

مقایسه تغییرات سطح هوموسیستئین سرم در مسمومیت حاملگی و بارداری طبیعی

نویسندگان:

شهره ملک فسروی*

متخصص زنان و زایمان، عضو هیات علمی گروه زنان دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

بیژن کیودی

پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

مرضیه کیودی

کارشناس ارشد مامایی، عضو هیات علمی گروه مامایی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

تاریخ ارائه: ۸۴/۴/۲ تاریخ پذیرش: ۸۴/۱۰/۲۸

Comparison of Homocysteine of Serom in Pre-eclamptic with Normal Pregnancy

Abstract

Objective: Comparing the changes of fasting homocysteine during the second and third trimesters in pre-eclamptic women with normal control group.

Methods: In a nested case control study within a cohort of 324 pregnant women with normal blood pressure in 20th gestational week, 20 pre-eclamptic women were selected. Having been matched for pregestational body mass index, age, gestational age at time clinical manifestation of preeclampsia, a control group of 40 were selected. Coming back to their serological data, the homocysteine levels of cases and controls during the second trimester (20th to 24th weeks) of pregnancy were compared. The comparisons were also carried out in third trimester when preeclampsia occurred.

Results: The fasting homocysteine levels were increased from $5.31 \pm 1.4 \mu\text{m/l}$ to $7.54 \pm 1.6 \mu\text{m/l}$ between second and third trimesters in preeclamptic group ($P < 0.01$) and $4.1 \pm 1.3 \mu\text{m/l}$ to $5.2 \pm 1.4 \mu\text{m/l}$ in control group ($p < 0.01$).

Conclusion: The women who develop preeclampsia have higher homocysteine levels before clinical evidence of disease than women who remain normotensive during pregnancy. This data suggests endothelial dysfunction in preeclamptic women before clinical manifestation of preeclampsia.

Key Words: Preeclampsia, Homocysteine, Gestational age.

آدرس مکاتبه:

کرمانشاه - میدان فردوسی، بیمارستان معتضدی، گروه زنان و زایمان
نمبر: ۰۸۳۱-۸۲۲۲۵۲۶، تلفن: ۰۷۲۴-۰۴۷۷-۷۲۴۱-۰۸۳۱، همراه: ۰۹۱۸ ۱۳۱ ۱۱۴۸
پست الکترونیک: dr_shmalek@yahoo.com

مقدمه :

شیوع مسمومیت حاملگی در بارداری بین ۶ تا ۸ درصد است (۱). علت این بیماری هنوز ناشناخته است. اگر چه کاهش جریان خون رحمی - جفتی ناشی از تهاجم ناقص تروفوبلاستها در بیماری زایی مسمومیت حاملگی کاملاً شناخته شده است (۲)، اما چنین اختلالی، در موارد محدودیت رشد داخل رحمی نیز دیده می شود که الزاماً همراه با وقوع مسمومیت حاملگی نیست (۳)، بنابراین عوامل دیگری نیز در بروز این پدیده نقش دارند (۴، ۵). با توجه به این که ایجاد اختلال در عملکرد اندوتلیوم در مسمومیت حاملگی ثابت شده است (۵) و سطوح بالای هموسیستئین نیز با اختلالات اندوتلیوم ارتباط مستقیمی دارد، ارتباط بین این بیماری و افزایش هموسیستئین سرم در مطالعات متعددی بررسی شده اند که نتایج متفاوت و گاه متناقضی گزارش شده است (۶، ۷). بیشتر مطالعات قبلی در این زمینه به صورت مقطعی بوده اند و اندازه گیری سطح هموسیستئین همزمان با بروز علائم مسمومیت حاملگی انجام شده است که در اغلب موارد سطح هموسیستئین را در افراد مبتلا به مسمومیت حاملگی بالاتر از سطح هموسیستئین در حاملگی های طبیعی گزارش کرده اند (۸، ۹) گرچه در برخی موارد نیز چنین رابطه ای تایید نشده است (۱۰، ۱۱).

در مطالعات اندکی نیز سطح هموسیستئین قبل از بروز علائم مسمومیت حاملگی تعیین شده است (۱۰، ۱۲) تاکنون تنها در دو مقاله تغییرات سطح هموسیستئین در زنان با افزایش فشارخون در دوران بارداری گزارش شده است (۱۵)؛ اما در این تحقیقات یا افراد مبتلا به مسمومیت حاملگی از موارد فشارخون دوران بارداری (بدون پروتئین ادرار) تفکیک نشده اند (۱۱) و یا نوبت اول اندازه گیری هموسیستئین در هفته ۱۶ بارداری انجام شده است (۱۶) که هر دو وضعیت می توانند منجر به کاهش اختلال سطح هموسیستئین بین زنان با بارداری طبیعی و زنان مبتلا به مسمومیت حاملگی بشوند. این تحقیق برای اولین بار با هدف تعیین تغییرات سطح هموسیستئین سرم قبل از شروع علائم بالینی مسمومیت حاملگی و مقایسه آن با تغییرات سطح هموسیستئین سرم در زنان باردار سالم انجام شد.

روش کار :

این مطالعه به صورت ((nested case control)) از مهر ۱۳۷۸ تا پایان اسفند ۱۳۸۰ انجام شد. در طی دوره فوق و با نمونه گیری متوالی (sequential) ۳۲۴ خانم حامله که مراقبتهای دوران بارداری را طی هشت هفته اول حاملگی شروع نموده بودند تحت پی گیری قرار گرفتند. این افراد از شانزده درمانگاه مراقبتهای دوران بارداری از سطح شهر کرمانشاه انتخاب شدند. معیارهای ورود به مطالعه عبارت بود از حاملگی یک قلو، قند خون ناشتا زیر ۹۰mg/dl در اولین ویزیت دوران حاملگی، فشار خون زیر ۱۴۰/۹۰ میلی متر جیوه در هنگام ورود به مطالعه

(هفته ۲۰ تا ۲۴ حاملگی)، عدم سابقه بیماری های مزمن (شامل دیابت آشکار، بیماری کلیوی، پرفشاری خون، بیماری ایسکمیک قلبی و اختلالات لیپیدی)، شاخص توده بدن قبل از حاملگی کمتر از ۲۰kg/m²، عدم مصرف هر نوع دارو به جز موارد استاندارد مراقبتهای دوران بارداری، نبودن فرد مبتلا به دیابت آشکار در افراد خانواده و نداشتن پروتئین ادرار یا عفونت ادراری براساس نتایج آزمایش تجزیه ادرار. در این تحقیق به منظور حذف تاثیر احتمالی رژیم غذایی بر مقدار هموسیستئین، سطح سرمی هموسیستئین زنان در حالت ناشتا بررسی شد.

از همه افراد تحت پی گیری (۳۲۴ نفر) در بین هفته های ۲۰ تا ۲۴ حاملگی نمونه گیری خون به عمل آمد (نمونه خون سه ماهه دوم بارداری). نمونه خون بعد از یک شب ناشتا تهیه و پس از سانتریفوژ در دمای ۳۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. کلیه افراد مورد مطالعه تا پایان حاملگی از نظر وضعیت فشار خون پی گیری شدند.

در طی پی گیری به محض بروز فشار خون بالا در هر فرد و تایید تشخیص مسمومیت حاملگی، مجدداً یک نمونه خون بعد از یک شب ناشتا بودن تهیه و پس از سانتریفوژ در دمای ۳۰- درجه سانتیگراد نگهداری می شد (نمونه خون سه ماهه سوم و هنگام بروز مسمومیت حاملگی). مسمومیت حاملگی براساس افزایش فشار خون، به طور ثابت برابر یا بالای ۱۴۰/۹۰ میلی متر جیوه، در فردی که قبلاً فشار خون طبیعی داشته، همراه پروتئین ادرار به مقدار ۲+ یا بیشتر در بررسی dipstick، بدون عفونت ادراری، همراه یا بدون ادم در صورت یا اندام فوقانی تعریف شد. در طول دوره پی گیری، ۲۴ نمونه با تشخیص مسمومیت حاملگی شناسایی شدند. چهار مورد از بیماران به دلیل ناکافی بودن نمونه خون اولیه حذف شدند. در نهایت ۲۰ خانم واجد شرایط، گروه مورد را تشکیل دادند.

برای انتخاب گروه شاهد نیز هم زمان با تشخیص یک مورد مسمومیت حاملگی، از بین افراد تحت پی گیری (که از آنها در سه ماهه دوم نمونه خون تهیه شده بود) دو نفر که دارای معیارهای لازم از نظر جورسازی بودند (شامل سن مادر، سن حاملگی، شاخص توده بدن قبل از حاملگی و تعداد بارداری) انتخاب شده و نمونه خون نیز با همان روش تهیه و نگهداری شد. چنان چه این افراد در طی پی گیری، تا ده روز بعد از پایان حاملگی دچار افزایش فشار خون نمی شدند، در گروه شاهد قرار می گرفتند. در پایان دوره پی گیری، ۴۰ خانم باردار که تا ده روز پس از ختم بارداری با فشارخون طبیعی باقی ماندند گروه شاهد را تشکیل دادند.

روشهای آزمایشگاهی و روش اندازه گیری فشار خون: میزان هموسیستئین پلاسما به روش رادیوایمنواسی و با استفاده از کیت های شرکت DRG Instruments (www.drg.diagnostics) GmbH تهیه شد. فشار خون اولیه در دو نوبت با

علائم بالینی مسمومیت حاملگی بیشتر از زنان با فشار خون طبیعی در طی بارداری است (۱۲). یافته های این افراد با نتایج تحقیق حاضر هماهنگ است.

در مطالعه حاضر سطح هموسیستئین سرم از هفته بیست حاملگی به بعد در هر دو گروه، با پیشرفت سن حاملگی افزایش یافت، اما مقدار این افزایش در گروه مسمومیت حاملگی بیشتر بود. به طوری که سطح هموسیستئین سرم زنان دارای علائم مسمومیت حاملگی $2/3 \mu\text{lu/ml}$ برابر بیشتر از سطح هموسیستئین در زنان فاقد مسمومیت حاملگی با سن حاملگی مشابه بود. این یافته با بسیاری از مطالعاتی که تاکنون در این باره انجام شده اند هماهنگ است (۹، ۶). در واقع یافته های حاصل از این تحقیق نشان می دهد قبل از بروز علائم بالینی مسمومیت حاملگی افزایش واضحی در سطح هموسیستئین سرم رخ می دهد و با افزایش سن حاملگی روند افزایش نسبت به حاملگی طبیعی تشدید می شود. مطالعات اخیر نشان می دهند افزایش نسبی هموسیستئین خون با ترومبوز وریدی ارتباط دارد (۱۷). علت تاثیر مخرب هموسیستئین بر اندوتلیوم عروق ممکن است ناشی از تولید پراکسید هیدروژن باشد، با این مکانیسم که هموسیستئین باعث فعال شدن انواع واکنش های تولید اکسیژن می شود که این به نوبه خود با ایجاد استرس اکسیداتیو باعث آسیب سلولها می شود (۱۸). در سلول های اندوتلیال ورید نافی انسان نیز هموسیستئین با افزایش سلولهای آپوپتیک و نکروتیک باعث کاهش سنتز DNA می شود (۲۰، ۱۹). Falco و همکارانش نیز نشان دادند افزایش هموسیستئین باعث تشکیل آتروز و ترومبوز بافت جفت می شود (۲۱). احتمالاً هموسیستئین از طریق آزاد کردن سیتوکروم C- باعث ایجاد اثرات فوق و در نهایت مرگ تروفوبلاست ها می شود (۱۹). از آن جا که اختلال در عروق رحمی- جفتی در ایجاد علائم مسمومیت حاملگی کاملاً شناخته شده است (۲)، ما با استفاده از یافته های خود و تحقیقات فوق این احتمال را می دهیم که افزایش هموسیستئین سرم در ایجاد اختلالات عروق رحمی- جفتی و حتی عروق مادر نقش مهمی ایفا می کند که ممکن است سرمنشاء ایجاد سندرم مسمومیت حاملگی باشد.

براساس مطالعات انجام شده، سطح هموسیستئین سرم با شروع بارداری تا هفته بیستم کاهش می یابد و بعد از آن شروع به افزایش می کند (۲۲). ما در مطالعه خود این افزایش را هم در زنان با فشار خون طبیعی و هم در زنان مبتلا به مسمومیت حاملگی مشاهده نمودیم. اما سرعت این افزایش در زنان مبتلا به مسمومیت حاملگی بیشتر بود. احتمالاً در اوایل بارداری، بدن مادر با کاهش هموسیستئین، سعی در ایجاد عروق رحمی- جفتی و حفظ محصول حاملگی در بهترین وضعیت ممکن را دارد. اما رفته رفته با پیشرفت بارداری فرآیند آماده سازی مادر برای زایمان و در واقع دفع جنین شروع می شود. این امر با افزایش تدریجی و آرام هموسیستئین و

فاصله حداقل ۴ ساعت توسط مامای آموزش دیده، به وسیله فشار سنج جیوه ای بین ساعتهای ۸ تا ۱۲ صبح و در حالت نشسته اندازه گیری شد. ملاک فشار دیاستول، صدای پنجم کورتکوف بود.

روشهای آماری: نتایج به صورت میانگین و خطای استاندارد ارائه شدند. برای بررسی تغییرات سطح هموسیستئین در طول حاملگی در هر گروه؛ و تعیین تفاوت سطح هموسیستئین در سه ماهه دوم و نیز در سه ماهه سوم بین دو گروه؛ روش تجزیه و تحلیل متغیر دوطرفه به کار رفت. برای مقایسه تغییرات هموسیستئین در دو گروه از آزمون تی (t-test) استفاده شد. سطح معنی داری آماری $P < 0/05$ بود.

یافته ها :

دو گروه مورد بررسی از نظر معیارهای فردی که برای جور سازی به کار رفته بودند مشابه بودند (جدول ۱). تغییرات هموسیستئین ناشتا در دو گروه (مورد و شاهد) و در مراحل مختلف حاملگی در نمودار شماره یک مشاهده می شود. میانگین سطح هموسیستئین ناشتا در گروه مورد، قبل از بروز مسمومیت حاملگی (هفته ۲۰ تا ۲۴) و هنگام بروز مسمومیت حاملگی از گروه شاهد بالاتر بود ($p < 0/01$). براساس تحلیل متغیر دوطرفه، افزایش هموسیستئین ناشتا در طول بارداری در هر دو گروه معنی دار بود ($p < 0/01$)، اما مقدار افزایش آن در گروه مسمومیت حاملگی به صورت معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود ($2/3 \pm 0/3 \mu\text{lu/ml}$ در مقابل $1/1 \pm 0/1 \mu\text{lu/ml}$; $p < 0/05$).

بحث :

سطح هموسیستئین سرم در هفته بیست بارداری در زنانی که علائم مسمومیت حاملگی را نداشتند اما در طول بارداری مبتلا به مسمومیت حاملگی شدند، به طور معنی داری بیشتر از سطح هموسیستئین در گروه شاهد بود. از آن جا که زمان انجام اولین نمونه گیری خون در هر دو گروه در هفته ۲۴-۲۰ بارداری بود، لذا اختلاف فوق را نمی توان به تغییرات هموسیستئین ناشی از سن حاملگی نسبت داد. در مطالعه Hietala و همکاران، سطح هموسیستئین سرم زنان در هفته شانزده بارداری در گروهی که در اواخر بارداری مبتلا به مسمومیت حاملگی می شوند با گروهی که فشارخون آنها طبیعی باقی می ماند، تفاوتی نداشت. علت تفاوت مشاهده شده بین تحقیق ما و مطالعه فوق می تواند ناشی از اختلاف زمان انجام نمونه گیری در این دو پژوهش باشد (هفته ۲۴-۲۰ در مقابل هفته ۱۶). به علاوه آنها نمونه های خود را از بین افراد غیرناشتا انتخاب کرده بودند که می تواند عاملی برای عدم مشاهده اختلاف معنی دار سطح هموسیستئین در دو گروه مطالعه مذکور باشد، زیرا رژیم غذایی می تواند بر روی سطح هموسیستئین پلاسما تاثیر گذارد (۱۰). Cotter و همکارانش نیز طی مطالعه ای اعلام کردند سطح هموسیستئین سرم زنان باردار قبل از بروز

تأثیر مخرب آن بر عروق رحمی- جفتی آغاز می شود. با توجه به این که نقش پاسخ ایمنی برانگیخته شده در مسمومیت حاملگی مدتهاست که مطرح شده است (۲۳)، ممکن است افزایش تشدید شده هموسیستئین، در این بیماران با ایجاد سریع تر و شدیدتر ایسکمی و نکروز جفتی و در نتیجه ختم زودرس بارداری (۲۴)، نوعی مکانیسم دفاعی منحرف شده برای دفع عامل تحریک سیستم ایمنی یعنی، جنین باشد. البته به منظور تایید (یا رد) فرضیه فوق به تحقیقات بیشتری نیاز داریم.

به هر حال با توجه به روش کار این تحقیق، نمی توان درباره نقش سطح سرمی هموسیستئین زنان باردار، در پیش گویی مسمومیت حاملگی اظهار نظر نمود.

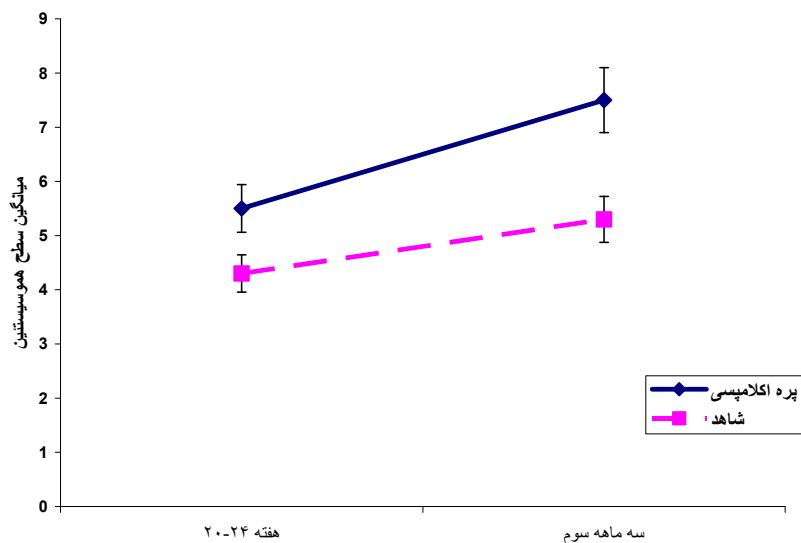
قدردانی :

در پایان، نام و یاد استاد فقید مرحوم دکتر حمید راهی را که نقش بسزایی در انجام این پروژه داشتند، گرامی می داریم. هم چنین از سرپرست و کارکنان محترم آزمایشگاه پارس برای انجام آزمایشات، از مسئولین محترم آزمایشگاه های تحقیقاتی و داروشناسی دانشکده پزشکی کرمانشاه برای نگهداری نمونه های سرم، سپاس گزاریم.

جدول ۱- مشخصات فردی در دو گروه مورد مطالعه

متغیر	مسمومیت حاملگی	شاهد
سن مادر (سال)	$24/4 \pm 3/1$	$24/1 \pm 2/3$
شاخص توده بدن (kg/m^2)	$24/1 \pm 1/1$	$24 \pm 0/7$
سن حاملگی	$33/3 \pm 3/4$	$33/5 \pm 3/1$

- انحراف معیار \pm میانگین



نمودار ۱: تغییرات سطح هموسیستین در طول بارداری

مقدمه: براساس مطالعات مقطعی، مسمومیت حاملگی با سطح بالای هوموسیستئین رابطه دارد. هدف این تحقیق تعیین تغییرات سطح هوموسیستئین بیماران مبتلا به مسمومیت حاملگی بعد از هفته بیستم حاملگی و مقایسه آن با افراد حامله دارای فشار خون طبیعی بود.

روش کار: در یک مطالعه nested case control، با پی گیری ۳۲۴ خانم باردار، سرم سه ماهه دوم و سوم ۴۰ خانم باردار سالم و ۲۰ خانم مبتلا به مسمومیت حاملگی از نظر میزان هوموسیستئین ناشتا مقایسه شد. دو گروه از نظر سن، تعداد بارداری، سن حاملگی و شاخص توده بدن قبل از حاملگی جورسازی شدند. داده ها به روش آنالیز واریانس دوطرفه تحلیل شد.

یافته ها: سطح هوموسیستئین درگروه مسمومیت حاملگی، طی حاملگی از $5/31 \pm 1/4 \mu\text{Iu/ml}$ به $5/2 \pm 1/4 \mu\text{Iu/ml}$ افزایش یافت ($p < 0/01$)، و در گروه شاهد نیز از $4/1 \pm 1/3 \mu\text{Iu/ml}$ به $4/2 \pm 1/4 \mu\text{Iu/ml}$ افزایش بود ($p < 0/01$). مقدار افزایش میانگین هوموسیستئین ناشتا در طول حاملگی درگروه مسمومیت حاملگی بیشتر از گروه شاهد بود ($p < 0/01$).

بحث: در افراد مبتلا به مسمومیت حاملگی، سطح هوموسیستئین سرم در سه ماهه دوم و قبل از بروز علائم بالینی مسمومیت حاملگی نسبت به حاملگی طبیعی بالاتر است و هنگام بروز علائم بیماری، میزان هوموسیستئین سرم افزایش بیشتری پیدا می کند. این یافته نشان می دهد اختلال عملکرد اندوتلیوم در این بیماران قبل از شروع علائم بالینی وجود دارد و هنگام بروز علائم بالینی تشدید می شود.

کلمات کلیدی: مسمومیت حاملگی، هوموسیستئین، سن بارداری.

References:

1. Norwitz ER, Robinson JN, Repke JT. Prevention of preeclampsia: is it possible?. Clin Obstet Gynecol. 1999 Sep;42(3):436-54. **Review.**
2. Roberts JM. Endothelial dysfunction in preeclampsia. Semin Reprod Endocrinol. 1998;16(1):5-15. **Review.**
3. Khong TY. Acute atherosclerosis in pregnancies complicated by hypertension, small-for-gestational-age infants, and diabetes mellitus. Arch Pathol Lab Med. 1991 Jul;115(7):722-5.
4. Ness RB, Roberts JM. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications. Am J Obstet Gynecol. 1996 Nov;175(5):1365-70. **Review.**
5. Chambers JC, Fusi L, Malik IS, Haskard DO, De Swiet M, Kooner JS. Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia. JAMA. 2001 Mar 28;285(12):1607-12.
6. Rajkovic A, Catalano PM, Malinow MR. Elevated homocyst(e)ine levels with preeclampsia. Obstet Gynecol. 1997 Aug;90(2):168-71.
7. Wang J, Trudinger BJ, Duarte N, Wilcken DE, Wang XL. Elevated circulating homocyst(e)ine levels in placental vascular disease and associated pre-eclampsia. BJOG. 2000 Jul;107(7):935-8.
8. Powers RW, Evans RW, Majors AK, Ojimba JI, Ness RB, Crombleholme WR, et al. Plasma homocysteine concentration is increased in preeclampsia and is associated with evidence of endothelial activation. Am J Obstet Gynecol 1998 Dec;179(6 Pt 1):1605-11.
9. Raijmakers MT, Zusterzeel PL, Steegers EA, Hectors MP, Demacker PN, Peters WH. Plasma thiol status in preeclampsia. Obstet Gynecol. 2000 Feb;95(2):180-4.
10. Hietala R, Turpeinen U, Laatikainen T. Serum Homocysteine at 16 weeks and subsequent preeclampsia. Obstet Gynecol 2001 Apr;97(4):527-529.

11. Hogg BB, Tamura T, Johnston KE, Dubard MB, Goldenberg RL. Second-trimester plasma homocysteine levels and pregnancy-induced hypertension, preeclampsia, and intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 2000 Oct;183(4):805-9.
12. Cotter AM, Molloy AM, Scott JM, Daly SF. Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: a risk factor for the development of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2001 Oct;185(4):781-5.
13. Laivuorni H, Kaaja R, Turpeinen U, Viinikka L, Ylikorkala O. Plasma homocysteine levels elevated and inversely related to insulin sensitivity in preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 1999 Apr;93(4):489-93.
14. Mayerhofer K, Hefler L, Zeisler H, Tempfer C, Bodner K, Stockler-Ipsiroglu S, et al. Serum homocyst(e)ine levels in women with preeclampsia. *Wien Klin Wochenschr.* 2000 Mar 24;112(6):271-5.
15. Mignini LE, Latthe PM, Villar J, Kilby MD, Carroli G, Khan KS. Mapping the theories of preeclampsia: the role of homocysteine. *Obstet Gynecol.* 2005 Feb;105(2):411-25.
16. D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Ientile R, Granese D, Stella NC. Plasma homocysteine in early and late pregnancies complicated with preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004 Feb;83(2):155-8.
17. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Gilstrap III L, et al. *Williams obstetrics.* 22nd ed. New York: McGrawHill. 2005:Vol.2,760-800.
- 18- Walsh SW. Lipid peroxidation in pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 1994;13:1-25.
19. Di Simone N, Maggiano N, Caliandro D, Riccardi P, Evangelista A, Carducci B, et al. Homocysteine induces trophoblast cell death with apoptotic features. *Biol Reprod.* 2003 Oct;69(4):1129-34.
20. Kamudhamas A, Pang L, Smith SD, Sadovsky Y, Nelson DM. Homocysteine thiolactone induces apoptosis in cultured human trophoblasts: a mechanism for homocysteine-mediated placental dysfunction?. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Aug;191(2):563-71.
21. De Falco M, Pollio F, Scaramellino M, Pontillo M, Lieto AD. Homocysteinaemia during pregnancy and placental disease. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2000;27(3-4):188-90.
22. Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ, Garner PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Mar;180(3 Pt 1):660-4.
23. Dekker GA, Robillard PY, Hulsey TC. Immune maladaptation in the etiology of preeclampsia: a review of corroborative epidemiologic studies. *Obstet Gynecol Surv* 1998 Jun;53(6):377-82.
24. Vollset SE, Refsum H, Irgens LM, Emblem BM, Tverdal A, Gjessing HK, et al. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine study. *Am J Clin Nutr.* 2000 Apr;71(4):962-8.