

11217
91
2j.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

SECRETARIA DE SALUD

DIRECCION GENERAL DE ENSEÑANZA EN SALUD

CURSO UNIVERSITARIO DE POSTGRADO

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR
DE PREECLAMPSIA¹

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALIDAD EN GINECOLOGIA
Y OBSTETRICIA

P R E S E N T A :
DR. JORGE ALEJANDRO OROS RAMIREZ

DIRECTOR DE TESIS:
DR. MARCOS HERNANDEZ FIERRO

MEXICO, D. F.

TEMA CON
VALIDEZ DE ORIGEN

1992





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

CAPITULO	PAGINA
1.- SUMMARY.....	1
2.- INTRODUCCION.....	2
3.- ANTECEDENTES.....	4
4.- HIPOTESIS.....	8
5.- OBJETIVOS.....	9
6.- MATERIAL Y METODOS.....	10
7.- RESULTADOS.....	13
8.- GRAFICAS.....	15
9.- ANALISIS.....	18
10.- CONCLUSIONES.....	21
11.- BIBLIOGRAFIA.....	22

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

SUMMARY:

Ouabain like factor (OLF) is an immunoreactive substance(4) and has been measured in serum during pregnancy. Investigators have suggested that OLF substance may play an etiologic role in the development of preeclampsia. The objectives of this study is to measure the levels and compare OLF concentrations in patients with and without preeclampsia in serum and others fluids, and evaluated this substance how a predictor of preeclampsia.

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

INTRODUCCION:

La hipertensión arterial asociada al embarazo o preeclampsia constituye en nuestro medio un problema de salud pública ya que los índices de mortalidad tanto para la madre como el feto dependiendo del centro hospitalario de que se trate, pueden llegar a ser hasta del 20%, esto se debe principalmente a que se desconoce la etiología. De poderse contar con un marcador diagnóstico que permitiera anticipar la evolución de la hipertensión durante la gestación en la mujer, ayudaría a optimizar su control.

La preeclampsia puede ser difícil de distinguir clínicamente de otros desórdenes hipertensivos del embarazo. Los signos que ayudan a su diagnóstico incluyen la presentación al final del embarazo, en una nulípara con edema, proteinuria y uno o más de los siguientes datos: hemoconcentración, hipoalbuminemia, anomalías de la función hepática, o de la coagulación, y niveles elevados de uratos. Recientemente se han encontrado disminución de los niveles de antitrombina III, incremento en los niveles de hierro sérico y de carboxihemoglobina, decrementos en el calcio urinario, aumento de fibronectinas, disminución de los niveles de prostaciclina, con un aumento de los niveles de tromboxano. (18,19)

Sibai en 1990 recopiló los datos de los últimos 30 años sobre el ya famoso síndrome HELLP (hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y plaquetopenia. Según las siglas en inglés), demostrando con sus hallazgos que únicamente se trata de un grado de severidad extrema de la preeclampsia y no de una entidad aparte como otros autores lo habían mencionado. Estableciendo también los datos de laboratorio utilizados para su diagnóstico, los cuales son: cuenta plaquetaria por abajo de $100,000/mm^3$; hemólisis, definida mediante el hallazgo en frotis de sangre periférica de esquistocitos y células en plato, incremento en las bilirrubinas igual o mayor a 1.2 mg/dl ; enzimas hepáticas con una DHL mayor de 600 U/lit , TGO mayor o igual a 70 U/lit y TGP mayor de 60 U/lit asociadas a una lesión hepática clásica caracterizada por necrosis hepática periportal y/o focal parenquimatosa con zonas amplias de depósitos de material rico en fibrina. (20)

Múltiples autores han tratado de encontrar marcadores para determinar de manera temprana el inicio y la severidad con que se presentará la hipertensión asociada al embarazo, sin que hasta el momento se haya podido determinar o encontrar este marcador. A pesar de los avances recientes con las técnicas de radioinmunoanálisis no se ha determinado la sustancia o sustancias que son el origen de esta entidad patológica, que sigue siendo una de las principales causas de morbilidad materno fetal no sólo en nuestro medio sino en todo el mundo. (20-23)

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

ANTECEDENTES:

Los trastornos hipertensivos del embarazo han sido históricamente un modelo clásico de hipótesis confusas y antagónicas en su etiología y patogenia, así como sus efectos en la madre y el feto, y es sin duda una de las principales causas de mortalidad materna y perinatal en todo el mundo. El tratamiento hasta nuestros días continúa siendo empírico y seguirán habiendo variaciones en el mismo a medida que se sepa más acerca de los cambios fisiológicos del embarazo normal y de la patogénesis de esta entidad. (24)

Múltiples clasificaciones han tratado de englobar esta entidad. Nosotros continuamos utilizando la establecida por la ACOG en 1972, ya que creemos que es la más práctica y concisa de todas. En este esquema la hipertensión asociada a la gestación es considerada en cuatro categorías:

I.- Preeclampsia - eclampsia.

- A) Leve
- B) Severa
- C) Eclampsia

II.- Hipertensión crónica (cualquier causa).

III.- Hipertensión crónica con preeclampsia sobreañadida

IV.- Hipertensión tardía o transitoria

Las manifestaciones principales de la preeclampsia son : La disminución del gasto cardiaco; presión capilar pulmonar en cuña baja; marcados incrementos de la resistencia vascular periférica; respuesta presora exagerada a la angiotensina II y a las catecolaminas. La hemodinamia renal disminuye en parte como resultado de una lesión focal morfológica característica en los glomerulos (endoteliosis) con un incremento en la permeabilidad vascular con pérdida de albumina del espacio intravascular.

La etiología de la preeclampsia permanece desconocida, la teoría popular de alteraciones en el metabolismo de las prostaglandinas puede ser el responsable de la hipertensión y los desórdenes de la coagulación que se observan en esta entidad, el vasoespasmo y la disminución del volumen vascular pueden ser la principal causa de la anemia microangiopática hemolítica que se observa en grados severos, y es responsable de la hemoconcentración que también es común en esta entidad. [18,20,24,25]

El intento por encontrar un marcador ideal que sea predictivo tanto de presentación como de severidad de la hipertensión inducida por el embarazo, ha estimulado a múltiples investigadores a tratar de encontrar este marcador o marcadores que tengan un alto índice de sensibilidad y especificidad, sin que hasta el momento se haya podido determinar. Múltiples ejemplos de lo anterior existen en la literatura como son: las pruebas presoras de angiotensina usadas por Gant y colaboradores en 1973; la concentración de

ácido úrico; la excreción urinaria de albumina y calcio como unas de las pruebas más antiguas; el estudio de los péptidos atriales natriureticos; la antitrombina III; la endoxina, endotelina, fibronectinas; el tromboxano A2, las prostaciclina así como los niveles de proteínas deciduales y la medición de carboxihemoglobina o hierro sérico son tan sólo algunos ejemplos del interés por encontrar la clave que de la pauta para poder entender, prevenir y tratar esta entidad clínica.

Ante los hechos anteriores el manejo de esta patología ha tenido y seguirá teniendo múltiples modalidades dependiendo de la experiencia de cada institución y de cada médico en particular. La historia nos ha hablado del uso de múltiples medicamentos, unos proscritos en la actualidad, otros en experimentación y otros vigentes, por mostrar algunos ejemplos se han utilizado diuréticos, expansores del plasma, hipotensores, antihipertensivos, anti-inflamatorios no esteroideos e infinidad de soluciones por mencionar algunos.

Prichard en 1978 mencionó que probablemente la presencia de alguna sustancia quizás producida en las vellosidades coriales es la causa del espasmo vascular e hipertensión y que para lograr la curación, estas vellosidades coriónicas tienen que ser expulsadas o eliminadas quirúrgicamente. (18,20-23,25,25)

Recientemente se ha descrito la presencia de una sustancia semejante a ouabaina (OLF) que circula en el plasma de pacientes con hipertensión arterial, la cual está presente

durante el embarazo y múltiples autores han sugerido que esta sustancia (OLF) puede jugar un factor etiológico en el desarrollo de la preeclampsia (27). El objetivo de este estudio es evaluar y caracterizar el comportamiento del OLF como marcador en la hipertensión asociada al embarazo.

Recientemente se ha encontrado OLF en el suero de neonatos y pacientes con insuficiencia renal, en líquido amniótico humano, cordón umbilical, homogeneizados de placenta e incluso en animales cuyo volumen circulante ha sido expandido (18). En todos estos reportes, la actividad semejante a digital fue medible en el suero a pesar de que en ninguno de los casos se había administrado digoxina ni cualquier otro tipo de glucósido cardíaco. La naturaleza bioquímica y fisiológica de esta sustancia o grupo de sustancias no ha sido decifrada, aunque se ha sugerido que se trate de una hormona natriurética (9). Con el objeto de precisar la conducta de esta sustancia semejante a ouabaina (OLF), así como de evaluar su posible empleo como marcador de preeclampsia se decidió llevar a cabo este estudio. Ya que la hipertensión arterial asociada al embarazo o preeclampsia, constituye en nuestro medio un problema de salud con alto índice de morbimortalidad tanto materna como fetal y esto es principalmente a que se desconoce su etiología, y su manejo continúa siendo empírico. Creemos que de poderse contar con un marcador diagnóstico que permitiera anticipar la evolución de la hipertensión durante la gestación en la mujer ayudaría a optimizar su control.

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

HIPOTESIS

El factor OLF (Ouabain Like Factor) es un marcador en enfermedad hipertensiva inducida por el embarazo.

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

OBJETIVOS

- 1.- **Cuantificar el nivel del factor OLF por el método de radioinmunoanálisis de digoxina.**
- 2.- **Caracterizar el comportamiento del factor OLF en pacientes con preeclampsia.**
- 3.- **Evaluar la aplicación del factor OLF como marcador de preeclampsia.**

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

MATERIAL Y METODOS:

Pacientes.- Todas se encontraban bajo control médico en el Hospital General de Ticomán, y se estudiaron un total de 37 enfermas que presentaban hipertensión asociada al embarazo; ninguna de ellas documentó la existencia de lesión renal, cardiovascular o cualquier otra que no estuviera en relación con la gestación. Por otra parte se incluyó un grupo de embarazadas normales, así como sujetos normales sin embarazo; éstos últimos fueron médicos voluntarios, enfermeras y otro personal que labora en el hospital. La mayoría de los pacientes estaban recibiendo tratamiento antihipertensivo con hidralazina y alfa metil dopa, sin embargo, las cifras de presión arterial mínimas obtenidas de estas circunstancias oscilaron alrededor de 140/90 mmHg. Antes del embarazo todas ellas habían presentado cifras de presión arterial normal. Al momento del estudio todas habían requerido hospitalización por descontrol de la presión arterial y por presentar manifestaciones clínicas concomitantes tales como cefalea, mareos y edema periférico importante.

Radioinmunoanálisis de digoxina.- Se colectaron muestras de sangre a pacientes que cursaban el último trimestre de la gestación. Las muestras de los controles así como de los casos se centrifugaron a 1500g por 15 minutos y los

sobrenadantes (suero) se separaron para ser congelados a -20°C . Las muestras se almacenaron hasta efectuarse el radioinmunoanálisis el cual se llevó a cabo mediante convenio con el laboratorio de Biología de la Reproducción Humana del Hospital Juárez de México. Se utilizaron reactivos de Amersham, UK, Diagnostic Products, USA y New England Nuclear, ello se debió a la necesidad de verificar la capacidad de precipitación de los distintos anticuerpos. Todas las muestras se analizaron por duplicado en un ensayo, efectuándose un mínimo de dos determinaciones para cada caso. Además del suero, en algunos casos se obtuvo orina y líquido amniótico a fin de extender el análisis comparativo entre líquidos biológicos. Las muestras de líquido amniótico y orina se procesaron igual que los sueros manteniéndose congelados hasta su análisis. Ninguna de las muestras obtenidas se sometió a tratamiento ulterior o modificación bioquímica. El nivel máximo promedio de la sensibilidad de los distintos sistemas de radioinmunoanálisis fue de 0.05ng/ml equivalentes de digoxina. Con el propósito de batir la zona de ruido por debajo de los límites de sensibilidad, se procedió a efectuar diluciones tanto de anticuerpo como de digoxina estándar con lo que se obtuvo una dilución máxima de los niveles de detección equivalente a 0.03ng/ml . Por otra parte se incluyeron junto con las dosis de digoxina estándar concentraciones diversas de digoxina cruda (comercial) y digoxina exógena contenida en el suero de una paciente bajo tratamiento por insuficiencia cardíaca. Los coeficientes de

variación intra y extraensayo fueron inferiores al 5.0%. El análisis estadístico de los resultados se hizo de acuerdo a Snedecor y Cochran [10].

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

RESULTADOS:

Al analizar los resultados de las curvas de inhibición de digoxina I-125 generadas en presencia de digoxina endógena cruda y estándar se encontró cierto grado de paralelismo, el que fue mayor entre la digoxina cruda y exógena ($P = 0.05$) pero diferente de la digoxina utilizada como estándar ($P = 0.001$) ver figura 1. Un resultado inesperado fue la linealidad semejante encontrada entre la digoxina estándar diluida respecto a la exógena o cruda. La curva con digoxina estándar demostró un patrón único. Las muestras de suero obtenidas en las pacientes hipertensas así como los controles no demostraron contener sustancia alguna semejante a ouabaina (OLF) cuando se les incluyó en el sistema de radioinmuno análisis corriente; pero cuando se llevó la curva estándar de digoxina hasta dosis de 0.03 ng/ml todas las muestras de suero resultaron positivas, lo mismo que de orina y líquido amniótico (figura 2). Los niveles de OLF detectados en orina y líquido amniótico de embarazadas con hipertensión y los casos control fueron muy semejantes; mientras que las cantidades de OLF en orina encontraron un promedio tanto para hipertensas como controles de 1.0 ng/ml superiores al resto de líquidos biológicos. El promedio de los valores de OLF registrados en pacientes con hipertensión gestacional en suero fue de 0.2 ng/ml en tanto que los casos control de

0.076 ng/ml; en orina de 1.27 y 0.97; en líquido amniótico 0.24 y 0.05ng/ml respectivamente. Las diferencias significativas entre los resultados de controles e hipertensión correspondieron a orina y líquido amniótico (P=0.1). Al efectuarse la correlación (figura 5) entre valores de OLF con cifras de tensión arterial, ésta fue positiva ($r=0.905$) únicamente con líquido amniótico (P=0.001).

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

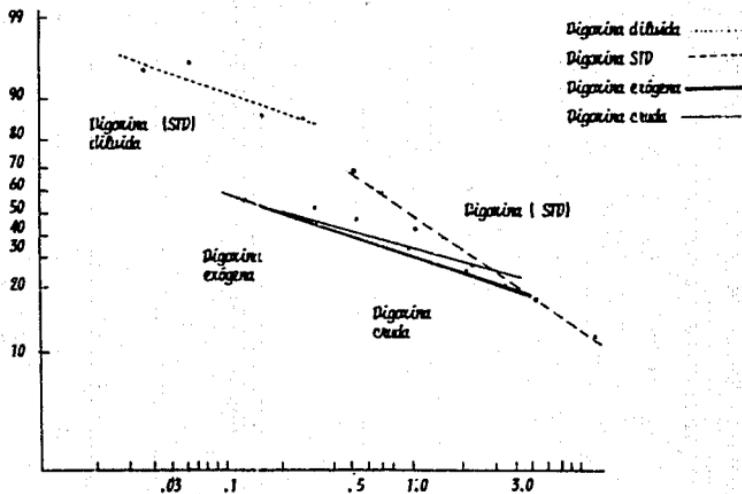


Figura # 1 .- Curvas de inhibición (digoxina I 125) generadas con distintos tipos de digoxina.

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

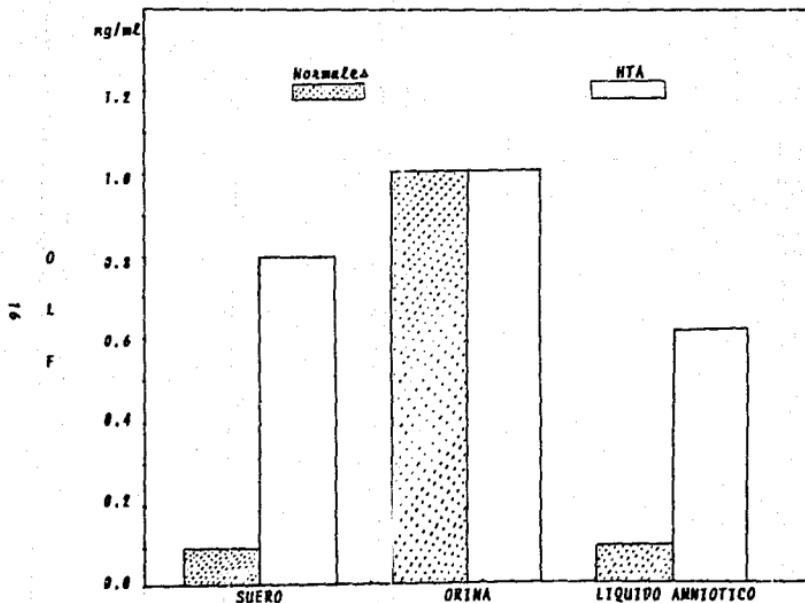


FIGURA # 2 .- Niveles de OLF encontrados en distintos líquidos biológicos. Las barras pintadas corresponden a casos normales y las blancas a casos con hipertensión.

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

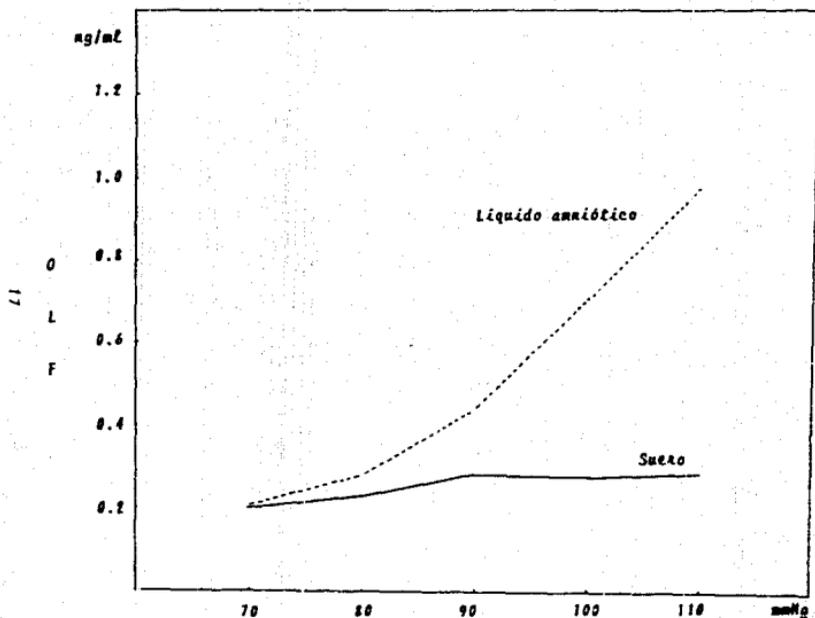


Figura # 3 .- Correlación de los niveles de OLF con valores de tensión arterial diastólica al estudiarse líquido amniótico y suero.

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

ANALISIS:

Los resultados de este estudio apoyan la existencia de la producción endógena de una sustancia similar a digoxina (OLF). Destacó el comportamiento de la digoxina cruda y exógena ante la sustancia homóloga utilizada como estándar por parecer de composición diferente ante la ausencia de paralelismo de las curvas de inhibición. Si bien esto podría deberse a un efecto dado por las proteínas del plasma debió haberse observado una curva distinta con digoxina cruda, ya que ésta carece de proteínas plasmáticas y es la que debe poseer las mismas determinantes antigénicas para generar el antisuero antidigoxina. Los valores registrados con digoxina diluida son un tanto difíciles de interpretar ya que todos ellos se detectaron en el rango 80-95% de inhibición y la capacidad de resolución del radioinmunoanálisis de estas inmediaciones es comunmente pobre y no obstante se pudo generar una curva de inhibición dentro del citado rango. Si bien esto puede ser posible en función de que las concentraciones mínimas de digoxina contribuyen al ruido en el sistema de radioinmunoanálisis, también puede haber influido la falta de discriminación entre los niveles de OLF encontrados tanto en mujeres normales como hipertensas según se aprecia en la figura 2.

De acuerdo a nuestros resultados parecería que es más

conveniente analizar muestras de líquido amniótico en ves' de suero u orina ya que las cantidades de OLF registradas en este tipo de sustancia, fueron las únicas que guardaron relación con la magnitud de la hipertensión arterial. Desde luego no se puede descartar que el líquido amniótico contenga un mayor número de sustancias que el suero y la orina, capaces de interactuar con el anticuerpo contra digoxina contribuyéndose así a una mayor reacción cruzada. Por otra parte la ausencia de diferencias entre niveles de OLF en orina encontrados en sujetos normales y pacientes con hipertensión podría deberse a que se había iniciado tratamiento antihipertensivo. En contra de esto último estaría el que las pacientes afectadas de la tensión arterial nunca alcanzaron la normotensión. Por otro lado también podría deberse a un efecto acumulativo por volumen urinario que lo mismo dificultaría establecer diferencias acentuadas, lo que en apariencia no sucede con el suero o líquido amniótico donde se concentra OLF en volumen por minuto. Dado que la utilidad de medir OLF para ser empleado como marcador de hipertensión asociada al embarazo no fué absolutamente demostrada, aún deben evaluarse pacientes hipertensas sin tratamiento y su correlación con edad gestacional. En este sentido pudimos observar una correlación entre los niveles de OLF endógena y las cifras de tensión arterial. Nuestros hallazgos concuerdan con los de Gudson, et al [11] y Graves et al [12] quienes encontraron diferencias significativas en las concentraciones de OLF detectadas en embarazadas normales y

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

con eclampsia; mientras que Koren, et al [13] observaron una correlación significativa entre los niveles de OLF y la edad gestacional sin que las variaciones de tensión arterial llamaran su atención. Sin embargo, Guthrie [14] ha observado que el fármaco digoxina es capaz de potenciar el efecto presor de norepinefrina y angiotensina sin afectar las condiciones basales de los baroreceptores y el reflejo para mantener la frecuencia cardíaca. Se ha pensado que OLF es un factor u hormona natriurética [15,16] que interviene como modulador en el balance de sodio, agua y comparte junto con la digoxina la facultad de inhibir la actividad de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa a nivel de la membrana celular (eritrocitos), además se ha observado una correlación positiva de OLF con los niveles de sodio en orina [17] y negativa con los de renina y aldosterona. El origen de esta sustancia aún queda por ser determinado lo mismo que su papel fisiológico. Y que puede ser detectable tanto en la preeclampsia como en embarazadas normales y que parece guardar relación con la magnitud de la hipertensión sobre todo cuando se estudia el líquido amniótico.

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

CONCLUSIONES:

- 1.- OLF puede ser detectado tanto en pacientes con enfermedad hipertensiva del embarazo como en sujetos normales.
- 2.- Las cantidades de OLF guardan relación con la magnitud de la hipertensión cuando éste se analiza en líquido amniótico.
- 3.- La utilidad de medir OLF para ser empleado como marcador de preeclampsia no fue demostrada.

FACTOR "OLF" COMO MARCADOR DE PREECLAMPSIA

BIBLIOGRAFIA:

1.- Valdes, R. Graves, S.W., Brown, B.A. Land, M.: Endogenous substance in newborn infants causing false-positive digoxin measurement. *J. Pediatr* 102:947, 1983

2.- Graves, S.W., Brown, A., Valdes, R.: Endogenous digoxin like substance in patients with renal impairment. *Ann Intern Med* 99:604, 1983.

3.- Besch, JR., H.R. Hufferd, S., Lake, M. Hurwitz, R., Watanabe, A.M.: False elevation of apparent digoxin levels in plasma of premature infants. *Clin Chem* 22:1168, 1983.

4.- Kelly, J.G., Naidu, R.K., O Malley, K.: Evidence for a circulating sodium transport inhibitor in essential hypertension. *Brit Med J.* 282:1241, 1981.

5.- Devynck, M.A. Pernollet, M.G., Rosenfeld, J.B., Meyer, P.: Measurements of digitalis compound in plasma: application in studies of essential hypertension. *Brit Med J.* 287:631 1983.

6.- Gruber, K.A., Rudel, L.L., Bullock, B.C.: Increased

circulating levels of an endogenous ouabain like factor in hypertensive monkeys. *Hypertension*. 4:348, 1982.

7.- Gruber, K.A., Whitaker, J.M., Buckalew, V.M.: Endogenous like substance in plasma of volumen expanded dogs. *Nature* 487:743, 1980.

8.- Pudek, H.R., Seccombe, D.W., Whitefield, H.F.: Digoxin like immunoreactivity in premature and full term infants not receiving digoxin therapy. *N Engl J. Med* 308:904 1983.

9.- De wardener, H.E.: The natriuretic hormone. *Ann Clin Biochem* 19:137, 1982.

10.- Snedecor, G., Cochran, W.: *Statistical Methods*. Iowa University Press, 1978.

11.- Gudson, J.P., Buckalew, V.M. Hennessy, J.F.: A digoxin like immunoreactive substance in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 150:83, 1984.

12.- Graves, S.W., Williams, G.H.: An endogenous ouabain like factor associated with hypertensive pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab*. 59:1070, 1984.

13.- Kgaren, G., Farine, D. Haresky, D., Taylor, J. Heyes, J. Soldin, S., MacLeod, S.: Significance of endogenous digoxine like substance in infants and mothers.

14.- Guthrie, G.P.: Effects of digoxin on responsiveness to the pressor actions of angiotensin and norepinephrine in man. *J Clin Endocrinol Metab* 58:76, 1984.

15.- De Wardener, H.E., Clarkson, E.M., Bitensky, Mac Gregor, G.A. Alanghadn, Z.J.: Effect of sodium intake on ability of human plasma to inhibit renal $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ - Adenosine triphosphate in vitro. *Lancet* 1:411, 1981.

16.- Braustein, M.P., Hamlyn, J.M.: Role of natriuretic factor in essential hypertension; an hypothesis. *Ann Intern Med* 98:785, 1983.

17.- Gault, M.H. Vasdev, S.C., Longevich, L.L. Fernandez, P. Prabhakaran, V., Dawe, H., Millet, C.: Plasma digitalis like factor(s) increased with salt loading. *N Engl J Med* 309:1459, 1983.

18.- O' Brien William, MD. Predicting Preeclampsia. *Obstetrics & Gynecology*. 75:3:1, 1990.

19.- Entman, S. Kambam, MD., Bradley, C., Cousar, J.: Increased levels of carboxyhemoglobin and serum iron as an indicator of increased red cell turnover in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 156: 1169-73, 1987.

20.- Baha M Sibai., The syndrome HELLP, : All about nothing.
Am J Obstet & Gynecol 192:2:311-16, 1990.

21.- Iino K., Sjöberg J., Seppälä M.: Elevated circulating levels of a decidual protein, placental protein 12, in preeclampsia. Obstet & Gynecol. 68:58, 1986.

22.- Goren M., Sibai B., El-Nazar A.: Increased tubular enzyme in preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 157:906-8, 1987.

23.- Miyamoto S., Shimokawa H., Sumioki H.: Circadian rhythm of plasma atrial natriuretic peptide, aldosterone, and blood pressure during third trimester in normal and preeclamptic pregnancies. Am J Obstet Gynecol. 158:393-9, 1988.

24.- Danforth D. Tratado de Obstetricia y Ginecologia
25:477-65, 1987.

25.- Branch W., Andres R., Digre K.: Association of antiphospholipid antibodies with severe preeclampsia. Obstet & Gynecol 73:541, 1989.

26.- Hirai H., Yanaihara T., Nakayama T.: Plasma levels of atrial natriuretic peptide during normal pregnancy and in pregnancy complicated by hypertension. Am J Obstet Gynecol 159:27-31, 1988.

27.- Phelps S., Pham D., Cochran E.: The influence of gestational age and preeclampsia on the presence and magnitude of serum endogenous digoxin like immunoreactive substance(s). *Am J Obstet Gynecol* 158:34-9, 1988.