

# Factor de necrosis tumoral-alfa en el suero de embarazadas normales y preeclámpticas

Drs. Rafael Molina Vílchez, Tania Romero Adrián, Indira Bermúdez, Jaidy Flores, Johana Fuenmayor, José Rafael Núñez, Alba Calderón

Hospital "Manuel Noriega Trigo", Instituto Venezolano de los Seguros Sociales, San Francisco, Estado Zulia y Cátedra y Posgrado de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo

## RESUMEN

*Se estudian las concentraciones séricas del factor de necrosis tumoral-alfa en embarazadas normales de los tres trimestres, en pacientes con preeclampsia y en un grupo testigo de no gestantes, empleando un método de inmunoanálisis enzimático de doble anticuerpo.*

*Se encontró un descenso progresivo y estadísticamente significativo de los niveles de la citocina durante embarazo normal. El grupo con preeclampsia tuvo cifras significativamente superiores a las de las embarazadas sanas del tercer trimestre. Los hallazgos apuntan a la necesidad de un descenso en la actividad de esta citocina durante el embarazo normal, sugieren que juega un importante papel en la patogenia de la enfermedad, y plantean la posibilidad de que su cuantificación en suero pueda utilizarse como indicador pronóstico.*

*Palabras clave: Citocinas. Factor de necrosis alfa. Preeclampsia.*

## SUMMARY

*Tumor necrosis factor-alpha serum concentration were investigated in normal pregnancy during each trimester, in preeclamptic patients and in a healthy nonpregnant control group, using a double antibody enzymatic immunoanalysis technique. Cytokine levels showed a progressive and statistically significant fall throughout normal pregnancy. Preeclamptic women had significantly higher values than the third trimester group. Findings*

*point to a necessary decrease of this cytokine activity in healthy pregnancy, suggest an important role of this molecule in the pathogenesis of preeclampsia, and open the possibility of utilizing its serum quantification as a prognostic disease marker.*

*Key words: Cytokines. Tumor necrosis factor-alpha. Preeclampsia.*

## INTRODUCCIÓN

La angiopatía gestacional o preeclampsia (PE) constituye una patología compleja, una intrincada sucesión de alteraciones o disfunciones que, a partir de causas heterogéneas, se manifiesta al final como un síndrome (1). Se ha tratado de explicar su patogenia de maneras diversas (2), pero a pesar de las variadas hipótesis, parece haber coincidencia en señalar como hecho clave la activación de la red de citocinas proinflamatorias en la interfase materno-fetal (3). Dekker y col. han hecho una propuesta de unificación de las hipótesis, centrándolas en esa activación citocínica, a la cual interpretan como mediadora del estrés oxidativo resultante de una mala adaptación inmune y/o de trastornos genéticos; lo que les permite explicar la secuencia de eventos, incluyendo cambios como los ocurridos en el metabolismo lipídico (2).

La gestación sana es la resultante de un estado verdadero privilegio inmunológico, condicionado por numerosas sustancias que se comportan como inmunosupresoras locales o sistémicas para evitar la reacción contra el aloinjerto fetal (2-4). En cuanto a citocinas, se plantea que es un fenómeno Th2: la

producción de estos polipéptidos multifuncionales se desvía a favor de los relacionados con la inmunidad humoral, como interleucinas-4 (IL-4) e IL-10, mientras que se deprimen los dependientes de la inmunidad celular, secretados por linfocitos CD4 Th1: IL-2 interferón-gamma (IFN $\gamma$ ) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (5). De la PE, por el contrario, se piensa que es una condición inmune Th1 (6,7).

Entre las citocinas Th1 estudiadas en relación con la PE, es de especial interés el TNF- $\alpha$  (2,3,8), sustancia que tienen roles determinantes en la fisiología y fisiopatología del desarrollo humano. Tanto esta proteína (9,10) como sus receptores (11,12) se expresan de manera constitutiva en el trofoblasto vellosos. Un subgrupo de abortos recurrentes ha sido relacionado con la deficiencia de TNF- $\alpha$  en el sincitiotrofoblasto (13), mientras que en aparente contradicción, la misma proteína, junto con el IFN- $\gamma$ , estimula la apoptosis del citotrofoblasto, función en la cual son antagonizados por el factor de crecimiento epitelial (14,15). Stark ha reunido evidencia circunstancial sobre la participación de este mensajero celular en la PE, haciendo énfasis en su capacidad de producir estrés oxidativo, y llega a hablar de esa complicación obstétrica como enfermedad del TNF- $\alpha$  durante el embarazo (8). Los genes relacionados con la producción del TNF- $\alpha$  han sido asociados con el origen de esta patología (16,17). Conocer los niveles de circulantes de la citocina en la normalidad y tener la posibilidad de usar algunos cambios como marcadores bioquímicos de PE sería deseable. Sin embargo, las publicaciones sobre concentraciones circulantes de la citocina en esta enfermedad son contradictorias, lo que es susceptible de diversas explicaciones. En esta comunicación se presenta una investigación sobre valores séricos en embarazadas no complicadas y con PE.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se investigó un grupo de 15 pacientes con PE, 45 embarazadas normales clasificadas según el trimestre de edad gestacional, T1, T2 y T3 cada uno con 15, y un grupo C o de control, compuesto por 15 mujeres sanas y no embarazadas. La inclusión en el grupo PE se hizo con los criterios de hipertensión arterial después de la vigésima semana en normotensas previas, acompañada de proteinuria y edema (18). Las gestantes de T3 no tenían dolores sugestivos de actividad uterina, contracción miométrica palpable

o signos cervicales de trabajo de parto. Para el grupo C se eligieron personas libres de enfermedades infecciosas, parasitarias, autoinmunes o tumorales. Los sujetos estudiados procedían de los servicios obstétricos del "Hospital Dr. Manuel Noriega Trigo" y de la "Maternidad Dr. Armando Castillo Plaza", Departamento de Obstetricia del "Hospital Universitario de Maracaibo", y tenían edades entre 15 y 35 años. Las edades maternas y gestacionales aparecen en el Cuadro 1.

Cuadro 1

Edades materna y gestacional de los grupos estudiados

	Grupos				PE
	Sin emb.	1 <sup>er</sup> trim.	2 <sup>o</sup> . trim.	3 <sup>er</sup> trim.	
Edad materna (años)	27,7±0,7	27,8±0,4	25,87±0,7	24,0± 6,7	23,8±6,7
x ± DE					
Edad gestacional	-	8,0±0,3	18,7±0,7	34,7±4,2	36,07±3,04

emb.= embarazo; trim.= trimestre; PE= preeclampsia

A cada uno de los sujetos del estudio se les extrajeron 10 cm<sup>3</sup> de sangre venosa de vena antecubital, obtenida sin anticoagulante, a la cual se separaba el suero por centrifugación a 1 000 rpm durante 10 minutos, para repartirlo en alícuotas colocadas en tubos plásticos que se guardaban en un ultracongelador vertical, a temperatura de -70° C.

La determinación de los niveles TNF- $\alpha$  a se hizo siguiendo técnica de inmunoanálisis enzimático de doble anticuerpo (ELISA), con "kit" procedentes de "Biosource International", lote PPO39J7/1, cuya sensibilidad es inferior a 1,7 pg/ml.

El análisis estadístico de los grupos de embarazo normal y control se realizó mediante el test de ANOVA, y los valores obtenidos se expresaron en medias + desviación estándar. Para evaluar los grupos PE y T3 se utilizó el test de Student no pareado.

## RESULTADOS

Las concentraciones séricas del TNF- $\alpha$  en los diferentes grupos se ven en el Cuadro 2. Los controles tuvieron valores de 64,51 + 13,16 pg/ml, mientras que en las embarazadas sin PE, las cifras

más elevadas, observadas en T2, fueron de  $19,11 \pm 2,34$  pg/ml, con diferencias altamente significativas entre C y T1, T2 y T3 respectivamente  $p < 0,001$  en todos los casos en todos los casos. La diferencia entre P3 y T3, también fue de significación:  $p < 0,05$ .

Cuadro 2

Niveles séricos de TNF- $\alpha$   
(pg/ml)

No embarazadas	$64,51 \pm 13,16$ *
Primer trimestre	$17,76 \pm 2,76$
Segundo trimestre	$19,11 \pm 2,34$
Tercer trimestre	$7,07 \pm 1,63$
Preeclampsia	$16,43 \pm 2,92$ **

\* $P < 0,001$  con respecto a embarazos normales.

\*\* $P < 0,05$  con respecto a tercer trimestre.

## DISCUSIÓN

El hallazgo más resaltante en las gestantes normales fue caída de las concentraciones séricas de la citocina en los tres trimestres. Previamente, hemos reportado un descenso significativo en los niveles de TNF- $\alpha$  durante el primero y el tercer trimestre del embarazo normal, con cifras en el segundo parecidas a las del grupo control, es decir, incrementadas con respecto al primer trimestre (19). En el estudio actual también hubo un ascenso de las concentraciones medias del segundo trimestre normal, pero muy discreto, sin significación estadística. La disminución en la bioactividad de esta sustancia con el embarazo normal parece lógica, y es una citocina ligada a la inmunidad celular, la cual se expresa en cantidades aumentadas en embarazos que terminan en aborto, tanto en animales como en humanos (20,21). La tendencia al aumento en el tercio medio de la gestación genera explicaciones opuestas: puede hacer pensar en un mecanismo de balance para contrarrestar el desarrollo de fetos macrosómicos y de macropacentas, aunque por el contrario, pudiera más bien estar ligada a estimular cierto crecimiento, y considerar la relación que ha sido señalada entre el TNF- $\alpha$  y el factor de crecimiento insulinoide -1, o IGF-1: la inyección de ratonas gestantes con anticuerpos contra la citocina, ha provocado retardo de desarrollo y concentraciones

bajas del IGF-1 (22).

Aunque tenga efectos fisiológicos a ciertas concentraciones en los tejidos gestacionales, el TNF- $\alpha$  es una molécula que expresada en cantidades elevadas, causa diversos tipos de patología y, en el caso particular del trofoblasto, promueve la muerte celular por apoptosis, en sinergia con el IFN- $\gamma$  (14,15). Que se mantenga por debajo de niveles críticos la concentración local del polipéptido, vale decir, que haya menos estímulo para la apoptosis, probablemente resulta en un menor grado de embolización o deportación trofoblástica hacia la circulación general, a lo cual se atribuye actualmente mucha importancia en la PE. Igual que la mayoría de los epitelios, el trofoblasto sano tiene una constante renovación; los núcleos envejecidos, junto con alguna cantidad de citoplasma hacen protrusión y quedan libres en la circulación, lo que aumenta considerablemente en la PE, cuya histopatología se caracteriza por proliferación excesiva y degeneración de este tejido, formándose en el exterior de las vellosidades coriales excrescencias digitiformes que se desprenden y embolizan (23,24). Está demostrado experimentalmente que los fragmentos de membrana microvellosa sincitiotrofoblástica son capaces suprimir la proliferación de células endoteliales y provocar rupturas en las monocapas celulares, que generan un patrón parecido a un panal de abejas (25), por lo que a la incrementada microdeportación de trofoblasto que ocurre en la PE, un grupo de investigadores de Oxford le ha relacionado con la disfunción endotelial generalizada (2,26,27).

En el embarazo normal las arteriolas espirales son invadidas internamente por el trofoblasto, haciéndose hipotónicas y distensibles. La invasión trofoblástica deficiente, otra característica de la PE, ha sido señalada como una posible consecuencia de la producción aumentada del TNF- $\alpha$  por leucocitos deciduales activados (28). Si la citocina influye en la invasión subnormal del trofoblasto a los vasos, al favorecer la hipoxia, pudiera inferirse que se establece en la placenta un verdadero círculo vicioso citocina-hipoxia-citocina, ya que se ha demostrado experimentalmente cultivando explantes placentarios, que la placenta preecláptica produce TNF- $\alpha$  e IL-1, que al disminuir las tensiones de oxígeno a los cultivos aumenta la producción local de ambas citocinas (29). Sin embargo, muy recientemente, una investigación procedente del mismo equipo que llegó a estas conclusiones, obtiene resultados contrarios: la placenta de la PE no produce más

TNF- $\alpha$  ni expresa más su ARN mensajero que la del embarazo normal, no siendo la fuente que se creía de sus niveles séricos aumentados, aunque como en la experiencia arriba citada, sí incrementa la producción con las condiciones de hipoxia experimental (30). Esto lleva a Benyo y col. a modificar los planteamientos previos, y pensar que la fuente de la aumentada cantidad de la citocina en sangre, como se señala previamente (28), sean más bien los leucocitos activados, hecho propio de la PE (30).

Otra fuente de TNF- $\alpha$  es el adipocito. La expresión de la citocina en las células grasas se incrementa en diferentes modelos de obesidad experimental (31) y humana (32), que puede representar un elemento importante de la relación entre sobrepeso y resistencia a la insulina. El TNF- $\alpha$  es capaz de bloquear la transmisión de señales del receptor insulínico (33,34). Los roedores “*knock-out*” con mutaciones anuladoras de la función de los genes de la citocina y de sus receptores, al ser sometidos a dietas causantes de obesidad y resistencia a la insulina, tienen niveles circulantes de ácidos grasos libres inferiores a los animales indemnes desarrollan obesidad como los controles, pero son protegidos de la disminución de señalización del receptor de insulina en los tejidos musculares y grasos (35). Esto parece ser de interés, puesto que uno de los grandes factores de riesgo para PE es el sobrepeso preconcepcional (36), y la resistencia a la insulina ha sido incriminada como una vía capaz de desencadenar los mecanismos de la enfermedad, por lo menos en algunos casos (37). Con la PE hay una gran alteración del metabolismo lipídico, y existen autores que subrayan el valor de esta disfunción en la cadena fisiopatológica y, que tratan de explicarla en base al incremento de la actividad de algunas citocinas: TNF- $\alpha$  la IL-1, LA IL-1 y la IL -6, que promueven la lipólisis en el adiposito y la síntesis de novo de ácidos grasos en el hígado, mientras que disminuyen la capacidad de beta-oxidación de estos últimos y la producción de cuerpos cetónicos (2,38).

Cualquiera que sea su origen, el TNF- $\alpha$ , si pasa a la circulación general, es capaz de producir cambios vasculares comparables a la disfunción endotelial descrita en PE (2,3), y activar mecanismos vasoconstrictores y protrombóticos (39-41). A pesar de que la mayoría de las acciones biológicas de las citocinas son de naturaleza autocrina o paracrina, cuantificar el TNF- $\alpha$  circulante, pudiera ser un indicador pronóstico de la enfermedad. Viser y col.

han reportado un aumento de la bioactividad de caquectina en el plasma de mujeres con PE, estudiando los efectos sobre la línea celular WEHI 164 de fibrosarcoma de ratón (42). Vince y col. encuentran niveles plasmáticos elevados de TNF- $\alpha$  y de sus receptores solubles, en comparación con un grupo testigo ajustado a edad materna, paridad y edad gestacional, añaden que guardan correlación con la severidad de la enfermedad, por ejemplo, con el descenso de la cuenta plaquetaria (43). Estos autores comentan sobre la importancia de la cuantificación de los receptores solubles, lo que sería un marcador de enfermedad aceptable, como ocurre en casos de sepsis por meningococo (44). Los valores séricos del receptor p-55 se han encontrado elevados durante el segundo trimestre, en gestantes que más tarde tienen las manifestaciones clínicas de la PE (45), y permanecen altos en PE y eclampsia (46). Pero a pesar de estos resultados, otros investigadores, como Schiff y col. no encuentran diferencia entre PE y grupo control (47). De todas maneras, un balance de lo publicado sobre el tema resulta más de acuerdo con las opiniones previas. Benyo y col., al tratar de indagar la participación placentaria como fuente de la citocina circulante, midieron los niveles en sangre periférica y uterina, y encontraron ambos elevados en PE, pero sin variaciones significativas entre concentraciones de venas uterinas y venas periféricas, ni en PE, ni en embarazadas normales de término antes del trabajo de parto (30).

El presente estudio demuestra que hay una disminución significativa del TNF- $\alpha$  en el embarazo normal y, que por el contrario, las pacientes con PE tienen valores francamente elevados de la citocina circulante, en apoyo a la idea de que esa patología gestacional es un fenómeno inmune o inflamatorio tipo Th1 (6) y que, en su fisiopatología, desempeña un rol importante esa citocina (2,3,8). Queda para investigaciones futuras, determinar si las concentraciones séricas de TNF- $\alpha$  tienen utilidad como marcador pronóstico.

## REFERENCIAS

1. Ness RB, Roberts JM. Heterogenous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: A hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175:1365-1370.
2. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: Current concepts. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1359-1375.

## FACTOR DE NECROSIS TUMORAL-ALFA

3. Molina Vílchez R, Romero Adrián T, Ruiz A. Citocinas en la fisiopatología de la preeclampsia. *Gac Méd Caracas* 1999;107:505-516.
4. Iwatani Y, Watanabe M. The maternal immune system in health and disease. *Curr Op Obstet Gynecol* 1998;10:453-458.
5. Wegmann T, Lin H, Guilbert L, Mosmann T. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: Is successful pregnancy a Th2 phenomenon? *Immunol Today* 1993;14:353-356.
6. Dudley D. Is pre-eclampsia a Th1-type immune condition? *J Reprod Immunol* 1997;34:159-161.
7. Darmochwal-Kolarz D, Rolinski J, Oleszczuk J. The production of T helper 1 and T helper 2 type cytokines in pregnant women with pre-eclampsia. *Placenta* 1999;20:A20.
8. Star JM. Pre-eclampsia and cytokine-induced oxidative stress. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:105-109.
9. Chen HL, Yang YP, Hu XL, Yelavarthi KK, Fishback JL, Hunt JS. Tumor necrosis factor alpha mRNA and protein are present in human placental and uterine cells at early and late stages of gestation. *Am J Pathol* 1991;139:327-335.
10. Li Y, Matsuzaki N, Masushiro K, Kameda T, Taniguchi T, Saji F, et al. Trophoblast-derived tumor necrosis factor alpha induce release of human chorionic gonadotropin using interleukin-6 (IL-6) and IL-6 receptor dependent system in the human normal trophoblasts. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:184-191.
11. Yelavarthi KK, Hunt JS. Analysis of p60 and p80 tumor necrosis-alpha receptor messenger RNA and protein in human placentas. *Am J Pathol* 1993;143:1131-1141.
12. Yui J, Hemmings D, García-Lloret M, Guilbert IJ. Expression of the human p55 and p75 tumor necrosis factor receptors in primary villous trophoblasts and their role in cytotoxic signal transduction. *Biol Reprod* 1996;55:400-409.
13. Lea RG, Tulppala M, Critchley HOD. Deficient syncytiotrophoblast tumor necrosis factor-alpha characterizes failing first trimester pregnancies in a subgroup of recurrent miscarriage patients. *Hum Reprod* 1997;12:1313-1320.
14. Yui J, García-Lloret M, Wegmann TG, Guilbert LJ. Cytotoxicity of tumor necrosis factor- $\alpha$  and gamma-interferon against primary human placental trophoblast. *Placenta* 1994;15:819-833.
15. Ho S, Winkler-Lowen B, Morrish DW, Dakour J, Li H, Guilbert LJ. The role of Bcl-2 expression in EGF inhibition of TNF- $\alpha$  / IFN- $\gamma$  induced villous trophoblast apoptosis. *Placenta* 1989;20:423-430.
16. Kilpatrick DC. Influence of humana leukocyte antigen an tumour necrosis factor genes on the development of preeclampsia. *Hum Reprod Update* 1999;5:94-102.
17. Van Wijk MJ, Kublikiene K, Boer K, VanBavel E. Vascular function in preeclampsia. *Cardiovascular Research* 2000;47:38-48.
18. National high blood pressure education program working group report on high blood pressure in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:1691-1712.
19. Molina Vílchez R, Romero Adrián T, Ruiz A, González E, Estévez J, Atencio R. Concentraciones séricas de factor de necrosis tumoral alfa en el embarazo normal. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1999;59:167-171.
20. Gorivodsky M, Zemlyak I, Orenstein H, Savion S, Fein A, Torchinsky A, et al. TNF- $\alpha$  messenger RNA and protein expression in the uteroplacental unit of mice with pregnancy loss. *J Immunol* 1998;160:4280-4288.
21. Steinborn A, Von Gall Ch, Hildenbrand R, Stutte HJ, Kaufmann N. Identification of placental cytokine-producing cell in term and preterm labor. *Obstet Gynecol* 1988;91:329-335.
22. Spiegelman BM, Hotamisligil GS. Through thick and thin: Wasting, obesity ad TNF- $\alpha$ . *Cell* 1993;265:2506-2516.
23. Jones CG, Fox H. Syncytial knots and intervillous bridges in the human placenta: And ultrastructural study. *J Anat* 1997;124:275-286.
24. Jones CG, Fox H. An ultrastructural and ultrahistochemical study of the human placenta in maternal pre-eclampsia. *Placenta* 1980;1:61-76.
25. Smarason AK, Sargent IL, Starkey PM, Redman CWG. The effect of placenta syncytiotrophoblast microvillous membranes from normal and preeclamptic women on the growth of endotelial cells in vivo. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:943-949.
26. Sargent IL, Johansen M, Chua S, Redman CWG. Clinical experience: Isolating trophoblasts from maternal blood. *Ann NY Acad Sci* 1994;731:154-161.
27. Chua S, Wilkins T, Sargent IL, Redman CWG. Trophoblast deportation in pre-eclampsia pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98:973-979.
28. Hunt JS, Chen HL, Miller L. Tumor necrosis factors: Pivotal components of pregnancy? *Biol Reprod* 1996;54:4554-4562.
29. Benyo DF, Miles TM, Conrad KP. Hypoxia stimulates cytokine production by villous explants from the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1582-1588.
30. Benyo DF, Smarason A, Redman ChWG, Sims C, Conrad KP. Expression of inflammatory cytokines in

- placentas from women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:2505-2512.
31. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : Direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993;259:87-91.
  32. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995;95:2409-2425.
  33. Feinstein R, Kanety H, Papa MZ, Lunenfeld R, Karasik A. Tumor necrosis factor- $\alpha$  suppresses insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. *J Biol Chem* 1993;260:55-26058.
  34. Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. TNF- $\alpha$  inhibits signaling from insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:4854-4858.
  35. Teoman Uysal K, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF-function. *Nature* 1997;389:610-614.
  36. Sukerman-Voldman E, Aragonés A, Becerra F, Carpio D, Laitouni J. Perfil epidemiológico para la hipertensión durante el embarazo. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1998;58:5-11.
  37. Villanueva L, Pedernera E, García Lara E. Bases fisiopatológicas de la preeclampsia: Una hipótesis. *Ginecol Obstet Méx* 1999;67:246-252.
  38. Sattar N, Gaw A, Packard ChJ, Greer IA. Potential pathogenic roles of aberrant lipoprotein and fatty acid metabolism in preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:614-620.
  39. Le J, Vilcek J. Biology of disease. Tumor necrosis factor and interleukin-1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest* 1987;56:234-238.
  40. Beutler B, Cerami B. Cachectin: More than a tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 1987;316:379-385.
  41. Haijar KA, Haijar DP, Silverstein RL, Nachmen RL. Tumor necrosis factor mediated release of platelet-derived growth factor from cultured endothelial cells. *J Exp Med* 1987;166:235-245.
  42. Viser W, Beckman I, Bremer HA, Lim HL, Wallemburg HCS. Biactive tumor necrosis factors- $\alpha$  in pre-eclamptic patients with and without the HELLP syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1994;101:1081-1082.
  43. Vince GS, Starkey PM, Austgulen R, Kwiatkowski D, Redman CWG. Interleukin-6, tumour necrosis factor and soluble tumour necrosis factor receptors in women with pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1995;102:20-25.
  44. Girardin E, Roux-Lomboard P, Grau GE, Suter P, Galati M, Dayer JM. Imbalance between tumor necrosis factor- $\alpha$  and soluble TNF-receptor concentrations in severe meningococcaemia. *Immunology* 1992;76:20-23.
  45. Williams MA, Farrand A, Mittendorf R, Sorensen TK, Zingheim RW, O'Reilly GC, et al. Maternal second trimester serum tumor necrosis factor- $\alpha$  soluble receptor p55 (sTNFp55) and subsequent risk of preeclampsia. *Am J Epidemiol* 1999;149:323-329.
  46. Williams MA, Mahomed K, Farrand A, Woelk GB, Mudzamiri S, Madzime S, et al. Plasma tumor necrosis factor- $\alpha$  soluble receptor p55 (sTNFp55) concentrations in eclamptic, preeclamptic and normotensive Zimbabwean women. *J Reprod Immunol* 1998;40:159-173.
  47. Schiff E, Friedman S, Baumann P, Sibai B, Romero R. Tumor necrosis factor- $\alpha$  in pregnancies associated with preeclampsia or small-for-gestational age newborns. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:1224-1229.

Dirección:

Dr. Rafael Molina Vílchez o Dra. Tania Romero Adrián.

E-mail: taniaromeroadrian@cantv.net.