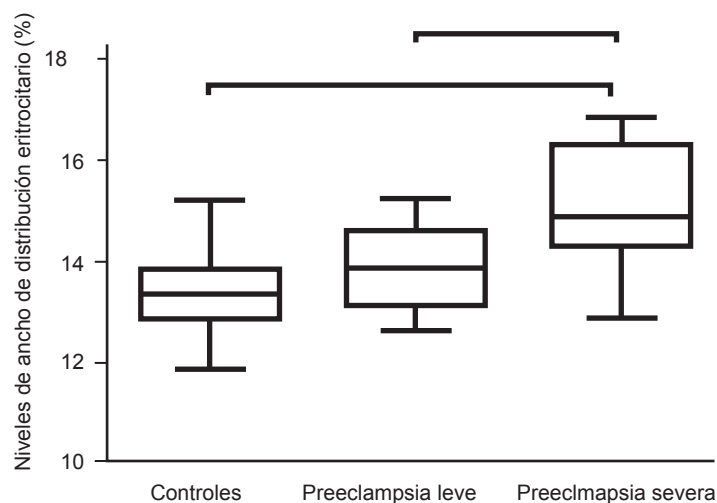


Figura 1 Comparación de los niveles de ancho de distribución eritrocitario (ADE) en pacientes con preeclampsia leve o severa y pacientes con embarazo normotenso

Cuadro II Características basales de 64 pacientes con preeclampsia leve y severa

Parámetro	Leve (n = 26)	Severa (n = 38)	p
Edad (años)	24.8 (19-32)	25.84 (15-39)	0.38
Primigestas	14 (56)	17 (45.6)	1.0
Gestaciones	1 (1-3)	2 (1-6)	0.95
Partos	0 (0-1)	0 (0-6)	0.95
Cesáreas	0 (0-1)	0 (0-2)	0.73
Abortos	0 (0-1)	0 (0-1)	0.76
Edad gestacional			
20 - 34 SDG	9 (36)	7 (18)	
34.1 - 42 SDG	17 (64)	31 (82)	0.54
TA Sistólica (mm Hg)	153.2 (8.5)	174.19 (20)	0.001
TA Diastólica (mm Hg)	103.55 (6.5)	111.83 (13.3)	0.34
Hb (g/dL)	12.9 (1.1)	12.9 (1.2)	0.96
VGM (fl)	87.5 (4.6)	88.7 (3.6)	0.39
Plaquetas (mil)	207.75 (75)	194.5 (86)	0.75
ADE (%)	14.9 (0.6)	15.0 (1.6)	0.01
VPM (fl)	10.8 (1.8)	12.7 (2.8)	0.001
Ácido úrico	5.2 (1.1)	6.3 (1.5)	0.03
Creatinina	0.6 (0.3)	0.9 (0.8)	0.18
Proteinuria 24 h	905 (753)	1779 (1258)	0.01
Albumina	3.0 (0.5)	2.8 (0.5)	0.39

Las variables categóricas son reportadas como número (%)

Las variables continuas son reportadas como promedio (DE) y mediana (rango) según su normalidad

SDG = semanas de gestación; TA = tensión arterial; mmHg = milímetros de mercurio; Hb = hemoglobina; VGM = volumen globular medio; ADE = ancho de distribución eritrocitario; VPM = volumen plaquetario medio; h = horas

militud, sensibilidad y especificidad de cada punto de corte propuesto se muestra en el cuadro III.

Discusión

En nuestro estudio, encontramos niveles más elevados de ADE y VPM en pacientes con preeclampsia en comparación con embarazos normotensos. Esta diferencia fue mayor en el subgrupo de pacientes con preeclampsia severa. Además, identificamos puntos de corte predictores de preeclampsia severa para los parámetros estudiados.

Los niveles elevados de ADE son reflejo de una gran heterogeneidad del tamaño de los eritrocitos, lo cual es causado por una perturbación en la degradación o maduración de los glóbulos rojos. El ADE es comúnmente usado en la práctica clínica para discriminar y diferenciar entre los diferentes tipos de anemia;¹⁹ sin embargo, recientemente se ha relacionado con la presencia y severidad de la hipertensión. Además, esta misma relación ha sido establecida en pacientes con infarto cardíaco,⁴ angina inestable,⁵

insuficiencia cardíaca aguda²⁰ y enfermedad vascular cerebral.⁶ El mecanismo de esta asociación aún es desconocido, pero la teoría inflamatoria es la más reconocida. La inflamación favorecería niveles elevados de ADE, debido a bloqueo reticuloendotelial, lo que disminuiría la disponibilidad del hierro para la eritropoyesis, suprimiendo la maduración de los eritrocitos y disminuyendo su vida media.²¹

El VPM es comúnmente usado durante el diagnóstico diferencial de los diferentes tipos de trombocitopenia. Recientemente, también ha sido relacionado con la presencia y severidad de la hipertensión.¹¹ El VPM es un marcador de la actividad plaquetaria y está asociado a mortalidad cardiovascular; al igual que el ADE, el mecanismo de esta asociación es inflamatorio. Estudios previos han demostrado que la elevación de citoquinas proinflamatorias conduce a la producción de plaquetas más grandes y reactivas,^{22,23} estas plaquetas se agregan más rápidamente, tienen mayores niveles de tromboxano A2 y expresan más receptores de glucoproteína IIb/IIIa.²⁴

La patogénesis de la preeclampsia inicia temprano en el embarazo, involucrando una primera etapa sub-

Cuadro III Análisis de curva ROC para el ADE y VPM

Parámetro	Punto de corte	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)	Razón de verosimilitud	Área bajo la curva	p
ADE (%)	14.95	50 (25-75)	93.7 (70-99)	8.0	0.78	0.005
VPM (fl)	11.45	75 (48-93)	81.2 (54-96)	4.0	0.76	0.009

La sensibilidad y especificidad son reportadas en porcentaje

ROC = receiver operating characteristic; ADE = ancho de distribución eritrocitario; VPM = volumen plaquetario medio; IC = intervalo de confianza

clínica y asintomática de placentación deficiente.²⁵ En la segunda etapa, la respuesta sistémica en la madre se desencadenaría por la liberación de algunas sustancias (inflamatorias, oxidativas o antiangiogénicas) de la placenta hacia la circulación materna -como resultado de la hipoxia placentaria-.²⁶ Algunos investigadores han documentado que la perfusión uterina reducida (hipoxia placentaria) es capaz de generar la secreción de moléculas proinflamatorias, dañando las células endoteliales maternas.²⁷ Recientemente se han encontrado niveles aumentados de marcadores de inflamación (citoquinas) en pacientes con preeclampsia, en comparación con embarazos normotensos,^{28,29} y se ha observado que citoquinas como la IL-6 se correlacionan de forma directa con la severidad de la enfermedad.³⁰

La relación entre el ADE y el VPM con la preeclampsia ha sido investigada recientemente, encontrándose resultados inconsistentes. Mientras que los estudios liderados por Kurt y Freitas reportan una relación positiva con la preeclampsia severa,^{13,16} aquellos liderados por Abdullahi y Ceyhan descartan esta asociación.^{14,15}

Algunas limitaciones de este estudio incluyen el número pequeño de pacientes y su diseño transversal, mediante el cual obtuvimos resultados basados en una determinación única de laboratorio -lo que podría

no reflejar el estado clínico de los pacientes durante periodos más extensos-. Además, no medimos marcadores de inflamación, hierro sérico, ácido fólico ni vitamina B12.

La identificación de marcadores pronósticos novedosos puede mejorar la toma de decisiones en las pacientes con preeclampsia. El ADE y el VPM podrían proveer información relevante para mejorar la estratificación del riesgo de estas pacientes, aunado al hecho de que están ampliamente disponibles. Sin embargo, existe la necesidad de estudios prospectivos que permitan validar los puntos de corte propuestos y determinar el valor pronóstico de ambos marcadores.

En conclusión, el ADE y el VPM son marcadores relacionados a la severidad de la preeclampsia. Se encuentran ampliamente disponibles y su uso no representa un gasto adicional. Debido a estas ventajas, el ADE y VPM podrían ser usados en un futuro para estratificar el riesgo de los pacientes con preeclampsia.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo.

Referencias

- ACOG Committee on Practice Bulletins Obstetrics. Diagnostic and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol.* 2001;98:159-167.
- Sibai BM. Preeclampsia as a cause of preterm and late preterm (near-term) births. *Semin Perinatol.* 2006;30:16-19.
- Ananth CV, Vintzileos AM. Maternal-fetal conditions necessitating a medical intervention resulting in preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195:1557-1563.
- Dabbah S, Hammerman H, Markiewicz W, Aronson D. Relation between red cell distribution width and clinical outcomes after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2010;105(3):312-7.
- Gul M, Uyarel H, Ergelen M, Karacimen D, Ugur M, Turer A et al. The relationship between red blood cell distribution width and the clinical outcomes in non-ST elevation myocardial infarction and unstable angina pectoris: a 3-year follow-up. *Coron Artery Dis.* 2012;23(5):330-6.
- Vayá A, Hernández V, Rivera L, Hernández JL, Lago A, España F, Bautista D. Red blood cell distribution width in patients with cryptogenic stroke. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2015;21(3):241-5.
- Patel KV, Ferrucci L, Ershler WB, Longo DL, Guralnik JM. Red blood cell distribution width and the risk of death in middle-aged and older adults. *Arch Intern Med.* 2009;169(5):515-523.
- Sahin DY, Gür M, Elbasan Z, Özdoğan I, Uysal OK, Kivrak A et al. Mean platelet volume and extent and complexity of coronary artery disease in diabetic and nondiabetic patients with ST elevation myocardial infarction. *Angiology.* 2013;64(7):505-11.
- Tanindi A, Topal FE, Topal F, Celik B. Red cell distribution width in patients with prehypertension and hypertension. *Blood Press.* 2012;21(3):177-81.

10. Ozcan F, Turak O, Durak A, İşleyen A, Uçar F, Giniş Z *et al.* Red cell distribution width and inflammation in patients with non-dipper hypertension. *Blood Press.* 2013;22(2):80-5.
11. Varol E, Akcay S, Icli A, Yucel H, Ozkan E, Erdogan D, Ozaydin M. Mean platelet volume in patients with prehypertension and hypertension. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2010;45(1):67-72.
12. Inanc T, Kaya MG, Yarlioglues M, Ardic I, Ozdogru I, Dogan A *et al.* The mean platelet volume in patients with non-dipper hypertension compared to dippers and normotensives. *Blood Press.* 2010;19(2):81-5.
13. Kurt RK, Aras Z, Silfeler DB, Kunt C, Islimye M, Kosar O. Relationship of red cell distribution width with the presence and severity of preeclampsia. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2015;21(2):128-31.
14. Abdullahi H, Osman A, Rayis DA, Gasim GI, Imam AM, Adam I. Red blood cell distribution width is not correlated with preeclampsia among pregnant Sudanese women. *Diagnostic Pathology.* 2014;9:29.
15. Ceyhan T, Beyan C, Başer I, Kaptan K, Güngör S, Ifran A. The effect of pre-eclampsia on complete blood count, platelet count and mean platelet volume. *Ann Hematol.* 2006;85(5):320-2.
16. Freitas LG, Alpoim PN, Komatsuzaki F, Carvalho M, Dusse LM. Preeclampsia: Are platelet count and indices useful for its prognostic? *Hematology.* 2013;18(6):360-4.
17. ACOG Practice Bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002;77(1):67-75.
18. HJ Motulsky. Prism 5 Statistics Guide. 1^a Ed. Graph-Pad Software Inc., San Diego CA, 2007.
19. Tefferi A, Hanson CA, Inwards DJ. How to interpret and pursue an abnormal complete blood cell count in adults. *Mayo Clin Proc.* 2005;80:923-936.
20. Huang YL, Hu ZD, Liu SJ, Sun Y, Qin Q, Qin BD *et al.* Prognostic value of red cell distribution width for patients with heart failure: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Plos One.* 2014;9(8):e104861.
21. Vayá A, Samago A, Fuster O, Alis R, Romagnoli M. Influence of inflammatory and lipidic parameters on red blood cell distribution width in a healthy population. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2015;59(4):379-85.
22. Denghani MR, Taghipour-Sani L, Rezaei Y, Rostami R. Diagnostic importance of admission platelet volume indices in patients with acute chest pain suggesting acute coronary syndrome. *Indian Heart J.* 2014;66(6):622-8.
23. Martin JF, Trowbridge EA, Salmon G, Plumb J. The biological significance of platelet volume: Its relationship to bleeding time, platelet thromboxane B2 production and megakaryocyte nuclear DNA concentration. *Thromb Res.* 1983;32:443-460.
24. Giles H, Smith RE, Martin JF. Platelet glycoprotein IIb-IIIa and size are increased in acute myocardial infarction. *Eur J Clin Invest.* 1994;24:69-72.
25. Pijnenborg R, Vercruysse L, Hanssens M. Fetal-maternal conflict, trophoblast invasion, preeclampsia, and the red queen. *Hypertens Pregnancy.* 2008;27:183-196.
26. Hung TH, Burton GJ. Hypoxia and reoxygenation: A possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2006;45:189-200.
27. LaMarca BD, Gilbert J, Granger JP. Recent progress toward the understanding of the pathophysiology of hypertension during preeclampsia. *Hypertension.* 2008;51:982-988.
28. Kronborg CS, Gjedsted J, Vittinghus E, Hansen TK, Allen J, Knudsen UB. Longitudinal measurement of cytokines in pre-eclamptic and normotensive pregnancies. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2011;90:791-796.
29. Serin YS, Özcelik B, Bapbud M, Hüseyin K, Okur D, Erez R. Predictive value of tumornecrosis factor alpha (TNF-alpha) in preeclampsia. *Euro Journ Obstet Gynecol.* 2002;100:143-145.
30. Xiao JP, Yin YX, Gao YF, 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;60:856-860.