

Perbandingan Kadar Inhibin A Serum dan Plasenta Serta Ekspresi Inhibin A Plasenta antara Kehamilan Preeklamsi Berat/Eklamsi dan Kehamilan Normal

Yuliana Arisanti, H. Muh. Dikman Angsar

Departemen Obstetri Ginekologi

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

RSUD Dr. Soetomo Surabaya

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan membuktikan perbedaan antara kadar inhibin A serum dan plasenta serta ekspresi inhibin A plasenta pada wanita hamil preeklamsi berat/eklamsi dan hamil normal. Penelitian dilakukan di kamar bersalin IRD RSUD Dr. Soetomo Surabaya di bulan Mei sampai dengan Juli 2010 dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini merupakan uji studi analitik observasional dalam bentuk desain potong lintang (cross sectional) dengan melibatkan penderita preeklamsi berat/eklamsi. Sampel (consecutive sampling) yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dibagi menjadi kelompok hamil normal dan hamil preeklamsi berat/eklamsi. Masing-masing kelompok dilakukan pengambilan serum darah vena untuk pengukuran inhibin A secara ELISA dan biopsi plasenta untuk pengukuran inhibin A secara ELISA dan penghitungan ekspresi inhibin A plasenta secara imunohistokimia. Didapatkan total 38 sampel pada kedua kelompok. Rerata kadar inhibin A serum kelompok preeklamsi berat/eklamsi (17,3 ng/ml) lebih tinggi dibandingkan kelompok hamil normal (5,3 ng/ml), dan terdapat perbedaan yang bermakna (harga $p < 0,05$) antara kedua kelompok. Rerata kadar inhibin A plasenta kelompok preeklamsi berat/eklamsi (18,1 ng/ml) lebih tinggi dibandingkan kelompok hamil normal (6,2 ng/ml), dan terdapat perbedaan yang bermakna (harga $p < 0,05$) antara kedua kelompok. Rerata ekspresi inhibin A plasenta kelompok preeklamsi berat/eklamsi (20,4 sel/lp) lebih tinggi dibandingkan kelompok hamil normal (4,9 sel/lp), dan terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok (harga $p < 0,05$). Kesimpulan : Pada penelitian ini didapatkan perbedaan yang bermakna kadar inhibin A serum dan plasenta serta ekspresi inhibin A plasenta kehamilan preeklamsi berat/eklamsi dibandingkan kehamilan normal.

ABSTRACT

The objective of this study was to compare maternal serum inhibin A level, placenta inhibin A level and placenta inhibin A expression in pregnant women with severe preeclampsia/eclampsia and normal pregnant women. This study was conducted at delivery room of ER Dr. Soetomo Hospital, Surabaya, Mei until Juli 2010, and Biomedical Laboratory, Medical Faculty, Brawijaya University, Malang. This was an observational analytic research with cross sectional design. Sampel are consecutively recruited based on inclusive criteria and divided into two groups, one group is normal pregnant women, the second group is pregnant women with severe preeclampsia/eclampsia. Maternal serum inhibin A level and placenta inhibin A level were measured by ELISA method. Placenta inhibin A expression were measured by immunohistochemical method. There were significant increase in maternal serum inhibin A level, placenta inhibin A level and placenta inhibin A expression between normal pregnancy and severe preeclampsia/eclampsia pregnant women. Statistically maternal serum inhibin A level on severe preeclampsia/eclampsia pregnant women is significantly increase from normal pregnancy ($17,3 \pm 12,9 : 5,3 \pm 1,8$, $p < 0,05$). Statistically placenta inhibin A level on severe preeclampsia/eclampsia pregnant women is significantly increase from normal pregnancy ($18,1 \pm 13,5 : 6,2 \pm 1,6$, $p < 0,05$). Statistically placenta inhibin A expression on severe preeclampsia/eclampsia pregnant women is significantly increase from normal pregnancy ($20,4 \pm 5,2 : 4,9 \pm 1,6$, $p < 0,05$). In conclusion, we found that maternal serum inhibin A level, placenta inhibin A level and placenta inhibin A expression on severe preeclampsia/eclampsia pregnant women are significantly increase from normal pregnancy.

Keywords : inhibin A, placenta inhibin A expression, severe preeclampsia, eclampsia, ELISA, immunohistochemical.

PENDAHULUAN

Preeklamsia sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan dibidang obstetri, yang mana etiologinya masih belum jelas. Beberapa ahli menyebutkan bahwa preeklamsia mungkin bukan merupakan penyakit tunggal, tapi merupakan

suatu sindroma dari kemungkinan beberapa penyebab. Berdasarkan klasifikasi terbaru yang diajukan oleh National High Blood Pressure Education Program, kriteria minimal diagnosa preeklamsia adalah hipertensi, tekanan darah = 140/90 mmHg, dan proteinuria, ekskresi protein urin = 300 mg dalam 24 jam, pertama kali didiagnosa setelah kehamilan 20 minggu.¹

Angka kejadian preeklamsia berkisar antara 5-15% dari seluruh kehamilan.² Lyell, 2003). Di negara berkembang insidensinya sekitar 3-10% dan eklamsia 0,3-0,7% kehamilan, sedangkan di Eropa dan Amerika Serikat, insidensi preeklamsia sekitar 5% dan eklamsia antara 0,05-0,1%.^{4,5} Di RS Dr Soetomo tahun 2000 terdapat 10,68% kasus preeklamsia-eklamsia (Soedarmadi, 2002). Sindroma ini merupakan salah satu penyebab morbiditas dan mortalitas bagi maternal dan perinatal yang menyebabkan kematian ibu hamil sekitar 18%, terbesar kedua di dunia (Lyell, 2003). Di RS Dr Soetomo penyakit ini menjadi penyebab kematian terbanyak tahun 2001 sekitar 48,27%.⁷

Jaringan intrauterin (plasenta, amnion, korion, desidua) mengekspresikan hormon dan sitokin yang memegang peranan penting interaksi fisiologi ibu dan janin, memprogram sistem endokrin ibu dan sinyal mekanisme proses persalinan. Perubahan hormonal ini berbeda pada kondisi kehamilan patologi dan dapat digunakan sebagai diagnosa atau faktor prediksi penyakit-penyakit dalam kehamilan. Penemuan beberapa tahun terakhir menyebutkan hormon plasenta memiliki pengaruh besar dalam mengenali penyakit-penyakit dalam kehamilan. Proses identifikasi terbaru memperlihatkan beberapa hormon plasenta dalam sirkulasi ibu, sirkulasi janin dan cairan amnion. Pelepasan berlebihan hormon plasenta yang berkaitan dengan penyakit-penyakit dalam kehamilan merupakan respon adaptasi plasenta dan membran janin terhadap kondisi lingkungan yang merugikan seperti hipertensi, hipoksia, infeksi atau malformasi janin dan plasenta. Peningkatan konsentrasi hormon tersebut dalam sirkulasi darah ibu, darah umbilikus janin dan cairan amnion secara klinis menunjukkan peningkatan sintesa hormon plasenta.¹

Berbagai petanda biokimia berdasarkan patofisiologi hipertensi dalam kehamilan, diajukan dengan tujuan memprediksi perkembangan kehamilan kearah preeklamsia. Penemuan terbaru, inhibin-A, golongan glikoprotein yang diproduksi sinsiotrofoblas plasenta, dapat digunakan sebagai faktor prediksi preeklamsia.⁸ Beberapa penelitian menunjukkan level inhibin-A meningkat signifikan pada sirkulasi wanita hamil dengan preeklamsia, dengan mekanisme yang masih belum jelas. Bahkan ada penelitian menyebutkan inhibin-A meningkat sebelum preeklamsia terjadi. Hal tersebut berguna untuk aplikasi klinis dalam mengidentifikasi wanita hamil dengan resiko preeklamsia.^{9,8,10}

Plasenta merupakan sumber inhibin. Sel plasenta aterm memproduksi peningkatan level inhibin-A sebagai respon sitokin inflamasi pada preeklamsia. Satu-satunya terapi preeklamsia adalah melahirkan plasenta, yang mana setelahnya didapatkan penurunan gejala dengan cepat, hal ini menunjukkan bahwa preeklamsia adalah penyakit plasenta. Pada preeklamsia terjadi plasentasi abnormal (insufisiensi atau hiperplasentasi) dengan adaptasi fisiologi yang tidak lengkap dari arteri spiralis. Adaptasi ini mencegah dilatasi arteri spiralis sebagai respon meningkatnya aliran darah uterus plasenta pada akhir kehamilan. Sindroma ibu pada preeklamsia (hipertensi, proteinuria, edema) merupakan respon inflamasi dipicu oleh sitokin inflamasi, sebagai akibat proses apoptosis sinsiotrofoblas plasenta, yang pada akhirnya menyebabkan disfungsi endothel.^{8,10} Pada penelitian berikut ini kami akan meneliti tentang perbandingan kadar inhibin-A serum dan plasenta serta ekspresi inhibin-A plasenta pada ibu hamil normal dan preeklamsia berat/eklamsia.

BAHAN DAN METODE

Rancangan penelitian ini merupakan suatu studi analitik observasional dalam bentuk desain potong lintang (cross sectional). Penelitian dilakukan di Kamar bersalin RSU Dr. Soetomo Surabaya dan Laboratorium Biomedik FK UNIBRAW Malang. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Mei 2010 sampai dengan bulan Juli 2010. Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah kehamilan normal pada usia kehamilan > 20 minggu, kehamilan preeklamsia berat pada usia kehamilan > 20 minggu, dan eklamsia. Kriteria eksklusi adalah kehamilan yang disertai hipertensi kronis, penyakit ginjal, diabetes mellitus. Pengambilan sampel penelitian dilakukan secara consecutive sampling sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Sampel penelitian dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok studi dan kelompok kontrol. Kelompok studi adalah kehamilan preeklamsia berat/eklamsia pada usia > 20 minggu. Kelompok kontrol adalah kehamilan normal pada usia > 20 minggu. Masing-masing sampel dilakukan pengambilan serum darah dan biopsi plasenta. Besar sampel penelitian adalah 38, dibagi dalam dua kelompok penelitian, masing-masing kelompok penelitian 19 sampel.

Ibu hamil yang berpartisipasi dalam penelitian ini dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diberi keterangan tentang tujuan penelitian ini, kemudian dimintakan pernyataan bersedia mengikuti penelitian. Masing-masing sampel akan

dilakukan pengambilan darah untuk pengukuran kadar inhibin A serum dan plasenta dengan cara metode ELISA dan dilakukan biopsi plasenta untuk mengukur ekspresi inhibin A sel trofoblas dengan cara imunohistokimia. Hasil yang didapat berupa data kuantitatif untuk kadar inhibin A serum dan plasenta dalam satuan ng/ml dan data semikuantitatif untuk ekspresi inhibin A plasenta dalam satuan jumlah sel/lapang pandang. Data penelitian dicatat dalam formulir pengumpul data yang dirancang khusus. Kemudian dilanjutkan dengan uji normalitas, apabila didapatkan hasil normal akan dilakukan uji t 2 sampel bebas. Apabila didapatkan hasil yang tidak normal akan dilakukan uji statistik Mann Whitney. Kelayakan etik didapatkan dari komisi etik untuk penelitian ilmu dasar/klinik di RSUD Dr. Soetomo/Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preeklamsi merupakan suatu penyakit plasenta dengan penyebab yang masih belum jelas. Konsentrasi beberapa petanda protein dalam sirkulasi ibu mengalami peningkatan pada preeklamsi. Penemuan terbaru, inhibin-A, golongan glikoprotein yang diproduksi sinsiotrofoblas plasenta, dapat digunakan sebagai faktor prediksi preeklamsia.⁸ Sel plasenta aterm memproduksi kadar inhibin-A yang meningkat sebagai respon sitokin inflamasi pada preeklamsia. Pada preeklamsia, terjadi kegagalan invasi EVT pada segmen miometrium arteri spiral dan remodelling arteri spiral tidak efektif. Sirkulasi uterus plasenta dipertahankan dengan kondisi resistensi tinggi, menyebabkan menurunnya perfusi plasenta, insufisiensi plasenta serta aliran darah ke janin terhambat. Kondisi plasenta yang hipoksik meningkatkan produksi dan sintesa reactive oxygen species (ROS). ROS terlibat dalam stimulasi ekspresi gen subunit α dan β inhibin A oleh plasenta, sehingga terjadi peningkatan kadar inhibin A serum dan plasenta serta peningkatan ekspresi inhibin A plasenta. Selain peningkatan ROS, plasenta yang hipoksia menyebabkan meningkatnya produksi sitokin, diantaranya IL-1 β dan TNF- α . IL-1 β meningkatkan produksi dan sintesa inhibin A, sedangkan TNF- α menghambat sintesa inhibin A.

Penelitian ini dilakukan dengan mengambil sampel hamil normal dan PEB/eklamsi secara berturut-turut dengan memakai usia ibu dan usia kehamilan sebagai karakteristik homogenitas. Pada tabel 5.1 terlihat bahwa rerata usia ibu kelompok kehamilan dengan preeklamsi berat/eklamsi adalah 29,8 tahun, dengan usia termuda 19 tahun dan tertua 41 tahun. Sedangkan rerata usia ibu kelompok kehamilan normal adalah 27,6 tahun, dengan usia termuda 19 tahun dan tertua 40 tahun.

Tabel 5.2 disebutkan bahwa usia kehamilan terbanyak kelompok preeklamsi berat/eklamsi adalah aterm (12 sampel), dengan kehamilan preterm 5 sampel dan postterm 2 sampel. Sedangkan usia kehamilan terbanyak kelompok kehamilan normal adalah aterm (14 sampel), dengan kehamilan preterm 4 sampel dan postterm 1 sampel.

Dari uji homogenitas karakteristik sampel penelitian berdasarkan usia ibu dan usia kehamilan didapatkan $p > 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa karakteristik sampel penelitian berdasarkan usia ibu dan usia kehamilan adalah homogen dan tidak menjadi variabel perancu pada penelitian ini.

Pada tabel 5.3 terlihat bahwa rerata kadar inhibin A serum kelompok kehamilan preeklamsi berat/eklamsi lebih tinggi (17,31 ng/ml) dibandingkan kelompok kehamilan normal (5,28 ng/ml) atau meningkat 3,3 kali lipat. Dari uji statistik didapatkan nilai $p < 0,05$ ($p = 0,013$), yang berarti didapatkan perbedaan bermakna kadar inhibin A serum antara kelompok kehamilan normal dan preeklamsi berat/eklamsi. Hal ini sesuai penelitian yang dilakukan Muttukrishna dkk (1997), Silver dkk (1999), serta Zeeman dkk (2002), yang semuanya menunjukkan peningkatan kadar inhibin A serum secara signifikan pada kelompok studi (PEB) dibandingkan kelompok kontrol (normal).

Tabel 5.4 menunjukkan bahwa rerata kadar inhibin A plasenta kelompok kehamilan preeklamsi berat/eklamsi lebih tinggi (18,11 ng/ml) dibandingkan kelompok kehamilan normal (6,12 ng/ml) atau meningkat 2,9 kali lipat. Dari uji statistik didapatkan nilai $p < 0,05$ ($p = 0,007$), yang berarti didapatkan perbedaan bermakna kadar inhibin A plasenta antara kelompok kehamilan normal dan preeklamsi berat/eklamsi. Hal ini sesuai penelitian yang dilakukan oleh Bersinger, Groome dan Muttukrishna (2002). Penelitian tersebut menyebutkan, dari ekstrak plasenta dengan menggunakan metode ELISA didapatkan peningkatan kadar inhibin A plasenta kelompok studi (PEB) dibandingkan kelompok kontrol (normal) dengan nilai $p = 0,0453$.

Rerata ekspresi inhibin A plasenta kelompok kehamilan preeklamsi berat/eklamsi (20,42), lebih tinggi (4,17 kali lipat) dibanding kehamilan normal (4,89). Dari uji statistik juga didapatkan perbedaan yang bermakna ($p = 0,021$). Penelitian

kami didasarkan pada hasil penelitian terdahulu oleh Petraglia, yang melakukan studi imunohistokimia pada jaringan plasenta beku, menunjukkan bahwa subunit α dan subunit β inhibin didapatkan pada lapisan sinsisiotrofoblas maupun sitotrofoblas. Hal tersebut membuktikan bahwa inhibin A diproduksi baik oleh sel sinsisiotrofoblas maupun sitotrofoblas plasenta.

Ketiga hasil penelitian diatas mendukung hipotesa patogenesis preeklamsi yang terjadi oleh karena kegagalan remodelling arteri spiralis. Pada PEB/eklamsi akibat kegagalan remodelling arteri spiralis terjadi kondisi plasenta iskemik/hipoksik, yang mana menstimulasi proses inflamasi dengan melepaskan sitokin diantaranya IL-1 β dan reactive oxygen species (ROS). IL-1 β dan ROS meningkatkan produksi dan sintesa inhibin A oleh sel trofoblas plasenta. ROS terlibat dalam stimulasi ekspresi gen subunit α dan β inhibin baik dalam sel sitotrofoblas maupun sinsisiotrofoblas. Sel sinsisiotrofoblas berhubungan langsung dengan sirkulasi ibu dalam intervillous space, inhibin A yang dihasilkan langsung memasuki sirkulasi ibu, sehingga terjadi peningkatan kadar inhibin A yang dapat dideteksi baik didalam serum maupun plasenta serta peningkatan ekspresi inhibin A plasenta.^{10,11}

Kami melakukan analisa statistik pada kelompok PEB/eklamsi, apakah didapatkan perbedaan bermakna kadar inhibin A serum dan plasenta, serta ekspresi inhibin A plasenta antara kelompok PEB dan eklamsi. Rerata kadar inhibin A serum kelompok kehamilan preeklamsi berat (18,84), lebih tinggi dibanding kehamilan eklamsi (13,02). Dari analisa statistik menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar inhibin A serum antara kelompok PEB dan eklamsi ($p=0,218$). Rerata kadar inhibin A plasenta kelompok kehamilan preeklamsi berat (19,61), lebih tinggi dibanding kehamilan eklamsi (13,93). Analisa statistik menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar inhibin A plasenta antara kelompok PEB dan eklamsi ($p=0,243$). Rerata ekspresi inhibin A plasenta kelompok kehamilan preeklamsi berat (21,14), lebih tinggi dibanding kehamilan eklamsi (18,40). Analisa statistik menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna ekspresi inhibin A plasenta antara kelompok PEB dan eklamsi ($p=0,224$). Ketiga hasil tersebut bertentangan dengan penelitian Zeeman dkk (2002) yang menunjukkan bahwa peningkatan kadar inhibin A serum berkaitan dengan keparahan dari preeklamsi berdasarkan tekanan darah dan protein urin (preeklamsi ringan, preeklamsi berat, dan hipertensi kronis). Hal ini dapat disebabkan karena jumlah sampel yang terbatas. Walaupun dalam penelitian Zeeman dkk (2002) disebutkan pemeriksaan kadar inhibin A serum mempunyai nilai sensitivitas 16%.

Selain itu kami juga melakukan analisa kadar inhibin A serum dan plasenta antara early onset preeklampsia (preeklampsia yang terjadi pada usia kehamilan < 34 minggu) dan late onset preeklampsia (preeklampsia yang terjadi pada usia kehamilan = 34 minggu). Berdasarkan konsep terbaru preeklampsia dibedakan early onset preeklampsia dan late onset preeklampsia. Early onset preeklampsia (< 34 minggu) dikaitkan dengan kelainan plasenta, sedangkan late onset preeklampsia (= 34 minggu) dikaitkan dengan faktor-faktor ibu. Pada penelitian kami didapatkan 4 kehamilan dengan early preeklampsia dan 15 kehamilan dengan late preeklampsia. Rerata kadar inhibin A serum early preeklampsia (18,93) lebih tinggi dibandingkan dengan late preeklampsia (16,88). Namun analisa statistik menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar inhibin A serum kelompok early preeklampsia dan late preeklampsia ($p=0,817$). Rerata kadar inhibin A plasenta early preeklampsia (20,09) lebih tinggi dibandingkan dengan late preeklampsia (17,59). Namun analisa statistik menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar inhibin A plasenta kelompok early preeklampsia dan late preeklampsia ($p=0,726$). Hasil diatas sesuai dengan penelitian Muttukhrisna dkk, 2000, yang menunjukkan kadar inhibin A pada early preeklampsia (< 34 minggu) lebih tinggi dibandingkan dengan late preeklampsia (= 34 minggu).

Penelitian kami tidak membedakan usia kehamilan berdasarkan trimester. Menurut peneliti lain didapatkan perubahan kadar inhibin A serum pada tiap trimester kehamilan normal, yaitu mulai meningkat pada usia kehamilan 5 minggu dan mencapai puncak pada usia kehamilan 8 minggu, kemudian dipertahankan rendah sampai usia kehamilan 16 minggu dan pada trimester dua. Pada kehamilan trimester tiga konsentrasinya mencapai lima kali lipat dan mencapai puncaknya pada usia kehamilan 36 minggu. (Birdsall, 1997; Lockwood et al, 1998) Tidak demikian halnya pada penderita yang berkembang menjadi preeklamsi berat, kenaikan kadar inhibin A serum sudah dapat terdeteksi pada trimester dua, dan pada trimester tiga menunjukkan peningkatan mencapai 10 kali lipat dibanding kehamilan normal.^{10,12}

Kami melakukan uji korelasi Pearson antara kadar inhibin A serum dan plasenta didapatkan nilai $r = 0,988$, yang berarti semakin tinggi kadar inhibin A plasenta, kadar inhibin A serum juga meningkat. Dan secara statistik bermakna, dengan nilai $p = 0,000$. Sehingga cukup dengan pemeriksaan kadar inhibin A serum, sudah dapat mencerminkan keadaan inhibin A plasenta. Hal tersebut membuktikan peningkatan produksi inhibin A oleh sel trofoblas, dimana sel sinsisiotrofoblas berhubungan langsung dengan sirkulasi ibu dalam intervillous space, sehingga inhibin A yang dihasilkan langsung memasuki sirkulasi ibu, dan akhirnya didapatkan pula peningkatan kadar inhibin A dalam serum.

(gambar)

Gambar 1. Grafik korelasi kadar inhibin A serum dan kadar inhibin A jaringan plasenta

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kadar inhibin A serum pada kehamilan PEB/eklampsia lebih tinggi dibanding kehamilan normal. Kadar inhibin A plasenta pada kehamilan PEB/eklampsia lebih tinggi dibanding kehamilan normal. Ekspresi inhibin A plasenta pada kehamilan PEB/eklampsia lebih tinggi dibanding kehamilan normal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Reis, F.M., D'Antona, D., Petraglia, Felice. 2002. Predictive Value of Hormone Measurement in Maternal and Fetal Complication of Pregnancy. *The Endocrine Society*; 23(2): 230-257.
2. Angsar, M.D. 2005. Hipertensi dalam kehamilan, Edisi IV. Lab/SMF Obstetri Ginekologi FK Unair/RSU Dr. Soetomo
- 3.
4. Cunningham, F.G., Gant, N.F., Leveno, K.J., Gilstrap, L.C., Hauth, J.C., Wenstrom, K.D. 2005. *Willams Obstetrics*, 22th Edition, The Mc Graw-Hill Companies, New York.
5. Lopez-Novoa, JM. 2007. Soluble Endoglin is An Accurate Predictor and a Pathogenic Molecule in Preeclampsia. *Nephrol Dial Transplant*;22:712-714.
- 6.
7. Dachlan, E.G., 2003. Preeclampsia and Eclampsia in Dr. Soetomo Hospital: Highlight Strategy Use for Illness combating to Gain Reduced Maternal-Perinatal mortality, Scientific Meeting on Feto-Maternal Medecine and Ultrasound Workshop medan.
8. Zeeman, G.G., Alexander, J.M., McIntire, D.D., Byrd, William, Leveno, K.J. 2002. Inhibin-A Levels and Severity of Hypertensive Disorders Due to Pregnancy. *The American College of Obstetrician and Gynecologists*; 100(1): 140-144.
9. Muttukhrisna, S., North, R.A., Morris, J., Schellenberg, J.C., Taylor, R.S., Asselin, J., et all. 2000. Serum inhibin A and activin A are elevated prior to the onset of pre-eclampsia. *European Society of Human reproduction and Embriology*; 15(7): 1640-1645.
10. Casagrandi, D., Bearfield, C., Geary, J., Redman, C.W., Muttukhrisna, Shanthi. 2003. Inhibin, activin, follistatin, activin receptors and β -glycan gene expression in the placental tissue of patients with pre-eclampsia. *Molecular human Reproduction*; 9(4): 199-203.
11. Mohan, A., Asselin, J., Sargent, I.L., Groome, N.P., Muttukhrisna, S. 2001. Effect of cytokines and growth factors on the secretion of inhibin A, activin A and follistatin by term placental villous trophoblast in culture. *European Journal of Endocrinology*; 145: 505-511.
12. Carty, D.M., Delles, Christian, Dominiczak, A.F. 2008. Novel Biomarkes for Predicting Preeclampsia. *Trends Cardiovasc Med*; 18(5-24): 186-194.