

Trabajo Original

Fetuina-A plasmática en pacientes con preeclampsia y gestantes normotensas sanas

Plasma fetuin-A in patients with preeclampsia and healthy normotensive pregnant patients

Eduardo Reyna-Villasmil, Jorly Mejia-Montilla, Nadia Reyna-Villasmil, Duly Torres-Cepeda y Joel Santos-Bolívar

Servicio de Obstetricia y Ginecología - Maternidad "Dr. Nerio Beloso". Hospital Central "Dr. Urquinaona". Maracaibo, Estadio Zulia. Venezuela

Resumen

Objetivo: comparar las concentraciones plasmáticas de fetuina-A en pacientes con preeclampsia y gestantes normotensas sanas.

Método: se seleccionó un total de 100 pacientes. Se incluyeron 50 pacientes con preeclampsia como los casos (grupo A) y un grupo control seleccionado por tener una edad y un índice de masa corporal similares al grupo de estudio que consistió en 50 gestantes normotensas sanas (grupo B). Las muestras de sangre se recolectaron en todas las pacientes antes del parto e inmediatamente después del diagnóstico en el grupo B para determinar las concentraciones plasmáticas de fetuina-A.

Resultados: se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones plasmáticas de fetuina-A entre las pacientes del grupo A ($279,1 \pm 29,1$ picog/mL) y las pacientes del grupo B ($328,1 \pm 37,2$; $p < 0,001$). No se observó correlaciones con los valores de presión arterial sistólica y diastólica ($p = ns$). Se observaron correlaciones significativas entre las concentraciones de fetuina-A con las concentraciones de aspartato aminotransferasa ($p < 0,05$). Un valor de corte de 300 picog/mL presentó un valor por debajo de la curva de 0,86 y tiene una sensibilidad del 79,3%, una especificidad del 70,7%, un valor predictivo positivo del 65,7% y un valor predictivo negativo del 82,6%.

Conclusiones: las pacientes con preeclampsia presentaron concentraciones plasmáticas significativamente más bajas de fetuina-A al compararlo con gestantes normotensas sanas.

Palabras clave:

Fetuina-A.
Preeclampsia.
Embarazo.

Abstract

Objective: To compare plasma fetuin-A concentrations in patients with preeclampsia and healthy normotensive pregnant women.

Method: A total of 100 patients were selected. Fifty patients with preeclampsia were selected as cases (group A) and a group of 50 healthy normotensive pregnant women with a similar age and body mass index to those in group A were selected as controls (group B). Blood samples were collected in all patients before labor and immediately after diagnosis in group B to determine plasma fetuin-A concentrations.

Results: A statistically significant difference was found in plasma fetuin-A concentrations between patients in group A (279.1 ± 29.1 picog/mL) and those in group B (328.1 ± 37.2 ; $p < 0.001$). There was no significant correlation with values of systolic and diastolic blood pressure ($p = ns$). Significant correlations were found between fetuin-A concentrations and aspartate transaminase levels ($p < 0.05$). A cut-off value of 300 picog/mL had a value under the curve of 0.86, sensitivity of 79.3%, specificity of 70.7%, a positive predictive value of 65.7%, and a negative predictive value of 82.6%.

Conclusions: Plasma concentrations of fetuin-A were significantly lower in patients with preeclampsia than in healthy normotensive pregnant women.

Key words:

Fetuin-A.
Preeclampsia.
Pregnancy.

Recibido: 16/06/2015
Aceptado: 12/10/2015

Reyna-Villasmil E, Mejia-Montilla J, Reyna-Villasmil N, Torres-Cepeda D, Santos-Bolívar J.
Fetuina-a plasmática en pacientes con preeclampsia y gestantes normotensas sanas. Hospital Central "Dr. Urquinaona". Prog Obstet Ginecol. 2016;59(4):218-222

Correspondencia:

Dr. Eduardo Reyna-Villasmil
Hospital Central "Dr. Urquinaona"
Final Av. El Milagro.
Maracaibo, Estado Zulia. Venezuela.
e-mail: sippenbauch@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La preeclampsia es un desorden caracterizado por la aparición de hipertensión y proteinuria después de las 20 semanas de embarazo, afecta 3-8% de todas las embarazadas y es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad materna (1). Sin embargo, la patogénesis subyacente de la preeclampsia es desconocida. Está caracterizada por liberación hacia la circulación materna de diferentes factores por la placenta, lo que produce inflamación sistémica excesiva en respuesta a la hipoxia/isquemia y al estrés oxidativo. La disfunción endotelial generalizada produce los síntomas característicos de la preeclampsia durante la segunda mitad del embarazo (2).

La fetuina-A (glicoproteína alfa 2-Heremans-Schmid) es una proteína sérica y tisular de 49 Kda que juega un papel en la defensa del huésped y el metabolismo óseo (3). Es un reactante negativo de la fase aguda de la inflamación, ya que actúa como un mediador antiinflamatorio y protege contra el choque inducido por lipopolisacáridos. Su producción hepática disminuye durante la respuesta de fase aguda durante infecciones, trauma y cirrosis hepática (4,5). Puede afectar la función de los macrófagos al inhibir la liberación de las proteínas específicas y contribuir a la eliminación de los neutrófilos apoptóticos (6,7). La administración exógena puede proteger contra la muerte durante la evolución de la endotoxemia y sepsis experimental (7). También ha sido identificada como mediador de la lipotoxicidad a través de la vía de receptor 4 similar al Toll y puede contribuir a la insulinoresistencia (8). Estudios en humanos han demostrado que las concentraciones circulantes de fetuina-A se asocian en forma positiva con la acumulación hepática de grasa, resistencia a la insulina y síndrome metabólico (4,6).

La preeclampsia es el resultado de una respuesta inflamatoria sistémica materna exagerada común a todos los embarazos y es consistente con las observaciones clínicas (9). Sin embargo, existe controversia sobre las concentraciones de fetuina-A en la preeclampsia, por lo que el objetivo de la investigación fue comparar las concentraciones de fetuina-A en pacientes con preeclampsia y gestantes normotensas sanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionó a un total de 100 pacientes. Se incluyó a 50 pacientes con preeclampsia (grupo A) y un grupo control seleccionado por tener edad e índice de masa corporal similares al grupo de estudio, que consistió en 50 gestantes normotensas sanas (grupo B). Todas las pacientes eran primigestas. Se obtuvo la firma del consentimiento informado para la obtención de las muestras. El Comité de Ética del hospital aprobó el estudio.

La preeclampsia se definió como la presión arterial sistólica de 140 mm de Hg o más, o presión arterial diastólica

de 90 mm de Hg o más, confirmada por 6 h o más de diferencia, mientras que la proteinuria se definió como 300 mg o más de proteína en una muestra de 24 h, o 1-2 cruces de proteinuria en un examen cualitativo después de las 20 semanas de gestación.

Se excluyó a las embarazadas polihidramnios, hemorragia del tercer trimestre (desprendimiento prematuro de placenta, placenta previa), sospecha de restricción del crecimiento intrauterino del feto (circunferencia cefálica, circunferencia abdominal y longitud del fémur menor del percentil 10 de referencia con confirmación post-natal de peso menor al percentil 10 de referencia), síndrome de HELLP, alteraciones de la frecuencia cardíaca fetal, gestaciones múltiples, presencia de infección intrauterina o materna activa, enfermedad hipertensiva crónica (antes de las 20 semanas de embarazo), tratamiento con antihipertensivos, enfermedad cardíaca, hepática, renal o sistémica crónica, diabetes mellitus pre o gestacional, hábito tabáquico y tratamiento con medicamentos que puedan alterar las concentraciones de la fetuina-A. También se excluyeron a las pacientes que se negaron a participar en la investigación.

Las muestras de sangre (10 ml) se recolectaron en tubos con EDTA en todas las pacientes en forma consecutiva antes del parto e inmediatamente después del diagnóstico en el grupo de casos de la vena antecubital. Las muestras fueron centrifugadas (15.000 g por 10 minutos a 4°C) y diluidas con un buffer salino con fosfato, se almacenaron a -70°C para medir las concentraciones de fetuina-A usando una prueba de ELISA (Epitope Diagnostics, San Diego, EE.UU.). La prueba usa anticuerpos policlonales que se unen a los diferentes epitopes de la fetuina-A humana. La prueba no tiene reacciones cruzadas con fetuina-B según el fabricante. Las mediciones fueron realizadas por duplicado y el resultado es el promedio. Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo de 3,3% y 9,1%, respectivamente.

Los valores obtenidos se presentaron como promedio \pm desviación estándar. Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para comprobar la distribución normal de los datos ($p > 0,05$) y posteriormente se utilizó la prueba T de Student para muestras no relacionadas para el análisis de los grupos y comparar las variables continuas. Los coeficientes de correlación entre la fetuina-A con la presión arterial y los valores de laboratorio se evaluaron usando la prueba de Pearson. La precisión de la fetuina-A para el diagnóstico de preeclampsia se presenta en función de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo. Se utilizó el análisis receptor-operador para determinar el mejor valor de corte. Se consideró $p < 0,05$ como estadísticamente significativa.

RESULTADOS

Las características generales de los dos grupos de pacientes se muestran en la tabla I. No se encontraron diferencias

Tabla I.
Características generales

	GRUPO A Casos (n = 50)	GRUPO B Controles (n = 50)	p
Edad materna, años	22,3 +/- 2,6	21,3 +/- 3,8	ns
Edad gestacional al momento del parto, semanas	36,9 +/- 1,9	37,3 +/- 2,0	ns
Índice de masa corporal, Kg/m ²	27,6 +/- 1,7	27,5 +/- 1,5	ns
Peso del recién nacido al nacer, gramos	2546 +/- 325	3603 +/- 498	< 0,05
Presión arterial sistólica, mm de Hg	148,6 +/- 11,8	103,9 +/- 6,8	< 0,05
Presión arterial diastólica, mm de Hg	103,2 +/- 8,1	73,5 +/- 7,7	< 0,05

Tabla II.
Variables de laboratorio

	GRUPO A Casos (n = 50)	GRUPO B Controles (n = 50)	p
Aspartato aminotransferasa, UI/L	80,5 +/- 30,4	30,8 +/- 6,1	< 0,05
Alanino aminotransferasa, UI/L	89,9 +/- 32,7	30,7 +/- 5,8	< 0,05
Ácido úrico, mg/dL	6,0 +/- 0,6	3,4 +/- 0,3	< 0,05
Creatinina, mg/dL	1,0 +/- 0,2	0,7 +/- 0,1	< 0,05
Proteinuria, g/24h	2,24 +/- 1,29	0,15 +/- 0,04	< 0,05
Fetuína A, picog/mL	279,1 +/- 29,1	328,1 +/- 37,2	< 0,001

significativas con relación a la edad materna, la edad gestacional al momento del parto y el índice de masa corporal al momento de la toma de la muestra (p = ns). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en los valores promedio de peso del recién nacido al nacer, presión arterial sistólica y presión arterial diastólica (p < 0,05).

En la tabla II se muestran las variables de laboratorio. Se observó que las pacientes con preeclampsia presentaban valores significativamente más altos de transaminasas, ácido úrico, creatinina y proteinuria en 24 horas que las pacientes del grupo control (p < 0,05). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de fetuina-A entre las pacientes en el grupo de estudio (grupo A; 279,1 ± 29,1 picog/mL) y las pacientes del grupo control (grupo B; 328,1 ± 37,2; p < 0,001; Fig. 1).

Al realizar la correlación entre las concentraciones de fetuina-A y los valores de presión arterial, no se observó una correlación con los valores de presión arterial sistólica (r = 0,282) ni con los valores de presión arterial diastólica (r = 0,033; p = ns). Solo se observó correlación significativa (p < 0,05) entre las concentraciones de fetuina-A con las concentraciones de aspartato aminotransferasa (r = -0,303).

En la figura 2 se muestra la curva receptor operador para la precisión de la fetuina-A para el diagnóstico de pree-

clampsia. Un valor de corte de 300 picog/mL presentó un valor por debajo de la curva de 0,86 y tiene una sensibilidad del 79,3% (intervalo de confianza [IC] del 95%; 60,2–92,1), especificidad del 70,7% (IC del 95%, 54,4–83,8), valor predictivo positivo del 65,7% (IC del 95%, 47,7–80,8) y valor predictivo negativo del 82,6% (IC del 95%, 66,3–93,4).

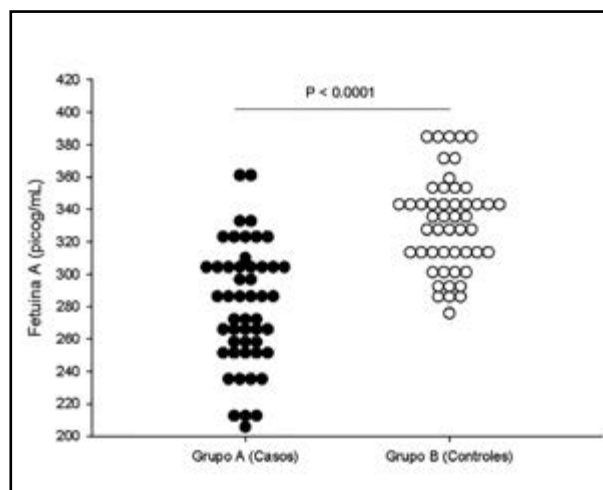


Figura 1. Concentraciones de fetuina-A en cada uno de los grupos

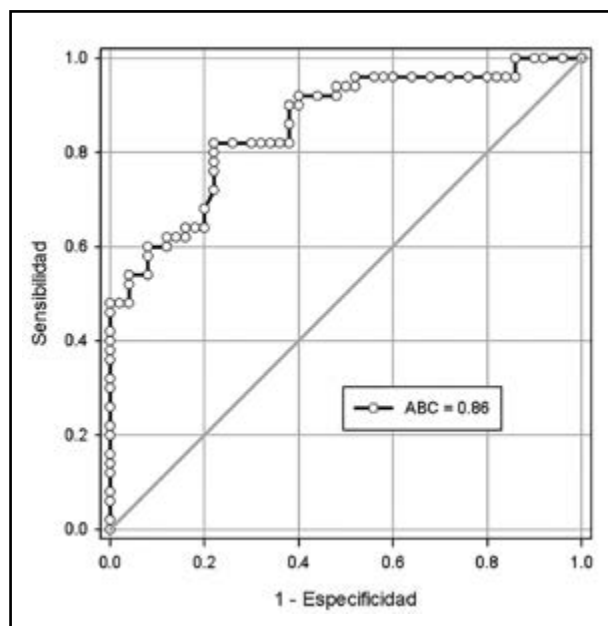


Figura 2. Curva operador receptor para fetuina-A en el diagnóstico de preeclampsia.

DISCUSIÓN

En el presente estudio, las pacientes con preeclampsia presentaron concentraciones significativamente más bajas de fetuina-A en comparación con gestantes normotensas sanas. Estudios previos han reportado resultados contradictorios. Dos investigaciones (10,11) reportaron que las concentraciones de fetuina-A aumentaban en las preeclámpticas, mientras que Molvarec y colaboradores (12,13), al igual que lo reportado en la presente investigación, reportaron que las concentraciones eran significativamente menores en las preeclámpticas comparado con aquellas mujeres con embarazos no complicados.

La evidencia que la fetuina-A es un reactante negativo de la fase aguda incluye el hallazgo que sus concentraciones disminuyen en pacientes con infecciones bacterianas y presentan correlaciones negativas con alfa1-tripsina y haptoglobina y correlaciones positivas con reactantes negativos de albumina y transferrina (4,14). La administración de interleucina 6 e interleucina 1 β humana recombinante disminuye la síntesis en las células HepG2 del hepatoma humano (14). Además, en un modelo animal de inflamación sistémica letal, las concentraciones de fetuina-A circulante disminuyen a las 24-48 horas luego de la aparición de la endotoxemia o sepsis para regresar a los valores previos a las 72 horas (6).

El hígado es el principal sitio de síntesis de la fetuina-A; sin embargo, la unida feto-placentaria puede ser otra fuente de esta proteína, ya que es uno de los componentes principales en la matriz ósea no colágena en el feto. Esto es apoyado por la elevación de las concentraciones

durante el transcurso del embarazo, la cual es especialmente marcada en el tercer trimestre (5). Se ha demostrado que potencia la fagocitosis de las células apopticas mediada por los macrófagos al estimular la macropinocitosis *in vitro* (7).

El embarazo requiere de un balance entre las proteínas pro- y anti-angiogénicas producidas por la placenta. En las fases iniciales del embarazo dominan los actores pro-angiogénicos, mientras que en las fases finales del embarazo los factores anti-angiogénicos son mayores, posiblemente en preparación para el parto (2,9). La alteración del balance de las concentraciones de proteínas angiogénicas o de la interacción con los receptores podría estar involucrada en la patogénesis de varias enfermedades en las cuales la disfunción endotelial es un factor contribuyente, como en pacientes con diferentes tipos de enfermedades no obstétricas (como el cáncer) y obstétricas (como la preeclampsia) (2).

La posible explicación para las bajas concentraciones de fetuina-A en la preeclampsia es la inflamación sistémica que la caracteriza, demostrada por estudios de citometría de flujo al igual que por determinación de citocinas/quimocinas y productos del complemento (15-19). Se ha descrito que las células mononucleares periféricas maternas de las preeclámpticas producen mayores cantidades de citocinas pro-inflamatorias que los de las embarazadas sin complicaciones (20). La fetuina-A puede unirse al factor transformante y de crecimiento β (TGF- β) bloqueando su actividad (21). De forma interesante, se ha observado que las concentraciones elevadas de TGF- β 1 están asociadas con un incremento en el riesgo de preeclampsia (22). La disminución de las concentraciones séricas puede ser negativa en la evolución del embarazo ya que se ha asociado con disminución de la depuración de las células trofoblásticas necróticas y apopticas, lo que puede llevar a un incremento de la liberación de restos placentarios a la circulación materna (7).

Un mecanismo protector de la fetuina-A es su relación con la calcificación vascular (23,24). Los ratones que carecen de la glicoproteína desarrollan calcificaciones severas en múltiples órganos (23) y la administración exógena en cultivos de células de músculo liso vascular de origen bovino produce rigidez por mineralización (24). En los humanos, las concentraciones plasmáticas de fetuina-A tienen una correlación inversa con la rigidez arterial determinada por la dilatación mediada por el flujo en sujetos sanos y en aquellos con enfermedad renal crónica (25). Se ha encontrado disfunción endotelial e incremento de la rigidez arterial en pacientes con preeclampsia, lo cual puede ser un efecto de las bajas concentraciones (26).

Las diferencias reportadas en las concentraciones observadas en esta y otras investigaciones pueden ser parte de la respuesta inflamatoria sistémica materna causada por placenta hipóxica que colabora con el estrés oxidativo y podría también reflejar la lesión endotelial y

hepatocelular al igual que colaborar con las alteraciones microangiopáticas. Las bajas concentraciones de fetuina-A sugieren la presencia de inflamación marcada en la preeclampsia (12). En un estudio previo se reportó que las pacientes preeclámpticas con pielonefritis aguda presentaban bajas concentraciones de fetuina-A que las embarazadas normales. También se ha demostrado que existe una correlación significativa entre las concentraciones de fetuina-A con la albumina y la transferrina en pacientes con preeclampsia (27).

Una limitación del estudio es el relativo pequeño número de pacientes seleccionadas, lo cual hace difícil que los hallazgos de esta investigación puedan ser trasladados a la población general y a las pacientes con diagnóstico de preeclampsia. Los hallazgos del presente estudio deben ser confirmados por investigaciones en las que se pueda seleccionar un mayor número de pacientes.

Los hallazgos de esta investigación demuestran que las pacientes con preeclampsia presentaron concentraciones significativamente más bajas de fetuina-A al compararlo con gestantes normotensas sanas, lo cual lo convierte en un marcador de riesgo útil en pacientes con preeclampsia.

RESPONSABILIDADES ÉTICAS

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del Comité de Experimentación Humana Responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Borzychowski AM, Sargent IL, Redman CW. Inflammation and pre-eclampsia. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2006;11(5):309-16.
- Foidart JM, Schaaps JP, Chantraine F, Munaut C, Lorquet S. Dysregulation of anti-angiogenic agents (sFlt-1, PLGF, and sEndoglin) in preeclampsia—a step forward but not the definitive answer. *J Reprod Immunol.* 2009;82(2):106-11.
- Arnaud P, Miribel L, Emerson DL. Alpha 2-HS glycoprotein. *Methods Enzymol.* 1988;163:431-41.
- Koruk M, Tayşi S, Savaş MC, Yılmaz O, Akçay F, Karakök M. Serum levels of acute phase proteins in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Turk J Gastroenterol.* 2003;14(1):12-7.
- Kalabay L, Jakob L, Prohászka Z, Füst G, Benkő Z, Telegdy L, et al. Human fetuin/alpha2HS-glycoprotein level as a novel indicator of liver cell function and short-term mortality in patients with liver cirrhosis and liver cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002;14(4):389-94.
- Li W, Zhu S, Li J, Huang Y, Zhou R, Fan X, et al. A hepatic protein, fetuin-A, occupies a protective role in lethal systemic inflammation. *PLoS One.* 2011;6(2):e16945.
- Jersmann HP, Dransfield I, Hart SP. Fetuin/alpha2-HS glycoprotein enhances phagocytosis of apoptotic cells and macrophocytosis by human macrophages. *Clin Sci (Lond).* 2003;105(3):273-8.
- Liu CM, Cheng PJ, Chang SD. Maternal complications and perinatal outcomes associated with gestational hypertension and severe preeclampsia in Taiwanese women. *J Formos Med Assoc.* 2008;107(2):129-38.
- Sankaralingam S, Arenas IA, Lalu MM, Davidge ST. Preeclampsia: current understanding of the molecular basis of vascular dysfunction. *Expert Rev Mol Med.* 2006;8(3):1-20.
- Park J, Cha DH, Lee SJ, Kim YN, Kim YH, Kim KP. Discovery of the serum biomarker proteins in severe preeclampsia by proteomic analysis. *Exp Mol Med.* 2011;43(7):427-35.
- Gomez LM, Anton L, Srinivas SK, Elovitz MA, Parry S. Effects of increased fetuin-A in human trophoblast cells and associated pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;207(6):484.e1-8.
- Molvarec A, Prohászka Z, Nagy B, Kalabay L, Szalay J, Füst G, et al. Association of increased serum heat shock protein 70 and C-reactive protein concentrations and decreased serum alpha(2)-HS glycoprotein concentration with the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *J Reprod Immunol.* 2007;73(2):172-9.
- Molvarec A, Kalabay L, Derzsy Z, Szarka A, Halmos A, Stenczer B, et al. Preeclampsia is associated with decreased serum alpha(2)-HS glycoprotein (fetuina-A) concentration. *Hypertens Res.* 2009;32(8):665-9.
- Daveau M, Christian-Davrinche, Julien N, Hiron M, Arnaud P, Lebreton JP. The synthesis of human alpha-2-HS glycoprotein is down-regulated by cytokines in hepatoma HepG2 cells. *FEBS Lett.* 1988;241(1-2):191-4.
- Rusterholz C, Hahn S, Holzgreve W. Role of placentally produced inflammatory and regulatory cytokines in pregnancy and the etiology of preeclampsia. *Semin Immunopathol.* 2007;29(2):151-62.
- Redman CW, Tannetta DS, Dragovic RA, Gardiner C, Southcombe JH, Collett GP, et al. Review: Does size matter? Placental debris and the pathophysiology of pre-eclampsia. *Placenta.* 2012;33 Suppl:S48-54.
- Reyna-Villasmil E, Briceño-Pérez C, Torres-Cepeda D. Inmunología, inflamación y preeclampsia. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 2009;69:97-110.
- Oggé G, Romero R, Chaiworapongsa T, Gervasi MT, Pacora P, Erez O, et al. Leukocytes of pregnant women with small-for-gestational age neonates have a different phenotypic and metabolic activity from those of women with preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010;23(6):476-87.
- Ozler A, Turgut A, Sak ME, Evsen MS, Soyduinc HE, Evliyaoglu O, et al. Serum levels of neopterin, tumor necrosis factor-alpha and Interleukin-6 in preeclampsia: relationship with disease severity. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2012;16(12):1707-12.
- Szarka A, Rigó J Jr, Lázár L, Beko G, Molvarec A. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC Immunol.* 2010;11:59.
- Demetriou M, Binkert C, Sukhu B, Tenenbaum HC, Dennis JW. Fetuin/alpha2-HS glycoprotein is a transforming growth factor-beta type II receptor mimic and cytokine antagonist. *J Biol Chem.* 1996;271(22):12755-61.
- Reyna-Villasmil E, Mejía-Montilla J, Reyna-Villasmil N, Torres-Cepeda D, Santos-Bolívar J. Concentraciones plasmáticas del factor de crecimiento y transformante beta-1 en preeclampsia y eclampsia. *Rev Latam Perinat.* 2013;16:175-80.
- Westenfeld R, Schäfer C, Krüger T, Haarmann C, Schurgers LJ, Reutelingperger C, et al. Fetuin-A protects against atherosclerotic calcification in CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(6):1264-74.
- Suliman ME, García-López E, Anderstam B, Lindholm B, Stenvinkel P. Vascular calcification inhibitors in relation to cardiovascular disease with special emphasis on fetuin-A in chronic kidney disease. *Adv Clin Chem.* 2008;46:217-62.
- Ford ML, Tomlinson LA, Smith ER, Rajkumar C, Holt SG. Fetuin-A is an independent determinant of change of aortic stiffness over 1 year in non-diabetic patients with CKD stages 3 and 4. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25(6):1853-8.
- Hausvater A, Giannone T, Sandoval YH, Doonan RJ, Antonopoulos CN, Matsoukis IL, et al. The association between preeclampsia and arterial stiffness. *J Hypertens.* 2012;30(1):17-33.
- Naccasha N, Gervasi MT, Chaiworapongsa T, Berman S, Yoon BH, Maymon E, et al. Phenotypic and metabolic characteristics of monocytes and granulocytes in normal pregnancy and maternal infection. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185(5):1118-23.