

-A17292098

STD V/9.1

-01116377x

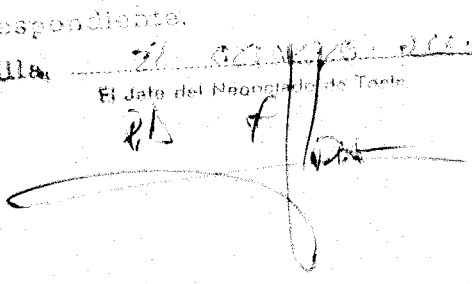
i 21548018

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
SECRETARIA GENERAL

Queda registrada esta Tesis Doctoral  
el día 15 número 7 del libro  
correspondiente.

Sevilla,

21 de Septiembre de 2011  
El Jefe del Negocio de Tesis



---

# ESTRÉS OXIDATIVO EN LA PATOGENESIS DE LOS TRASTORNOS HIPERTENSIVOS DEL EMBARAZO

---

**Doctorando:** Ignacio Vallejo Maroto

**Directores de Tesis:**

Dr.J.Villar Ortiz.

Dra.ML. Miranda Guisado.

## PRESENTACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

El Departamento de .....MEDICINA. Universidad de Sevilla .....  
utilizando el procedimiento acordado por su Consejo, previo informe del Director/es así como del Tutor  
(1), en cu caso, ha acordado .....autorizar..... (2) la presentación de la tesis doctoral cuyos  
datos se citan a continuación:

### APELLIDOS Y NOMBRE DEL AUTOR

Vallejo Maroto Ignacio.....

### PROGRAMA DE DOCTORADO CURSADO

Departamento de Medicina.....

### TÍTULO DE LA TESIS

Estrés oxidativo en la patogénesis de los trastornos hipertensivos de la gestación.....

### DIRECTOR/ES

Prof.D.José Villar Ortiz y D<sup>MA</sup> Luisa Miranda Guisado, FEA de Medicina Interna. H.U.Virgen del Rocío

Sevilla,..25....de...Junio.....de..2004.

El Director/es de la tesis,

El Tutor,

Fdo.:Prof.D.J. Villar Ortiz  
D<sup>ML</sup> Miranda Guisado

Fdo.:

El Director del Departamento,

Fdo.: Ramón Pérez Cano

(1) este apartado se rellenará sólo cuando el Director de la tesis no sea profesor del Departamento responsable. En este caso el Tutor deberá ratificar la autorización en escrito razonado dirigido a la Comisión de Doctorado.

**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**  
Departamento de Medicina  
**DIRECCIÓN**  
Prof. Dr. R. Pérez Cano

Autorizar

---

## AGRADECIMIENTOS:

- Al personal de la Maternidad del Hospital Virgen del Rocío por su ayuda desinteresada en la realización de este y otros proyectos científicos de nuestra Unidad.
  - Gracias Salva, Reyes y Lola por vuestra amistad.
  - Gracias Pablo Stiefel, por el "apoyo técnico" y la ayuda que me has brindado, sin la cual no hubiera sido posible la realización de esta tesis.
  - Gracias Encarna Pamies, mi "guía espiritual" estos años.
  - Gracias a J.Villar y a J.Carneado y, en general, a toda la Unidad de Hipertensión del Hospital Virgen del Rocío por su entrega y por la labor formativa y educativa que han realizado en mi formación como médico y especialmente como persona.
  - Gracias Marisa Miranda por tu perseverancia, tu confianza y tu apoyo sincero en la consecución de este proyecto. Tu impulso en mi vida ha tenido sus frutos mucho más allá de las letras que constituyen este trabajo.
  - A mis padres: ellos me dieron la vida. El mayor de los regalos.
-

---

Este trabajo ha sido presentado de forma parcial en las siguientes comunicaciones a congresos:

1. García Morillo S, Miranda ML, Stiefel P, Nieto D, Vallejo I, Aparicio R, Pamies E, Muñiz O, Jiménez L, León A, Villar J y Carneado J. "Estudio de diferentes parámetros inflamatorios en los trastornos hipertensivos del embarazo." Unidad de HTA y Lípidos del S. De Medicina Interna y Departamento de bioquímica clínica. H. U. Virgen del Rocío. 7ª Reunión Nacional Sociedad Española de Hipertensión-Liga Española para la lucha contra la Hipertensión Arterial. Madrid 12-15 Marzo de 2002. Revista: Hipertensión. Marzo 2002, volumen 19, suplemento 2, pág 63.
  2. García Morillo S, Miranda ML, Stiefel P, Vallejo I, Aparicio R, Nieto D, Pamies E, Muñiz O, Jiménez L, León A, Villar J y Carneado J. "Estudio de diferentes sistemas antioxidantes en los trastornos hipertensivos del embarazo." Unidad de HTA y Lípidos del S. De Medicina Interna y Departamento de bioquímica clínica del H. U. Virgen del Rocío. 7ª Reunión Nacional Sociedad Española de Hipertensión-Liga Española para la lucha contra la Hipertensión Arterial. Madrid 12-15 Marzo de 2002. Revista: Hipertensión. Marzo 2002, volumen 19, suplemento 2, pág 65.
  3. Aparicio R, Miranda ML, Stiefel P, García Morillo S, Vallejo I, Nieto D, Pamies E, Muñiz O, Villar J, Carneado J. "Parámetros antioxidantes y pro-inflamatorios en gestantes hipertensas. Estudio durante la gestación y en el postparto." Unidad de HTA y Lípidos. Servicio de Medicina Interna. Hospitales Universitario Virgen del Rocío. 7ª Reunión Nacional Sociedad Española de Hipertensión-Liga Española para la lucha contra la Hipertensión Arterial. Madrid 12-15 Marzo de 2002. Revista: Hipertensión. Marzo 2002, volumen 19, suplemento 2, pág 39.
  4. R. Aparicio, ML. Miranda, P. Stiefel, E. Pamies, S. García Morillo, I. Vallejo, MV. Martín Sanz, L. Jiménez, A. Leon, O. Muñiz, J. Villar, J. Carneado. "Estudio del estrés oxidativo y parámetros inflamatorios en los trastornos hipertensivos del embarazo." XVIII Congreso de la Sociedad Andaluza de Medicina Interna.
-

---

Marbella, 24-27 de Octubre de 2001. (Comunicación Oral.) Revista: "Revista  
Clínica Española" Volumen 201. Extraordinario Nº3. Octubre 2001. Pág. 13.

---

# ÍNDICE GENERAL

- Introducción: .....1-47
- Planteamiento del problema: ....48-52
- Objetivos: ..... 53-54
- Material y métodos: .....55-61
- Resultados: .....62-66
- Gráficos y Tablas: .....67-82
- Discusión: .....83-94
- Conclusiones: .....95-97
- Glosario de abreviaturas: .....98-100
- Bibliografía: .....100-120

---

# INTRODUCCIÓN



La hipertensión arterial (HTA) constituye la complicación médica más frecuente de la gestación. Se presenta en una de cada 10 gestantes y es la segunda causa de morbimortalidad materna y la primera de mortalidad fetal en los países desarrollados (1). En su definición van a englobarse diferentes entidades siendo la preeclampsia (PCL) la forma más específica y el paradigma de esta patología.

La hipertensión en el embarazo no es solo la elevación de las cifras de presión arterial. Se trata de un síndrome con afectación sistémica, de presentación clínica variable y polimórfica, que puede ensombrecer notablemente el pronóstico de la gestación. De hecho, en casos severos, se presentan complicaciones médicas importantes como coagulopatía de consumo, trombocopenia, elevación de enzimas hepáticas, alteraciones de la función renal y convulsiones, recibiendo entonces la denominación específica de Eclampsia. La repercusión fetal también es importante con desarrollo de fetos con bajo peso, prematuridad y muerte fetal. . .

Si bien existen ciertos factores predisponentes para el desarrollo de esta patología, su presentación y evolución son absolutamente impredecibles. Esto es debido en parte, a que sus causas, hoy por hoy no son del todo bien conocidas y no existen todavía marcadores definidos y específicos que, por una parte nos permitan identificar gestantes de riesgo y por otra, nos ayuden a conocer la evolución del proceso, una vez que éste se desarrolla.

La fisiopatología de la preeclampsia por tanto es un campo abierto a la investigación. De hecho, clásicamente esta enfermedad, ha venido a denominarse "enfermedad de las teorías". Sin embargo existen evidencias suficientes que atribuyen a la placenta un papel clave en la génesis de su desarrollo. Tanto es así que la finalización del embarazo, y más específicamente el alumbramiento de la placenta, va a condicionar la desaparición del trastorno hipertensivo.

A lo largo de la introducción trataré de hacer un repaso pormenorizado de las hipótesis etiopatogénicas propuestas para el desarrollo de los trastornos hipertensivos del embarazo, para después realizar unas consideraciones sobre la participación del óxido nítrico en el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares. Por último me centraré en las implicaciones del estrés oxidativo en la patogénesis de la hipertensión durante la gestación y su posible valor como marcador pronóstico de la misma.

## CLASIFICACIÓN DE LOS TRASTORNOS HIPERTENSIVOS DE LA GESTACIÓN.

Debido a la heterogeneidad de los factores implicados en su desarrollo, algunos de tipo genético, la clasificación de los trastornos hipertensivos del embarazo ha resultado difícil y controvertida y ha sido continuamente modificada en las décadas pasadas, lo que ha generado una cierta confusión en el manejo de esta patología y en los esfuerzos realizados para comprender sus causas (2.)

Actualmente la clasificación más aceptada es la recientemente recomendada por el National High Blood Pressure Education Program working Group on High Blood Pressure in Pregnancy en su último documento de consenso que propone cuatro categorías que quedan recogidas en la tabla 1 (1).

Tabla 1. Clasificación de los trastornos hipertensivos del embarazo.

HTA gestacional (HTAG)	Elevación de la presión arterial a partir de la segunda mitad de la gestación (siempre después de la semana 20) que no asocia proteinuria ni otros signos ni síntomas de afectación de órgano diana.
HTA crónica (HTAC)	HTA existente con anterioridad a la gestación, bien cuando se manifiesta antes de la semana 20 o cuando apareciendo en el tercer trimestre, persiste pasadas doce semanas después del puerperio.
Preeclampsia (PCL)	HTA después de la semana veinte y con mayor frecuencia en el tercer trimestre, acompañada de proteinuria o de otros síntomas que sugieran daño en órgano diana tales como cefalea, visión borrosa, dolor abdominal o anomalías analíticas como descenso de plaquetas o elevación de aminotransferasas.
HTA crónica con PCL sobrepuesta	Elevación de las cifras de presión arterial con respecto a los valores previos con mal control farmacológico, junto con aparición o elevación reciente de la proteinuria por encima de la semana 20.

### PREECLAMPSIA.

La PCL es un trastorno hipertensivo específico de la gestación. Se caracteriza por la elevación de la presión arterial por encima de la semana 20 del embarazo que sea acompañada de proteinuria.

Incluso hoy en día su etiología permanece no del todo aclarada y se especula en la implicación de múltiples factores de diversa índole en su desarrollo (3).

La PCL, por definición, se acompaña siempre de proteinuria. Además puede asociar otros signos y síntomas que traduzcan compromiso de otros órganos diana tales como

cefalea, visión borrosa, dolor abdominal o anormalidades analíticas como descenso de plaquetas o elevación de transaminasas. Por todo ello, la PCL no debe considerarse como una elevación aislada de la presión arterial, sino como un síndrome con afectación multisistémica.

La proteinuria se define como la eliminación urinaria de albúmina en cantidad igual o superior a 300 miligramos en 24 horas, o bien de 30 miligramos/decilitro en muestras simples de orina en dos determinaciones seriadas (4).

Clásicamente se consideraba que el edema de aparición súbita formaba parte de la triada de síntomas característicos; hoy, sin embargo, no se incluye como criterio diagnóstico ya que puede estar presente en más del 50% de las gestaciones sin hipertensión (5).

Esta entidad complica entre un 5 y un 8% del total de embarazos y es más frecuente durante la primera gestación y en edades maternas extremas, si bien es más habitual en gestantes jóvenes por debajo de los 20 años (6). De interés es la observación de que mujeres multíparas con una nueva pareja, tienen un riesgo de presentar una PCL, intermedio entre el asociado con una primera gestación y gestaciones sucesivas con una misma pareja (7). Este hecho sugiere la implicación de factores inmunológicos en el desarrollo de este síndrome.

## **ETIOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA.**

Desde los tiempos de Hipócrates, la etiología de la PCL, "la enfermedad de las teorías", ha sido un tema profundamente desconocido y debatido. A finales del siglo pasado se propuso que la presencia de unas toxinas circulantes de origen fetal podrían ser el origen de esta entidad, y, desde entonces, la enfermedad pasó a denominarse "toxemia del embarazo" (8).

Desde entonces, hasta la actualidad, han sido muchas las teorías propuestas para explicar las bases que constituyen la fisiopatología de este síndrome. Hemos de recordar que la PCL constituye la forma más específica de HTA en el embarazo. En este sentido, aparece solo en presencia de la placenta y su resolución se produce con la eliminación de la misma; este es el pilar fundamental de las teorías fisiopatológicas

que se barajan hoy, y, es la placenta, la que parece tener un papel fundamental en ello.

Según las teorías actuales, la génesis de la PCL va a participar de dos estadios. En primer lugar una alteración en la perfusión placentaria, y, en segundo lugar, el desarrollo del síndrome materno (Figura .1) (9).

### Estadio 1.

Existen suficientes evidencias actuales para asumir que la placenta es la llave que en la gestación, conduce al desarrollo de la PCL. De hecho, la PCL puede ocurrir en ausencia de feto (6). La mola hidatidiforme, un trastorno de la gestación caracterizado por la existencia de abundante tejido trofoblástico y escaso tejido fetal, es otra entidad que asocia un alto riesgo de desarrollar una PCL.

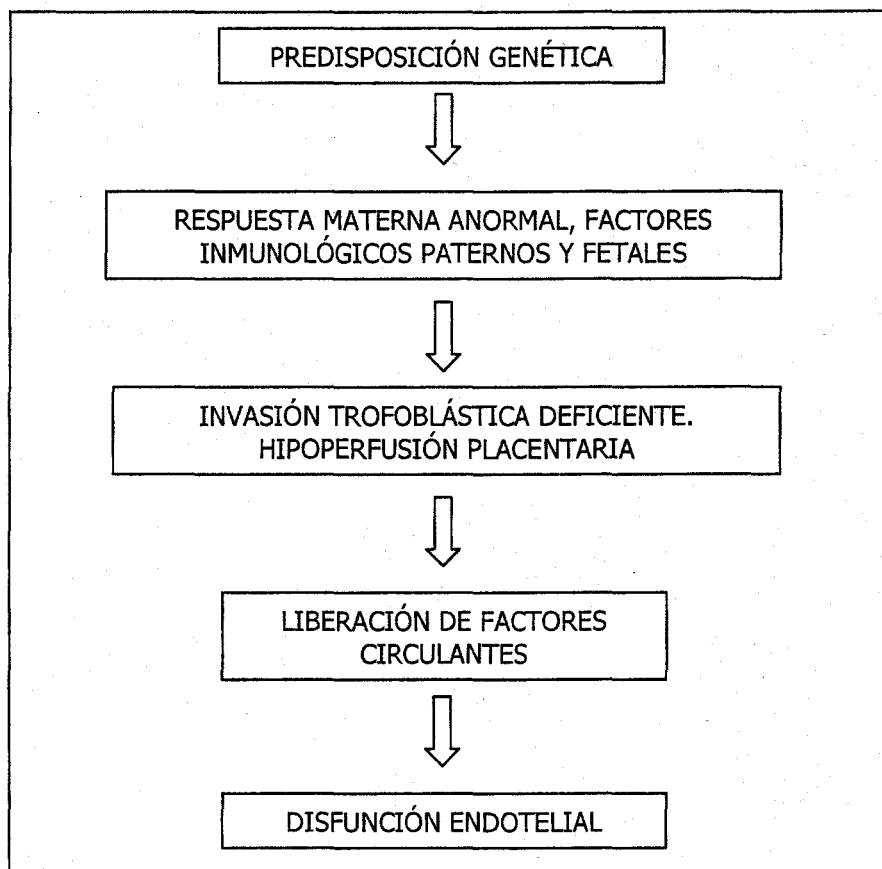


Figura 1. Patogénesis de la preeclampsia

En la gestación normal, el trofoblasto placentario va a invadir las arterias espirales del útero y éstas van a experimentar un remodelado que va a dar lugar a su

transformación en vasos flácidos, creándose así un sistema arteriolar de muy baja resistencia que permite aumentar hasta diez veces su flujo para adaptarse a las necesidades nutricionales crecientes del feto (10,11).

Estas modificaciones no ocurren en la PCL. En esta situación se va a producir un fallo en la invasión trofoblástica que va a impedir una dilatación adecuada de las arterias espirales que permanecerán adelgazadas y se comportarán como insuficientes a medida que progresa la gestación (11,12,13). Este fallo en el remodelado se considera el sustrato morfológico para la disminución de la perfusión placentaria.

En la actualidad hay un creciente interés en comprender los factores que conducen a la invasión trofoblástica, su relación con el remodelado vascular y con los trastornos que aparecen en la PCL. Es evidente, por tanto, que deben existir unos mecanismos específicos de regulación de este proceso, a través de la expresión de moléculas y señales que deben de estar alterados en la PCL (14).

Varias condiciones médicas asociadas con la presencia de enfermedad microvascular como la HTA, la diabetes y las enfermedades colagenovasculares, son también factores que incrementan el riesgo de PCL. Este hecho permite especular que la isquemia placentaria pueda ser el común denominador (6). Igualmente, patologías obstétricas que asocian aumento del tejido placentario como la mola hidatidiforme y las gestaciones múltiples, son factores reconocidos que incrementan el riesgo de PCL (15).

Por último, la PCL está asociada con una lesión anatomopatológica característica en las arteriolas de la decidua, que se conoce como "aterosis" o "aterosclerosis aguda" y que semeja los cambios que se producen en el fenómeno de la arteriosclerosis de las arterias coronarias (16). Este hecho es el sustento de la hipótesis inmunológica en la etiopatogénesis de la PCL (17).

## **Estadio 2.**

En un segundo estadio, se producirá la transición al síndrome materno, que va a ser el resultado de una disminución del flujo sanguíneo a todos los órganos maternos incluido el útero. Ello va a traducirse en una disfunción multiorgánica potencial (18) (tabla 2).

Tabla 2.

Afectación de órgano diana en la Preeclampsia	
➤Afectación hematológica:	Plaquetopenia Anemia hemolítica microangiopática
➤Afectación hepática:	Dolor epigástrico Elevación de transaminasas
➤Afectación neurológica:	Convulsiones Trastornos visuales Cefalea
➤Afectación placentaria:	Crecimiento intrauterino retardado Oligohidramnios Arteria umbilical con doppler patológico
➤Afectación pulmonar:	Distress respiratorio
➤Afectación renal:	Oliguria Aumento de creatinina

Esta situación de disminución generalizada de la perfusión implica la presencia de una serie de factores en su desarrollo: la vasoconstricción, la formación de microtrombos y la reducción del volumen plasmático secundaria a la pérdida de fluidos desde el compartimento vascular.

El fenómeno de la vasoconstricción no solo es atribuido a un aumento de sustancias circulantes de tipo presor, sino también al hecho de que existe un incremento de la sensibilidad de los receptores sanguíneos (19).

La PCL también va a caracterizarse por una activación de la cascada de la coagulación y un aumento de la agregación plaquetaria (20). Este factor constituye la respuesta a la situación de daño endotelial materno.

La secuencia de eventos, así como cuáles son causa y cuáles son efecto, sigue siendo un tema ampliamente debatido, por lo que el nexo entre estos dos estadios (placentario y materno) de la enfermedad no está definitivamente aclarado.

### **Interacciones materno-fetales en la preeclampsia.**

Una pregunta que queda todavía por resolver es cómo la perfusión placentaria disminuida puede resultar en el síndrome materno. Está claro que este hecho de forma aislada, no es suficiente para explicar el desarrollo de la PCL.

El crecimiento intrauterino retardado es consecuencia también de una disminución de la perfusión placentaria. Sin embargo, muchas gestantes que presentan esta patología no desarrollan una PCL en sus embarazos (21).

Se postula por tanto, que la disminución de la perfusión placentaria, debe interactuar con agentes maternos para ser capaz de desarrollar el síndrome. Y estos elementos deben ser genéticos, condicionados o ambientales. Es interesante remarcar, que estos posibles factores (tabla 3) son similares a los que predisponen al desarrollo de enfermedad cardiovascular.

La interrelación entre estos factores de riesgo maternos para el desarrollo de una PCL, darían como resultado un aumento del estrés oxidativo (22), y el derivado de los factores que se liberan en la placenta isquémica tales como radicales libres, moléculas de adhesión y citoquinas (23). Todo ello daría lugar a una activación y disfunción generalizada del endotelio que va a ser responsable de las manifestaciones clínicas de la PCL (24).

**Tabla 3.**

Factores de riesgo para el desarrollo de Preeclampsia
Hipertensión
Enfermedad colágeno-vascular
Obesidad
Raza negra
Resistencia insulínica
Diabetes
Trombofilias
Dislipemia
Síndrome antifosfolípido

## **FACTORES IMPLICADOS EN LA GÉNESIS DE LA PREECLAMPSIA.**

En la tabla 4 se recogen esquemáticamente los factores conocidos implicados en el desarrollo de la PCL.

**Tabla 4.**

Factores implicados en la génesis de la Preeclampsia
• Factores Genéticos
• Aspectos Inmunológicos
• Papel del Endotelio
• Papel de la Placenta
• Factores Circulantes
☐ Factores de crecimiento endotelial
☐ Neuroquinina B
☐ Microvellosidades del sincitiotrofo blasto
☐ Estrés Oxidativo y peroxidación lipídica

## **GENÉTICA DE LA PREECLAMPSIA.**

El hecho de la existencia de una cierta agregación familiar en pacientes que han desarrollado una PCL es bien conocido desde el siglo XIX, si bien, hasta la década de los 70 en el pasado siglo, no se sentaron las bases genéticas de esta entidad (25).

Estudios epidemiológicos han demostrado un aumento de la incidencia de hasta tres y cuatro veces más en familiares en primer grado de pacientes que desarrollaron una PCL (26,27).

Los modelos de herencia para la PCL que se sugieren son varios: mendelianos, poligénicos/multifactoriales y mitocondriales. Los árboles genealógicos en familias con manifestación frecuente de esta enfermedad apuntan a la posibilidad de una herencia autosómica dominante con penetrancia incompleta (28).

De cualquier forma, los estudios genéticos en la PCL, se han llevado a cabo con cierta dificultad. Los datos genealógicos familiares son muy poco frecuentes. Esto es así, en parte, por el hecho de que en los varones no puede ser valorada la susceptibilidad para padecer la enfermedad y en las mujeres solamente cuando éstas quedan embarazadas. Además, la PCL es una enfermedad predominantemente del primer embarazo; por tanto, la interacción entre genotipos maternos y fetales solo puede ser evaluada una vez. Finalmente, la definición y diagnóstico de PCL, incluso en un pasado reciente, ha sido variable e imprecisa, lo que ha llevado a que el análisis retrospectivo de los casos en hospitales, cuando ha sido posible, haya sido frustrante y poco práctico (29).

### **Genes candidatos.**

La búsqueda de genes que incrementen la susceptibilidad materna para el desarrollo de la PCL está en marcha. Son varios los genes candidatos propuestos (tabla 5.)



Tabla 5. Genes candidatos en la etiología de la Preeclampsia

Investigador	Gen candidato	Técnica	Puntuación LOD	Localización cromosómica
Dekker et al	Factor V Leiden			1q23
Dizon-Townson et al	Angiotensinógeno			1q42-43
Ward et al				
Arngrimsson et al	AGT			
Arngrimsson et al	Sintetasa de óxido nítrico endotelial			7q36
Bashford et al	NOS3			
Sohda et al	Metilentetrahidrofolato-reductasa			1p36.3
Grandone et al	MTHFR			
Zusterzeel et al	Epóxido-hidrolasa			1q41.1
Harrison et al		Genomic scan	2.9	4q
Arngrimsson et al		Genomic scan	4.7	2p13
Moses et al			2.6	2p12

(Puntuación LOD: estimación genética de la existencia de ligamiento; generalmente si es superior a 3 es significativo.) Tomado de Pridjian G et al. Preeclampsia. Part 2: Experimental and Genetic Considerations. Obstet and Gynecol Surv 2002; 619-640.

### Factor V Leiden.

Una mutación puntual del gen que codifica el factor V, consistente en la sustitución de una glutamina por una arginina, concede a dicho factor una resistencia a la inactivación por la proteína C. Esta situación se piensa que pueda predisponer al desarrollo de trombosis venosas en aquellos pacientes que la padecen. Algunos estudios han demostrado que gestantes heterocigotas para dicha mutación tendrían un riesgo aumentado de padecer una PCL (30).

### Angiotensinógeno.

Varios estudios han asociado variantes del gen del angiotensinógeno y la predisposición a desarrollar una PCL (31,32).

Esta proteína es un precursor de la angiotensina II, un potente regulador de la presión arterial y del volumen intravascular. Las gestantes con PCL tienen una sensibilidad exquisita al efecto vasoconstrictor de la angiotensina II y muestran un aumento de la expresión de receptores plaquetarios tipo I para dicha molécula (33).

### **Oxido nítrico sintetasa endotelial.**

Algunos estudios han demostrado que la producción de óxido nítrico de origen endotelial, está disminuida en mujeres con PCL en relación con gestaciones normales (34).

Si bien los resultados no son del todo concluyentes (35), ciertos estudios parecen demostrar, que el polimorfismo Glu298Asp del gen de la óxido nítrico sintetasa endotelial es el que condiciona en gestantes con PCL una disminución en la producción de esta sustancia (36).

### **Metileno-tetrahidrofolato reductasa.**

En población no gestante se han asociado mutaciones en el gen de la metileno-tetrahidrofolato reductasa (MTR), que se asocian con un incremento en la concentración de homocisteína en el plasma. Como consecuencia de este hecho se aprecia, en estos estudios, un incremento en dichas poblaciones, en el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (37).

Se ha puesto en evidencia que el polimorfismo 677 C→T del gen de la MTR podría constituir un factor de riesgo para el desarrollo de una PCL (38,39) si bien, en este aspecto no están de acuerdo todos los autores (40).

### **Epóxido-hidrolasa.**

La epóxido-hidrolasa (EH) es una enzima microsomal hepática implicada en el metabolismo de toxinas endógenas y exógenas. Algunos estudios han encontrado una asociación entre el riesgo de padecer una PCL y el polimorfismo 113Tyr → His del gen de dicha enzima, que conferiría a ésta, una menor actividad (41).

### **Factor de necrosis tumoral alfa.**

Se ha descrito un polimorfismo en la región promotora del gen del factor de necrosis tumoral alfa que parece asociarse con un incremento en la expresión del RNA de dicho factor, y que supondría un riesgo aumentado de padecer una PCL (42).

En definitiva, los hallazgos de genes causantes o susceptibles para el desarrollo de una PCL, no solo podrían permitir una identificación precoz de mujeres con riesgo, sino también podrían facilitar en un futuro, las directrices en la investigación de la etiología de la PCL a la búsqueda de sustancias o factores implicados en su desarrollo. Si bien, las investigaciones en este campo, no han hecho más que comenzar y, probablemente, traerán sus frutos cuando se complete el estudio del genoma humano.

### **ASPECTOS INMUNOLÓGICOS.**

La razón subyacente en el fallo de la invasión del trofoblasto en la PCL es un hecho desconocido. Algunos autores han sugerido que este fallo refleja una respuesta inmunológica anormal frente a antígenos fetales procedentes del padre.

Dekker y Sibai (43) refieren que la PCL es una enfermedad que acontece en el primer embarazo, mostrando que la incidencia de esta patología es baja en mujeres que han tenido gestaciones previas normales. Stirckland et al aluden que la existencia de un aborto previo puede proporcionar protección frente al desarrollo de una PCL (44). De cualquier forma parece que si la mujer cambia de pareja sexual, la inmunidad que conferiría la multiparidad se pierde (45,46). Otros hechos constatados son, por una parte, que la exposición repetida al esperma de un mismo individuo puede ser un factor preventivo en el desarrollo de una PCL (47,48) y, por otra, que la inseminación artificial podría incrementar el riesgo de este trastorno (49).

¿Cuál es la hipótesis que se bajara para explicar el efecto "protector" de la exposición reiterada al esperma? Pues bien, el trofoblasto en la gestación normal no expresa antígenos de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (50) y, por otro lado, expresa selectivamente antígenos de clase I (51). Esta particular configuración de la expresión antigénica contribuye seguramente a facilitar la respuesta materna que favorece la ausencia de reacción inmune conservando las interacciones célula-célula esenciales para el desarrollo del trofoblasto (52). Estudios recientes ponen en evidencia que el trofoblasto endovascular de mujeres con PCL expresa de forma

anormal antígenos HLA-DR, lo cual se asocia con una infiltración anormal perivascular de linfocitos T y macrófagos (53). Esta situación impediría al trofoblasto evadir la acción citotóxica de células T a causa de esta anormal configuración en la expresión antigénica en la PCL.

Las citoquinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y las interleucinas 2 y 6 (IL-2, IL-6) son candidatos en la respuesta inmunológica anómala de la PCL (43). Además, enzimas liberadas por la activación de los neutrófilos como la elastasa, y radicales libres de oxígeno, se han visto también potencialmente implicados (43).

### **PAPEL DEL ENDOTELIO.**

La célula endotelial ha pasado de ser, en pocos años, un simple mosaico en la pared vascular, a ser un complicado sistema productor de multitud de factores séricos y receptor de gran cantidad de moléculas que van a modular funciones tan importantes como la agregación plaquetaria, activación de factores de coagulación, regulación del tono vasomotor, funciones inmunológicas, etc (tabla 6).

**Tabla 6.**

<b>Propiedades del endotelio vascular</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Barrera de permeabilidad</li> <li>• Función antiplaquetaria y anticoagulante</li> <li>• Metabolismo de mediadores vasoactivos</li> <li>• Función procoagulante</li> <li>• Degradación de bradiquinina</li> <li>• Producción de estroma extracelular</li> <li>• Metabolismo del ácido araquidónico</li> </ul>
<b>Factores implicados con el endotelio</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prostaciclina</li> <li>• Activador del plasminógeno</li> <li>• Sulfato de heparina/heparan</li> <li>• Factor de Von Willebrand</li> <li>• Enzima convertora de angiotensina</li> <li>• Colágeno, elastina, proteoglicanos, fibronectina, laminina.</li> <li>• Antígenos de importancia inmunológica: ABO, HLA.</li> </ul>

El endotelio vascular no es simplemente una barrera inerte que separa el torrente sanguíneo de los tejidos recubriendo los vasos. Se trata de un órgano metabólico altamente especializado, que interactúa en la interfase sangre-tejidos corporales. En los últimos años y de forma progresiva, se ha asumido que la integridad del endotelio juega un papel importante en la regulación del tono vascular, en el mantenimiento de una trombo-resistencia y en la participación en la respuesta inflamatoria,

Es por ello, que el papel del endotelio en la PCL, ha empezado a considerarse primordial, posiblemente, por ser el órgano diana de dicho proceso. Un daño de las múltiples características del endotelio y una anomalía en sus funciones, podrían explicar la compleja y multisistémica naturaleza de las manifestaciones clínicas de la PCL (29).

En este sentido, es posible que la anomalía mejor caracterizada de la PCL sea la "aterosclerosis aguda" o "endoteliosis glomerular" que afecta a las arteriolas de la decidua (2, 54) y que semeja la aterosclerosis coronaria.

Existen amplias referencias en la literatura médica en relación con el estudio de marcadores circulantes endoteliales en la PCL.

De forma esquemática, el endotelio produce dos grupos de sustancias: las relajantes, como las prostaglandinas y el óxido nítrico, y las constrictoras, como el tromboxano, las endotelinas y los radicales libres de oxígeno. Con el descubrimiento de estas sustancias recobra auge el término *toxemia gravídica*, por la teoría de que la PCL se origina por la actuación de alguna sustancia/s sobre la vasculatura útero-placentaria.

Los factores directamente implicados con la disfunción del endotelio en la PCL son varios (tabla 7) (55).

**Tabla 7.**

Factores endoteliales implicados en la génesis de la Preeclampsia
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fibronectina fetal</li> <li>• Endotelinas</li> <li>• Sistema renina-angiotensina-aldosterona</li> <li>• Factor péptido natriurético atrial</li> <li>• Péptido relacionado con la calcitonina</li> <li>• Trombomodulina</li> <li>• Gonadotropina coriónica humana</li> <li>• Derivados eicosanoides</li> <li>• Factor de crecimiento insulinoide BP-3</li> <li>• Óxido nítrico</li> <li>• Radicales libres de oxígeno</li> <li>• Factores citotóxicos</li> <li>• Serotonina</li> <li>• Sistema Kalicreína-bradiquinina</li> </ul>

Los niveles de fibronectina, factor VIII, factor de Von Willebrand, activador tisular del plasminógeno e inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) se encuentran elevados en gestantes con PCL (56,57).

Algunos estudios han demostrado un incremento en los niveles circulantes de endotelina-1, un potente vasoconstrictor, en la PCL (58,59) lo que traduce un incremento en su síntesis debido a la activación de células del endotelio (29). Más recientemente, otros estudios han presentado resultados contradictorios y sus autores sostienen la hipótesis de que el aumento en la concentración de endotelina-1 es más una consecuencia de la enfermedad que una causa (60,61,62,63).

Un componente vital del sistema de la coagulación es la existencia de un endotelio íntegro. Se ha reconocido como un factor patogénico en el desarrollo de la PCL la existencia de amplios depósitos de fibrina asociados con daño vascular difuso y activación del sistema de la coagulación (64).

La existencia de un incremento en la sensibilidad a los agentes presores como la angiotensina II se ha reconocido como una de las más llamativas y consistentes anomalías en mujeres con PCL (65).

En la gestación normal, la medida de los componentes del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) revela que se encuentran aumentados de forma transitoria. De esta forma están elevados la actividad de la renina, las concentraciones plasmáticas de dicha enzima, los niveles de angiotensina II y los de aldosterona (66). Es posible, que debido a una regulación a la baja de los receptores de angiotensina, en el contexto de la persistencia de niveles de angiotensinógeno elevados en el embarazo normal, las gestantes manifiesten una respuesta reducida a la actividad de la angiotensina II. En gestantes con PCL la actividad de renina plasmática y los niveles de angiotensina I habitualmente son inferiores a los del embarazo normal. Solo en el tercer trimestre se aprecia un incremento de los niveles de aldosterona en los trastornos hipertensivos de la gestación (66). El papel del SRAA no está claro en la PCL. En cualquier caso, se conoce que existe una pérdida en la respuesta reducida de la gestación normal a la angiotensina II, en gestantes con PCL. Este hecho puede deberse a una unión predominante de la angiotensina II a su receptor en las células musculares lisas del útero (55).

El péptido natriurético atrial (PNA) fue descubierto por DeBold et al (67) en 1981 al comprobar como extractos atriales producían aumento de la diuresis en animales; se

ha comprobado posteriormente que niveles elevados de esta sustancia se asocian con patologías en las que el volumen circulante está aumentado. Varios estudios han tratado de demostrar sin éxito, que el PNA es un factor iniciador del sistema fisiopatogénico en la PCL (68), concluyendo que se trata de un simple mediador.

Las prostaglandinas (PG) y el tromboxano A2 son unas sustancias derivadas del ácido araquidónico. Las primeras tienen acción vasodilatadora, mientras el tromboxano A2 tiene acción vasoconstrictora. Las PG son sintetizadas prácticamente en todos los tejidos corporales, son liberadas localmente y actúan *in situ* como mediadores locales originando cambios celulares muy variados. Se consideran importantes mediadores en la regulación del tono vascular actuando como compensadoras de la actividad sobre los vasos de la angiotensina II. Por este motivo han sido consideradas como posibles factores patogénicos de la PCL. Inicialmente se postuló que un incremento en la concentración del tromboxano A2, acompañado de un descenso en la concentración de prostaglandinas podría jugar un papel en el desarrollo de la PCL (69-71). Además, Wang et al han referido que un incremento anormal en la peroxidación lipídica en mujeres con PCL podría condicionar toxicidad celular a través de una inhibición de la síntesis de PG (70). Estos autores han encontrado también una disminución en los niveles de vitamina E en gestantes con PCL severa, y, postulan que la pérdida de la actividad antioxidante de esta vitamina podría ser la causa de este trastorno (71). Los resultados de estos estudios han estimulado el uso de la aspirina como profilaxis de la PCL (72.)

El péptido relacionado con la calcitonina es una sustancia vasodilatadora muy potente que se encuentra incrementada durante el embarazo normal (73). Además, parece que ejerce una función importante en la regulación del flujo útero-placentario y en el desarrollo fetal (74). Kraayenbrink et al en su trabajo van a llegar a la conclusión tras comparar niveles de esta sustancia en gestante normotensas y en preeclámpticas que no está directamente implicada en la fisiopatología de la PCL (75.)

La implicación del endotelio vascular en los mecanismos fisiopatológicos de la PCL parece claro, aunque no lo es tanto su papel como desencadenante o como iniciador del proceso. Ya hemos comentado que el fenómeno inicial estribaría en una mala placentación que traería como consecuencia secundariamente el daño celular endotelial y, así, la alteración en la liberación de los productos de secreción endotelial

comentados con anterioridad. Esta cascada de procesos condicionaría en última instancia un aumento de la sensibilidad hacia sustancias presoras, una disminución en la producción de relajantes vasculares, una pérdida de la función celular anticoagulante y un aumento de la actividad procoagulante.

Por todo lo anterior, el estado circulatorio ideal para el desarrollo adecuado del feto en una gestación normal, se va a transformar en la PCL en una situación de vasoconstricción, aumento de resistencias periféricas, disminución del volumen circulante, hemoconcentración y disminución en la perfusión de órganos de la economía materna, lo que va a comprometer la viabilidad fetal.

### **PAPEL DE LA PLACENTA.**

Ya hemos comentado que la situación de isquemia placentaria condicionada por una placentación anómala, juega un papel primordial en la patogénesis de la PCL.

La causa de esta mala placentación no está del todo comprendida, pero puede deberse en parte a una pobre capacidad invasiva de las células trofoblásticas, o bien, a cambios en los tejidos deciduales maternos, que regulan el comportamiento del trofoblasto.

En esta cascada de acontecimientos parecen tener un papel importante determinadas sustancias como moléculas de adhesión, la fibronectina y vitronectina, así como una reducción en la expresión de antígenos del sistema de histocompatibilidad, una situación de inflamación celular local y una alteración en la expresión de integrinas mediada por citoquinas (29).

La fibronectina fetal es un pequeño péptido producido en la matriz extracelular del trofoblasto coriónico que juega un papel muy importante en la adhesión de la placenta a la decidua. Kaayenbrink et al (75) encuentran en su trabajo elevación de los niveles de fibronectina en gestantes con PCL muy por encima de las cifras obtenidas en gestantes normales. Kupfermanc et al (76) realizan un estudio similar midiendo la fibronectina en plasma materno, en líquido amniótico y en sangre del cordón fetal, encontrando que esta sustancia estaba elevada en gestantes con PCL muy por encima de los niveles en gestaciones normales. En cualquier caso, no encontraron relación



entre los niveles de esta sustancia y las cifras de presión arterial sistólica y diastólica, los niveles de ácido úrico o la proteinuria.

La fibronectina es una sustancia que interviene de manera decisiva en el momento próximo al parto, en el desprendimiento del corion de la decidua uterina (77). Este hecho podría explicar el mecanismo del "abruptio placentae" en las pacientes con PCL, donde los niveles de fibronectina están muy elevados.

Algunos autores sugieren también que la fibronectina podría ser un marcador de desarrollo de una PCL, antes de la aparición de manifestaciones clínicas (78).

### **FACTORES CIRCULANTES.**

La explicación para la serie de eventos que ligan una deficiente invasión del trofoblasto al comienzo de la gestación y la disfunción endotelial en la PCL al final de la misma, permanece hoy en día no del todo aclarada. El hecho de que la terminación del embarazo, y más específicamente, la eliminación de la placenta, conlleve la resolución del trastorno hipertensivo, ha llevado a plantear la hipótesis de que la placenta sea la fuente de factores que ataquen a la célula endotelial.

Esta hipótesis y la posible naturaleza de los factores circulantes han sido ampliamente investigadas en estudios tanto *in vitro* como *in vivo* (79). Estos estudios sugieren que el suero procedente de mujeres con PCL tiene un efecto citotóxico cuando se expone *in vitro* a cultivos de células endoteliales humanas procedentes del cordón umbilical. Este efecto citotóxico es superior cuando el suero se recoge antes de la finalización de la gestación, lo que sugiere que el factor o factores implicados tienen una vida media corta, y viene a corroborar el hecho de que la PCL esté necesariamente relacionada con el hecho de la gestación.

Estudios posteriores han venido a demostrar que los factores circulantes no solo son capaces de producir un cambio morfológico y la muerte de la célula endotelial, sino que inducen en ella cambios funcionales (80,81).

¿Qué factores se han implicado en estos cambios? Estudios *in vitro* han mostrado que el suero de gestantes con PCL es capaz de estimular la actividad mitogénica y también

de incrementar la producción de factores de crecimiento derivados de las plaquetas así como la expresión de RNA de factores de crecimiento plaquetario en las células endoteliales (82). El plasma de mujeres con PCL es capaz de inducir un aumento de la permeabilidad celular a través de la vía de la proteínquinasa C (83). Paradójicamente la producción de prostaciclina y óxido nítrico está aumentada cuando se exponen células endoteliales frente a suero de pacientes con PCL (84,85.) Estudios posteriores han puesto en duda este último dato y cuestionan los experimentos anteriores en función de la técnica empleada y el tipo de célula endotelial utilizada (86,87).

En definitiva, existen numerosas evidencias que implican la presencia de un factor o factores derivados de la placenta cuya diana es la célula endotelial en la PCL. Estos estudios sugieren que dichos factores tendrían la capacidad de pasar a la circulación materna, incrementando la permeabilidad celular y el "turnover", alterando la producción de prostaciclina y óxido nítrico y causando cambios funcionales en el endotelio. Se han propuesto varias sustancias como posibles candidatos para desempeñar este papel. (Tabla 8.)

Tabla 8.

Factores circulantes implicados en la génesis de la Preeclampsia
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Factores de crecimiento endotelial</li> <li>• Neuroquinina B</li> <li>• Microvellosidades del sincitiotrofoblasto</li> <li>• Estrés oxidativo y peroxidación lipídica</li> </ul>

### **Factores de crecimiento endotelial.**

Los factores de crecimiento endotelial (FCE) comprenden una familia de glicoproteínas que incluye 5 isoformas y una forma homóloga denominada factor de crecimiento placentario. Su actividad biológica consiste en promover la permeabilidad de los vasos sanguíneos, estimular el crecimiento del endotelio e inducir la angiogénesis (29).

Existe una amplia controversia en la literatura médica en relación con la concentración de estas sustancias en pacientes con PCL. Algunos grupos han referido que los niveles de FCE están elevados en la PCL (89). Sin embargo, Lyall et al, en su estudio, encuentran que los niveles de los FCE están disminuidos en gestantes normotensas en relación con mujeres no gestantes, pero, son más bajos en pacientes con PCL (90). La explicación para la aparente discrepancia en los resultados de estos trabajos se ha

querido relacionar con la técnica empleada en la cuantificación de los FCE que va a depender del grado de ligamiento de las proteínas.

La fuente de producción de estas proteínas en gestantes con PCL no está clara. Los FCE se expresan en los tejidos placentarios y su producción aumenta en cultivos de células del trofoblasto que se someten a condiciones de hipoxemia (29.) En este sentido, los estudios son contradictorios. Algunos trabajos han venido a demostrar que la expresión del RNA mensajero de estos factores está disminuida en gestantes con PCL (91) frente a otros estudios que parecen demostrar lo contrario (92). Además han cobrado interés otras hipótesis alternativas que tratan de explicar el aumento de estas sustancias en gestantes con PCL. En este sentido, un empeoramiento en la función renal podría producir un incremento secundario en los FCE secundario a una disminución en su eliminación. Por otra parte estudios recientes han implicado a los FCE en la iniciación de la reparación endotelial y sugieren que la elevación de estas sustancias en gestantes con PCL sea secundaria al daño del endotelio (93).

Los efectos de los FCE sobre el endotelio han sido investigados en cultivos celulares en numerosos estudios. Los FCE estimulan la producción de prostaciclina en las células endoteliales de forma análoga a como se aprecia con el plasma de mujeres con PCL (94.) Estas proteínas también han demostrado tener una capacidad de inducir un cambio funcional en la respuesta de las arterias de resistencia del miometrio a la acción vasodilatadora de la bradiquinina dependiente de endotelio, que consiste en una disminución dosis y tiempo dependiente de su relajación. Esta respuesta también se consigue con el plasma de pacientes preeclámpicas (95).

Todos estos hechos sugieren que la implicación de los FCE en el proceso del daño vascular en la PCL va más allá de ser un epifenómeno, para convertirse en un factor patogénico de su desarrollo.

### **Neuroquinina B.**

La neuroquinina B es un neuropéptido y una de las tres taquicininas en los mamíferos, junto con la substancia P y la neuroquinina A. Las taquicininas son sustancias habitualmente localizadas en el sistema nervioso y ejercen su efecto de forma periférica mediante su liberación en terminales nerviosas y la activación de receptores

específicos. La neuroquinina B actúa preferentemente sobre los receptores NK3 e induce en animales de experimentación el desarrollo de hipertensión y el incremento de la frecuencia cardíaca (96,97).

Recientemente Page et al, han demostrado que el sincitiotrofoblasto de la placenta humana es capaz de expresar RNA mensajero que codifica esta sustancia (98). Además encuentran en su estudio, que los niveles de neuroquinina B están aumentados en gestantes con PCL. Este grupo trabaja con la hipótesis de que la producción aumentada de neuroquinina B es una respuesta a la situación de isquemia placentaria que tiene como objeto elevar la presión arterial y así mejorar la perfusión uteroplacentaria. Es más, especulan con la implicación que esta sustancia pueda tener en la activación de otros factores relacionados con el desarrollo de una PCL y sugieren su papel como posible marcador precoz de esta patología. Esta teoría es atractiva por la implicación terapéutica que supone la existencia de fármacos capaces de bloquear los receptores naturales de las neuroquininas (29), pero, en cualquier caso se hace necesario un mayor número de estudios que aclaren este aspecto.

### **Microvellosidades del sincitiotrofoblasto.**

La evaluación morfológica de placentas de mujeres que han desarrollado una PCL muestran formas anormales de las microvellosidades del sincitiotrofoblasto (MS) que se asocian con áreas de necrosis focal. Estudios in vitro han demostrado que las MS pueden suprimir el crecimiento endotelial en cultivos celulares (99). El mecanismo a través del cual se produce este efecto sobre la célula endotelial no está hoy en día aclarado. Se especula en el papel que pueda jugar el estrés oxidativo en este sentido (29.)

### **PAPEL DEL ESTRÉS OXIDATIVO.**

La paradoja del oxígeno es conocida en biología desde hace tiempo, pero sólo se ha entendido de forma reciente. A pesar de que el oxígeno es esencial para la vida, demasiada cantidad o un metabolismo inapropiado de éste puede ser tóxico para las células y el organismo (100).

Los radicales libres de oxígeno y especies reactivas de oxígeno son atributos normales de la vida aeróbica y son de particular importancia en los organismos vivos, por el hecho de su implicación en la génesis de gran variedad de enfermedades y procesos fisiológicos, como la duración de la vida y el envejecimiento (101).

Durante muchos años, el óxido nítrico (ON) se consideró como un contaminante nocivo de los gases de escape de los automóviles, del humo del combustible fósil y del humo de los cigarrillos, responsable de la lluvia ácida y de la eliminación de la capa de ozono. Sin embargo, el interés sobre el papel fisiológico de esta sencilla molécula biatómica ha crecido exponencialmente durante los 10 años transcurridos desde la identificación por Palmer et al, en 1987 del factor de relajación derivado del endotelio, propuesto por Furchgott y Zawaski en 1980 (102) como ON (103).

En 1992, Science otorgó el título de "molécula del año" al ON y en 1998 se concedió el premio Nóbel de Fisiología o Medicina a Robert F.Furchgott, Louis J.Ignarro y Ferid Murad por sus descubrimientos sobre "el óxido nítrico como molécula de señal en el sistema cardiovascular." Más recientemente ha aumentado el interés por otro radical libre, el anión superóxido ( $O_2^-$ ), y su interacción con el ON en la hipertensión y otras enfermedades cardiovasculares (104).

De forma reciente se han publicado estudios que relacionan los efectos de las reacciones oxidativas con enfermedades específicas del embarazo y en concreto con los trastornos hipertensivos de la gestación.

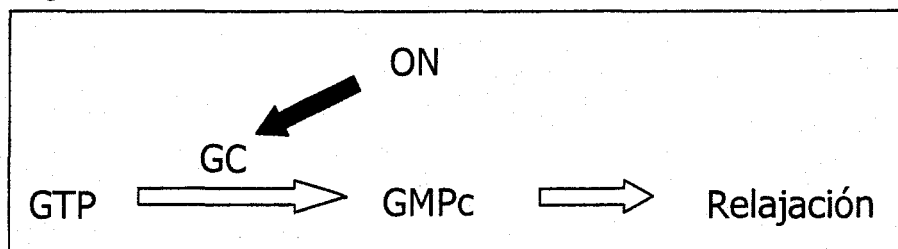
### **Papel fisiológico del ON.**

El ON es un gas simple diatómico que no se acumula y difunde libremente hasta su lugar de acción, donde se fija de forma covalente para producir su efecto. En los sistemas biológicos, el ON tiene una semivida estimada de solo 3-5 segundos, ya que interactúa con el anión superóxido y las proteínas que contienen el grupo hem. Con solo dos átomos, el ON codifica la información no por su forma, sino por los cambios en su concentración local.

El ON difunde desde el endotelio a la capa muscular lisa vascular donde se fija a la mitad hem de la enzima guanilato ciclasa activándola. Dicha enzima cataliza entonces

la producción de guanosina monofosfato cíclica (cGMP) a partir de guanosina 5'-trifosfato. La GMP cíclica provoca la relajación del músculo liso vascular mediante la reducción del calcio intracelular (104). (Figura 2).

**Figura 2.** Mecanismo de acción del Óxido nítrico



ON: óxido nítrico; GC: enzima guanilato ciclasa; GTP: Guanosina trifosfato; GMPc guanosina monofosfato cíclica.

El ON es por tanto un factor de acción paracrina, cuyas principales funciones son la relajación del músculo liso vascular, la inhibición de la agregación plaquetaria, la inhibición del crecimiento y proliferación de las células del músculo liso, así como la inhibición de la adhesión de monocitos y leucocitos al endotelio. Como consecuencia, el ON va a desempeñar un papel principal en el mantenimiento de la función, estructura y la integridad de los vasos sanguíneos (105).

### Síntesis del óxido nítrico.

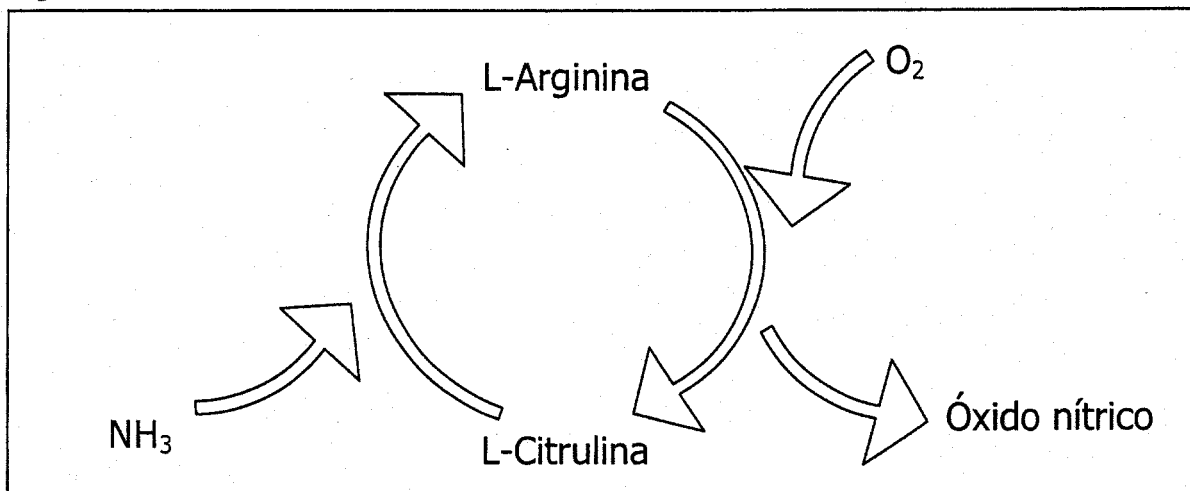
El ON se sintetiza a partir del aminoácido L-arginina gracias a la acción de una familia de enzimas denominadas óxido nítrico sintetetasas (NOS). La L-arginina sufre una oxidación para producir el radical libre ON y la L-citrulina (104). Se ha demostrado en cultivos de células endoteliales que el reciclado de la L-citrulina a L-arginina se produce mediante la incorporación de un átomo de nitrógeno de la urea, lo que no sólo regenera el sustrato para la posterior producción de ON, sino que también elimina el exceso de nitrógeno generado en el metabolismo celular (106). (Figura 3).

Se conocen actualmente tres isoformas de la familia de las NOS: la endotelial, la neuronal y la inducible. Esta última se expresa en muchos sistemas orgánicos en desarrollo del feto en ausencia de inflamación (107) (tabla 9.)

El ON se libera de las células endoteliales en respuesta a numerosos factores tanto físicos como de tipo humoral. El principal factor físico responsable de la liberación de ON es la presión ejercida por la sangre sobre el endotelio vascular (108). Numerosos

factores humorales como la acetilcolina, la bradiquinina, las catecolaminas, la angiotensina II, el adenosín trifosfato, y otros, van a tener también la capacidad de liberar ON del endotelio. Todos estos elementos van a intervenir directamente en los mecanismos de regulación de la vasoconstricción y vasodilatación endotelial (109).

**Figura 3.** Síntesis del Óxido nítrico



$O_2$ : oxígeno molecular;  $NH_3$ : amoniaco.

**Tabla 9.**

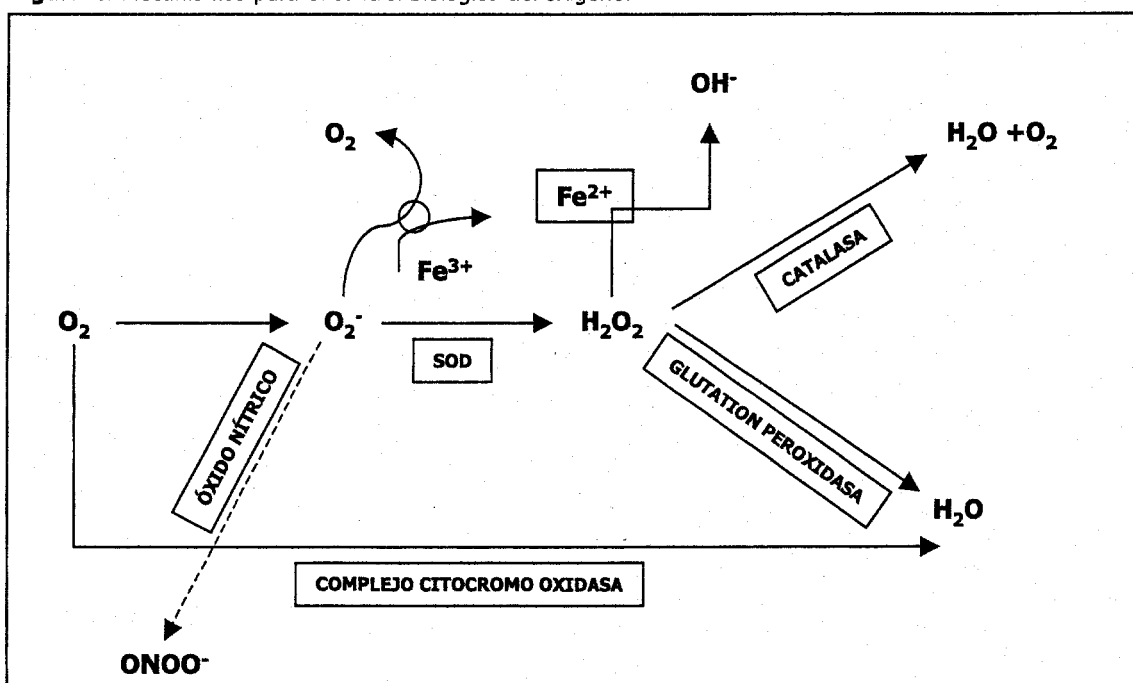
Isoformas de la enzima óxido nítrico sintetasa	
NOS <sub>e</sub> (Constitutiva) presente en la células endoteliales vasculares	
NOS <sub>n</sub> (Constitutiva) presente en el tejido nervioso y en estructuras medulares renales	
NOS <sub>i</sub> (Inducible) presente en macrófagos activados y células musculares lisas	
<p><b>Formas constitutivas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sus actividades son dependientes de las concentraciones locales de calcio.</li> <li>• Produce concentraciones pequeñas de ON y participan en procesos fisiológicos o reguladores.</li> </ul>	<p><b>Forma inducible:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• No es dependiente de las concentraciones de calcio y es inducido por citoquinas o endotoxinas, como el lipopolisacárido de la E.coli.</li> <li>• Produce grandes cantidades de ON que participa en procesos inmunitarios, de lesión o toxicidad celular.</li> </ul>

Tomado de: Rossal LP et al. Radicales libres de oxígeno y su relación con enfermedades específicas del embarazo. Prog Obstet Ginecol 2003; 46(3):122-35.

El ON va a participar también, junto con la prostaglandina I<sub>2</sub>, en la inhibición de la agregación plaquetaria. Agentes como el adenosín difosfato, la trombina, la serotonina y el factor activador plaquetario, sustancias que participan en el fenómeno de la agregación y de la coagulación, son capaces de liberar ON. Por este motivo, la presencia del endotelio vascular supone una protección frente a la formación de trombos (109).

Se ha prestado mucha atención al papel del ON en la hipertensión y en la enfermedad cardiovascular, pero también se ha examinado el papel del superóxido ( $O_2^-$ ) en relación con la disfunción endotelial. Aunque nuestro cuerpo utiliza el oxígeno y las reacciones de oxidación para generar energía son inevitables los efectos secundarios. Por lo tanto, para sostener el metabolismo aeróbico, es necesario el desarrollo de mecanismos biológicos para el control del  $O_2$ . Uno de ellos consiste en su reducción completa a agua (figura 4).

**Figura 4.** Mecanismos para el control biológico del oxígeno.



( $O_2$ : oxígeno.  $O_2^-$ : superóxido.  $OH^-$ : Radical hidroxilo.  $ONOO^-$ : Peroxinitrito.) Modificado de Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part I: Basic Mechanisms and in vivo monitoring of ROS. Circulation 2003; 108:1912-1916.

La mayor parte del oxígeno se reduce por el complejo citocromo oxidasa, que impide la liberación de los productos intermedios reactivos. No obstante, el desarrollo de una serie de enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa y peroxidasa para eliminar los productos intermedios reactivos indica que una proporción significativa de oxígeno se reduce por esta vía. Aún estando asociado al estrés oxidativo, el superóxido es una especie insólita que puede actuar como agente reductor, donando su electrón supernumerario para formar peroxinitrito con el ON, o como agente oxidante, en cuyo caso se reduce a  $H_2O_2$ . En circunstancias normales, la relativa abundancia de enzimas SOD asegura la aparición preferente de esta última reacción, aunque la primera tenga mayor rapidez (110). No obstante, cuando se produce ON en grandes cantidades, una cantidad significativa de superóxido reacciona con el óxido nítrico para producir peroxinitrito.



El peroxinitrito a su vez se degrada a otro agente oxidante, el anión hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ) y a nitrato. La NOS también puede ser una fuente significativa de superóxido; así, el ON es al mismo tiempo un radical libre y un importante mediador de muchas funciones biológicas. Todas las isoenzimas de la NOS catalizan la conversión de L-arginina a ON y L-citrulina, reacción que es dependiente de la presencia de varios cofactores, entre los que se incluye la tetrahidrobiopterina. En su ausencia, o con valores bajos, la NOS produce superóxido en lugar de ON. La isoforma NOSe es especialmente dependiente de su cofactor, así como de la disponibilidad de tioles intracelulares, que lo mantienen en el estado funcional reducido (109).

### **Superóxido dismutasa.**

Como hemos visto, los organismos como el nuestro, que dependen del metabolismo oxidativo han desarrollado una serie de enzimas que tienen como objetivo la reducción del superóxido. Una de estas familias de enzimas es la SOD, que cataliza la reacción de superóxido con un electrón y dos protones para formar  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Figura 3).

Se conocen tres isoformas de esta enzima en los mamíferos: la SOD cobre/zinc (SOD1), la SOD manganeso (SOD2) y la SOD extracelular (SOD3).

- a) Superóxido dismutasa cobre/zinc citosólica (Cu/Zn SOD): Esta enzima fue la primera de la familia descubierta en los mamíferos en 1969.
- b) Superóxido dismutasa manganeso mitocondrial (Mn SOD): Fue la segunda enzima de mamífero, descubierta en 1973. Se sintetiza en el citoplasma y se dirige a las mitocondrias mediante una señal peptídica, donde interviene en la dismutación del superóxido generado por la cadena de enzimas respiratorias.
- c) Superóxido dismutasa cobre/zinc extracelular (EC-SOD): Es la tercera y última, hasta ahora, SOD de mamífero caracterizada. Se descubrió en 1982. Se produce en los fibroblastos y en las células gliales y se segrega al líquido extracelular donde es la SOD más abundante. La enzima es una glucoproteína, que fija los polisacáridos sulfatados, como la heparina y el heparan sulfato. Por lo tanto, la EC-SOD aparecerá en la vascularización principalmente ligado a la superficie de las células endoteliales y a la matriz

extracelular, lugares ambos con abundancia de heparan sulfato, aunque se puede detectar cierta actividad enzimática en el plasma (104).

### **Radicales libres.**

El ATP celular se va a sintetizar por la reducción del oxígeno molecular hasta forma agua. Este proceso se va a llevar a cabo añadiendo cuatro electrones en una reducción controlada por el sistema de transporte de electrones en las mitocondrias. Sin embargo, algunas fugas en el sistema de transporte de electrones de las mitocondrias permiten al oxígeno aceptar menos de cuatro electrones, con lo que se forma un *radical libre*, que es un átomo, molécula o grupo de moléculas con un electrón no apareado en su órbita más externa.

Son moléculas inestables que se generan continuamente, y entre las reacciones que llevan a la formación de metabolitos reactivos del oxígeno se incluyen las del superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), que es un intermediario parcialmente reducido o especie de oxígeno reactivo no radical, y el radical hidroxilo (OH), que se denominan colectivamente ROS (radicales libres derivados del oxígeno.)

Estas moléculas tienen una elevada reactividad y su liberación da como resultado una lesión oxidativa sobre sistemas biológicos como los lípidos, que forman parte de las membranas celulares, y las proteínas de la pared vascular y del tejido miocárdico. El OH es el más reactivo y dañino para las células, y el  $H_2O_2$  también es reactivo para los tejidos y tiene, además, la capacidad de generar un radical OH (109).

Estos agentes en bajas concentraciones sirven como mediadores o moléculas de señalización; pero los ROS cuando se producen en exceso van a condicionar efectos perjudiciales. La toxicidad asociada con la excesiva producción de estas sustancias se va controlar con una serie de sistemas "de defensa" antioxidante que van a proporcionar un adecuado funcionamiento celular (111) (tabla 10).

Los radicales libres se producen constantemente de manera endógena como resultado de procesos biológicos y metabólicos normales, siendo las dos fuentes más comunes de ROS la filtración de electrones del sistema de transporte en la membrana interna de

la mitocondria durante la respiración celular y la liberación por células inmunes que rodean y matan a los agentes patógenos.

ROS (RADICALES LIBRES DERIVADOS DE OXÍGENO)		MECANISMOS DE DEFENSA ANTIOXIDANTE	
Radicales libres		Enzimas	
$O_2^{\bullet -}$	Radical superóxido	SOD	Superóxido dismutasa $2O_2 + 2H^+ \Rightarrow H_2O_2 + O_2$
$OH^{\bullet}$	Radical hidroxilo	CAT	Catalasa $2 H_2O_2 \Rightarrow O_2 + H_2O$
		GTP	Glutati6n-peroxidasa $2GSH + H_2O_2 \Rightarrow GSSG + 2H_2O$ $2GSH + ROOH \Rightarrow GSSG + ROH + 2H_2O$
$ROO^{\bullet}$	Peroxilo		
$RO^{\bullet}$	Alkoxyl		No enzimas
$RS^{\bullet}$	Tiol		Vitamina A
$NO^{\bullet}$	Óxido nítrico		Vitamina C (ácido asc6rbico)
$NO_2^{\bullet}$	Dióxido de nítr6geno		Vitamina E (alfa-tocoferol)
$ONOO^-$	Peroxinitrito		Beta-caroteno
$CCl_3^{\bullet}$	Triclorometil		Cisteína
	No radicales		Coenzima Q
$H_2O_2$	Peróxido de hidrógeno		Ácido úrico
$HOCl$	Ácido hipocloroso		Flavonoides
$ONOO^-$	Peroxinitrito		Grupo sulfhidrilo
$O_2$	Oxígeno molécula		Compuestos de tioéter

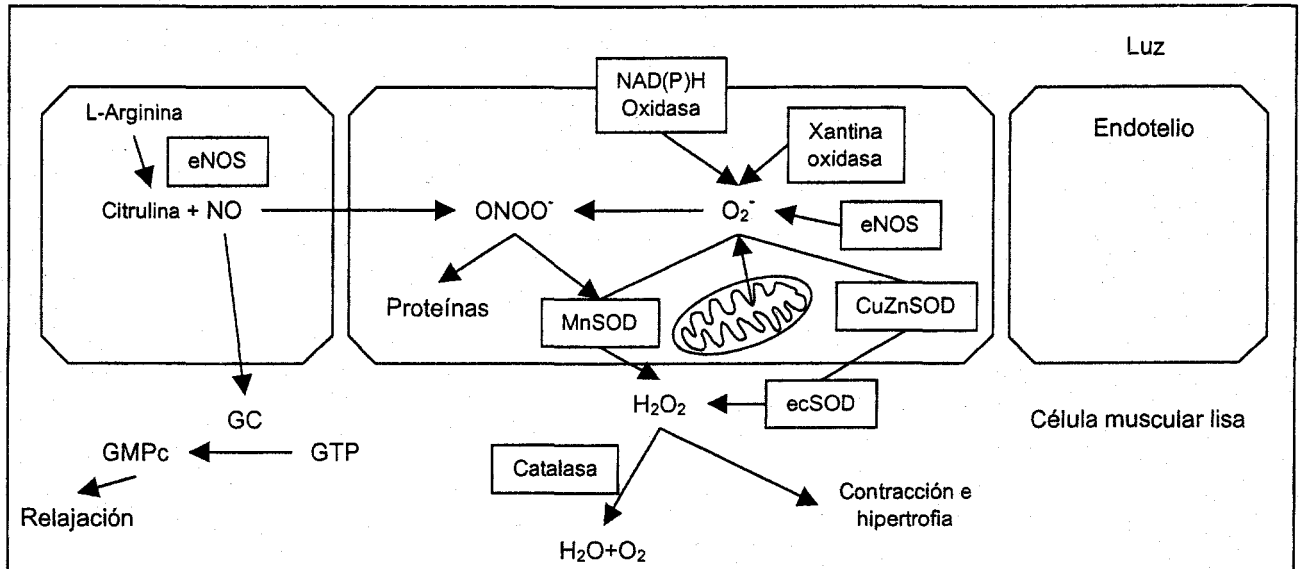
En el endotelio, las fuentes más importantes de ROS son la coenzima NAD(P)H oxidasa (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa) que interviene en las reacciones de oxido-reducci6n, la enzima óxido nítrico sintetasa, la xantina oxidasa que participa en el metabolismo de los nucleótidos purínicos, y la ciclooxigenasa, implicada en el metabolismo del ácido araquid6nico (112) (figura 5).

Otras fuentes de radicales libres son la ionizaci6n y la radiaci6n ultravioleta, aunque también se producen como consecuencia de una gran variedad de reacciones químicas. Por otro lado, otras sustancias también pueden generar radicales libres, como las prostaglandinas, el tromboxano y las citoquinas (109.)

Un ROS inflige daño tisular con el fin de establecer un estado estable, retirando un electr6n de una molécula cercana para aparearla con el electr6n ya existente en su órbita más externa. De esta forma son capaces de iniciar la peroxidaci6n lipídica, incrementar el calcio intracelular libre, dañar el ADN, liberar enzimas catalíticas destructivas y lesionar las membranas celulares. Asimismo, son la causa de la toxicidad

del oxígeno, de la mutagenicidad y de su participación en reacciones redox, lo que va a generar otros radicales (109).

**Figura 5.** Producción de radicales libres de oxígeno. Mecanismos de defensa antioxidante.



ON: óxido nítrico; GC: enzima guanilato ciclasa; GTP: Guanosina trifosfato; GMPc: guanosina monofosfato cíclica; eNOS: óxido nítrico sintetasa endotelial; O<sub>2</sub><sup>•-</sup>: superóxido; ONOO<sup>•</sup>: Peroxinitrito. Modificado de Berry C et al. Oxidative stress and vascular damage in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 10(2):247-255.

### Mecanismos de defensa antioxidante.

La mayoría de los organismos vivos han desarrollado mecanismos de defensa antioxidante (tabla 10, figura 5). Estos mecanismos van a ser diferentes en el compartimiento intracelular y en el extracelular, pudiendo tener naturaleza enzimática o no enzimática.

Nuestro organismo utiliza varios antioxidantes endógenos y derivados de la dieta para reducir el riesgo de daño tisular inducido por los ROS. En términos generales, éstos sirven para: prevenir el inicio de la formación de ROS, detener la progresión por la que los ROS desencadenan la formación de otros ROS, o capturar cofactores que, de otra manera, podrían catalizar la formación de ROS (109).

En condiciones naturales, los ROS son neutralizados por las enzimas intracelulares protectoras superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa, por lo que no van a producirse daños. Pero, cuando los ROS aumentan de forma considerable, sobrepasan el sistema de enzimas protectoras y alteran las funciones celulares oxidando lípidos de membrana, proteínas celulares, ADN y enzimas (113.)

Es importante mencionar que la enzima glutatión-peroxidasa es el mecanismo protector más significativo de las membranas celulares frente a la peroxidación lipídica, debido a que el glutatión reducido (GSH) cede protones a los lípidos de la membrana, manteniéndolos en su forma reducida (114). De hecho, los niveles de las formas reducida y oxidada de glutatión son considerados como un índice de la situación de estrés oxidativo celular (115).

Las proteínas con capacidad de unirse al hierro, las transportadoras de dicho metal y la albúmina son ejemplos de antioxidantes extracelulares, por su capacidad para disminuir la concentración de hierro libre, que es capaz de iniciar la peroxidación de lípidos (111). Otros agentes antioxidantes son el ácido úrico, la ceruloplasmina y la bilirrubina (109).

De esta manera, para conseguir el mantenimiento de la homeostasis redox, el organismo es capaz de detectar la cantidad de radicales libres formados, para así, regular la expresión de los genes antioxidantes. No se conocen todavía todos estos mecanismos de control, pero se sabe que existen factores transcritores como el factor nuclear  $\kappa$ B, la proteína activadora-1 y otros reguladores oxidativos, como la proteincinasa mitógena-activada, que regulan la transcripción y la transducción de señales en respuesta al estado redox (109).

Por otra parte, existen antioxidantes exógenos como la vitamina C y la vitamina E que además de participar en la inhibición de la peroxidación lipídica, se han implicado en numerosos ensayos clínicos encaminados en la búsqueda de estrategias de prevención de la preeclampsia sin mucho éxito (116.)

### **Estrés oxidativo en la patogénesis de los trastornos hipertensivos de la gestación y en la preeclampsia.**

El estrés oxidativo se ha propuesto como el posible enlace entre los dos síndromes que definen la PCL, el fetal y el materno (117). Esta hipótesis propone que la hipoxia resultante la placentación anómala resulta en la generación de radicales libres de oxígeno que pueden condicionar una situación de estrés oxidativo en la madre.

Existen en la literatura evidencias en relación con el estrés oxidativo en la PCL, tanto en la sangre como en los tejidos maternos, que apoyan esta esta hipótesis fisiopatológica (tabla 11).

**Tabla 11.**

<b>EVIDENCIAS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN LA PREECLAMPSIA</b>
<p><b>a) Marcadores circulantes:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Marcadores no lipídicos:           <ul style="list-style-type: none"> <li>•Anticuerpos contra LDL (Uotila et al)</li> <li>•Actividad oxidante del ácido ascórbico (Hubel et al)</li> <li>•Incremento de tioles nitrosos (Tyurin et al)</li> </ul> </li> <li>- Marcadores lipídicos:           <ul style="list-style-type: none"> <li>•Incremento de los productos de peroxidación lipídica (Hubel et al)</li> <li>•Anticuerpos contra LDL oxidada (Uotila et al)</li> </ul> </li> </ul> <p><b>b) Tejidos sistémicos maternos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Incremento de residuos de nitrotirosina en los vasos sanguíneos (Roggensack et al)</li> <li>- Activación de neutrófilos y monocitos (Von Dadeklzen et al)</li> </ul> <p><b>c) En la decidua:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Aterosis con macrófagos cargados de lípidos (Zeek et al)</li> <li>- Incremento de la peroxidación lipídica (Staff et al)</li> <li>- Incremento de isoprostanos (Staff et al)</li> <li>- Carbonilos proteicos (Zusterzeel et al)</li> </ul> <p><b>d) En la placenta:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Marcadores no lipídicos:           <ul style="list-style-type: none"> <li>•Incremento de la xantina-oxidasa en células invasoras del trofoblasto (Many et al)</li> <li>•Incremento de residuos de nitrotirosina en la sangre fetal (Myatt et al)</li> </ul> </li> <li>- Antioxidantes:           <ul style="list-style-type: none"> <li>•Reducción en la superóxido dismutasa (Many et al, Wang et al)</li> <li>•Reducción en la glutatión-peroxidasa (Walsh et al)</li> </ul> </li> <li>- Marcadores lipídicos:           <ul style="list-style-type: none"> <li>•Incremento del malondialdehído (Cester et al)</li> <li>•Incremento de la peroxidación lipídica (Walsh et al)</li> <li>•Carbonilos protéicos (Zusterzeel et al)</li> </ul> </li> </ul>

Tomado de Roberts et al. Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension during pregnancy. Hypertension 2003; 41:437-445.

Hace unos doce años, Roberts y colaboradores, ya propusieron que la disfunción del endotelio materno iba a constituir la clave en el desarrollo de las manifestaciones clínicas de la PCL (118). Los factores que inducen esta disfunción endotelial no están del todo comprendidos, aunque todos los autores parecen coincidir en que el fenómeno inicial parte de la placentación anormal. Esta situación condicionaría una liberación de productos de la unidad feto-placentaria tales como mediadores inflamatorios, radicales libres y restos trofoblásticos que iniciarían los cambios fisiopatológicos de la PCL.

### **Radicales libres derivados del oxígeno.**

Los productos de la peroxidación lipídica, los hidroperóxidos lipídicos, son sustancias que se forman de la acción de los radicales libres sobre los ácidos grasos poliinsaturados y el colesterol de las membranas o de las lipoproteínas. Su función consiste en regular enzimas y la expresión de genes relacionados con el balance redox. En su producción están implicadas dos enzimas, la cicloxigenasa y la lipooxigenasa (119). Los valores bajos de peróxidos lipídicos son esenciales, pero cuando se encuentran en concentraciones elevadas son capaces de condicionar una disfunción celular.

La peroxidación de los lípidos ha sido estudiada en la PCL (120,121,122,123,124,125) tanto in vitro como in vivo. La mayoría de los autores vienen a reseñar que existen pruebas de la existencia de un aumento del estrés oxidativo en las pacientes con PCL, y como prueba de ello, un aumento de la peroxidación de los lípidos. Sin embargo, Regan y colaboradores (123), sin contradecir trabajos previos, ponen en duda este hallazgo al no encontrar diferencias en la eliminación en orina del isoprostano 8,12-iso-iPF<sub>2</sub> $\alpha$ -VI, un producto de la peroxidación del ácido araquidónico. Esta sustancia se ha validado actualmente como un marcador de estrés oxidativo celular (101). En cualquier caso, este trabajo ha tenido críticas por parte de Hubel y Poston (126,127) apoyadas por el resto de evidencias que existen en la literatura a favor de la implicación del estrés oxidativo en la PCL y no se ha visto corroborado posteriormente con los hallazgos en otros estudios como veremos luego.

### **Disfunción endotelial en la preeclampsia.**

Existen pruebas de la existencia de cambios en la estructura y la función del endotelio materno en la PCL (24) (cambios, que por otra parte, son reversibles tras la finalización de la gestación.) Como consecuencia de ello se va a producir un incremento de la reactividad y una reducción en la capacidad de relajación de los vasos de resistencia (128).

Una gran variedad de sustancias directamente implicadas en la disfunción endotelial materna están aumentadas en la sangre u orina de gestantes con PCL (23,24) (tabla 12).

Tabla 12.

- Incremento en la concentración de endotelina.
- Incremento del cociente tromboxano  $A_2/PGI_2$ .
- Descenso de la biodisponibilidad del óxido nítrico e incremento en los niveles de dimetilarginina asimétrica (ADMA.)
- Incremento en la expresión del Factor de vW.
- Incremento de la activación plaquetaria.
- Incremento en la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1.)
- Incremento de la molécula de adhesión plaquetaria (PECAM-1.)
- Aumento de interleucinas (IL-6) y factor de necrosis tumoral (TNF.)
- Aumento de homocisteína

Todos estos factores parecen encontrarse ya elevados semanas antes del desarrollo de la PCL.

Estas evidencias se van a apoyar también en los estudios in vitro que demuestran que el plasma de gestantes con PCL es capaz de alterar la función del endotelio en cultivos celulares (129,130,83).

En esta situación de disfunción del endotelio, se ha propuesto que la deficiencia en la producción y/o biodisponibilidad del óxido nítrico debe jugar un papel primordial (131). En cualquier caso, los estudios que se han encaminado a determinar los niveles circulantes de los productos derivados del óxido nítrico (nitritos y nitratos) en la PCL, ofrecen resultados variables (131,132,133,134,135,136). Aunque la mayoría de los trabajos parecen coincidir en que existe un incremento en su concentración, la explicación para estos resultados no está del todo aclarada, sugiriéndose varias teorías: podría tratarse de un mecanismo compensador de la situación de vasoconstricción de la PCL, o bien, que fuera debido a una disminución en la excreción renal de estos productos.

### **Pruebas de la existencia de estrés oxidativo en la placenta durante la preeclampsia.**

**Aterosclerosis aguda.** La PCL se ha asociado con una lesión característica de las arteriolas de la decidua conocida como "aterosclerosis aguda" que remeda extraordinariamente a la aterosclerosis de las coronarias. De hecho, estas lesiones presentan áreas de necrosis fibrinoide en la pared de los vasos, zonas de pérdida de la solución de continuidad del endotelio, agregados de plaquetas y de macrófagos con contenido lipídico (137). En



este sentido de ha sugerido un paralelismo entre los hallazgos de esta lesión y la aterosclerosis sistémica mediado por la peroxidación de los lípidos.

**Productos de la peroxidación lipídica de origen placentario.** Los productos de la peroxidación lipídica que tienen un origen en la placenta se han estudiado como posibles candidatos implicados en la génesis de la PCL. De hecho se han encontrado concentraciones elevadas de hidroperóxidos lipídicos, fosfolípidos y colesterol en los tejidos de la decidua basal de gestantes con PCL comparadas con sanas (138). Estos hallazgos han sugerido la hipótesis de que la placenta sea la fuente de factores que, liberados a la sangre materna, condicionen la disfunción endotelial.

Estudios *in vitro* e *in vivo*, han demostrado que existe un incremento del isoprostano 8,12-iso-iPF<sub>2</sub> $\alpha$  en los tejidos de la decidua placentarios (139,140,141,142). Estos trabajos parecen demostrar por una parte, que esta sustancia es capaz de promover la expresión del receptor de membrana celular LOX-1, que se ha implicado recientemente en el desarrollo de la aterosclerosis, y, por otra que este isoprostano sería capaz de limitar la invasión del trofoblasto placentario.

**Cambios en los sistemas antioxidantes placentarios.** Algunos estudios encuentran que existe una deficiencia de glutation-peroxidasa en los tejidos placentarios de gestantes con PCL. Esta situación podría ser la responsable de el incremento en la producción de hidroperóxidos lipídicos y de el aumento de la concentración de tromboxano A<sub>2</sub> (un potente vasoconstrictor) en relación con la prostaglandina I<sub>2</sub> (vasodilatadora) (143). Como consecuencia se produciría una situación de vasoespasmo con aumento de la isquemia placentaria, aumento del daño celular, y, en última instancia una amplificación de la peroxidación lipídica y, por ende, del estrés oxidativo (144).

La xantina oxidasa es, como recordamos, una enzima directamente implicada en el metabolismo de los nucleótidos purínicos. Existen dos isoformas de esta enzima. La forma "D" (deshidrogenasa) necesita NAD (Nicotinamida-adenina-dinucleótido) y produce ácido úrico y NADH. En situaciones de hipoxia/isquemia y en respuesta a factores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral alpha (TNF- $\alpha$ ) y otros, la forma D se transforma en forma "O" (del inglés *oxidase*) que necesita oxígeno y produce ácido úrico y superóxido durante los fenómenos de isquemia-reperfusión

(145). Algunos estudios han encontrado niveles aumentados de la forma O de la xantina-oxidasa en tejidos del citotrofoblasto en gestantes con PCL en comparación con sanas. Paradójicamente, el ácido úrico, producto resultante de la actividad de esta enzima y a la vez eficaz antioxidante, está aumentado en la PCL. Estos mismos trabajos van a encontrar también en el citotrofoblasto niveles aumentados de nitrotirosina, un producto resultado de la acción del peroxinitrito sobre las proteínas y que es un indicador de estrés oxidativo (146).

Además de los cambios apreciados en la enzima xantina-oxidasa existen pruebas de la existencia de una disminución en la expresión y actividad de la superóxido-dismutasa (SOD) en homogeneizados placentarios en la PCL (147,148). En cualquier caso, estos resultados no son compartidos por todos los autores y existen trabajos que no encuentran diferencias (149).

**Estudios de los sistemas antioxidantes en la gestante con PCL.** Existen muy pocos estudios encaminados a valorar los sistemas enzimáticos antioxidantes en la gestante. La mayoría de ellos tienen un tamaño muestral muy escaso y vienen a confirmar que existe una disminución en la actividad de la SOD y de la catalasa en pacientes con PCL comparadas con hipertensas esenciales o en comparación con gestantes sanas. La hipótesis con la que se trabaja es que la disminución de la actividad de la SOD ocurre porque en el embarazo patológico el aumento de la producción de anión superóxido agotaría la actividad de dicha enzima. Otros autores encuentran que no existe una disminución en la concentración de su RNAm, sugiriendo la posibilidad de un defecto post-transcripcional (150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161).

**Marcadores de estrés oxidativo en la circulación materna.**

**Papel de la dimetilarginina asimétrica (ADMA) como inhibidor endógeno del óxido nítrico en la génesis de la preeclampsia.** Existe un número creciente de estudios que vienen a abalar la importancia de los inhibidores endógenos de la enzima óxido nítrico sintetasa como responsables de la disfunción endotelial que acontece en la aterosclerosis. Estos inhibidores son la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y la N-monometilarginina (NMA) (162). La forma predominante en plasma es la ADMA que se encuentra en concentraciones 10 veces superiores a la de la NMA.

Vallance fue el primero en demostrar que la producción endógena de ADMA era capaz de inhibir la relajación del endotelio (163). Su grupo observó que los pacientes con insuficiencia renal presentaban una concentración en plasma de ADMA nueve veces superior. Pudieron reconocer que el plasma de estos pacientes era capaz de inducir una vasoconstricción de anillos vasculares in vitro, efecto que desaparecía con la adición de L-arginina, sustancia precursora del óxido nítrico, a los medios de cultivo (163).

Con posterioridad se han confirmado niveles elevados de ADMA en pacientes con enfermedad vascular y en gestantes con preeclampsia (162).

El ADMA no se produce a consecuencia de la metilación de la L-arginina libre. En realidad se deriva del catabolismo de proteínas que contienen residuos de arginina metilados. Estas proteínas se encuentran de forma abundante en el núcleo celular y parecen estar relacionadas con el control del procesamiento y transcripción del RNA (162). Cuando estas proteínas se hidrolizan se liberan residuos metilados de arginina que se excretan en la orina (164). Ésto podría explicar el que existan niveles elevados de ADMA en pacientes con insuficiencia renal.

La enzima más directamente implicada en el metabolismo de la ADMA y de la NMA es la dimetil-arginina dimetil-amino-hidrolasa (DDAH) (162). Existen dos isoformas conocidas de esta enzima, la tipo I y la tipo II. La DDAH tipo I se encuentra específicamente en los tejidos que expresan la NOS neuronal, mientras que la tipo II predomina en los tejidos que contienen la forma endotelial de la NOS. Estudios recientes han demostrado que las situaciones de hipercolesterolemia e hiperglucemia pueden condicionar una disminución de la actividad de la DDAH, implicando directamente a esta enzima en los fenómenos de estrés oxidativo de la aterosclerosis (162).

De la misma forma que existen claras evidencias de la implicación de la ADMA en el estrés oxidativo y en la aterosclerosis, en los últimos años se han publicado algunos trabajos que relacionan al ADMA con el desarrollo de la preeclampsia (165, 166, 167, 168, 169). La mayoría de estos estudios encuentran una elevación de la ADMA en

gestantes con preeclampsia, aunque su implicación en la reducción de la producción de óxido nítrico no está del todo aclarada.

King RG y colaboradores evaluaron la actividad de la enzima NOS en gestantes normales y gestantes con preeclampsia. Para ello realizaron estudios in vitro evaluando la conversión de L-arginina en L-citrulina en homogeneizados de placentas sometidos a diferentes concentraciones de ADMA concluyendo que la sensibilidad de la NOS a la ADMA no se veía influida en las gestantes con preeclampsia y por lo tanto, el ADMA no parecía contribuir a la reducción de la NOS placentaria en la preeclampsia (169.)

De cualquier forma, estudios recientes han demostrado que existe una correlación inversa entre las concentraciones de ADMA y la dilatación de la arteria braquial sometida a isquemia in vivo medida mediante ultrasonografía doppler en gestantes con preeclampsia (166), sugiriendo la importancia de este inhibidor en la fisiopatología de los trastornos hipertensivos del embarazo, y las posibles implicaciones terapéuticas que podría tener la administración de L-arginina en gestantes con preeclampsia.

Serán necesarios, por tanto, nuevos estudios que aclaren estos aspectos, aunque parece evidente la implicación de la ADMA en el desarrollo de la preeclampsia.

**Niveles de nitrotirosina en los vasos maternos.** De forma paralela a los resultados obtenidos en los estudios sobre la placenta, se han encontrado niveles aumentados de peroxinitrito en los vasos de las gestantes con PCL analizados en biopsias de grasa subcutánea (157). Mediante inmunohistoquímica se ha demostrado que existen concentraciones superiores (73%) de nitrotirosina en la PCL en comparación con gestantes sanas (3%). Estas tinciones también han sido positivas fuera del endotelio vascular lo que sugiere una posible difusión del peroxinitrito hacia el torrente circulatorio. Haciendo uso de estas mismas técnicas, se ha puesto en evidencia que existe una disminución en las concentraciones de SOD y un aumento en las de la enzima NOSe en los vasos maternos en la PCL (170).

**Productos de la peroxidación lipídica.** Existen escasas pruebas de la elevación de los productos de la peroxidación lipídica (isoprostanos, hidroperóxidos lipídicos y malondialdehído) en el plasma/suero de gestantes con PCL (171,172,173). Esta misma situación se ha demostrado en plaquetas y eritrocitos de pacientes con PCL (174, 175).

En cualquier caso, no todos los autores ofrecen los mismos resultados. Morris y colaboradores (176) no encuentran concentraciones elevadas en estos productos y advierten sobre la variabilidad en relación a la sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas para la determinación de estos factores.

**Niveles circulantes de anticuerpos anti-LDL oxidada.** La oxidación de la LDL in vivo induce una respuesta inmunitaria humoral y la producción de una población heterogénea de anticuerpos específicos frente a este factor. La presencia de estos anticuerpos podría representar un marcador de estrés oxidativo y se considera un indicador de aterosclerosis. Algunos estudios han demostrado que se encuentran niveles elevados de estos anticuerpos en gestantes con PCL si bien otros trabajos parecen afirmar lo contrario y encuentran niveles disminuidos (177, 178, 179, 180). La presencia de anticuerpos antifosfolípidos también se ha relacionado con la PCL (181) y algunos autores sugieren que la producción de estos anticuerpos y aquellos frente a la LDL oxidada puedan tener una vía común. En este sentido se especula que al igual que para la formación de los anticuerpos frente a la LDL oxidada, los anticuerpos antifosfolípidos surgirían como respuesta inmune a la oxidación de los fosfolípidos. Sin embargo, esta opinión no va a ser compartida por todos los autores (180).

**Niveles circulantes de ácidos grasos libres.** Existen muy escasas referencias en la literatura en relación con la elevación de los ácidos grasos libres (AGL) (palmítico, oleico y linoleico) en gestantes con PCL. Estos trabajos encuentran que los niveles de AGL están aumentados semanas antes del desarrollo de los signos y síntomas de la PCL (182, 183, 184). Estudios in vitro han demostrado que los AGL y más especialmente el ácido linoleico, tienen capacidad para reducir la liberación de prostaciclina mediada por trombina y para disminuir los niveles de GMP cíclico endoteliales. Por otra parte, el ácido linoleico sería capaz de reducir la capacidad de las células endoteliales para inhibir la agregación plaquetaria (183). Hubel y colaboradores encuentran además que los niveles de los ácidos grasos libres se correlacionan con la presencia de malondialdehído, metabolito de la peroxidación lipídica en las gestantes con PCL, y sugieren que los AGL pudieran tener un papel en la disfunción endotelial (185). Endresen y colaboradores han propuesto en estudios recientes que el aumento de niveles de AGL podría ser capaz de inducir la expresión de moléculas de adhesión como el VCAM-1 (del inglés *vascular cell adhesion molecule-1*) in vivo, tras inducir el

aumento de las concentraciones de esta sustancia en cultivos de células endoteliales expuestas a altas concentraciones de ácidos grasos (186.)

**Consumo plasmático de ascorbato.** Se sabe que el ácido ascórbico (Vitamina C) es una sustancia sumamente eficaz en la protección de las lipoproteínas plasmáticas y otras moléculas susceptibles de oxidación, frente a la acción de los radicales libres de oxígeno. Existen algunas pruebas de la disminución en la concentración de ascorbato en las gestaciones complicadas con PCL en relación con las sanas (187). Por contra, la forma oxidada del ácido ascórbico, el ácido dehidroascórbico no se encuentra descendida, lo que sugiere una oxidación y consumo del ascorbato (187, 188). Tyurin y colaboradores trabajan en la hipótesis de que esta deficiencia en ácido ascórbico tendría su traducción en una insuficiente descomposición de los S-nitrotioles y por ende una disminución en la liberación de óxido nítrico (189) generando una situación de aumento del estrés oxidativo.

**Concentraciones plasmáticas de vitamina E.** A diferencia de lo que ocurre con el ácido ascórbico, las concentraciones de vitamina E están aumentadas en el embarazo normal. Ésto se debe presumiblemente a un incremento en las lipoproteínas que actúan como transportadoras de esta vitamina. Las concentraciones de esta sustancia en la gestación complicada con PCL se han estudiado en diferentes ensayos encontrándose niveles inalterados y aumentados (188, 190). Sin embargo recientemente Mohindra y colaboradores han hallado en sus trabajos que existe en la PCL grave un descenso en los niveles de esta vitamina, encontrándose normales en la PCL sin criterios de severidad y en relación con la gestación normal (191). Todas estas investigaciones han tenido como objetivo común el abordaje preventivo de la PCL mediante la administración de antioxidantes exógenos. En este sentido, los ensayos clínicos realizados hasta la fecha no han sido concluyentes (192), a pesar de que existan trabajos que parecen demostrar que la administración de vitamina C y vitamina E pueda mejorar ciertos parámetros de estrés oxidativo y disfunción endotelial en la PCL (193). Faltan por tanto estudios prospectivos aleatorios que valoren de manera adecuada la efectividad de la terapia antioxidante durante el embarazo.

**Dislipidemia y estrés oxidativo en la Preeclampsia.** Durante la primera mitad de la gestación normal se va a producir un desarrollo del tejido adiposo materno que va a condicionar una situación de hiperlipidemia al final del embarazo. Las concentraciones

de lipoproteínas VLDL y LDL van a incrementarse progresivamente a lo largo de la gestación lo que tendrá su reflejo en un aumento del colesterol de hasta un 300% y de los triglicéridos de hasta un 50% por término medio (194). Este hecho se debe a un estado de resistencia insulínica que va a condicionar un aumento de la actividad lipolítica en el tejido adiposo (195) y una liberación de ácidos grasos libres que serán el sustrato para la síntesis hepática de triglicéridos. Todos estos cambios tendrán como objetivo final conseguir un máximo aporte de ácidos grasos libres al feto en crecimiento (194). Este hecho parece estar marcadamente exagerado en la PCL y diferentes trabajos han encontrado que las concentraciones de lípidos están francamente más elevadas en esta situación en comparación con la gestación normal. Incluso se ha puesto en evidencia que estos cambios se producen semanas antes del desarrollo del síndrome especulándose en la posible implicación que pudiera tener en el desarrollo de la PCL (196). En este sentido se ha querido establecer un cierto paralelismo entre el síndrome de resistencia insulínica descrito por Reaven (197) que ha demostrado ser un importante factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y este entorno que se va a generar en la PCL. Se van a proponer varios mecanismos a través de los cuales la situación de hipertrigliceridemia en este trastorno hipertensivo puede degenerar en una disfunción del endotelio: por una parte la propia actividad protrombótica de las lipoproteínas transportadoras de triglicéridos; por otra, el hecho de que en situaciones de hipertrigliceridemia se ha descrito que los monocitos aumentan la producción de superóxido y tienen una mayor afinidad por su unión al endotelio vascular; y, por último, los ácidos grasos libres generados en exceso tendrían capacidad para inducir la activación y adhesión de los leucocitos a la célula endotelial (194). En este escenario, se ha empezado a valorar con interés, el papel que puedan jugar las lipoproteínas LDL de pequeña densidad (198).

**Fenotipo LDL de pequeña densidad y Preeclampsia.** Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) constituyen un amplio espectro de partículas heterogéneas en densidad, tamaño, composición y función. Su tamaño está sujeto a variaciones con influencia genética y sin ella. Los cambios metabólicos que aparecen en situaciones de hipertrigliceridemia condicionan un incremento en la fracción de LDL de pequeña densidad que tiene un marcado carácter aterogénico y que se ha implicado en el desarrollo de enfermedad coronaria (199). Además esta fracción de lipoproteínas se ha implicado directamente en algunas de las manifestaciones del síndrome de resistencia insulínica o síndrome plurimetabólico y son de hecho partículas más susceptibles de ser

oxidadas que otras fracciones. Existen algunos trabajos en la literatura que parecen demostrar que en la PCL existe un aumento de las subfracciones de LDL de pequeña densidad (198, 200), aunque este aspecto no está completamente confirmado. En este sentido, algunos autores van a especular además en la posibilidad de que exista una respuesta materna o placentaria anómala frente a estas lipoproteínas.

### **Hiperhomocisteinemia y preeclampsia.**

La homocisteína (HC) es un aminoácido que proviene de la metionina y actualmente es un factor de riesgo cardiovascular demostrado e independiente de la hipertensión, el tabaquismo, la hiperlipemia o la diabetes mellitus (201). En el mecanismo de la acción de la HC en la lesión vascular van a estar implicados dos factores, uno aterogénico y otro trombogénico.

Debido a esta consideración como factor de riesgo cardiovascular, la HC también ha sido estudiada en la gestante con trastornos hipertensivos y otras patologías obstétricas y específicamente en la PCL, encontrándose un incremento en esta sustancia en aproximadamente un 20-30% de las gestaciones complicadas con este síndrome (202). Algunos autores han sugerido incluso que la HC pueda tener un papel como marcador pronóstico en la PCL. Sin embargo, trabajos recientes parecen desmentir este aspecto (202). Por otra parte Var y colaboradores, han puesto en evidencia en sus estudios que niveles elevados de homocisteína se correlacionan con una disminución en los niveles de óxido nítrico y otros parámetros de disfunción endotelial (203). Este trabajo tiene el inconveniente de haberse realizado en un número escaso de pacientes, por lo que sería necesario otros estudios más amplios para confirmar o desmentir este aspecto. Además otros estudios no han encontrado relación entre los niveles de HC en la PCL y los polimorfismos descritos para el gen de la enzima metileno-tetrahidrofolato-reductasa, polimorfismos que condicionan una disminución en la actividad de la enzima y en consecuencia un aumento en los niveles de HC (204, 205). Incluso existen en la bibliografía otros estudios donde no se demuestra una relación entre las concentraciones aumentadas de HC y la aparición de la PCL (206). Hietala y colaboradores comparan los niveles de HC al principio de la gestación en un grupo de 34 mujeres que desarrollaron PCL frente a un grupo de 68 mujeres controles, concluyendo que dichos niveles no son predictores del desarrollo del síndrome (207). Este mismo hecho se ha confirmado por otros autores valorando



los niveles de HC en el segundo trimestre del embarazo (208), a excepción de Sorensen y colaboradores que si parecen encontrar una asociación (209.)

### **Interacciones materno-fetales. Papel de las interleucinas y el factor de necrosis tumoral.**

**Factor de necrosis tumoral alfa.** El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) es una citoquina que se produce principalmente en los macrófagos y está relacionada con los fenómenos de inmunoregulación, la modulación del crecimiento celular y su diferenciación, y en la producción de radicales libres de oxígeno. Otra fuente de estrés oxidativo en la PCL es esta sustancia. La isquemia placentaria va a acondicionar un exceso de producción de este factor por parte de la placenta (210, 211). Estudios in vitro muy recientes parecen demostrar que la secreción de TNF- $\alpha$  parece inducir una activación de la célula endotelial materna (212). Scalera ha demostrado in vitro que las concentraciones elevadas de este factor inducen en el endotelio de la vena umbilical humana un desbalance en la producción de mediadores relacionados con la vasoconstricción y vasodilatación a favor de un aumento de sustancias vasoconstrictoras, generándose una situación de estrés oxidativo (213). También se ha comprobado que los efectos sobre el estrés oxidativo generados por el TNF- $\alpha$  se van a amplificar debido al incremento en las concentraciones de ácidos grasos libres (214). Ambas sustancias han demostrado in vitro que son capaces de incrementar el estrés oxidativo en la célula endotelial (214). Se piensa que la liberación de TNF- $\alpha$  va a estar condicionada por el aumento en la producción de radicales libres de oxígeno en los neutrófilos y en la mitocondrias celulares (215). Por otra parte, en humanos y modelos animales, la producción aumentada de TNF- $\alpha$  por parte del tejido adiposo, se ha relacionado con la génesis de la obesidad, la insulín-resistencia y la hipertrigliceridemia (216). Esta citoquina disminuye la actividad de la lipoproteín-lipasa, incrementa la lipólisis en el tejido adiposo y se considera un mediador en la insulín-resistencia (216). Por este motivo, se especula en que este factor pueda jugar un papel en la situación de insulín-resistencia, dislipidemia y estrés oxidativo generados en la PCL.

**Interleucinas y estrés oxidativo.** Las citoquinas son proteínas de pequeño tamaño sintetizadas de forma primordial, pero no única, por las células del sistema inmunitario y que mediatizan la mayoría de las interacciones inmunitarias. Sus acciones biológicas no se limitan a la inmunidad y probablemente varíen en diferentes compartimentos

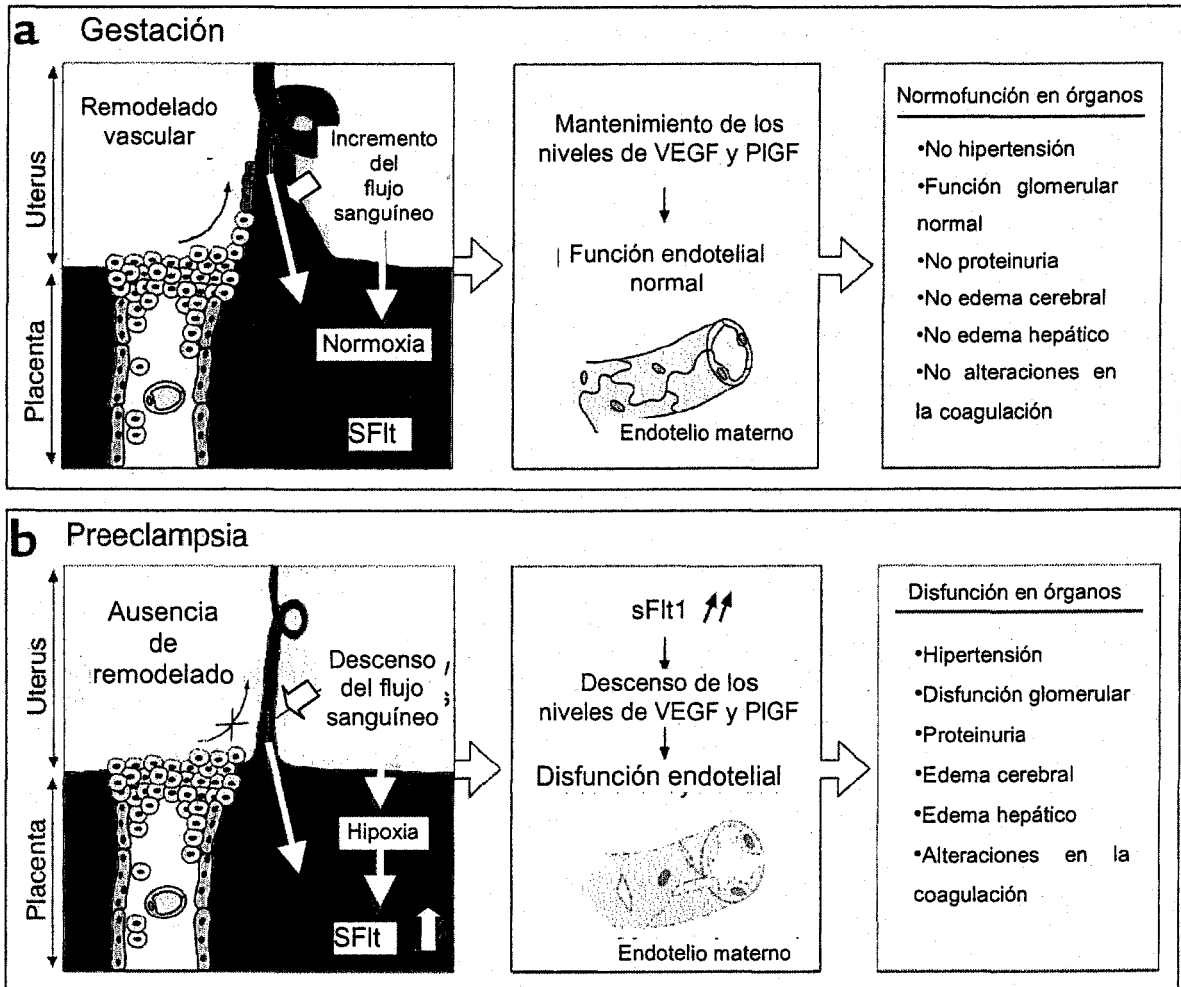
biológicos. Son sustancias que participan en numerosos procesos biológicos, entre los que parece incluirse la implantación placentaria (217). Los datos in vivo sobre gestación humana son obviamente limitados, pero existe suficiente evidencia de que las citoquinas se secretan en grandes concentraciones en la interfase placenta-decidual y son producidas tanto por células placentarias como por células inmunitarias y por la decidua materna (218). Al igual que el TNF- $\alpha$ , se ha demostrado que la secreción de interleucinas, especialmente la interleucina 1- $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), pueden producir disfunción endotelial en la PCL (219). Además, también se ha documentado que la placenta es capaz de producir interleucina 6 (IL-6), factor que se ha implicado directamente en el desarrollo de la aterosclerosis coronaria (210). Conrad y colaboradores encuentran así mismo, que las concentraciones de IL-6 están aumentadas en gestantes con PCL (220). Sin embargo, estos autores no parecen estar de acuerdo en un origen placentario de estos hallazgos y sugieren que probablemente los leucocitos activados en el endotelio materno van a ser la fuente de estos factores inflamatorios y no la placenta como se había postulado hasta el momento (221). Estudios recientes parecen haber encontrado una correlación entre los niveles de citoquinas como la IL-6 y la IL-10 y las cifras de presión arterial diastólica y las concentraciones de fibronectina en gestantes con PCL (222).

### **Nuevas evidencias en la patogénesis de la preeclampsia. Concentraciones circulantes del factor antiangiogénico sFlt-1 y riesgo de preeclampsia.**

En los últimos años ha cobrado un especial interés el papel que puedan jugar ciertos factores angiogénicos y antiangiogénicos en la génesis de la preeclampsia. Prueba de ello son los estudios que han demostrado un aumento en una proteína soluble circulante que presenta un carácter antiangiogénico, denominada sFlt-1 del inglés *fms-like tyrosine kinase 1*, en la PCL. Este aumento se ha objetivado tanto en la placenta como en el suero de estas gestantes (223, 224, 225, 226). Esta proteína se uniría al receptor de membrana de dos factores, el factor de crecimiento placentario (PIGF) y el factor de crecimiento endotelial (VEGF) impidiendo la interacción de estos factores con sus correspondientes receptores lo que induciría una situación de disfunción del endotelio (figura 6). Se conoce con son necesarios niveles elevados de VEGF para mediar la angiogénesis en el embrión y en la enfermedad en el adulto, mientras que niveles continuos y bajos de este factor son necesarios para el funcionamiento adecuado de la célula endotelial (227). Al mismo tiempo varios estudios han

encontrado una disminución en la concentración de PIGF y VEGF en gestantes con PCL incluso semanas antes del desarrollo del síndrome clínico (223, 228, 229).

Figura 6. Factores angiogénicos y Preeclampsia



Tomado de: Luttun A, Carmeliet P. Soluble VEGF receptor Flt1: the elusive preeclampsia factor discovered? J Clin Invest 2003; 111:600-602

Existen estudios y pruebas tanto en animales como en humanos que sugieren que el exceso de sFlt-1 pueda tener un papel en la etiopatogénesis de la PCL:

- La administración del factor sFlt-1 en ratas gestantes induce la aparición de hipertensión, proteinuria y endoteliosis glomerular.
- Una reducción de un 50% en la expresión y producción del factor VEGF en los podocitos de ratones heterocigóticos que han perdido un alelo para este factor desarrollan endoteliosis glomerular y proteinuria masiva.
- Hipertensión y proteinuria se han desarrollado en pacientes con cáncer que han sido tratados con inhibidores del factor VEGF (230).

Recientes estudios han venido a corroborar este hecho y encuentran que existe un incremento mantenido y superior en los niveles de sFlt-1 al menos cinco semanas antes del comienzo de los signos y síntomas de la PCL en comparación con las gestantes sanas. Este incremento se va acompañar de un descenso mantenido en los niveles de los factores PlGF y VEGF (230).

### **CONCLUSIONES.-**

Entre un 5 y un 8% de todos los embarazos se complican con la aparición de una PCL, lo que asocia, como hemos visto un riesgo sustancial para la madre y el feto. A pesar de la existencia de una investigación considerable, la causa o causas de la PCL permanecen inciertas y no existen en la actualidad todavía, marcadores definidos que nos permitan establecer aquellas gestantes con riesgo de desarrollar este síndrome antes de que sus manifestaciones clínicas se produzcan. Si bien la terapia antihipertensiva, siempre ayudará al control de esta patología, la única cura seguirá siendo la finalización de la gestación.

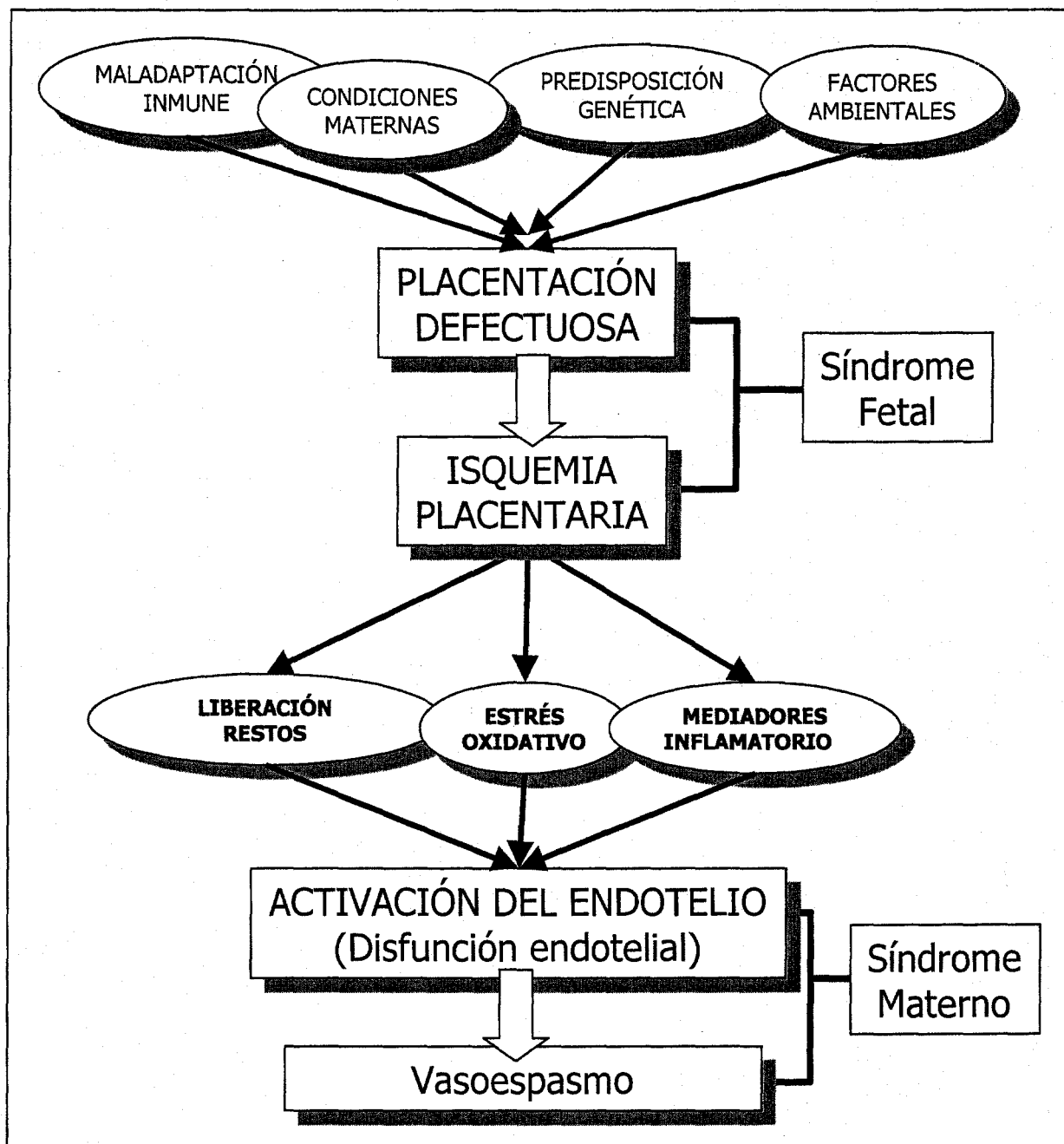
La PCL se ha definido por tanto como "la enfermedad de las teorías" debido a las múltiples hipótesis propuestas en su etiopatogenia. La placentación anómala y la insuficiencia vascular generada de forma secundaria son piezas claves en el desarrollo de esta patología, pero el nexo de unión entre estos factores y el síndrome materno no está del todo aclarado, si bien, el estrés oxidativo parece ser un pilar primordial.

Los posibles factores etiopatogénicos propuestos son varios: por una parte los factores inmunológicos (la reacción inmune a los antígenos paternos), factores genéticos, la situación de resistencia insulínica (elevación de los niveles de insulina, ácidos grasos libres y triglicéridos), factores dietéticos (como la deficiencia en factores antioxidantes), el desequilibrio entre las prostaglandinas y tromboxanos, las condiciones maternas asociadas y otros factores ambientales, van a condicionar el desarrollo de esta entidad (figura 7).

El origen de la PCL va a ser posiblemente multifactorial y es probable que determinadas características de la madre y/o de la placenta puedan actuar

recíprocamente en la aparición del síndrome, si bien, y como ha quedado demostrado, la disfunción del endotelio materno es una anomalía primordial en la PCL.

Figura 7. Fisiopatología de la Preeclampsia.



La respuesta presora anormal en este síndrome se ha conocido desde hace décadas cuando se observó que los resultados a la infusión de la angiotensina II eran diferentes en la PCL en relación con el embarazo normal. Como hemos podido ver la PCL asocia niveles aumentados de diferentes factores que condicionan un funcionamiento anómalo del endotelio como las citoquinas (TNF- $\alpha$ , endotelinas e interleucinas).

Durante años, la investigación clínica de los factores que pueden causar la PCL ha sido complicada en parte por la variabilidad en los criterios utilizados para definir esta entidad, puesto que no toda la hipertensión en el embarazo es debida a la PCL. La hipertensión gestacional que no asocia proteinuria ni daño en órgano diana, frecuentemente ha sido confundida con la preeclampsia, aunque su curso natural es más benigno. Otras mujeres han sido etiquetadas de preeclámpticas cuando en realidad tenían una hipertensión crónica que no había sido reconocida.

Mucho se ha especulado en relación a las anomalías observadas en la PCL, como causa o bien como consecuencia secundaria al proceso de la enfermedad. Al mismo tiempo, la falta de un modelo animal (la PCL es una patología que afecta únicamente a la gestación humana) ha impedido estudiar más en profundidad esta patología.

El nexo entre los dos estadios que constituyen la enfermedad (placentario y materno), no está definitivamente aclarado, pero se especula en que podría existir una interrelación entre factores de riesgo maternos para el desarrollo de PCL, que darían como resultado un aumento del estrés oxidativo y el derivado de los factores que se liberan en la placenta isquémica tales como radicales libres, moléculas de adhesión y citoquinas. Todo ello daría lugar a una activación y disfunción generalizada del endotelio que va a ser en último momento responsable de las manifestaciones clínicas de la PCL.

Si bien es cierto, que tras varios años de estudio, los investigadores han conseguido definir las características fisiopatológicas de la PCL, siguen siendo necesarios nuevos estudios que nos ayuden a perfilar las causas concretas de esta enfermedad.

# PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los estados hipertensivos del embarazo constituyen una patología prevalente. Complican habitualmente un 10% de las gestaciones en los países desarrollados con importantes consecuencias sobre la madre y el feto, y son una de las causas más importantes de morbimortalidad. La PCL es el paradigma de esta patología.

La hipertensión en el embarazo, más que un dato clínico en la exploración de la paciente, constituye un síndrome polimórfico, sistémico y de presentación muchas veces severa. La presencia de un vasoespasmo y el incremento de las resistencias vasculares periféricas va a traer como consecuencia una disminución en la perfusión de órganos vitales, lo que tendrá su traducción en el desarrollo clínico del síndrome. Ésto hace que el manejo de esta patología sea en ocasiones complejo, multidisciplinar y obliga a veces, a la toma de decisiones comprometidas y difíciles para asegurar la supervivencia materno-fetal. La aparición de un trastorno hipertensivo durante la gestación implica además un considerable gasto sanitario derivado fundamentalmente de las necesidades de hospitalización y de consumo de recursos diagnósticos y terapéuticos.

En los últimos diez años se ha propuesto que la disfunción del endotelio materno va a ser el sustrato responsable de las manifestaciones clínicas de la PCL, si bien los mecanismos que determinan esta disfunción no son del todo conocidos. Diversos estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto la existencia de una serie de factores que predisponen al desarrollo de esta patología. Están implicadas causas inmunológicas (reacción materna frente a los antígenos paternos de la placenta), factores genéticos, ambientales, condiciones maternas asociadas (resistencia insulínica, diabetes, hipertensión previa y obesidad), cambios en los mecanismos que regulan la vasoconstricción y vasodilatación mediados por prostaglandinas y el estrés oxidativo. Estos hechos hablan a favor de un origen multifactorial del proceso, en el que la implantación defectuosa de la placenta y la isquemia resultante del lecho placentario, parece ser el punto de partida que precipitarían la cascada fisiopatológica que culmina en la disfunción del endotelio materno. Es en este punto donde parecen coincidir la mayoría de los autores. Una deficiente invasión del trofoblasto y el fallo en el remodelamiento de las arterias uterinas va a traer como consecuencia inmediata el desarrollo de una isquemia placentaria. La placenta isquémica va a comportarse como una fuente de liberación de factores como el anión superóxido y otros radicales libres, moléculas de adhesión, citoquinas, factores de crecimiento y de tipo inflamatorio,



factores procoagulantes y restos placentarios. Todos ellos, vertidos a la circulación sistémica, van a condicionar la aparición de una disfunción del endotelio materno. Diversos estudios han documentado la elevación de estas sustancias, tanto en la sangre como en orina de gestantes con trastornos hipertensivos y, curiosamente, están aumentados incluso semanas antes de la aparición del síndrome, lo que las implica directamente en su desarrollo.

Desde la identificación en 1987 del óxido nítrico por Palmer, esta molécula ha cobrado un especial interés por su relación con el desarrollo de diferentes patologías en el hombre y especialmente en el campo de la hipertensión arterial y del resto de enfermedades cardiovasculares. El estudio de las acciones del óxido nítrico y, por ende, del estrés oxidativo generado en los trastornos hipertensivos del embarazo, ha constituido en los últimos años una pieza clave en el entendimiento de esta patología y se ha propuesto como el posible enlace entre los dos estadios que definen la PCL, el fetal y el materno.

La existencia de una lesión característica de las arteriolas de la decidua conocida como "aterosis aguda" y que remeda la aterosclerosis de las coronarias; el aumento de los productos de la peroxidación lipídica de origen placentario; diversos cambios en los sistemas enzimáticos antioxidantes; la elevación en sangre y orina de marcadores relacionados con el estrés oxidativo como el ADMA, los niveles de nitrotirosina, los anticuerpos anti-LDL oxidada, la homocisteína y los niveles circulantes de ácidos grasos libres; así como otros mediadores inflamatorios como las interleucinas y el TNF, y otros nuevos factores que están surgiendo, como los recientemente descritos de tipo angiogénico, van a constituir fuertes evidencias a favor de un aumento del estrés oxidativo en los trastornos hipertensivos de la gestación.

La mayoría de los estudios han puesto de manifiesto un aumento de la peroxidación lipídica en la PCL. En este sentido, la enzima glutatión-peroxidasa que elimina peróxido de hidrógeno y convierte los hidroperóxidos lipídicos en alcoholes menos reactivos, podría ser deficiente en el tejido placentario de mujeres con estos trastornos, si bien este hallazgo no es confirmado por todos los autores. Paralelamente la generación de radicales libres de oxígeno en la PCL parece estar facilitada por una disminución en la expresión y/o actividad de la enzima superóxido dismutasa y un incremento en la expresión de la isoforma "O" de la enzima xantina-oxidasa que produce ácido úrico y

anión superóxido durante los fenómenos de isquemia-reperfusión. De esta forma la generación de radicales libres y la amplificación del fenómeno oxidativo que acontece en la PCL podría depender de un incremento de la formación de nitrotirosina sugiriendo un aumento en la producción de anión peroxinitrito, una generación de anión superóxido dependiente de la actividad de la enzima xantino-oxidasa y un descenso o una actividad inadecuada de la enzima superóxido-dismutasa.

La consecuencia inmediata de todos estos procesos va a ser una alteración en el balance de los mecanismos vasodilatadores y vasoconstrictores de la gestante, a favor de estos últimos, y una activación del endotelio que traerá como consecuencia el fenómeno de vasoconstricción generalizada y el desarrollo del síndrome materno.

Hemos visto antes que existen factores predisponentes relacionados con la aparición de los trastornos hipertensivos de la gestación, pero, su presentación y evolución son, hoy por hoy, absolutamente impredecibles. Esto es debido a dos causas: en primer lugar, que a pesar de los avances realizados en su conocimiento durante los últimos años, sigue siendo una patología no del todo entendida y, en segundo lugar, no existen marcadores definidos y específicos que, por una parte permitan identificar gestantes de riesgo de forma precoz, y por otra, nos ayuden a conocer la evolución del proceso, una vez que este se desarrolla.

La fisiopatología de la PCL sigue siendo por tanto un campo abierto a la investigación. Es por tanto que sigue vigente la denominación de "enfermedad de las teorías." Sin embargo, como hemos visto existen suficientes evidencias que atribuyen a la placenta un papel clave en la génesis de su desarrollo. Tanto es así que la finalización del embarazo, y más específicamente el alumbramiento de la placenta, va a condicionar su desaparición. La terapia hipotensora va a ser capaz de controlar en la mayoría de los casos la presión arterial materna, sin embargo, es la terminación del embarazo el único tratamiento "curativo."

La búsqueda de las claves fisiopatológicas de esta compleja enfermedad ha sido también la de aquellos marcadores clínicos y biológicos que permitan estratificar el riesgo y pronóstico de las gestantes que la padecen, siempre con el objeto de conseguir una finalización del embarazo evitando sus complicaciones. Sin embargo la mayoría de los estudios realizados hasta el momento no han tenido la consistencia

suficiente por haberse realizado sobre pequeñas poblaciones (230,244). Estos trabajos ofrecen resultados a veces complejos o contradictorios que no permiten extraer consecuencias definitivas sobre la implicación del estrés oxidativo en la génesis de la PCL (170).

Por todo ello, nos proponemos realizar un estudio amplio que pretende integrar la información de los datos clínicos con los parámetros analíticos que definen el estrés oxidativo en un grupo de gestantes con trastornos hipertensivos y embarazadas sanas con el objetivo de tratar de dar respuesta a las incógnitas que se han planteado en relación con esta patología y contribuir a un mejor conocimiento de la PCL.

Nuestra hipótesis de trabajo parte del desequilibrio existente en los sistemas antioxidantes maternos y placentarios. La mayoría de los autores describen en los trastornos hipertensivos de la gestación, un aumento de la peroxidación lipídica y una liberación de citoquinas y marcadores inflamatorios, así como una disminución en la capacidad de defensa antioxidante. La enzima superóxido-dismutasa parece ser pieza clave de estos procesos y la mayoría de los autores encuentran un descenso en su actividad postulándose que dicho descenso se debería a una excesiva producción de superóxido en el embarazo patológico lo que agotaría la capacidad de dicha enzima.

Queríamos comprobar por una parte si nuestras gestantes con trastornos hipertensivos muestran un empeoramiento en la situación de estrés oxidativo y un aumento en los marcadores metabólicos e inflamatorios relacionados, y por otra, si la alteración en los mecanismos de defensa enzimáticos antioxidantes, va a tener su correlación clínica y analítica con el desarrollo de la hipertensión. Si esto fuera así podríamos disponer de marcadores precoces que nos permitirían conocer que mujeres podrían estar predispuestas a padecer un trastorno hipertensivo durante la gestación con el ineludible beneficio que para el manejo de estas pacientes se derivaría.

# OBJETIVOS

Los objetivos de nuestro trabajo fueron:

1. Determinar parámetros metabólicos relacionados con el síndrome: estudiamos en nuestra paciente el metabolismo lipídico (mediante la realización de un perfil lipídico completo), así como otros mediadores implicados como la homocisteína y el ácido úrico en plasma.
2. Analizar diferentes marcadores plasmáticos circulantes relacionados con el estrés oxidativo.
3. Evaluar los sistemas antioxidantes enzimáticos maternos tales como las enzimas glutatión-peroxidasa, glutatión-reductasa y superóxido dismutasa, así como la capacidad antioxidante de otras sustancias presentes en el plasma, a fin de documentar diferencias respecto a la gestación normotensa.
4. Cuantificar marcadores inflamatorios en el plasma materno que están directamente relacionados con el desarrollo de la disfunción del endotelio y la presencia de patología hipertensiva durante el embarazo como la Interleucina 6, Interleucina 8 y el Factor de necrosis tumoral.

# MATERIAL Y MÉTODOS

## 1. **POBLACIÓN:**

### 1.1. Sujetos de estudio:

En nuestro estudio recogimos un total de 130 gestantes con trastornos hipertensivos y 50 controles sanas. En el grupo de embarazadas con hipertensión, 54 pacientes desarrollaron una preeclampsia, 42 presentaron una hipertensión gestacional no proteinúrica y 34 pacientes tuvieron una hipertensión crónica durante su embarazo.

### 1.2. Criterios de inclusión:

Embarazadas entre 18 y 40 años sanas o diagnosticadas de alguno de los trastornos hipertensivos del embarazo según la clasificación propuesta por National High Blood Pressure Education Program working Group on High Blood Pressure in Pregnancy en su último documento de consenso (1), y que establece las siguientes categorías:

-Hipertensión Gestacional (HTAG): Elevación de la presión arterial a partir de la segunda mitad de la gestación (siempre después de la semana 20) que no asocia proteinuria ni otros signos ni síntomas de afectación de órgano diana.

-Hipertensión Crónica (HTAC): Hipertensión existente con anterioridad a la gestación, bien cuando se manifiesta antes de la semana 20 o cuando apareciendo en el tercer trimestre, persiste pasadas doce semanas después del puerperio.

-Preeclampsia (PCL): HTA después de la semana veinte y con mayor frecuencia en el tercer trimestre, acompañada de proteinuria o de otros síntomas que sugieran daño en órgano diana tales como cefalea, visión borrosa, dolor abdominal o anormalidades analíticas como descenso de plaquetas o elevación de aminotransferasas.

### 1.3. Criterios de exclusión:

-Tabaquismo.

-Diabetes mellitus o dislipemia conocidas antes del embarazo.

-Toma de cualquier clase de complejos vitamínicos y en particular aquellos que contengan vitamina C o E. Las pacientes que en cualquiera de los grupos estén tomando ácido fólico por consejo obstétrico deberán suspender dicho tratamiento al menos dos semanas antes de la inclusión.

-Toma de cualquier otro fármaco con efecto sobre la función endotelial. En este sentido como tratamiento hipotensor tan solo se permitirá la toma de alfa-metil-dopa, hidralazina o labetalol según dosis habituales y a criterio del obstetra o internista de referencia.

-Cualquier proceso maligno no cutáneo (excepto el melanoma) o enfermedad consuntiva, así como cualquier enfermedad crónica distinta a la HTA incluyendo todas las enfermedades de origen autoinmune, estén o no en actividad en el momento de la inclusión.

#### 1.4. Procedencia de los sujetos:

-Las pacientes fueron reclutadas en la consulta monográfica de hipertensión y embarazo que de forma coordinada pasan un obstetra y un miembro de la unidad de hipertensión y lípidos, así como de las plantas de patología del embarazo del Hospital Maternal de Hospitales Universitarios Virgen del Rocío.

-Los controles del estudio procedieron de consultas de embarazo sano así como gestantes con patología no obstétrica.

## 2. **DISEÑO:**

Se trata de un estudio observacional y comparativo, de corte transversal de una población de embarazadas normales o con alguna variedad de los trastornos hipertensivos de la gestación que aceptaran ser estudiadas previo consentimiento informado.

Cálculo del tamaño de la muestra: Respecto a los parámetros que determinan el grado de oxidación, disponemos de datos previos que proceden de un estudio piloto. Tomando como variable principal de eficacia la enzima superóxido-dismutasa y asumiendo un error tipo alfa de 0,05 y  $1-\beta$  de 0,8 el cálculo de la muestra arrojó un tamaño para la comparación de muestras independientes en relación 3:1 (las tres categorías de los trastornos



hipertensivos del embarazo vs. las gestantes normales) de 50:19 (unilateral) o 75:25 (bilateral). Para hallar además diferencias en comparación 3:1 en las enzimas glutatión-peroxidasa, glutatión-reductasa, capacidad antioxidante total del plasma y LDL oxidada el número que cubriría todas las posibilidades sería 108:36 (unilateral) 135:45 (bilateral). Por tanto, asumiendo todo lo anterior y que el estudio de seguimiento las pérdidas podrían ser elevadas consideramos razonable una comparación en razón 50:50:50:50 para cubrir el máximo de objetivos propuestos.

### **3. VARIABLES:**

#### **3.1. Medidas antropométricas:**

Se recogieron la edad, peso, talla y cálculo del índice de masa corporal, número de embarazo, semana en que terminó la gestación y peso del feto al nacer así como si este nació vivo. Se tomó igualmente la presión arterial en la primera visita o de selección y en la segunda visita o de estudio así como en el seguimiento clínico de las pacientes. La presión arterial se determinó mediante la media de tres determinaciones, tomadas en sedestación y según las normas habituales. La normalidad de la presión arterial en el grupo control fue validada mediante un registro de monitorización ambulatoria de la presión arterial usando un dispositivo Spacelabs 90207 (Spacelabs, Redmon, WA.)

#### **3.2. Determinaciones analíticas:**

Se obtuvieron siempre mediante punción venosa y en ayunas de 12 horas.

3.2.1. Determinaciones destinadas a valorar la ausencia de criterios de exclusión (visita de selección): Los niveles plasmáticos de glucosa, urea, creatinina, colesterol, subfracción HDL y LDL y triglicéridos, así como los de proteinuria en orina de 24 horas se realizaron por métodos enzimáticos habituales en nuestro laboratorio. Se practicó también un hemograma, estudio de coagulación y cuantificación de dímeros D.

3.2.2. Ácido úrico (visita de estudio): Se determinó concentraciones de ácido úrico por métodos habituales en nuestro laboratorio.

3.2.3. Homocisteinemia (visita de estudio): Se utilizaron tubos conteniendo EDTA tripotásico. Tras la extracción de sangre se colocaron inmediatamente en hielo, procediendo a su separación antes de 4 horas, utilizando para ello una centrifugación refrigerada a 2.500 rpm durante 10 minutos. Posteriormente se congeló el plasma a -20 °C y posteriormente se cuantificó la homocisteína plasmática mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), un sistema de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas con detección de fluoresceína (231).

3.2.4. Marcadores de peroxidación lipídica (visita de estudio): Se determinaron los niveles de LDL oxidada por técnica LAB-ELISA para determinación cuantitativa de anticuerpos humanos contra la LDL oxidada en suero (Biomedica Gruppe) (180); los ácidos grasos libres mediante método espectrofotométrico enzimático, basado en la cuantificación del AMP generado por la formación de acetyl-coenzima A en la presencia de ATP y acetyl-CoA sintetasa (232) y, los niveles de nitritos/nitratos por el método colorimétrico basado en la reacción de Greiss (233).

3.2.4. Enzimas antioxidantes y capacidad antioxidante total del plasma (visita de estudio): Se obtuvieron dos tubos de sangre venosa. El primero de ellos con EDTA tripotásico se utilizó para la determinación de hemoglobina total. El segundo (con heparina-litio) se centrifuga durante 5 minutos a 3000 rpm y se separa el plasma en el que se determina la capacidad anti-oxidante total (234) y la Glutathion-Reductasa mediante los Kit TAS y GRx de Laboratorios Randox. A continuación, los hematíes son lavados por 3 veces y tras lizarlos se determina la Glutathion-Reductasa, Glutathion-Peroxidasa y Superóxido-dismutasa (intracelular) mediante los Kit GRx, GPx y SOD de Laboratorios Randox (235). Por último, la muestra (hemolizado de hematíes) se incuba en presencia de una concentración conocida de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). La actividad catalasa de la muestra, transforma a éste peróxido en  $H_2O + O_2$ . El  $H_2O_2$  restante reacciona, en una segunda fase con una mezcla de 4-aminofenazona y ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibencenosulfónico dando un color rosado cuya intensidad de color es inversamente proporcional a la actividad catalasa existente en la muestra analizada. La concentración de la muestra analizada se calcula frente a

una curva de calibración de diferentes calibradores con actividad enzimática conocida. El Kit de determinación de la catalasa es Bioxytech Catalase-520 preparado por la casa Oxis-Research y suministrado por Vitro S.L. (236).

3.2.5. Parámetros inflamatorios (visita de estudio): Interleucina 6, Interleucina 8 y Factor de necrosis tumoral (TNF) mediante los ELISA-kit comerciales.

#### **4. ANÁLISIS DE LOS DATOS:**

##### 4.1 Variables:

Las variables numérica podrían ser consideradas como tal y también como categórica. Para ello, se dividió a la población en cuartiles según la distribución de una determinada variable numérica y se compararon los sujetos en el cuartil inferior con los de los cuartiles superiores y viceversa.

##### 4.2 Estudio estadístico:

Mediante un test de Kolmogoroff-Smirnoff se comprobó la normalidad o no de las variables. Para comparación de variables categóricas entre sí, se utilizó el test de la Chi cuadrado, salvo que el número de individuos en algún grupo aconsejara la realización de la prueba exacta de Fisher. En este tipo de comparaciones se calculó también la Odds Ratio y su intervalo de confianza. Para la comparación de medias entre dos grupos se utilizó la t de student y en ausencia de normalidad la U de Mann Whitney. Las diferencias de medias entre grupos diferentes se evaluaron mediante test de ANOVA tras comprobar usando el test de Bartlett's la homogeneidad de las varianzas, y si las varianzas diferían, mediante el test de Kruskal-Wallis. Entre algunas variables continuas se usará el test de regresión lineal. Finalmente, se utilizó el test de regresión lineal múltiple o el de regresión logística binaria para depurar el efecto "confundidor" que otras variables pudieran tener sobre una determinada relación. Los datos se analizarán utilizando el software estadístico SPSS v 11.5. Se consideró significativo cualquier valor de  $p < 0.05$ .

#### **6. CONSIDERACIONES ÉTICAS:**

Este estudio respeta los principios éticos recogidos en la declaración de Helsinki. Las pacientes fueron informadas de todas las determinaciones analíticas realizadas y dieron su consentimiento por escrito o de forma oral ante testigos, según el modelo reflejado en el R.D. 561/93.

## **8. PROTOCOLO DE ESTUDIO CLÍNICO:**

8.1. VISITA 1 o de SELECCIÓN: Se comprobó que las pacientes cumplían los criterios de inclusión y no los de exclusión, se las pesó y talló y se les tomó la presión arterial, se les extrajo sangre para la analítica de rutina que incluía al menos hemograma, dímeros D, estudio de coagulación, glucosa, urea, creatinina, bioquímica hepática, perfil lipoproteico y proteinuria en orina de 24 horas. Se les informó de las características del estudio y aquellas que aceptaron participar se les facilitó una hoja de consentimiento informado y se les citó para la visita 2 o estudio basal. A las pacientes del grupo control se les solicitó igualmente un registro de monitorización ambulatoria de la presión arterial para confirmar que efectivamente eran normotensas.

8.2. VISITA 2 o de estudio: A la vista de los resultados de la analítica se volvió a chequear que las pacientes no cumplían los criterios de exclusión y si los de inclusión. A las pacientes que comenzaron el estudio se les rellenó una ficha en la que constaron los datos de filiación y las variables antropométricas ya señaladas. A continuación, se extrajo sangre para la determinación de las variables analíticas antes reseñadas. Una vez finalizado el seguimiento de la paciente y el embarazo, se anotó si el nacimiento fue por parto o cesárea, en que semana y cuanto pesó el feto.

# RESULTADOS

En nuestro estudio hemos recogido un total de 130 gestantes con trastornos hipertensivos y 50 controles sanas. En el grupo de embarazadas hipertensas 54 pacientes desarrollaron una PCL, 42 presentaron una hipertensión gestacional no proteinúrica y 34 pacientes tuvieron una hipertensión crónica durante el embarazo.

Las características generales de las gestantes quedan reflejadas en la tabla 1. El global de pacientes presentaron una media de edad de 30,13 (DE: 5,87) años; tuvieron una media de 1,95 (DE: 1,07) embarazos en el momento del estudio; su índice de masa corporal fue de 29,15 (DE: 5,45); finalizaron el embarazo con 36,62 (DE: 3,9) semanas, y el peso fetal de los recién nacidos fue de 2590 (DE: 792) gramos.

En cada uno de los grupos definidos el **perfil antropométrico** (tabla 1) fue el siguiente:

-**Edad** (en años): PCL 29,5 (DE: 6,7), HTAC 32,5 (DE: 4,0), HTAG 30,8 (DE: 5,4), Control 27,1 (DE: 5,3);  $p=0,002$ .

-**Número de gestación**: PCL 1,5 (DE: 0,8), HTAC 2,2 (DE: 1,1), HTAG 2,0 (DE: 1,1), Control 2,4 (DE: 0,7);  $p=0,008$ .

-**Índice de masa corporal**: PCL 27,3 (DE: 4,2), HTAC 30,6 (DE: 6,7), HTAG 30,3 (DE: 4,6), Control 24,8 (DE: 3,2);  $p=0,007$ .

-**Semana de finalización del embarazo**: PCL 34,7 (DE: 4,0), HTAC 37,5 (DE: 3,5), HTAG 37,8 (DE: 3,1), Control 39,2 (DE: 3,2);  $p<0,000$ .

-**Peso fetal** (en gramos): PCL 2108 (DE: 825); HTAC 2929 (DE: 690), 2859 (DE: 536), Control 3011 (DE: 615);  $p<0,000$ .

Las cifras de **presión arterial sistólica** (en mm de Hg) fueron las siguientes: PCL 156,7 (DE: 14,5), HTAC 155,9 (DE: 26,3), HTAG 151,4 (DE: 9,8) y, en el grupo control 120,7 (DE: 17,4);  $p<0,000$  (Gráfico 1). Las cifras de **presión arterial diastólica** (en mm de Hg) resultaron las siguientes: PCL 99,7 (DE: 8,0), HTAC 96,9 (DE: 14,4), HTAG 97,6 (DE: 5,2) y, en el grupo control 71,4 (DE: 10,6);  $p<0,000$  (Gráfico 2).

En relación con el **perfil lipídico** las pacientes con hipertensión presentaron los siguientes valores de colesterol (en mg/dl): PCL 247,9 (DE: 68,4), HTAC 209,1 (DE: 55,8); HTAG 226,3 (DE: 45,5). Las pacientes controles tuvieron por el contrario unas cifras de colesterol de 203,4 (DE: 51,8) mg/dl;  $p=0,002$  (Gráfico 3). Las cifras de

triglicéridos fueron las siguientes (en mg/dl): PCL 282,9 (DE: 141,6), HTAC 144,7 (DE: 78,1), HTAG 205,0 (DE: 78,9), Control 80,6 (DE: 46);  $p < 0,000$  (Gráfico 3).

Las cifras de **ácido úrico** en las gestantes con trastornos hipertensivos fueron las siguientes (en mg/dl): PCL 6,6 (DE: 2,1), HTAC 4,0 (DE: 0,8), HTAG 5,0 (DE: 2,0). Y en el grupo sin hipertensión: 3,2 (DE: 0,8);  $p < 0,000$  (Gráfico 4).

Los niveles de **homocisteína** quedan reflejados en el gráfico 5 y fueron los siguientes. En el grupo con trastornos hipertensivos de la gestación: PCL 10 (DE: 6,0), HTAC 7,7 (DE: 2,7), HTAG 8,7 (DE: 2,5)  $\mu\text{mol/L}$ . En el conjunto de las pacientes normales: 8,4 (DE: 1,0);  $p = 0,134$ . No hubo diferencias con significación estadística entre los cuatro grupos, si bien cuando se comparó selectivamente a las pacientes con PCL con el grupo control, la diferencia sí alcanzó significación estadística ( $p = 0,01$ ).

### **Marcadores de peroxidación lipídica:**

a) Concentraciones de anticuerpos frente a LDL oxidada. Los valores analizados quedan reflejados en el gráfico 6 y son los siguientes: PCL 605,40, HTAC 620,73, HTAG 669,68 y Control 249,84 mU/ml;  $p = 0,038$ .

b) Ácidos grasos libres. Las concentraciones recogidas para los ácidos grasos libres en los diferentes grupos quedan analizadas en el gráfico 7. Los valores para las gestantes con hipertensión fueron: PCL 594,75 (DE: 225,64), HTAC 525,83 (DE: 210,70), HTAG 565,28 (DE: 194,82)  $\mu\text{mol/L}$ . En el grupo control fueron 334,51 (DE: 152,23);  $p < 0,000$ .

c) Nitritos/nitrosos. En el embarazo patológico los valores fueron: PCL 38,58 (DE: 14,16), HTAC 32,26 (DE: 15,98), HTAG 34,40 (DE: 12,42). Y en el embarazo sano fueron 28,63 (DE: 9,16);  $p = 0,004$  (Gráfico 8).

### **Capacidad antioxidante total del plasma y enzimas antioxidantes:**

a) Capacidad antioxidante total del plasma. Sus valores fueron los siguientes en nuestras pacientes: PCL 1180,68 (DE: 136,33), HTAC 1163,40 (DE: 91,35),

---

HTAG 1151,95 (DE: 122,73), Control 1135,26 (DE: 71,83)  $\mu\text{mol/L}$ ;  $p=0,250$  (Gráfico 9).

b) Enzimas antioxidantes:

-Enzima glutatión-reductasa. Los valores analizados para las concentraciones de esta enzima reflejan los siguientes resultados (gráfico 10): PCL 6322,74 (DE: 1490,38), HTAC 6726,66 (DE: 1176,98), HTAG 6457,08 (DE: 885,94) y Control 5889,23 (DE: 1232,99) mU/gr Hb;  $p=0,02$ .

-Enzima glutatión-peroxidasa. Hemos encontrado los resultados siguientes (gráfico 11): en las gestantes con PCL 80,04 (DE: 26,62), en el grupo de HTAC 77,07 (DE: 21,25), en las HTAG 78,70 (DE: 22,93), y en el grupo control 73,15 (DE: 19,40) mU/gr de Hb;  $p=0,5$ .

-Enzima superóxido-dismutasa. Las concentraciones de esta enzima en el grupo con trastornos hipertensivos de la gestación fueron: PCL 970,75 (DE: 149,10), HTAC 989,86 (DE: 124,59) y HTAG 947,05 (DE: 145,60) mU/gr de Hb. Por el contrario, en las gestantes normales fueron 1088,82 (DE: 141,64) mU/gr de Hb;  $p<0,000$  (Gráfico 12).

**Parámetros inflamatorios:**

a) Interleucina 8. Los valores reflejados para esta sustancia en plasma fueron en nuestras gestantes con hipertensión: PCL 4,85 (DE: 9,16), HTAC 4,43 (DE: 7,24), HTAG 3,35 (DE: 3,11) pg/ml (Gráfico 13). En nuestras pacientes control fueron 1,43 (DE: 3,15) pg/ml;  $p=0,198$ . Analizando el global de los trastornos hipertensivos del embarazo frente al grupo control, las concentraciones fueron superiores en el primer grupo (en pg/ml: 4,35 vs. 1.42;  $p <0,05$ ).

b) Interleucina 6. Hemos hallado los siguientes resultados: PCL 13,13 (DE: 10,67), HTAC 10,09 (DE: 12,65), HTAG 11,57 (DE: 9,72), Control 2,26 (DE: 2,25) pg/ml;  $p<0,0001$  (Gráfico 14).



---

c) Niveles de Factor de necrosis tumoral. Los resultados analizados fueron los siguientes: en el grupo con hipertensión, PCL 24,31, HTAC 24,14 (DE: 22,00), HTAG 22,22 (DE: 14,98) pg/ml. En el grupo control, 11,81 (DE: 11,09) pg/ml;  $p < 0,05$ . Gráfico 15.

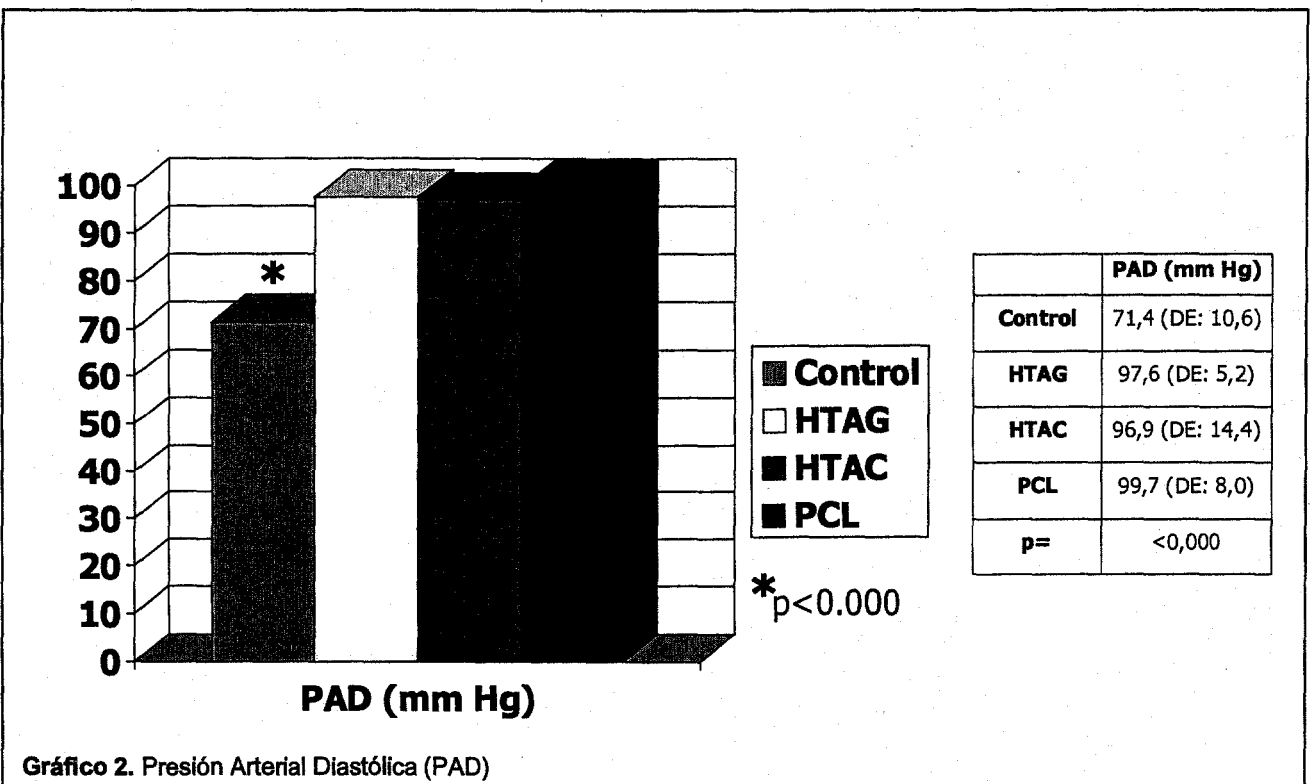
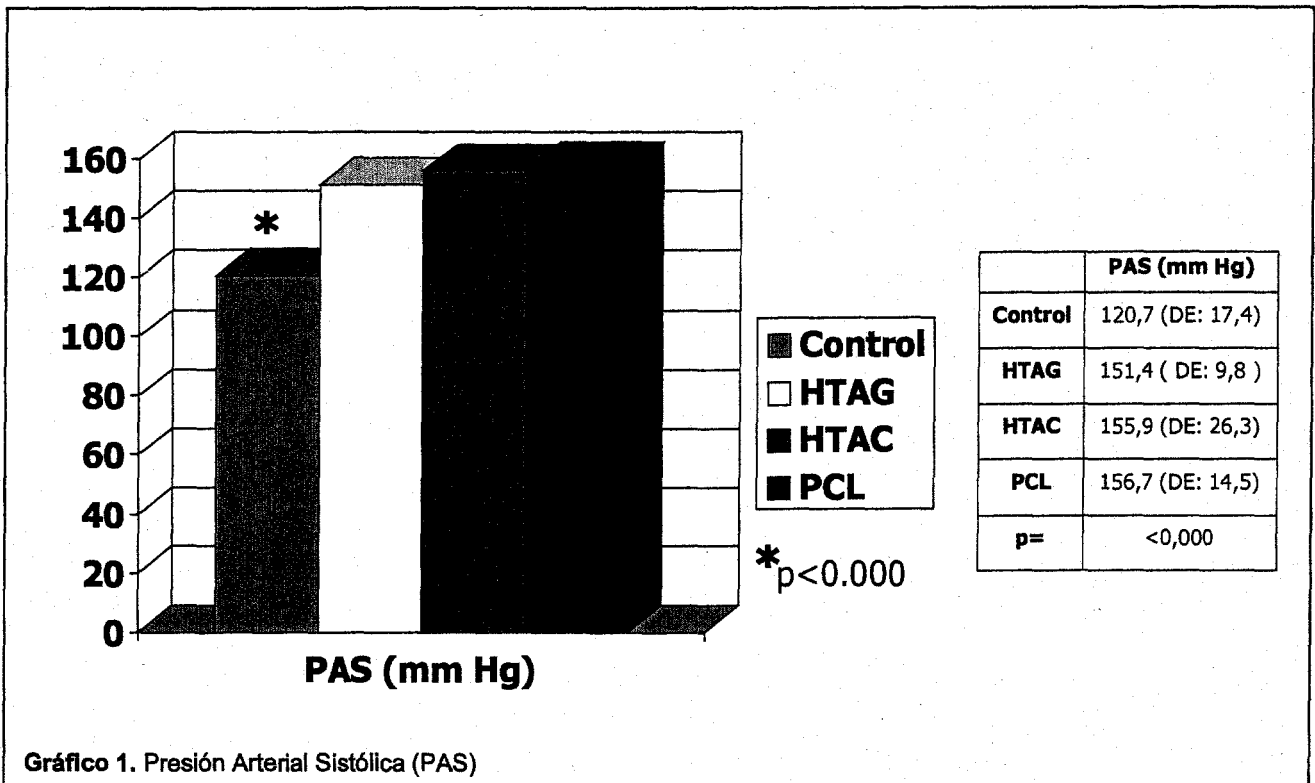
En el análisis post-hoc mediante test T3 de Dunnett (una vez comprobadas las desigualdades de la varianza mediante estadístico de Levene) observamos que las diferencias en ambos parámetros (IL-6 y TNF) se debían a la comparación del grupo control con cada uno de los trastornos hipertensivos del embarazo, pero no a la comparación entre sí mismos de dichos trastornos.

# GRÁFICOS Y TABLAS

Tabla 1. Características generales de las pacientes.

	<b>Edad</b>	<b>Nº Gestación</b>	<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>Fin (Semana)</b>	<b>Peso Fetal (gr)</b>
<b>Control</b>	27,1 (DE: 5,3)	2,4 (DE: 0,7)	24,8 (DE: 3,2)	39,2 (DE: 3,2)	3011 (DE: 615)
<b>HTAG</b>	30,8 (DE: 5,4)	2,0 (DE: 1,1)	30,3 (DE: 4,6)	37,8 (DE: 3,1)	2859 (DE: 536)
<b>HTAC</b>	32,5 (DE: 4,0)	2,2 (DE: 1,1)	30,6 (DE: 6,7)	37,5 (DE: 3,5)	2929 (DE: 690)
<b>PCL</b>	29,5 (DE: 6,7)	1,5 (DE: 0,8)	27,3 (DE: 4,2)	34,7 (DE: 4,0)	2108 (DE: 825)
<b>P=</b>	0,002	0,008	0,007	<0,000	<0,000

(IMC: Índice de masa corporal; HTAG: Hipertensión gestacional; HTAC: Hipertensión crónica; PCL: preeclampsia.)



	<b>Colesterol (mg/dl)</b>	<b>Triglicéridos (mg/dl)</b>
<b>Control</b>	203,4 (DE: 51,8)	80,6 (DE: 46)
<b>HTAG</b>	226,3 (DE: 45,5)	205,0 (DE: 78,9)
<b>HTAC</b>	209,1 (DE: 55,8)	144,7 (DE: 78,1)
<b>PCL</b>	247,9 (DE: 68,4)	282,9 (DE: 141,6)
<b>p=</b>	0,002	<0,000

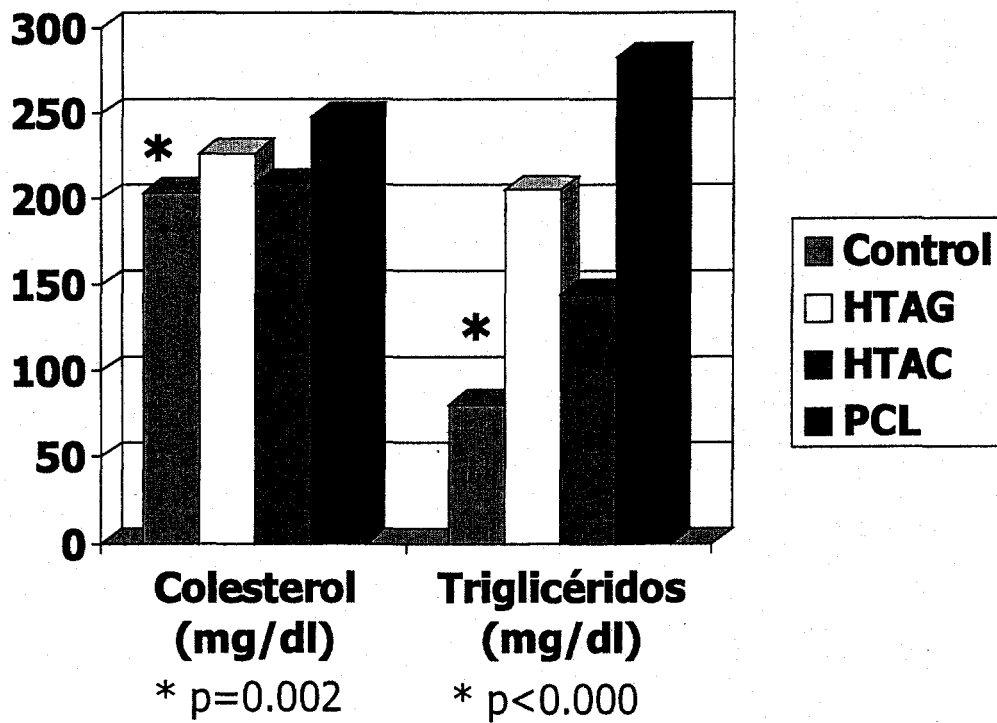


Gráfico 3. Perfil lipídico. Colesterol y triglicéridos

	Ácido úrico (mg/dl)
<b>Control</b>	3,2 (DE: 0,8)
<b>HTAG</b>	5,0 (DE: 2,0)
<b>HTAC</b>	4,0 (DE: 0,8)
<b>PCL</b>	6,6 (DE: 2,1)
<b>p=</b>	<0,000

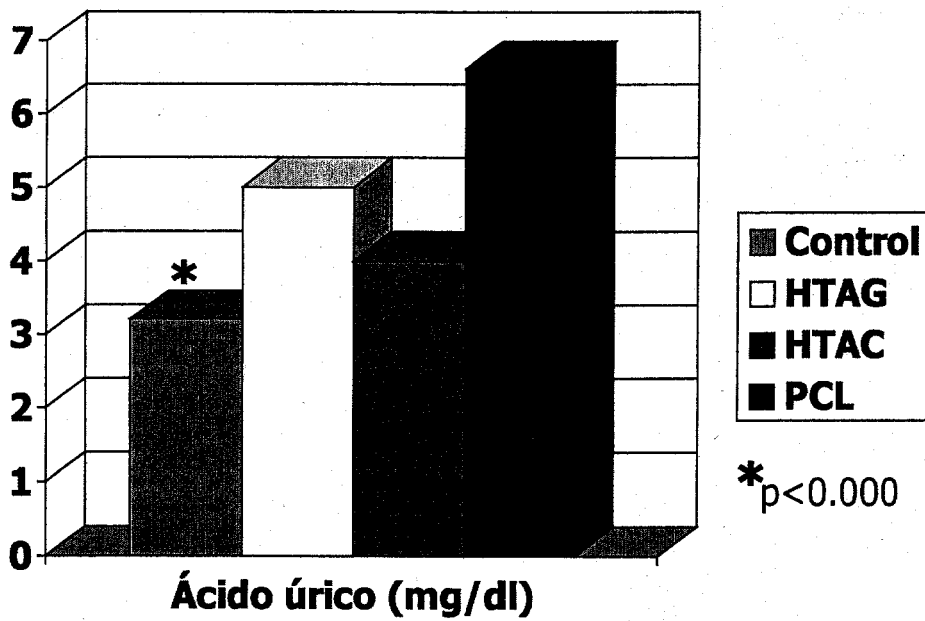


Gráfico 4. Concentraciones de ácido úrico

	Homocisteína ( $\mu\text{mol/L}$ )
Control	8,4 (DE: 1,0)
HTAG	8,7 (DE: 2,5)
HTAC	7,7 (DE: 2,7)
PCL	10,0 (DE: 6,0) *
p=	0,134

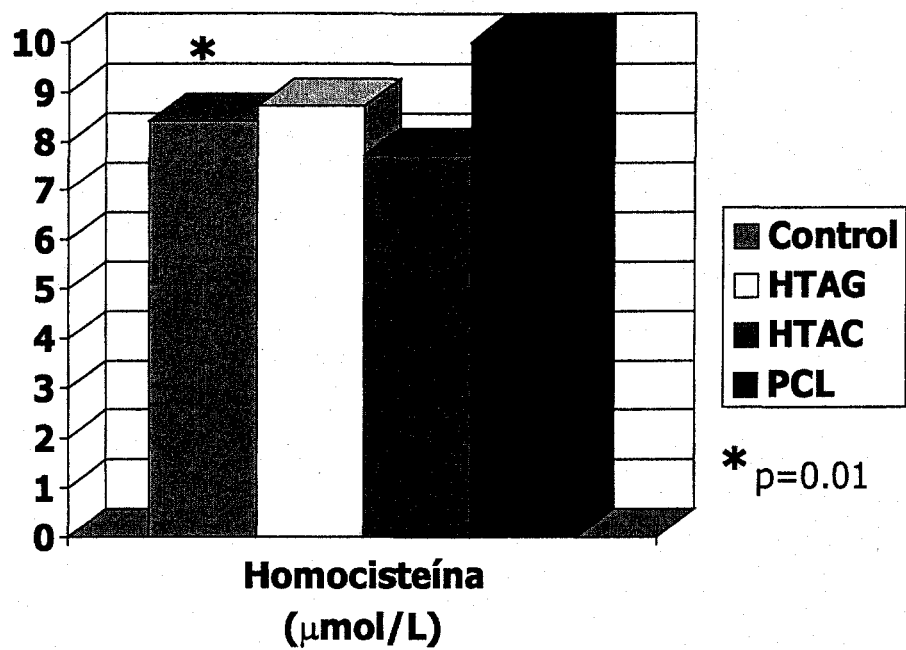


Gráfico 5. Niveles de Homocisteína

	LDL Oxidada (mU/mL)
Control	249,84
HTAG	669,68
HTAC	620,73
PCL	605,40
p=	0,038

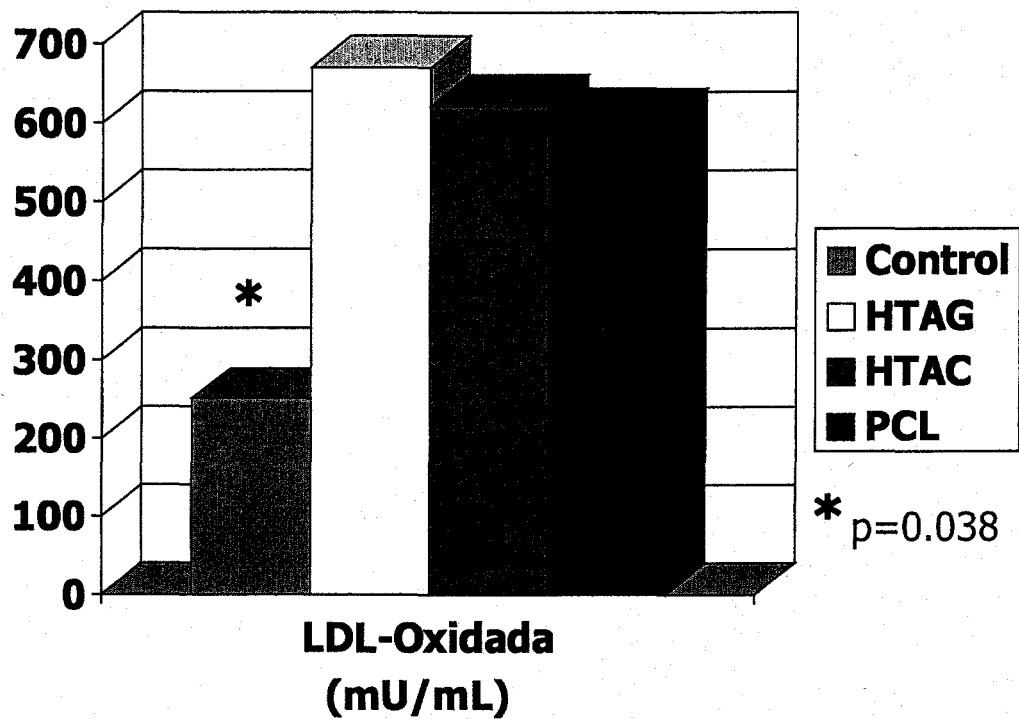


Gráfico 6. Niveles de LDL oxidada



	Ácidos grasos libres ( $\mu\text{mol/L}$ )
<b>Control</b>	334,51 (DE: 152,23)
<b>HTAG</b>	565,28 (DE: 194,82)
<b>HTAC</b>	525,83 (DE: 210,70)
<b>PCL</b>	594,75 (DE: 225,64)
<b>p=</b>	<0,000

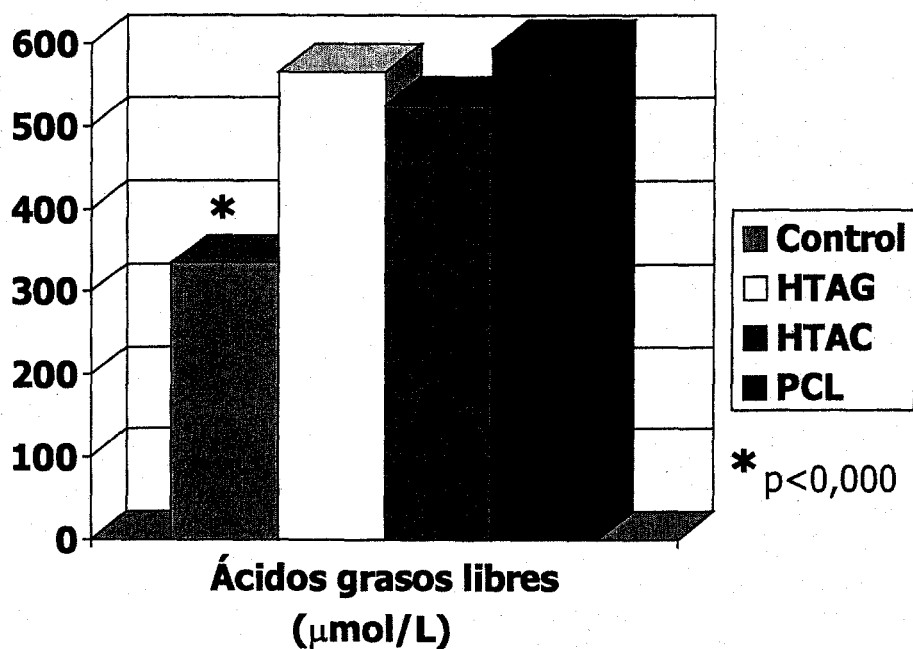


Gráfico 7. Niveles de ácidos grasos libres

	Nitritos/Nitratos ( $\mu\text{mol/L}$ )
Control	28,63 (DE: 9,16)
HTAG	34,40 (DE: 12,42)
HTAC	32,26 (DE: 15,98)
PCL	38,58 (DE: 14,16)
P=	0,004

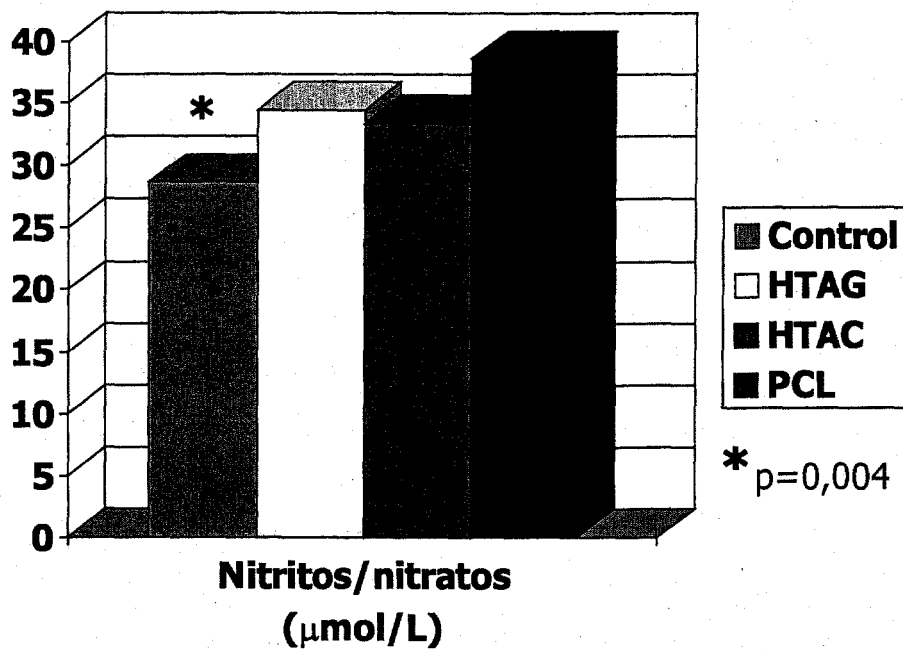
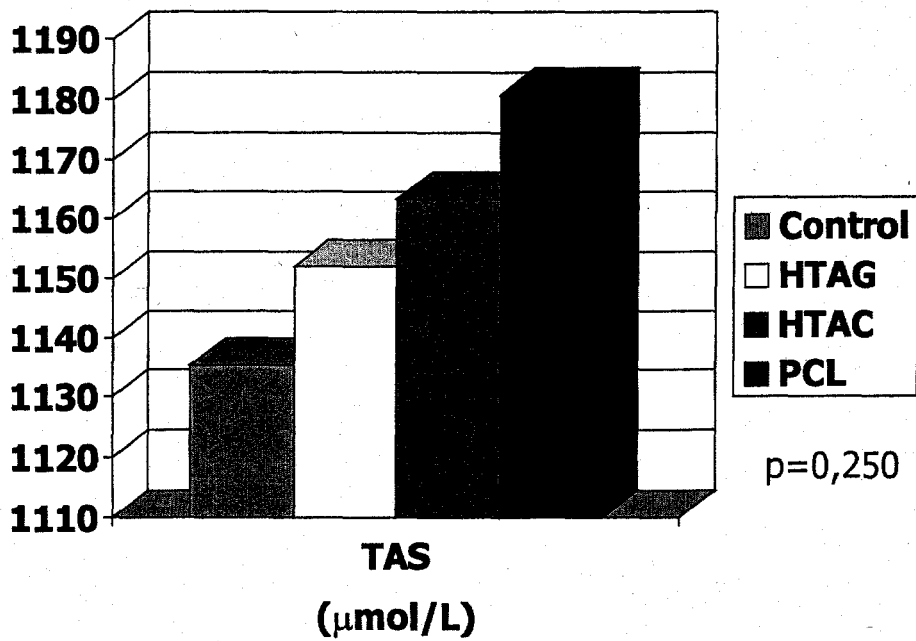


Gráfico 8. Concentraciones de nitritos/nitratos

	TAS ( $\mu\text{mol/L}$ )
<b>Control</b>	1135,26 (DE: 71,83)
<b>HTAG</b>	1151,95 (DE: 122,73)
<b>HTAC</b>	1163,40 (DE: 91,35)
<b>PCL</b>	1180,68 (DE: 136,33)
<b>p=</b>	0,250



**Gráfico 9.** Capacidad antioxidante total del plasma (TAS)

	GRX (mU/gr Hb)
<b>Control</b>	5889,23 (DE: 1232,99)
<b>HTAG</b>	6457,08 (DE: 885,94)
<b>HTAC</b>	6726,66 (DE: 1176,98)
<b>PCL</b>	6322,74 (DE: 1490,38)
<b>p=</b>	0,02

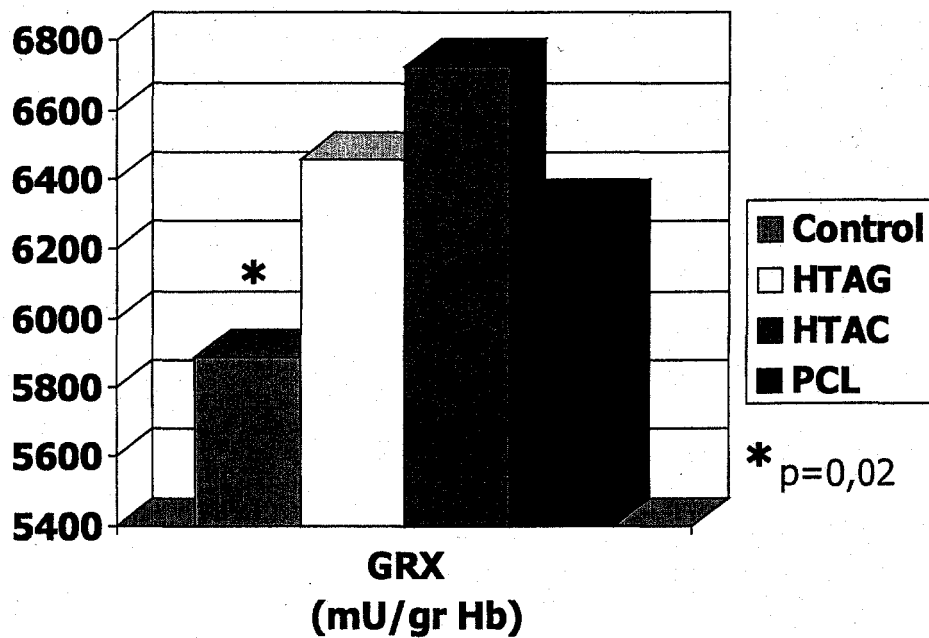


Gráfico 10. Enzima glutathion-reductasa (GRX)

	GPX (mU/gr Hb)
<b>Control</b>	73,15 (DE: 19,40)
<b>HTAG</b>	78,70 (DE: 22,93)
<b>HTAC</b>	77,07 (DE: 21,25)
<b>PCL</b>	80,04 (DE: 26,62)
<b>p=</b>	0,5

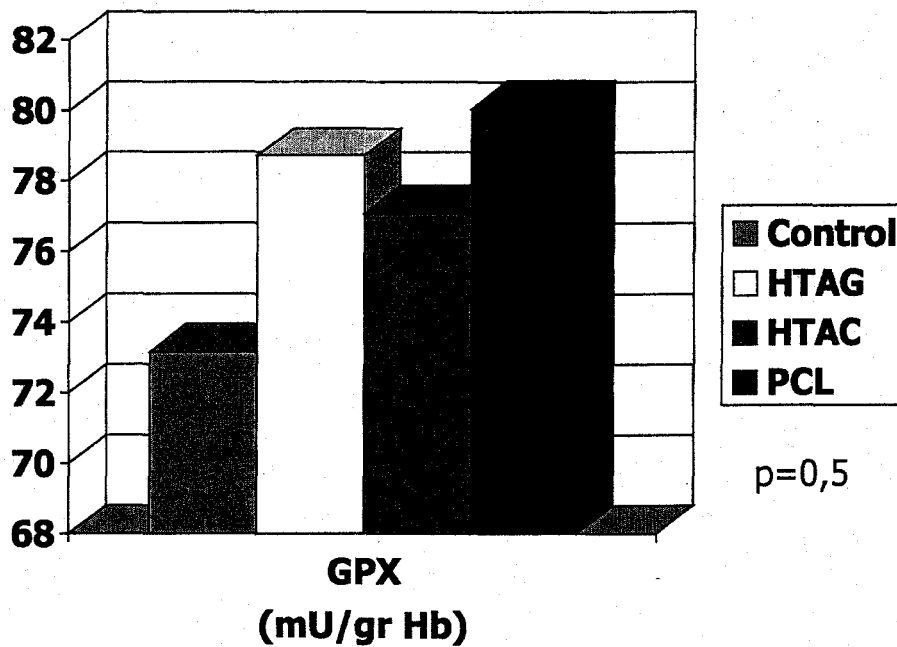


Gráfico 11. Enzima glutation-peroxidasa (GPX)

	<b>SOD (mU/gr Hb)</b>
<b>Control</b>	1088,82 (DE: 141,64)
<b>HTAG</b>	947,05 (DE: 145,60)
<b>HTAC</b>	989,86 (DE: 124,59)
<b>PCL</b>	970,75 (DE: 149,10)
<b>P=</b>	< 0,000

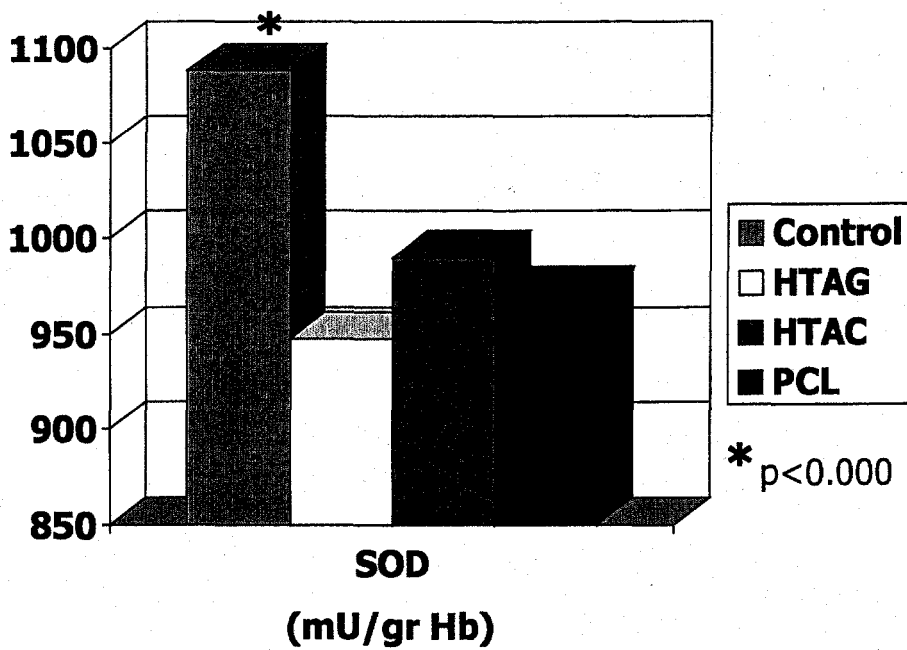


Gráfico 12. Enzima superóxido-dismutasa (SOD)

	IL-8 (pg/ml)
Control	1,43 (DE: 3,15)
HTAG	3,35 (DE: 3,11)
HTAC	4,43 (DE: 7,24)
PCL	4,85 (DE: 9,16)
p=	0,198

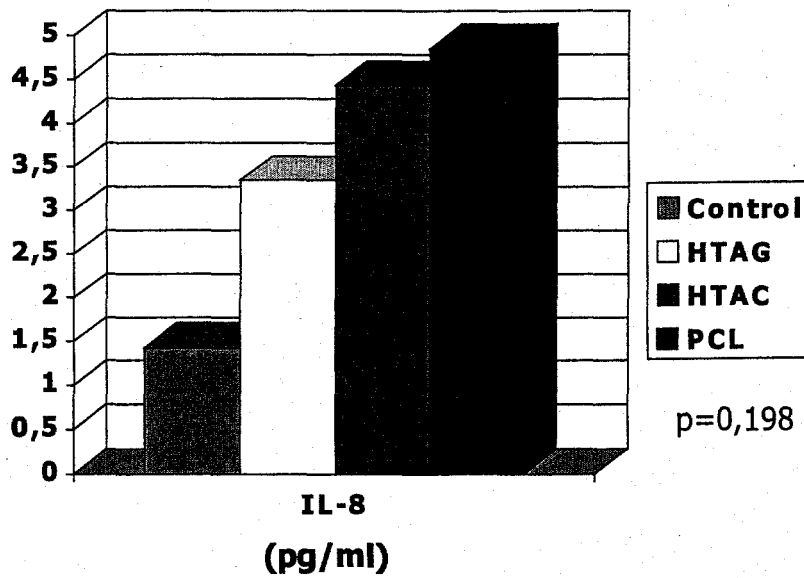


Gráfico 13. Concentración de Interleucina-8 (IL-8)

	IL-6 (pg/ml)
<b>Control</b>	2,26 (DE: 2,25)
<b>HTAG</b>	11,57 (DE: 9,72)
<b>HTAC</b>	10,09 (DE: 12,65)
<b>PCL</b>	13,13 (DE: 10,67)
<b>p=</b>	< 0,0001

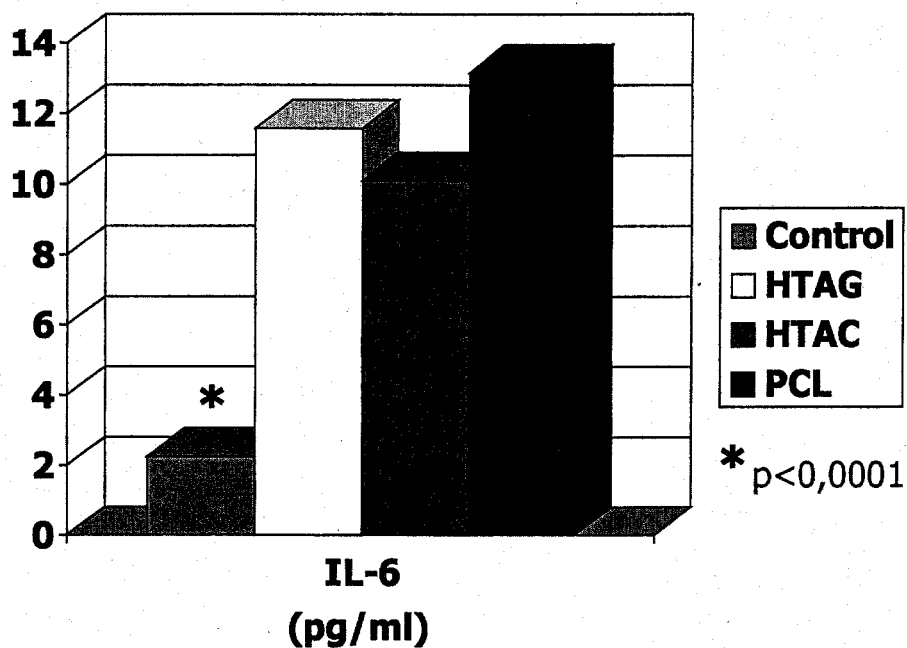


Gráfico 14. Concentración de Interleucina-6 (IL-6)



	TNF (pg/ml)
<b>Control</b>	11,81 (DE: 11,09)
<b>HTAG</b>	22,22 (DE: 14,98)
<b>HTAC</b>	24,14 (DE: 22,00)
<b>PCL</b>	24,31
<b>p=</b>	< 0,05

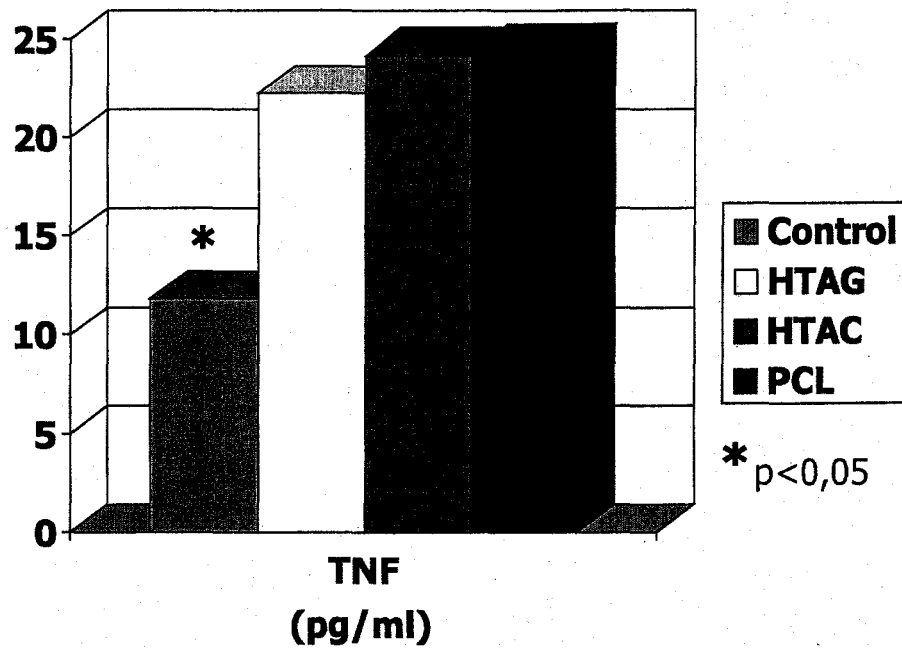


Gráfico 15. Concentración de factor de necrosis tumoral (TNF)

# DISCUSIÓN

En el presente estudio hemos estudiado por una parte factores clínicos, biológicos y metabólicos de los trastornos hipertensivos del embarazo y, por otra, marcadores circulantes de estrés oxidativo, así como enzimas antioxidantes y factores inflamatorios relacionados con disfunción endotelial. Para ello hemos analizado una población representativa de los diferentes estados hipertensivos de la gestación constituida por un total de 130 gestantes hipertensas y 50 controles sanas. En el grupo de embarazadas con hipertensión, 54 pacientes desarrollaron una PCL, 42 presentaron una HTAG y 34 pacientes tuvieron una HTAC.

Los resultados del presente trabajo reflejan que nuestras pacientes con trastornos hipertensivos de la gestación presentan un perfil antropométrico y biológico más desfavorable que las pacientes normales al presentar un aumento del índice de masa corporal y unas concentraciones de colesterol y triglicéridos superiores. Así mismo, los niveles de ácido úrico y homocisteína, sustancias directamente implicadas en la patología vascular y la hipertensión, estaban incrementados en las gestantes con embarazo patológico. En relación con los marcadores de peroxidación lipídica, los encontramos aumentados en nuestras mujeres hipertensas. Tanto los anticuerpos frente a la LDL oxidada, como los ácidos grasos libres y los nitritos y nitratos, se hallaban incrementados como reflejo del estrés oxidativo en la hipertensión en el embarazo, los primeros, y como respuesta compensadora, los últimos. No hemos encontrado diferencias en relación con la capacidad antioxidante total del plasma en nuestras pacientes, si bien existieron al analizar los grupos enzimáticos implicados en los mecanismos de defensa antioxidante. Hallamos que las gestantes con hipertensión presentaban un aumento de las concentraciones de las enzimas glutatión-reductasa y glutatión-peroxidasa (este último sin significación estadística), y un descenso en las concentraciones de la superóxido-dismutasa; todo ello como expresión de un desbalance en los sistemas enzimáticos implicados en el estrés oxidativo. Por último, los niveles de interleucinas 6 y 8, y el factor de necrosis tumoral, fueron superiores en las pacientes con embarazo patológico como resultado de un desequilibrio anormal de citoquinas en la interfase materno-fetal en las gestantes con hipertensión.

En relación con las características generales y el perfil antropométrico y biológico de nuestras gestantes los resultados encontrados son similares a los referidos en la literatura médica, siendo además definitorios de cada uno de los trastornos hipertensivos de la gestación (1). Las gestantes que desarrollaron una PCL presentaron

una menor edad en relación con el resto de los trastornos hipertensivos y tuvieron una media de embarazos previos inferior; este último dato con significación estadística ( $p=0,008$ ). Este es un hecho característico de la enfermedad hipertensiva del embarazo; su desarrollo en relación con las edades extremas y la primiparidad, y trata de explicarse a través de mecanismos inmunológicos que constituyen algunas de las hipótesis fisiopatológicas en la génesis de la PCL (237). Por el contrario, la HTAC aparece en gestantes de mayor edad, siendo este condicionante una situación frecuente, tal y como parecen reflejar las grandes series (238). El hecho de que la hipertensión en el embarazo aparezca en pacientes con mayor edad podría justificar una cierta relación, a largo plazo, entre este síndrome y la hipertensión esencial en donde la edad es un factor de riesgo bien conocido.

La hipertensión es, por definición, un hecho en los estados hipertensivos del embarazo; las pacientes que desarrollan una PCL suelen presentar formas más severas del síndrome, como se puede apreciar por nuestros resultados. Aunque no fue un objetivo propuesto en este estudio y, si bien en la literatura médica se hace referencia a que la HTAG es la forma de presentación más frecuente, en nuestra experiencia y como queda reflejado, la forma más prevalente en nuestro medio es la PCL. Esto puede estar motivado por un "sesgo de selección" de nuestras pacientes al encontrarnos en un centro hospitalario de referencia en este tipo de patología. Este dato no nos debe hacer menospreciar a las otras formas de hipertensión en el embarazo, y, especialmente, a la HTAG que clásicamente ha tenido una presentación menos severa; en nuestro estudio, su diagnóstico trajo como consecuencia una finalización del embarazo de forma más precoz y un peso fetal inferior que las embarazadas controles.

La PCL y, en general, los trastornos hipertensivos de la gestación, constituyen una de las causas más frecuentes de aumento de la morbimortalidad en el embarazo y son responsables de una mayor prematuridad en las gestantes que la padecen (239). Este hecho también se corrobora en los resultados de nuestro estudio y se puede apreciar que las embarazadas que padecen una PCL finalizan más precozmente la gestación (34,7 semanas vs. 37,5 en la HTAC, 37,8 en la HTAG y 39,2 en el grupo control;  $p<0,000$ ). La prematuridad tiene como consecuencia el nacimiento de recién nacidos de menor peso, como también se puede comprobar en nuestras pacientes (2108 gr vs. 2929 en la HTAC, 2859 en la HTAG y 3011 en el grupo control;  $p <0,000$ ). Un trabajo

---

en este sentido, publicado recientemente por nuestro grupo, viene a corroborar este hecho (240).

La obesidad es un factor de riesgo claramente implicado en el desarrollo de la enfermedad hipertensiva del embarazo (237). Frente al normopeso de las gestantes controles, en nuestro estudio el resto de los trastornos hipertensivos correspondió a pacientes con un aumento del índice de masa corporal, siendo proporcionalmente superior en las pacientes con HTAC frente al resto (HTAC: 30,6 vs. HTAG 30,3 vs. PCL 27,3 vs. Control 24,8;  $p=0,007$ ). Ya hemos hecho referencia en la introducción que se ha tratado de establecer un paralelismo entre el síndrome metabólico y el desarrollo de una PCL a través de un mecanismo común como es la resistencia insulínica y que entre otros factores motivaría al desarrollo de un perfil lipídico más desfavorable. En este sentido los resultados de nuestro trabajo muestran como la población hipertensa tiene un perfil lipídico de riesgo vascular más desfavorable que la población sana, tanto en concentraciones de colesterol (PCL 247,9 mg/dl vs. HTAG 226,3 vs. HTAC 209,1 vs. Control 203,4;  $p=0,002$ ), como en niveles de triglicéridos (PCL 282,9 mg/dl vs. HTAG 205 vs. HTAC 205 vs. Control 80,6;  $p<0,000$ ). Estos resultados van a ser concordantes con los descritos hasta ahora en la literatura médica (196).

Los niveles de ácido úrico se han asociado con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y se relacionan especialmente con la aparición de la PCL. De hecho, varios estudios han demostrado su asociación con la endoteliosis glomerular y el aumento del estrés oxidativo (241, 145) e incluso otros trabajos encuentran correlación entre los niveles de esta sustancia y complicaciones derivadas de la enfermedad hipertensiva como el nacimiento pretérmino, el estrés perinatal, el retraso del crecimiento intrauterino y la muerte fetal (242), aunque este extremo no es confirmado por todos los autores (243). En nuestro estudio, las concentraciones de ácido úrico fueron superiores en el embarazo patológico y especialmente en las gestantes con PCL (PCL 6,6 mg/dl vs. HTAG 5 vs. HTAC 4 vs. Control 3.2;  $p < 0.000$ ) como evidencia de un aumento del estrés oxidativo de nuestras pacientes. Se ha propuesto que cifras de corte de 5,5 mg/dl podrían servir como marcador precoz de la aparición de la PCL, si bien recientes estudios no han sido capaces de confirmar este aspecto (244). La implicación del ácido úrico en el desarrollo de la enfermedad hipertensiva del embarazo no es del todo bien conocida. Clásicamente se había propuesto que la disfunción renal secundaria al proceso hipertensivo condicionaría una

---

disminución en la excreción renal de esta sustancia. Sin embargo, recientes estudios, confieren un valor diferente a este hallazgo y sugieren su implicación directa en los mecanismos fisiopatológicos de la PCL (245). Resulta un tanto paradójico que esta sustancia, producto resultante de la actividad de la enzima xantina-oxidasa y a la vez potente antioxidante, pueda estar implicada en la aparición de este síndrome. Serán por tanto necesarios otros estudios que permitan aclarar este aspecto.

El aumento de las concentraciones plasmáticas de homocisteína causa daño endotelial, y puede contribuir a la patogenia de la PCL. El endotelio vascular de las gestantes es más sensible a las agresiones externas, con lo que una moderada elevación en las concentraciones de homocisteína puede producir daño endotelial por activación de factores aterogénicos y trombogénicos (201,202). Esto se ha puesto de manifiesto en este estudio, donde encontramos concentraciones de homocisteína significativamente más elevadas en pacientes con PCL en relación con el grupo control (PCL  $10 \mu\text{mol/L}$  vs. control  $8.4$ ;  $p=0,01$ ). Rajkovic et al fueron los primeros en describir un aumento significativo en las concentraciones de esta sustancia en las gestantes con PCL (246). Otros estudios posteriores parecen confirmar también nuestro hallazgo, al encontrar tanto una mayor prevalencia de hiperhomocisteinemia en gestantes con PCL como concentraciones superiores de homocisteína en gestantes con PCL respecto a un grupo control (202,203). El aumento de este aminoácido en la enfermedad hipertensiva del embarazo podría justificar su relación con el estrés oxidativo en estas pacientes, sugiriendo su participación en la disfunción endotelial de la PCL. De hecho, Var y colaboradores pusieron de manifiesto en su trabajo que niveles elevados de homocisteína se correlacionan con una disminución en los niveles de óxido nítrico y otros parámetros de disfunción endotelial (203). Sin embargo, otros estudios no parecen haber encontrado esta asociación (206,207,208). Más recientemente De la Calle y colaboradores (247) han puesto de manifiesto en un grupo de 100 gestantes (50 con PCL y 50 embarazadas sanas) que las concentraciones de homocisteína se encuentran elevadas significativamente en gestantes con PCL en comparación con el grupo sin hipertensión, durante el tercer trimestre de la gestación. A pesar de los datos contradictorios, los resultados de este estudio vienen a apoyar nuestro hallazgo, si bien es posible que sean necesarios posteriores trabajos que aporten una mayor claridad a este aspecto, sobre todo, teniendo en cuenta que los estudios sobre polimorfismos genéticos de la enzima metileno-tetrahidrofolato-reductasa que condicionan un aumento en los niveles de homocisteína, no han encontrado relación entre dichos

polimorfismos y las concentraciones plasmáticas de este aminoácido (204, 205). Otras críticas realizadas a los trabajos que encuentran concentraciones aumentadas de homocisteína se apoyan en una posible disminución en la aclaramiento de esta sustancia por deterioro de la función renal o en una situación de hemoconcentración. Sin embargo, este dato no se corrobora en el trabajo de De la Calle donde las gestantes no presentaron diferencias en los niveles de creatinina, y el hematocrito era similar en los dos grupos estudiados. La hiperhomocisteinemia podría justificarse también por una adecuada ingesta de ácido fólico y vitamina B12. Sin embargo, Rajkovic et al no encontraron diferencias en las concentraciones de estas vitaminas en gestantes con PCL en relación con el grupo control.

Se ha especulado también en el posible papel de la homocisteína como marcador pronóstico en el desarrollo de la enfermedad hipertensiva del embarazo (208). Recientes estudios epidemiológicos (202) parecen desechar el valor predictivo de este aminoácido en la PCL y en el embarazo con crecimiento intrauterino retardado.

La oxidación de la LDL in vivo es capaz de inducir una respuesta inmunitaria de tipo humoral y la producción de una población heterogénea de anticuerpos específicos frente a ese factor (oLAB) que se encuentran en el ser humano en todas las edades. La presencia de estos anticuerpos podría representar un marcador de estrés oxidativo y se considera un indicador de aterosclerosis coronaria. Estos anticuerpos también se detectan en las gestaciones normales. Se conoce que el aumento de la LDL oxidada va a condicionar un daño directo sobre las membranas del endotelio, condicionando su disfunción. En nuestro estudio hemos encontrado niveles elevados de oLAB en la gestación con hipertensión en relación con la población sana (PCL 605,40 mU/ml vs. HTAG 669,68 vs. HTAC 620,73 vs. Control 248,84;  $p=0,038$ ) como traducción de un aumento de la peroxidación lipídica y por ende del estrés oxidativo en nuestras gestantes con trastornos hipertensivos. Nuestros resultados no encuentran el apoyo de los recientemente descritos por Fialova y colaboradores (180) quien compara un grupo de 26 pacientes con hipertensión gestacional con un grupo control de 49 embarazadas sanas. Sus hallazgos difieren de los nuestros al evidenciar en su grupo de hipertensas, concentraciones inferiores de oLAB en relación con las sanas (348 +/- 388 U/ml vs. 579 +/- 400 mU/ml,  $p<0,01$ ). Los resultados de este estudio podrían cuestionarse, sin embargo, al tratarse de un grupo escaso de pacientes. Por contra, otros autores habían puesto de manifiesto la existencia de concentraciones superiores de oLab en

---

gestantes con PCL ( $p=0,048$ ) (179). Por tanto y aunque la asociación entre los niveles de LDL oxidada y la aterosclerosis es un hecho constatado, en el campo de los trastornos hipertensivos del embarazo no se ha podido demostrar de forma firme esta situación al carecer de estudios amplios que permitan confirmar esta hipótesis, aunque con las discrepancias ya comentadas, nuestro trabajo viene a reforzar la existencia de esta posible asociación.

Existen muy pocas referencias en la bibliografía médica en relación con la elevación de los ácidos grasos libres (AGL) en las gestantes con hipertensión. Se conoce que el mecanismo mediante el cual estas sustancias pueden inducir una disfunción del endotelio in vitro depende de una reducción en la liberación de prostaciclina y una disminución en la capacidad de las células endoteliales para inhibir la agregación plaquetaria (183). Así mismo, otros autores encuentran una correlación entre los niveles de AGL y de malondialdehído, metabolito de la peroxidación lipídica, sugiriendo la probable implicación de los AGL en la disfunción endotelial (185). Los resultados de nuestro trabajo apoyan estas hipótesis sobre la base del aumento significativo encontrado en las concentraciones de estos productos en nuestras gestantes con trastornos hipertensivos (PCL 594,75  $\mu\text{mol/L}$  vs. HTAG 565,28 vs. HTAC 525,83 vs Control 334,51;  $p<0,000$ ) y vienen a reforzar el papel del estrés oxidativo en la génesis de la PCL.

El óxido nítrico liberado desde la célula endotelial tiene una acción vasodilatadora muy potente y es capaz de inhibir la agregación plaquetaria. Se ha sugerido que una disminución en la producción de esta sustancia está implicada en la fisiopatología de la PCL. La cuantificación de los niveles de óxido nítrico es compleja fundamentalmente debido a que es un producto de vida media muy corta, que rápidamente se metaboliza oxidándose a nitritos y nitratos. La estimación analítica de estos metabolitos puede ser un índice representativo de las concentraciones plasmáticas de esta sustancia. En nuestro trabajo hemos encontrado una producción aumentada de los metabolitos nitritos y nitratos en el embarazo patológico (PCL 38,58  $\mu\text{mol/L}$  vs. HTAG 34,40 vs. HTAC 32,26 vs Control 28,63;  $p=0,004$ ) frente al grupo control de gestantes no hipertensas. Estos resultados son concordantes con otros estudios publicados en la literatura médica. Ranta y colaboradores encuentran en su trabajo niveles aumentados de estas sustancias comparando un grupo de 20 gestantes con PCL con otro compuesto por 21 gestantes sanas (18,1 DE 6,2 vs. 13 DE 4,3  $\mu\text{mol/L}$ ;  $p=0,009$ )



(136). Nobunaga y colaboradores obtienen hallazgos similares analizando un grupo de 23 gestantes con PCL frente a un grupo de 323 gestantes normotensas (45,6 DE 2,3 vs. 30,3 DE 1,0  $\mu\text{mol/L}$ ;  $p < 0,0001$ ) (134). Otro tanto ocurre en el estudio de Smaranson y colaboradores (136) que encuentra concentraciones así mismo aumentadas en gestantes con PCL en un grupo de 20 pacientes frente a otras 20 no hipertensas (47,4 DE 13,6 vs. 31,2 DE 9,14  $\mu\text{mol/L}$ ). Por el contrario Seligman y colaboradores ofrecen resultados discordantes con nuestro estudio cuando comparan un grupo de 26 gestantes con PCL frente a otro de 26 controles sanas. Seligman encuentra concentraciones disminuidas de nitritos/nitratos en sus pacientes, y la diferencia tuvo significación estadística ( $p = 0,02$ ) (132). Frente a los resultados de este último autor, nuestro grupo trabaja en la hipótesis de que exista un aumento compensador de los metabolitos del óxido nítrico en respuesta a la situación de incremento del estrés oxidativo y la vasoconstricción sistémica generada en la PCL. Frente a esta hipótesis otros autores refieren la posibilidad de que exista una disminución en el aclaramiento tanto de nitritos como nitratos que justifique este aumento. Aun así, Ranta comprueba en su estudio que no existen diferencias en los parámetros de filtración glomerular en las gestantes con hipertensión frente a las normotensas que puedan justificar este extremo (136).

Se han propuesto numerosos métodos para medir la capacidad antioxidante total (TAS) en los tejidos biológicos. Estos test han sido diseñados para medir la suma de contribuciones de todas las sustancias antioxidantes presentes en un fluido así como su sinergismo (248). Si bien las descripciones existentes en la literatura médica hacen referencia a un aumento progresivo de la TAS en la gestación normal entre las semanas 24 a 30, sin cambiar este hecho en el embarazo con PCL (249), los estudios realizados hasta el momento arrojan resultados contradictorios. Frente a los trabajos de Zusterzeel (250) y Vitoratos (251) (el primero de ellos realizado en tejido placentario), que encuentran un descenso en la TAS, Kharb (252) y Poranen (147) hayan un aumento. Los resultados de nuestro estudio no muestran diferencias con significación estadística en las concentraciones de la TAS en los estados hipertensivos del embarazo en relación con los controles sanos (PCL 1180,68  $\mu\text{mol/L}$  DE 136,33 vs. HTAC 1163,40 DE 122,73 vs. HTAG 1151,95 DE: 122,73 vs. Control 1135,25 DE: 71,83;  $p = 0,250$ ). Estos hallazgos están en consonancia con los recientemente descritos por Zusterzeel y colaboradores (253) que analiza un grupo de gestantes compuesto por 14 sanas, 9 con HTAG y 14 con PCL. Probablemente estas diferencias

estén condicionadas por la variedad de métodos empleados para la determinación de la TAS (248) y su variabilidad. Prior y colaboradores realizan en 1999 una revisión de los diferentes procedimientos utilizados y concluyen que es posible que no sea suficiente con una medida individual de la TAS por un determinado método, y sea necesario realizar una "batería" de test que permitan una mejor interpretación de los resultados (254). En este sentido, comenta Prior en su artículo que, un incremento en la TAS puede no ser necesariamente una condición deseada si refleja una respuesta a una situación de incremento del estrés oxidativo, y, de igual forma, un descenso en la TAS puede no ser necesariamente una condición no deseada si esta medida refleja una disminución en la producción de sustancias antioxidantes. Por todo ello, se nos hace difícil extraer una conclusión definitiva con los hallazgos de nuestro estudio y será necesario ampliar esta materia para obtener resultados más concluyentes.

La enzima glutation-reductasa (GRx) es responsable de mantener unos niveles proporcionados de glutation reducido que es una sustancia importante para un adecuado metabolismo celular. Esta enzima cataliza la reducción de glutation en presencia de NADPH que es oxidado a NADP<sup>+</sup>. El glutation reducido va a jugar un papel en el transporte de proteínas y en el mantenimiento de los depósitos de vitamina C y E, contribuyendo a la homeostasis intracelular. En nuestro estudio hemos encontrado niveles elevados de GRx en las gestantes con trastornos hipertensivos en relación con el grupo control (PCL 6322,74 mU/gr Hb DE 1490,38, vs. HTAC 6726,66 DE 1176,98 vs. HTAG 6457,08 DE 885,94 vs. Control 5889,23 DE 1232,99;  $p=0,02$ ) lo que podría justificarse en el contexto de un aumento en la expresión de esta enzima como respuesta a la situación de estrés oxidativo, en un intento de defender la homeostasis intracelular. Diedrich y colaboradores analizan la peroxidación lipídica y los niveles de radicales antioxidantes en un grupo de 36 gestantes normales, 28 con PCL y 10 con síndrome HELLP. En su trabajo no encuentran diferencias con relación a la actividad de la GRx en los diferentes grupos (124). No existen otros estudios que permitan esclarecer más este aspecto.

La enzima glutation peroxidasa (GPx) cataliza la transformación del peróxido de hidrógeno en agua mediante la oxidación del glutation ( $2 \text{ GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \Rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$ ; GSH: glutation-reducido, GSSG: glutation-oxidado). Esta reacción es el mecanismo de defensa más importante de la membrana celular frente a la peroxidación de los lípidos (114). En nuestro estudio no hemos encontrado diferencias

con significación estadística en los niveles de esta enzima (PCL 80,04 mU/gr Hb DE: 26,62 vs. HTAG 78,70 DE: 22,93 vs. HTAC 77,07 DE: 21,25 vs. control 73,15 DE: 19,40;  $p=0,5$ ) si bien sus valores estuvieron más elevados en el embarazo patológico.

El sistema de la superóxido-dismutasa (SOD) es probablemente el grupo enzimático más importante de los mecanismos de defensa antioxidante. Esta enzima cataliza la reacción de superóxido con un electrón y dos protones para formar  $H_2O_2$ . En nuestro trabajo hemos encontrado niveles significativamente descendidos de esta enzima en los trastornos hipertensivos de la gestación con respecto al grupo control (PCL 970,75 mU/gr de Hb DE 149,10 vs. HTAC 989,86 DE 124,59 vs. HTAG 947,05 DE: 145,60 vs. Control 1088,82 DE: 141,64;  $p<0,000$ ). Existen escasas referencias en la literatura en relación con estas enzimas y el embarazo complicado con hipertensión pero sus resultados, en general, coinciden con los nuestros. La observación en la que parecen converger la mayoría de los autores hace referencia a que en gestantes con hipertensión las concentraciones de óxido nítrico y de peróxidos lipídicos están aumentados con un descenso de los mecanismos antioxidantes como la catalasa y la SOD, existiendo un incremento concomitante en los niveles de glutatión-peroxidasa, si bien este último extremo no es confirmado por todos los autores (147,151). Se ha trabajado en la hipótesis de que la disminución en la actividad de la SOD ocurre porque en el embarazo patológico el aumento de la producción del anión superóxido agotaría la capacidad de dicha enzima, si bien otros autores encuentran que no existe una disminución en las concentraciones de su RNAm sugiriendo la posibilidad de un defecto post-transcripcional. Aydin y colaboradores estudian en un grupo de 35 gestantes con PCL frente a otro de 34 gestantes normales encontrando un descenso significativo en las concentraciones de SOD ( $p<0,001$ ) (255). Mahadik y colaboradores analizan las diferencias entre un grupo de gestantes con PCL y embarazadas sin hipertensión, objetivando un descenso significativo en las concentraciones de SOD ( $p<0,05$ ) en sus pacientes. Estudian así mismo la existencia de diferencias en el nivel de esta enzima en relación con embarazos complicados con hipertensión y morbimortalidad fetal concluyendo que niveles inferiores a 0,52 U/ml podrían tener un valor predictivo para decidir el momento de finalizar la gestación (256). Madazli y colaboradores hayan resultados similares al estudiar un grupo de 34 PCL en relación con 33 sanas, con descenso de las concentraciones de la SOD ( $p<0,01$ ) (150). Ilhan encuentra en su estudio también niveles descendidos de dicha enzima al analizar un grupo de 21 PCL frente a 30 gestantes normales (160). Otro tanto sucede en el estudio

realizado por Kumar y colaboradores (152). Bayhan y colaboradores trabajan en un grupo de 45 embarazadas normales frente a otro de 44 gestantes con PCL y/o Eclampsia, encontrando niveles disminuidos de SOD ( $p < 0,0001$ ), si bien no hallaron correlación entre los valores de dicha enzima y las cifras de presión arterial de las pacientes (155). Otros autores ofrecen similares resultados (154, 157, 257). En todos estos trabajos se ha hipotetizado que la disminución de la SOD ocurre porque en el embarazo patológico el aumento de la producción de anión superóxido agotaría la actividad del enzima. Sin embargo, hasta la fecha no se ha estudiado la actividad de dicha enzima tras el embarazo en pacientes que desarrollan trastornos hipertensivos. Nuestro grupo trabaja actualmente en este punto. Nuestros datos preliminares apoyan que en tanto que otros sistemas antioxidantes se modifican al terminar la gestación patológica, no ocurre igual con la SOD cuya actividad continua estando descendida. Por tanto no podríamos descartar que este citado descenso sea causa y no consecuencia de la hipertensión. Es decir, podría ocurrir que el descenso en la actividad de la SOD fuese previo, y cuando aparece el embarazo la actividad de la enzima fuese insuficiente para degradar el aumento de la producción de anión superóxido derivado de la placenta. En consecuencia, se generaría la disfunción endotelial que provocaría la aparición de la hipertensión. Si ello fuere así y de acuerdo con Mahadik (256), dispondríamos de un marcador que nos permitiría conocer qué gestantes podrían estar predispuestas a desarrollar un trastorno hipertensivo.

La búsqueda de un marcador pronóstico en los trastornos hipertensivos de la gestación ha sido incesante a lo largo de toda la bibliografía médica y los resultados poco concluyentes. Recientemente se ha publicado en la revista *American Journal of Obstetric and Gynecology* el que probablemente sea el estudio más completo realizado a los efectos (244). El propósito de este estudio fue caracterizar una serie de marcadores sanguíneos bioquímicos que se asocian clásicamente al desarrollo de una PCL en un grupo de gestantes que presentaron en la evolución de su embarazo este síndrome y compararlos con otro grupo con crecimiento intrauterino retardado sin PCL y con gestantes con bajo riesgo de padecerla. Lo interesante de este trabajo fue que incluyó la valoración de una serie de índices de estrés oxidativo y sustancias antioxidantes como fueron el ácido ascórbico, el alfa-tocoferol, el ácido úrico y el ispostano 8-epi-prostaglandina F2alfa, como marcador este último de peroxidación lipídica. De todos los factores estudiados, de forma conjunta, las concentraciones de leptina, factor de crecimiento placentario, el cociente inhibidor del activador del

---

plasminógeno (PAI-1)/PAI-2 y el ácido úrico fueron capaces de predecir el desarrollo de una PCL. De cualquier forma, los resultados de este estudio siguen siendo pobres al tratarse de un ensayo con un número escaso de pacientes, lo que hace necesario un mayor número de trabajos que puedan confirmar o desmentir este aspecto.

Se ha postulado que la isquemia placentaria secundaria a la invasión deficiente del trofoblasto puede condicionar la producción y liberación de sustancias citotóxicas capaces de alterar los vasos maternos. Se sabe que las citoquinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina-1 $\beta$  pueden producir disfunción del endotelio. Se conoce que la placenta es capaz de sintetizar estas sustancias así como es capaz de producir interleucina 6, factor que se ha implicado directamente en el desarrollo de la aterosclerosis coronaria (221). Por otra parte se sabe que en la PCL se produce una activación de los neutrófilos siendo la interleucina 8 un potente agente quimiotáctico y estimulador de estas células. Este factor está aumentado en gestantes con PCL y parece correlacionarse con los niveles de TNF y del factor de von Willebrand (258). Por otra parte, otros autores sugieren que la liberación de estos factores inflamatorios depende de la activación del endotelio materno y no de la placenta (221). En nuestro estudio hemos encontrado un aumento de todos estos parámetros en las gestantes con trastornos hipertensivos. De esta forma los niveles de interleucina 8 fueron superiores en el global del embarazo patológico en relación con las gestantes sanas (en pg/ml: 4,35 DE: 7,01 vs. 1,42 DE: 3,15,  $p < 0,05$ ); encontramos un aumento en los niveles de interleucina 6 en cada una de las categorías de trastornos hipertensivos en relación con las gestantes sanas (en pg/ml: PCL 13,13 DE 10,67 vs. HTAC 10,09 DE 12,65 vs. HTAG 11,57 DE 9,72 vs. Control 2,26 DE 2,25;  $p < 0,0001$ ); y, las concentraciones de TNF también estaban incrementadas en el embarazo patológico (en pg/ml: PCL 24,31 vs. HTAC 24,14 DE: 22,00 vs. 22,22 (DE 14,98) vs. Control 11,81 (DE: 11,09;  $p < 0,05$ .) Estos resultados vienen a reafirmar el papel de las citoquinas inflamatorias en la génesis de la PCL. Nuestro concepto actual parte de asumir que la implantación placentaria normal representa un estado fisiológico de inmunotolerancia basada, entre otros posibles factores todavía no identificados, en una expresión antigénica especial y un equilibrio local de citoquinas. La PCL representa por tanto, una situación en la que el sistema de reconocimiento trofoblástico se produce de forma ineficaz, lo que se traduce principalmente en desequilibrio de citoquinas protectoras en la interfase materno-fetal con predominio de la hiperactivación de las respuestas inmunológicas que van a resultar perjudiciales para el trofoblasto.

# CONCLUSIONES

Los resultados derivados de este estudio permiten concluir que frente a las gestantes sanas existen las diferencias siguientes:

1. Las gestantes con trastornos hipertensivos presentan un perfil metabólico más desfavorable. Este hecho viene determinado por un peor perfil lipídico con niveles superiores de colesterol y triglicéridos y, por una mayor frecuencia de obesidad. Igualmente, las gestantes con embarazo patológico, presentan un peor perfil de riesgo vascular motivado por un aumento de los niveles de ácido úrico y homocisteína en relación con las sanas.
2. En los trastornos hipertensivos del embarazo existe un aumento de los diferentes marcadores biológicos de estrés oxidativo. Prueba de ello es el incremento de las concentraciones de LDL oxidada y el aumento de los niveles de ácidos grasos libres en nuestras gestantes hipertensas. El aumento de los nitritos y nitratos obedece a una mayor degradación del óxido nítrico.
3. En la patología hipertensiva del embarazo existe un desbalance entre los sistemas antioxidantes en relación con la gestación sana, con un aumento de la glutatión-peroxidasa y la glutatión-reductasa, así como un descenso de los niveles de superóxido dismutasa. No podemos establecer conclusiones definitivas en relación con el papel de la capacidad antioxidante total del plasma debido a la variabilidad en la determinación de este parámetro.
4. En los trastornos hipertensivos del embarazo existe un aumento de la actividad proinflamatoria en relación con el embarazo sano, traducido en un incremento de la interleucina 6, interleucina 8 y factor de necrosis tumoral, como reflejo de un equilibrio anormal de citoquinas protectoras, lo que podría estar en relación con la hiperactivación de las respuestas inmunológicas perjudiciales para el trofoblasto.

#### CONSIDERACIONES FINALES:

1. El estrés oxidativo puede ser la vía final hacia donde convergen diferentes factores que condicionan una situación de disfunción endotelial materno y por ende, el desarrollo clínico de la PCL. La placentación anómala y la isquemia placentaria secundaria constituyen el punto de inicio de la cascada de acontecimientos en la hipertensión del embarazo. En este marco fisiopatológico, la presencia de un perfil metabólico desfavorable, el aumento de marcadores que reflejan una situación de estrés oxidativo y de aquellos que condicionarán una situación pro-inflamatoria, así como un desbalance entre los diferentes sistemas antioxidantes pueden incrementar el riesgo de desarrollar una PCL. La variabilidad que pudiere existir en los factores implicados en el estrés oxidativo materno va a contribuir en la heterogeneidad de los trastornos hipertensivos de la gestación.
2. En relación con el desbalance encontrado de los mediadores que participan en el estrés oxidativo, creemos necesario ampliar el estudio en lo que concierne al metabolismo del glutatión, que nos permita valorar definitivamente el papel del sistema enzimático glutatión-peroxidasa, glutatión-reductasa en este proceso.
3. Frente a la hipótesis descrita en la literatura médica en relación con el descenso de la actividad de la superóxido dismutasa motivado por un consumo de la misma, nuestro grupo trabaja actualmente en la posibilidad de se trate de un fallo primario de esta enzima lo que condicione una disminución de su actividad.
4. Se hacen necesarios, por tanto, un mayor número de estudios longitudinales que permitan aclarar definitivamente todos estos aspectos.



**GLOSARIO  
DE  
ABREVIATURAS**

ADMA: dimetilarginina asimétrica  
ADN: ácido desoxirribonucleico  
AGL: ácidos grasos libres  
ATP: adenosín-trifosfato  
CGMP: guanosina monofosfato cíclica  
DDAH: dimetil-arginina dimetil-amino-hidrolasa  
DE: desviación estándar  
EH: epóxido-hidrolasa  
FCE: factores de crecimiento endotelial  
GPx: glutatión-peroxidasa  
GRx: glutatión-reductasa  
GSH: glutatión reducido  
HC: homocisteína  
HPLC: cromatografía líquida de alta resolución  
HTA: hipertensión arterial  
HTAC: Hipertensión crónica  
HTAG: Hipertensión gestacional  
IL: interleucina  
IL-2: interleucina 2  
IL-6: interleucina 6  
IMC: índice de masa corporal  
LDL: lipoproteínas de baja densidad  
MS: microvellosidades del sincitiotrofoblasto  
MTR: metileno-tetrahidrofolato reductasa.  
NMA: monometilarginina  
NOS: óxido nítrico sintetasa  
ON: óxido nítrico  
p: significación estadística  
PAD: presión arterial diastólica  
PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1.  
PAS: presión arterial sistólica  
PCL: preeclampsia  
PG: prostaglandina  
PIGF: factor de crecimiento placentario  
PNA: péptido natriurético atrial

RNA: ácido ribonucleico

ROS: radicales libres derivados de oxígeno

SOD: superóxido dismutasa

SRAA: sistema renina-angiotensina-aldosterona

TAS: capacidad antioxidante total del plasma

TNF: factor de necrosis tumoral

VEGF: factor de crecimiento endotelial

# BIBLIOGRAFÍA

1. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 2000;183:S1-S22.
2. Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of Preeclampsia. *Lancet* 2001;357:53-6.
3. Lain KY, Roberts JM. Contemporary Concepts of the Pathogenesis and Management of Preeclampsia. *Jama* 2002; 287(24):3183-3186.
4. Kuo VS, Koumantakis G, Gallery ED, Proteinuria and its assessment in normal and hypertensive pregnancy. *Am J. Obstet Gynecol*, 1992;167:723-8
5. Brown MA, Hague WM, Higgins J, et al: The detection, investigation and management of hypertension in pregnancy. Full consensus statement of recommendations from the Council of the Australian Society for the Study of Hypertension in pregnancy. *J Obstet. Gynecol* 2000;40:139-56.
6. Roberts JM. Pregnancy related hypertension. In: Creasy RK, Resnik R, eds. *Maternal Fetal Medicine*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders; 1998:833-872.
7. Li DK, Wi S. Changing paternity and the risk of preeclampsia/eclampsia in the subsequent pregnancy. *Am J Epidemiol* 2000; 151:57-62.
8. Zwiefel P. Eklampsie. In: Dodelin A, ed. *Handbuch der Geburtshilfe*, Vol II. Wiesbaden, Germany, Bergmann, 1916: 672-723.
9. Roberts JM, Pearson G, Cutler J, Lindheimer M. Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension during pregnancy. *Hypertension* 2003; 41:437-445.
10. Robertson WB, Brosens I, Dixon G: Maternal uterine vascular lesions in the hypertensive complications of pregnancy. En: Lindheimer MD, Katz AI, Zuspan FP Editors "Hypertension in Pregnancy" New York: John Wiley, 1976;115-29.
11. Pijnemborg R: Trophoblast invasion and placentation in the human: morphological aspects. *Trophoblast Res*, 1990;4:33-47.
12. Zhou Y, Damsky CH, Chiu K, et al: Preeclampsia is associated with abnormal expression of adhesion molecules by invasive cytotrophoblasts. *J. Clin Invest*, 1993;91:950-60.
13. Fox H: The placenta in pregnancy Hypertension. En Rubin PC Editor. "Handbook of Hypertension", volume 10: Hypertension in Pregnancy. New York Elsevier 1988: pág 16-37.
14. Zhou Y, Genbacev O, Damsky CH, Fisher SJ. Oxygen regulates human cytotrophoblast differentiation and invasion: implications for endovascular invasion in normal pregnancy and in pre-eclampsia. *J Reprod Immunol* 1998; 39:197-213.

15. Page EW. The relation between hydatid moles, relative ischemia of the gravid uterus, and the placental origin of eclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1939; 37: 291-293.
16. Scott W, Walsh PD. Maternal-Placental Interactions of Oxidative Stress and Antioxidants in Preeclampsia. *Seminars in Reproductive Endocrinology.* 1998; 16(1): 93-104.
17. Labarrene CA. Acute atherosclerosis: a histopathological hallmark of immune aggression? *Placenta* 1988; 9: 95-108.
18. Kristine Y, Lain YL, James MR: Contemporary concepts of the pathogenesis and management of preeclampsia. *JAMA* 2002;287(24):3183-86.
19. Chesley LC. Vascular reactivity in normal and toxemic pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 1966; 9:871-881.
20. Stubbs TM, Lazarchick J, Van Dorsten P et al. Evidence of accelerated platelet production and consumption in non-thrombocytopenic preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 155:263-265.
21. Khong TY. Acute atherosclerosis in pregnancies complicated by hypertension, small-for-gestational-age infants, and diabetes mellitus. *Arch Pathol Lab Med* 1991; 115:722-725.
22. Scott W, Walsh Ph D.: Maternal-placental interactions of oxidative stress and antioxidants in preeclampsia. *Seminars Repr Endocrin* 1998;16 (1):93-104.
23. Taylor RN, DeGroot C, Cho YK, et al: Circulating factors as markers and mediators of endothelial cell dysfunction in preeclampsia. *Seminars Repr Endocrin* 1998;16(1):17-31.
24. Roberts JM: Endothelial dysfunction in preeclampsia. *Semin. Reprod. Endocrinol,* 1998;16:5-15.
25. Chesley LC, Annitto JE, Cosgrove RA. The familial factor in toxemia of pregnancy. *Obstet Gynecol* 1968:303-311.
26. Chesley, Cooper DW. Genetics of hypertension in pregnancy: possible single gene control of pre-eclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women. *Br J Obstet Gynaecol* 1986; 93(9): 898-908.
27. Arngrimsson R, Bjornsson S, et al. Genetic and familial predisposition to eclampsia and pre-eclampsia in a defined population. *Br J Obstet Gynaecol* 1990; 97(9): 762-769.
28. Mogren I, Högberg U, Winkvist A et al. Familial occurrence of preeclampsia. *Epidemiology* 1999; 10: 518-522.
29. Kenny LC, Baker PN. The Etiology of Preeclampsia. In: Belfort MA, Thornton S, Saade GR ed, *Hypertension in pregnancy.* New York: Marcel Dekker, Inc; 2003.

30. Dizon-Townson DS, Nelson LM, et al. The factor V Leiden mutation may predispose women to severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175(4 Pt 1):902-905.
31. Ward K, Hata A, Jeunemaitre X et al. A molecular variant of angiotensinogeno associated with preeclampsia. *Nat Genet* 1993; 4:59-61.
32. Amgrimsson R, Purandare S, Conner M et al. Angiotensinogen. A candidate gene involved in preeclampsia? *Nat Genet* 1993; 4:114-115.
33. Morgan L, Crawshaw S, et al. Distortion of maternal-fetal angiotensin II type I receptor allele transmission in pre-eclampsia. *J Med Genet* 1998; 35(8): 632-636.
34. Delacretaz E, De Quay N, Weber B et al. Differential nitric oxide synthase activity in human platelets during pregnancy and preeclampsia. *Clin Sci* 1995; 88:607-610.
35. Lade JA, Moses EK, Guo G et al. The eNOS gene: a candidate for the preeclampsia susceptibility locus? *Hypertens Pregnancy* 1999; 18(1):81-83.
36. Arngrimsson R, Hayward C, Nadaud S et al. Evidence for a familial pregnancy-induced hypertension locus in the eNOS-gene region. *Am J Hum Genet* 1997 Aug; 61(2):354-62.
37. McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat Med* 1996; 2:386-389.
38. Sohda S, Arinami T, Hamada H et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and pre-eclampsia. *J Med Genet* 1997; 34:525-526.
39. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D et al. Factor V Leiden, C→T MTHFR polymorphism and pre-eclampsia. *J Med Genet* 1997; 34: 525-526.
40. Laivuori H, Kaaja R, Ylikorkala O, et al. 677 C→T polymorphism of the Methylenetetrahydrofolate reductase gene and Preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2000; 96:277-80.
41. Zusterzeel PL, Peters WH, Visser W, et al. A polymorphism in the gene for microsomal epoxide hydrolase is associated with pre-eclampsia. *J Med Genet* 2001; 38:234-237.
42. Chen G, Wilson R, et al. Tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) gene polymorphism and expression in pre-eclampsia. *Clin Exp Immunol* 1996; 104(1):154-159.
43. Dekker GA, Sibai BM. The immunology of preeclampsia. *Semin Perinatology* 1999;23:24-33.
44. Strickland DM, Guzick DS, Cox K et al. The relationship between abortion in the first pregnancy and development of pregnancy-induced hypertension in subsequent pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1986;154:146-148.

45. Robillard PY, Hulseley TC, Alexander GR et al. Paternity patterns and risk of preeclampsia in the last pregnancy in multiparae. *J Reprod Immunol* 1993;24:1-12.
46. Trupin LS, Simon LP, Eskenazi B, Change in paternity: A risk factor for preeclampsia in multiparas. *Epidemiology* 1996;7:240-244.
47. Klonoff-Cohen HS, Savitz DA, Cefalo RC et al. An epidemiologic study of contraception and preeclampsia. *JAMA* 1989;262:3143-3147.
48. Robillard PY, Hulseley TC, Perianin J et al. Association of pregnancy-induced hypertension with duration of sexual cohabitation before conception. *Lancet* 1994;344:973-975.
49. Smith GN, Walker M, Tessier JL et al. Increased incidence of preeclampsia in women conceiving by intrauterine insemination with donor versus partner sperm for treatment of primary infertility. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177:455-458.
50. Giacomini P, Tosi S, Murgia C, et al. First trimester human trophoblast is class II major histocompatibility complex mRNA +/-antigen. *Hum Immunol* 1994;39:281-9.
51. Hammer A, Hutter H, Dohr G. HLA class I expression on the materno-fetal interface. *Am J Reprod Immunol* 1997;38:150-7.
52. Taylor RN. Immunobiology of preeclampsia *Am J Reprod Immunol* 1997;37:79-86.
53. Labarrere CA, Faulk WP. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and HLA-DR antigens are expressed on endovascular cytotrophoblast in abnormal pregnancies. *Am J Reprod Immunol* 1995;33:47-53.
54. Spargo B, McCarney C, et al. Glomerular capillary endotheliosis in toxemia of pregnancy. *Arch Pathol* 1959; 68:595-599.
55. Pridjian G, Puschett JB. Preeclampsia. Part 2: Experimental and Genetic Considerations. *Obstet Gynecol Surv.* 2002 Sep;57(9):619-40.
56. Roberts JM, Taylor RN, et al. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161(5):1200-1204
57. Friedman SA, Schiff E, et al. Biochemical corroboration of endothelial involvement in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172(1 Pt 1): 202-203.
58. Taylor RN, Varma M, et al. Women with preeclampsia have higher plasma endothelin levels than women with normal pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71(6): 1675-1677.
59. Mastrogiannis DS, O'Brien WF, et al. Potential role of endothelin-1 in normal and hypertensive pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165(6 Pt 1): 1711-1716.



- 
60. Zammit VC, Whittworth JA, Brown MA. Preeclampsia: the effects of serum on endothelial cell prostacyclin, endothelin, and cell membrane integrity. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:737-43.
61. Baker PN, Davidge ST, Barankiewicz J, Roberts JM. Plasma of preeclamptic women stimulates and then inhibits endothelial prostacyclin. *Hypertension* 1996;27:56-61.
62. Florijn KW, Derk FH, Visser W, Hofman HJ, Rosmalen FM, Wallenburg HC, Schalekamp MA. Elevated plasma levels of endothelin in preeclampsia. *J Hypertens* 1991;9: S166-S7.
63. Nagai Y, Hara N, Yamaguchi S, et al. Immunohistochemical study of endothelin-1 in preeclamptic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1997;29:345-54.
64. Roberts JM, Redman CW. Preeclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. *Lancet* 1993; 341(8858):1447-1451.
65. Symonds EM. Renin-angiotensin system in normal and hypertensive pregnancy. En: Lewis PJ, Moncada S, O'Grady J, eds. Prostacyclin in pregnancy. New York: Raven Press; 1983. p. 91-8.
66. Elsheikh A, Creatas G, Mastorakos G et al. The renin-aldosterone system during normal and hypertensive pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* 2001; 264: 182-185.
67. DeBold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts in rats. *Life Sci* 1981;28: 89-94.
68. Castro LC, Hobel CJ, Gornbein J. Plasma levels of atrial natriuretic peptide in normal hypertensive pregnancies: A meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171(6):1642-51.
69. Walsh SW. Preeclampsia: An imbalance in placental prostacyclin and thromboxane production. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 152:335-340.
70. Wang Y, Walsh SW, Kay HH. Placental lipid peroxides and thromboxane are increased and prostacyclin is decreased in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167:946-949.
71. Wang Y, Walsh SW, Guo J et al. The imbalance between thromboxane and prostacyclin in preeclampsia is associated with an imbalance between lipid peroxides and vitamin E in maternal blood. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:1695-1700.
72. Walsh SW. Low-dose aspirin: Treatment for the imbalance of increased thromboxane and decrease prostacyclin in preeclampsia. *Am J Perinatal* 1989;6:124-132.

73. Stevenson JC, Macdonald DWR, Warren RC, Booker MW, Whitehead MI. Increased concentration of circulating calcitonin gene related peptide during normal human pregnancy. *BMJ* 1986;293:1329-30.
74. Firth KF, Broughton Pipkin F. Human alfa and Beta calcitonin gene-related peptides are vasodilators in human chorionic plate vasculature. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:1318-9.
75. Kraayenbrink AA, Dekker AG, van Kamp GJ, van Geijn HP. Endothelial vasoactive mediators in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:160-5.
76. Kupferminc MJ, Peacemean AM, Wigton TR, Rehnberg KA, Socol ML. Fetal fibronectin levels are elevated in maternal plasma and amniotic fluid of patients with severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:650-3.
77. Zhu BCR, Laine RA. Developmental study of human fetal placental fibronectin: alterations in carbohydrates of tissue fibronectin during gestation. *Arch Biochem Biophys* 1987; 252:1-6.
78. Lockwood CJ, Peters JH. Increased plasma levels of ED1+ cellular fibronectin precede the clinical signs of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:358-62.
79. Rodgers GM, Taylor RN, et al. Preeclampsia is associated with a serum factor cytotoxic to human endothelial cells. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159(4):908-914.
80. Tsukimori K, Maeda H, et al. The possible role of endothelial cells in hypertensive disorders during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1992; 80(2):229-233.
81. Roberts JM, Edep ME, et al. Sera from preeclamptic women specifically activate human umbilical vein endothelial cells in vitro: morphological and biochemical evidence. *Am J Reprod Immunol* 1992; 27(3-4):101-108.
82. Taylor RN, Musci TJ, et al. Preeclamptic sera stimulate increased platelet-derived growth factor mRNA and protein expression by cultured human endothelial cells. *Am J Reprod Immunol* 1991; 25(3):105-108.
83. Haller H, Hempel A, et al. Endothelial-cell permeability and protein kinase C in preeclampsia. *Lancet* 1998; 351(9107):945-949.
84. Baker PN, Davidge ST, et al. Plasma from women with preeclampsia increases endothelial cell nitric oxide production. *Hypertension* 1995; 26(2):244-248.
85. de Groot CJ, Davidge ST, et al. Plasma from preeclamptic women increases human endothelial cell prostacyclin production without changes in cellular enzyme activity or mass. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172(3):976-985.

86. Wellings RP, Brockelsby JC, et al. Activation of endothelial cells by plasma from women with preeclampsia: differential effects on four endothelial cell types. *J Soc Gynecol Invest* 1998; 5(1):31-37.
87. Baker PN, Davidge ST, et al. Plasma of preeclamptic women stimulates and then inhibits endothelial prostacyclin. *Hypertension* 1996;27(1):56-61.
88. Baker PN, Krasnow J, et al. Elevated serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1995; 86(5): 815-821.
89. Sharkey AM, Cooper JC, et al. Maternal plasma levels of vascular endothelial growth factor in normotensive pregnancies and in pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Eur J Clin Invest* 1996; 26(12):1182-1185.
90. Lyall F, Greer IA, et al. Suppression of serum vascular endothelial growth factor immunoreactivity in normal pregnancy and in pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1997;104(2):223-228.
91. Lyall FA, Young A, et al. Placental expression of vascular endothelial growth factor in placentae from pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction does not support placental hypoxia at delivery. *Placenta* 1997; 18(4): 269-276.
92. Simmons LA, Hennessy A, et al. Uteroplacental blood flow and placental vascular endothelial growth factor in normotensive and pre-eclamptic pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 2000; 107(5):678-685.
93. Tsurumi Y, Murohara T, et al. Reciprocal relation between VEGF and NO in the regulation of endothelial integrity. *Nat Med* 1997; 3(8):879-86.
94. Brockelsby JC, Anthony FW, et al. The effects of vascular endothelial growth factor on endothelial cells: a potential role in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182(1 Pt 1): 176-183.
95. Brockelsby J, Hayman R, et al. VEGF via VEGF receptor-1(Flt-1) mimics preeclamptic plasma in inhibiting uterine blood vessel relaxation in pregnancy: implications in the pathogenesis of preeclampsia. *Lab Invest* 1999; 79(9):1101-1111.
96. D'Orleans-Juste P, Claing A, et al. Neurokinins produce selective venoconstriction via NK-3 receptor in the rat mesenteric vascular bed. *Eur J Pharmacol* 1991; 204(·): 329-334.
97. Thompson GW, Hoover DB, et al. Canine intrinsic cardiac neurons involved in cardiac regulation possess NK1, NK2 and NK3 receptors. *Am J Physiol* 1998; 275(7 Pt 2): R1683-R1689.

- 
98. Page N, Woods RJ, et al. Excessive placental secretion of neurokinin B during the third trimesters causes pre-eclampsia. *Nature* 2000; 405(6788):797-800.
99. Smarason AK, Sargent IL, et al. The effect of placental syncytiotrophoblast microvillous membranes from normal and pre-eclamptic women on the growth of endothelial cells in vitro. *Br J Obstet Gynaecol* 1993; 100(10):943-949.
100. Navarro-Cid J, Cachofeiro V, Maeso R, Lahera V. Fisiología de la pared vascular. En: Tresguerres JAF, editor. *Fisiología humana*. 2ª ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana, 1995; p.531-9.
101. Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part I: Basic Mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* 2003; 108:1912-1916.
102. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 228:373-376.
103. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-6.
104. Óxido nítrico y superóxido en la hipertensión: investigación actual y relevancia clínica. In: Elliot HL, Connell JMC, McInnes GT ed, *Hypertension* 2001. United Kingdom: Clinical Publishing Services Ltd; 2001
105. Rongen GA, Smits P, Thien T. Endothelium and the regulation of vascular tone with emphasis on the role of nitric oxide. *Physiology, pathophysiology and clinical implications*. *Neth J Med* 1994; 44:26-35.
106. Hecker M, Sessa WC, Harris HJ, Anggard EE, Vane JR. The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: cultured endothelial cells recycle L-citrulline to L-arginine. *Proc Nat Acad Sci USA* 1990; 87:8612-6.
107. Forstermann U, Schmidt HH, Pollock JS, Sheng H, Mitchell JA, Warner TD, et al. Isoforms of nitric oxide synthase. Characterization and purification from different cell types. *Biochem Pharmacol* 1991; 42:1849-57.
108. Naruse K, Sokabe M. Involvement of stretch-activated ion channels in Ca<sup>2+</sup> mobilization to mechanical stretch in endothelial cells. *Am J Physiol* 1993; 264: C1037-44.
109. Rossal LP et al. Radicales libres de oxígeno y su relación con enfermedades específicas del embarazo. *Prog Obstet Ginecol* 2003; 46(3):122-35.
110. Beckman JS, Chen J, Ischiropoulos H, Crow JP. Oxidative Chemistry of peroxynitrite. In: Packer L (ed.): *Methods of Enzymology*. San Diego, CA: Academic Press Inc., 1994, pp. 229-40.

- 
111. Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *Journal of Hypertension* 2000, 18:655-673.
112. Zalba G, San José G, Moreno MU, Fortuño MA, Fortuño A, Beaumont FJ, Díez J. Oxidative stress in arterial hypertension. Role of NAD(P)H oxidase. *Hypertension* 2001; 38:1395-1399.
113. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanism of nitric oxide. *Free Radical Biol Med* 1998; 25:434-56.
114. Curello S, Ceconi C, Bigoli C, Ferrari R, Albertini A, Guarnieri C. Changes in the cardiac glutathione status after ischemia and reperfusion. *Experientia* 1985; 41:42-43.
115. Curello S, Ceconi C, Cargnoni A, Cornacchiari A, Ferrari R, Albertini A. Improve procedure for determining glutathione in plasma as an index of myocardial oxidative stress. *Clin Chem* 1987;33:1448-1449.
116. Sibai BM. Prevention of preeclampsia: a big disappointment. *Am J Obstet Gynecol*, 1998;179:1275-78.
117. Roberts JM, Hubel CA. Is oxidative stress the link in the two-stage model of preeclampsia? *Lancet* 1999; 354: 788-789.
118. Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Huberl CA, McLaughlin MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 1365-1366.
119. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993, 57: 715S-725S.
120. Fainaru O, Lichtenberg D, Pinchuk I, Almog B, Gamzu R, Kupfermenc M. Preeclampsia is associated with increased susceptibility of serum lipids to copper-induced peroxidation in vitro. *Acta Obste Gynecol Scand*. 2003 Aug;82(8):711-5.
121. Orhan H, Onderoglu L, Yucel A, Sahin G. Circulating biomarkers of oxidative stress in complicated pregnancies. *Arch Gynecol Obstet*. 2003 Feb;267(4):189-95. Epub 2002 Oct 15.
122. Barden A, Ritchie J, Walters B, Michael C, Rivera J, Mori T, Croft K, Beilin L. Study of plasma factors associated with neutrophil activation and lipidperoxidation in preeclampsia. *Hypertension*. 2001 Oct;38(4):803-8.
123. Regan CL, Levine RJ, Baird DD, Ewell MG, Martz KL, Sibai BM, Rokach J, Lawson JA, Fitzgerald GA. No evidence for lipid peroxidation in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2001 Sep;185(3):572-8.
124. Diedrich F, Renner A, Rath W, Kuhn W, Wieland E. Lipid hydroperoxides and free radical scavenging enzyme activities in preeclampsia and HELLP (hemolysis, elevated

- liver enzymes, and low platelet count) syndrome: no evidence for circulating primary products of lipid peroxidation. *Am J Obstet Gynecol.* 2001 Jul;185(1):166-72.
- 125.Alexa ID, Jerca L, Gheorghita V. The role of lipid peroxidation and of the antioxidant systems in normal pregnancy and in pre-eclampsia. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.* 1996 Jul-Dec;100(3-4):84-9.
- 126.Hubel et al. 8,12-iso-iPF<sub>2</sub> $\alpha$ -VI: The last word on oxidative stress? *Am J Obstet Gynecol* 2002. 187(4):1118.
- 127.Poston L. No evidence for lipid peroxidation in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002. 187(4):1119.
- 128.Knock GA, Poston L. Bradykinin-mediated relaxation of isolated maternal resistance arteries in normal pregnancy and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 175:1668-1674, 1996.
- 129.Taylor RN, Roberts JM. Endothelial cell dysfunction. In: Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG, Eds. *Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy* (2nd ed). Stamford, CT: Appleton & Lange, pp395-429, 1999.
- 130.Davidge ST, Signorella AP, Hubel CA, Lykins DL, Roberts JM. Distinct factors in plasma of preeclamptic women increase endothelial nitric oxide or prostacyclin. *Hypertension* 28:758-764, 1996.
- 131.Chwalisz K, Buhimschi I, Garfield RE. Role of nitric oxide in obstetrics. *Prenat Neonat Med* 1:292-328, 1996.
- 132.Seligman SP, Buyon JP, Clancy RM, Young BK, Abramson SB. The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 171:944-948, 1994.
- 133.Davidge S, Stranko C, Roberts J. Urine but not plasma nitric oxide metabolites are decreased in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 174:1008-1013, 1996.
- 134.Nobunaga T, Tokugawa Y, Hashimoto K, Kimura T, Matsuzaki N, Nitta Y, Fujita T, Kidoguchi K, Azuma C, Saji F. Plasma nitric oxide levels in pregnant patients with preeclampsia and essential hypertension. *Gynecol Obstet Invest* 41:189-193, 1996.
- 135.Smarason A, Allman K, Young D, Redman C. Women with preeclampsia have elevated levels of serum nitrate, a stable end product of nitric oxide. *Br J Obstet Gynaecol* 104:538-543, 1997.
- 136.Ranta V, Viinikka L, Halmesmaki E, Ylikorkala O. Nitric oxide production with preeclampsia. *Obstet Gynecol* 93:442-445, 1999.
- 137.DeWolf F, Robertson WB, Brosens I. The ultrastructure of acute atherosclerosis in hypertensive pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 123:164-174, 1975.

- 
138. Staff AC, Ranheim T, Khoury J, Henriksen T. Increased contents of phospholipids, cholesterol, and lipid peroxides in decidua basalis in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 180:587-592, 1999.
139. Halvorsen B, Staff AC, Henriksen T, Sawamura T, Ranheim T. 8-iso-prostaglandin F(2alpha) increases expression of LOX-1 in JAR cells. *Hypertension*. 2001 Apr;37(4):1184-90.
140. Staff AC, Ranheim T, Henriksen T, Halvorsen B. 8-Iso-prostaglandin f(2alpha) reduces trophoblast invasion and matrix metalloproteinase activity. *Hypertension*. 2000 Jun;35(6):1307-13.
141. Staff AC, Halvorsen B, Ranheim T, Henriksen T. Elevated level of free 8-iso-prostaglandin F2alpha in the decidua basalis of women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Nov;181(5 Pt 1):1211-5.
142. Walsh SW, Vaughan JE, Wang Y, Roberts LJ 2nd. Placental isoprostane is significantly increased in preeclampsia. *FASEB J*. 2000 Jul;14(10):1289-96.
143. Walsh SW, Wang Y. Deficient glutathione peroxidase activity in preeclampsia is associated with increased placental production of thromboxane and lipid peroxides. *Am J Obstet Gynecol* 169:1456-1461, 1993.
144. Hubel CA, Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rogers GM, McLaughlin MK. Lipid peroxidation in pregnancy: New perspectives on preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 161:1025-1034, 1989.
145. Many A, Hubel CA, Roberts JM. Hyperuricemia and xanthine oxidase in preeclampsia, revisited. *Am J Obstet Gynecol*. 1996 Jan;174(1 Pt 1):288-91.
146. Many A, Hubel CA, Fisher SJ, Roberts JM, Zhou Y. Invasive cytotrophoblasts manifest evidence of oxidative stress in preeclampsia. *Am J Pathol*. 2000 Jan;156(1):321-31.
147. Poranen AK, Ekblad U, Uotila P, Ahotupa M. Lipid peroxidation and antioxidants in normal and preeclamptic pregnancies. *Placenta* 17:401-405, 1996.
148. Pandey S, Gujrati VR, Chandravati Sanger KC, Shanker K. Status of human placental lipid peroxidation, superoxide dismutase, and catalase during pregnancy-induced hypertension (PIH). *Asia Pac J Pharmacol* 10:41-44, 1995.
149. Myatt L, Eis AL, Brockman DE, Kossenjans W, Greer IA, Lyall F. Differential localization of superoxide dismutase isoforms in placental villous tissue of normotensive, pre-eclamptic, and intrauterine growth-restricted pregnancies. *J Histochem Cytochem*. 1997 Oct;45(10):1433-8.

- 
150. Madazli R, Benian A, Aydin S, Uzun H, Tolun N. The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol.* 2002 Sep;22(5):477-80.
151. Kumar CA, Das UN. Oxidant stress in pre-eclampsia and essential hypertension. *J Assoc Physicians India.* 2002 Nov;50:1372-5.
152. Kumar CA, Das UN. Lipid peroxides, anti-oxidants and nitric oxide in patients with preeclampsia and essential hypertension. *Med Sci Monit* 2000 Sep-Oct; 6(5):901-907.
153. Mutlu-Turkoglu U, Ademoglu E, Ibrahimoglu L, Aykac-Toker G, Uysal M. Imbalance between lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1998; 46(1): 37-40.
154. Kharb S. Altered thiol status in preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 2000; 50(1):36-38.
155. Bayhan G, Atamer Y, Atamer A, Yokus B, Baylan Y. Significance of changes in lipid peroxides and antioxidant enzyme activities in pregnant women with preeclampsia and eclampsia. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2000;27(2):142-6.
156. Orhan H, Onderoglu L, Yucel A, Sahin G. Circulating biomarkers of oxidative stress in complicated pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 2003 Feb;267(4):189-95. Epub 2002 Oct 15.
157. Roggensack AM, Zhang Y, Davidge ST. Evidence for peroxynitrite formation in the vasculature of women with preeclampsia. *Hypertension.* 1999 Jan;33(1):83-9.
158. Chen G, Wilson R, Boyd P, McKillip JH, Leitch C, Walker JJ, Burdon RH. Normal superoxide dismutase (SOD) gene in pregnancy-induced hypertension: Is the decreased SOD activity a secondary phenomenon? *Free Radic Res* 21:59-66, 1994.
159. Wisdom SJ, Wilson R, McKillip JH, Walker JJ. Antioxidant systems in normal pregnancy and in pregnancy-induced hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 165:1701-1704, 1991.
160. Ilhan N, Ilhan N, Simsek M. The changes of trace elements, malondialdehyde levels and superoxide dismutase activities in pregnancy with or without preeclampsia. *Clin Biochem.* 2002 Jul;35(5):393-7.
161. Ilouno LE, Shu EN, Igbokwe GE. An improved technique for the assay of red blood cell superoxide dismutase (SOD) activity. *Clin Chim Acta.* 1996 Mar 29;247(1-2):1-6.
162. Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2032-2037.



- 163.Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572-575.
- 164.Kakimoto Y, Akazawa S. Isolation and identification of  $N^G$ ,  $N^G$ -, and  $N^G,N^G$ -dimethyl-arginine, N-mono,di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl-, and galactosyl- $\delta$ -hydroxylisine from human urine. *J Biol Chem.* 1970, 245:5751-5758.
- 165.Maas R, et al. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in Colombian women with pre-eclampsia. *Jama* 2004 Feb 18; 291 (7): 823-4.
- 166.Savvidou MD, et al. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop preeclampsia. *Lancet* 2003. May 3; 361(9368): 1511-7.
- 167.Pettersson A, Hedner T, Milson I. Increased circulating concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998 Sep; 77(8): 808-13.
- 168.Rutherford RA, et al. Nitric oxide synthase in human placenta and umbilical cord from normal, intrauterine growth-retarded and preeclamptic pregnancies. *Br J Pharmacol* 1995 Dec; 116(8): 3099-109.
- 169.King RG, et al. Effect of asymmetric dimethylarginine on nitric oxide synthase activity in normal and pre-eclamptic placentae. *Reprod Fertil Dev.* 1995; 7(6):1581-4.
- 170.Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of Preeclampsia. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999 Dec; 222(3): 222-235.
- 171.Hubel C, Roberts J. Lipid metabolism and oxidative stress: En: Lindheimer M, Roberts J, Cunningham F, eds. *Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy.* Stamford, Conn: Appleton&Lange; 1999: 453-486.
- 172.Hubel CA, Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rogers GM, McLaughlin MK. Lipid peroxidation in pregnancy: New perspectives preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 161:1025-1034, 1989.
- 173.Walsh SC. Lipid peroxidation in pregnancy. *Hypertension Pregnancy* 13:1-25, 1994.
- 174.Garzetti GG, Tranquilli AL, Cugini AM, Mazzanti L, Cester N, Romanini C. Altered lipid composition, increased lipid peroxidation, and altered fluidity of the membrane as evidence of platelet damage in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 81:337-340, 1993.
- 175.Sotnikova LG, Naumov AV, Kuznetsova VA. The value of some parameters of erythrocyte membrane lipid peroxidation in late gestosis. *Akush Ginecol* 1986; 4:20-22.

- 
176. Morris JM, Gopaul NK, Endresen MJ, Knight M, Linton EA, Dhir S, Ånggard EE, Redman CW. Circulating markers of oxidative stress are raised in normal pregnancy and preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 105:1195–1199, 1998.
177. Uotila J, Solakivi T, Jaakkola O, Tuimala R, Lehtimäki T. Antibodies against copper-oxidised and malondialdehyde-modified low density lipoproteins in pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105: 1113-1117.
178. Armstrong VW, Wieland E, Diedrich F, Renner A, Rath W, Kreuzer H, Kuhn W, Oellerich M. Serum antibodies to oxidised low-density lipoprotein in preeclampsia and coronary heart disease. *Lancet* 343:1570, 1994.
179. Branch DW, Mitchell MD, Miller E, Palinski W, Witztum JL. Preeclampsia and serum antibodies to oxidised low-density lipoprotein. *Lancet* 343:645–646, 1994.
180. Fialova L, Mikulikova L, Malbohan I, Benesova O, Stipek S, Zima T, Zwinger A. Antibodies against oxidized low density lipoproteins in pregnant women. *Physiol Res*. 2002;51(4):355-61.
181. Allen JY, Tapia-Santiago C, Kutteh WH. Antiphospholipid antibodies in patients with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1996; 36:81-85.
182. Endresen MJ, Lorentzen B, Henriksen T. Increased lipolytic activity and high ratio of free fatty acids to albumin in sera from women with preeclampsia leads to triglyceride accumulation in cultured endothelial cells. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167(2):440-447.
183. Endresen MJ, Tosti E, Heimli H, Lorentzen B, Henriksen T. Effects of free fatty acids found increased in women who develop preeclampsia on the ability of endothelial cells to produce prostacyclin, cGMP and inhibit platelet aggregation. *Scand J Clin Lab Invest* 1994; 54(7):549-57.
184. Lorentzen B, Drevon CA, Endresen MJ, Henriksen T. Fatty acid pattern of esterified and free fatty acids in sera of women with normal and pre-eclamptic pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102(7): 530-7.
185. Hubel Ca, McLaughlin MK, Evans RW, Hauth BA, Sims CJ, Roberts JM. Fasting serum triglycerides, free fatty acids, and malondialdehyde are increased in preeclampsia, are positively correlated, and decrease within 48 hours post partum. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174(3): 975-82.
186. Endresen MJ, Morris JM, Nobrega AC, Buckley D, Linton EA, Redman CW. Serum from preeclamptic women induces vascular cell adhesion molecule-1 expression on human endothelial cells in vitro: a possible role of increased circulating levels of free fatty acids. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179(3 Pt 1): 665-70.

- 
187. Mikhail MS, Anyaegbunam A, Garfinkel D, Palan PR, Basu J, Romney SL. Preeclampsia and antioxidant nutrients: Decreased plasma levels of reduced ascorbic acid, a-tocopherol, and b-carotene in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 171:150–157, 1994.
188. Hubel CA, Kagan VE, Kisin ER, McLaughlin MK, Roberts JM. Increased ascorbate radical formation and ascorbate depletion in plasma from women with preeclampsia: implications for oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 1997;23(4):597-609
189. Tyurin VA, Liu SX, Tyurina YY, Sussman NB, Hubel CA, Roberts JM, Taylor RN, Kagan VE. Elevated levels of S-nitrosoalbumin in preeclampsia plasma. *Circ Res*. 2001 Jun 8;88(11):1210-5.
190. Schiff E, Friedman SA, Stampfer M, Kao L, Barrett PH, Sibai BM. Dietary consumption and plasma concentrations of vitamin E in pregnancies complicated by preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 175:1024–1028, 1996.
191. Mohindra A, Kabi BC, Kaul N, Trivedi SS. Vitamin E and carotene status in pre-eclamptic pregnant women from India. *Panminerva Med*. 2002 Sep;44(3):261-4.
192. Sibai BM: Prevention of preeclampsia: a big disappointment. *Am J Obstet Gynecol*, 1998;179:1275-78.
193. Chappell LC, Seed PT, Kelly FJ, Briley A, Hunt BJ, Charnock-Jones DS, Mallet A, Poston L. Vitamin C and E supplementation in women at risk of preeclampsia is associated with changes in indices of oxidative stress and placental function. *Am J Obstet Gynecol*. 2002 Sep;187(3):777-84.
194. Hubel CA. Dyslipidemia, iron, and oxidative stress in preeclampsia: Assessment of maternal and fetal-placental interactions. *Sem Reprod Endocrinol* 1998. 16:75-92.
195. Alvarez JJ, Montelongo A, Iglesias A, Lasuncion MA, Herrera E. Longitudinal study on lipoprotein profile, high density lipoprotein subclass, and postheparin lipases during gestation in women. *J Lipid Res* 1996; 37:299-308.
196. Lorentzen B, Endresen MJ, Calusen T, Henriksen T. Fasting serum free fatty acids and triglycerides are increased before 20 weeks of gestation in women who later develop preeclampsia. *Hypertension Pregnancy* 13:103-109, 1994.
197. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-1607.
198. Sattar N, Bedomir A, Berry C, Shepherd J, Greer Iak, Packard CJ. Lipoprotein subfraction concentrations in preeclampsia: Pathogenic parallels to atherosclerosis. *Obstet Gynecol* 89:403–408, 1997.

- 
- 199.Lamarche B, Tchernof A, Mauriege P, Cantin B, Dagenais GR, Lluypien PJ, Despres JP. Fasting insulin and apolipoprotein B levels and low-density lipoprotein particle size as risk factors for ischemic heart disease. *JAMA* 279:1955–1961, 1998.
- 200.Hubel CA, Lyell F, Weissfeld L, Gandley RE, Roberts JM. Small low-density lipoproteins and vascular cell adhesion molecule (VCAM-1) are increased in association with hyperlipidemia in preeclampsia. *Metabolism* 1988 oct; 47(10):1281-8.
- 201.Refsum H, Veland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Ann Rev Med* 1998; 49:31-61.
- 202.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.
- 203.Var A, Yildirim Y, Onur E, Kuscu NK, Uyanik BS, Goktalay K, Guvenc Y. Endothelial dysfunction in preeclampsia. Increased homocysteine levels with preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1997; 90; 168-171.
- 204.Raijmakers MT, Zusterzeel PL, Steegers EA, Peters WH. Hyperhomocysteinaemia: a risk factor for preeclampsia? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001 Apr;95(2):226-8.
- 205.Kaiser T, Brenneche SP, Moses EK. C677T methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism is not a risk factor for preeclampsia/eclampsia among Australian women. *Hum Hered* 2001; 51:20-2.
- 206.Mayerhofer K, Hefler L, Zeisler H, Tempfer C, Bodner K, Stockle-Ipsiroglu S, et al. Serum homocysteine levels in woman with preeclampsia. *Wien Klin Wochenschr* 2000; 112: 271-5.
- 207.Hietala R, Turpeinen U, Laatikainen T. Serum homocysteine at 16 weeks and subsequent preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2001 Apr;97(4):527-9.
- 208.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.
- 209.Sorensen TK, Malinow MR, Williams MA, King IB, Luthy DA. Elevated second-trimester serum homocysteine levels and subsequent risk of preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1999; 48:98-103.
- 210.Benyo DF, Miles TM, Conrad KP. Hypoxia stimulates cytokine production by villous explants from the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 82:1582–1588, 1997.
- 211.Wang Y, Walsh SW. TNF alpha concentrations and mRNA expression are increased in preeclamptic placentas. *J Reprod Immunol.* 1996 Dec;32(2):157-69.

212. Hung TH, Charnock-Jones DS, Skepper JN, Burton GJ. Secretion of Tumor Necrosis Factor-alpha from Human Placental Tissues Induced by Hypoxia-Reoxygenation Causes Endothelial Cell Activation in Vitro: A Potential Mediator of the Inflammatory Response in Preeclampsia. *Am J Pathol.* 2004 Mar;164(3):1049-61.
213. Scalera F. Intracellular glutathione and lipid peroxide availability and the secretion of vasoactive substances by human umbilical vein endothelial cells after incubation with TNF-alpha. *Eur J Clin Invest.* 2003 Feb;33(2):176-82.
214. Toborek M, Barger W, Mattson MP, Barve S, McClain CJ, Hening B. Linoleic acid and TNF-a cross-amplify oxidative injury and dysfunction of endothelial cells. *J Lipid Res* 37:123-135, 1996.
215. Stark JM. Preeclampsia and cytokine-induced oxidative stress. *Br J Obstet Gynaecol* 100:105-109, 1993.
216. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue: Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest* 95:2111-2119, 1995.
217. Chaouat G, Menu E, Delage G, Moreau JF, Krishnan L, Hui et al. Immuno-endocrine interactions in early pregnancy. *Hum Reprod* 1995; 10:55-9.
218. Balash J, Gonzalez Merlo J. Inmunología, preeclampsia y estrés oxidativo. *Progresos de Obstetricia y Ginecología* 1999; vol 42(4).
219. Pober JS, Cotran RS. Cytokines and endothelial cell biology. *Physiol Rev* 1990; 70: 427-451.
220. Conrad KP, Benyo DF. Placental cytokines and the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1997; 37:240-249.
221. Benyo DF, Smaranson A, Redman CW, Sims C, Conrad KP. Expression of Inflammatory Cytokines in Placentas from women with Preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 2505-2512.
222. Madazli R, Aydin S, Uludag S, Vildan O, Tolun N. Maternal plasma levels of cytokines in normal and preeclamptic pregnancies and their relationship with diastolic blood pressure and fibronectin levels. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003 Sep; 82(9): 797-802.
223. Maynard SE, Min JY, Merchan J, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003;111:649-58.

- 224.Zhou Y, McMaster M, Woo K, et al. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Am J Pathol* 2002;160:1405-23.
- 225.Koga K, Osuga Y, Yoshino O, et al. Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2348-51.
- 226.Tsatsaris V, Goffin F, Munaut C, et al. Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor in preeclamptic patients: pathophysiological consequences. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5555-63.
- 227.Luttun A, Carmeliet P. Soluble VEGF receptor Flt1: the elusive preeclampsia factor discovered? *J Clin Invest* 2003; 111:600-602.
- 228.Poliotti BM, Fry AG, Saller DN, Mooney RA, Cox C, Miller RK. Second-trimester maternal serum placental growth factor and vascular endothelial growth factor for predicting severe, early-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;101:1266-74.
- 229.Taylor RN, Grimwood J, Taylor RS, Mc-Master MT, Fisher SJ, North RA. Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:177-82.
- 230.Levine RJ et al. Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia. *N Engl J Med* 2004; 350: 673-83.
- 231.Frick B, Schrocksnadel K, Neurauder G, Wirleitner B, Artner-Dworzak E, Fuchs D. Rapid measurement of total plasma homocysteine por HPLC. *Clin Chim Acta* 2003 May; 331(1-2):19-23.
- 232.Hosaka K, Kikuchi T, Mitsuhide N, Kawaguchi A. A new colorimetric method for the determination of free fatty acids with acyl-CoA synthetase and acyl-CoA oxidase. *J Biochem (Tokyo)*. 1981 Jun;89(6):1799-803.
- 233.Stuehr DJ, Gross SS, Sakuma I, Levi R, Nathan CF. Activated murine macrophages secrete a metabolite of arginine with the bioactivity of endothelium-derived relaxing factor and the chemical reactivity of nitric oxide. *Exp Med*. 1989 Mar 1;169(3):1011-20.
- 234.Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci (Lond)*. 1993 Apr;84(4):407-12.

- 
235. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocyte hemocoupein (hemocoupein). *J Biol. Chem* 1969; 244: 6049-6055.
236. Wheeler CR, Salzman JA, Elsayed NM, Omaye ST, Korte DW Jr. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity. *Anal Biochem* 1990; 184:193-9.
237. Dekker GA. The Immunological Aspects of Preeclampsia: Links with Current Concepts on Etiology and Pathogenesis. In: Belfort MA, Thornton S, Saade GR ed, *Hypertension in pregnancy*. New York: Marcel Dekker, Inc; 2003.
238. Marín R, González Portal C, Gorostidi M, Sánchez Núñez M, Sánchez E, Fernández Vega F y Alvarez Grande J. Hipertensión arterial en el embarazo: estudio de 864 casos consecutivos observados durante un período de 24 años. *Nefrología* 1999.
239. Mackay AP, Berg CJ, Atrash HK. Pregnancy-related mortality from preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol* 2001; 97:533-583.
240. Vallejo-Maroto I, Miranda-Guisado ML, Stiefel-García-Junco P, Pamies-Andreu E, Marengo ML, Castro-de-Gavilan D, Carneado-de-la-Fuente J. Características clínico-biológicas de un grupo de 54 gestantes con Síndrome HELLP. *Med Clin (Barc)* 2004; 122(7): 259-61.
241. Nochy D, Birembaut P, Hinglais H, Freund M, Idatte JM, Jacquot C, Chartier M, Bariety J. Renal lesions in the hypertensive syndromes of pregnancy: immunomorphological and ultrastructural studies in 114 cases. *Clin Nephrol* 1980; 13: 155-162.
242. Sagen H, Haram K, Nilsen ST. Serum urate as a predictor of fetal outcome in severe pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynaecol Scand* 1984; 63: 71-75.
243. Sibai BM, Anderson GD, McCabbin JH, Eclampsia II. Clinical significance of laboratory findings. *Obstet Gynecol* 1982; 58:153-157.
244. Chappell LC et al. A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:127-36.
245. Kang DH, Finch J, Nakagawa T, et al. Uric acid, endothelial dysfunction and pre-eclampsia: searching for a pathogenetic link. *J Hypertens* 2004 Feb; 22(2): 229-35.
246. Rajkovic A, Catalano P, Malinow R. Elevated homocysteine levels with preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1997; 90:168-71.
247. De la Calle M, Usandizaga R, Sancha M, et al. Hiperhomocisteinemia y preeclampsia. *Prog Obstet Ginecol* 2003; 46(5): 201-7.
248. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Act* 2001; 306: 1-17.

249. Shilina NM, Konovalova LS, Koterov AN, Murashko LE, Ivanova OL, Kon' Ia. Dynamics of malonic aldehyde, transferrin levels and blood antioxidant activity in women with normal pregnancy and pregnancy complicated by toxico-sis: effect of eiconol. *Vopr Med Khim.* 1999 Sep-Oct;45(5):398-406.
250. Zusterzeel PL, Rutten H, Roelofs HM, Peters WH, Steegers EA. Protein carbonyls in decidua and placenta of pre-eclamptic women as markers for oxidative stress. *Placenta.* 2001 Feb-Mar;22(2-3):213-9.
251. Vitoratos N, Salamalekis E, Dalamaga N, Kassanos D, Creatsas G. Defective antioxidant mechanisms via changes in serum ceruloplasmin and total iron binding capacity of serum in women with pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999 May;84(1):63-7.
252. Kharb S. Total free radical trapping antioxidant potential in pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet.* 2000 Apr;69(1):23-6.
253. Zusterzeel PL, Steegers-Theunissen RP, Harren FJ, Stekkinger E, Kateman H, Timmerman BH, Berkelmans R, Nieuwenhuizen A, Peters WH, Raijmakers MT, Steegers EA. Ethene and other biomarkers of oxidative stress in hypertensive disorders of pregnancy. *Hypertens Pregnancy.* 2002;21(1):39-49.
254. Prior RL, Cao G. In vitro total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med.* 1999 Dec; 27 (11-12): 1173-81.
255. Aydin S, Benian A, Madazli R, Uludag S, Uzun H, Kaya S. Plasma malondialdehyde, superoxide dismutase, sE-selectin, fibronectin, endothelin-1 and nitric oxide levels in women with preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004 Mar 15;113(1):21-5.
256. Mahadik KV, Sina SA. Study of serum levels of superoxide dismutase in preeclampsia and eclampsia: role of the test as a predictive tool. *J Obstet Gynaecol Res.* 2003 Aug;29(4):262-7.
257. Du D, Wang W, Luo G. The change of filtration-index of erythrocyte malonyldialdehyde and superoxide dismutase in patients with pregnancy induced hypertension. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 1995 Nov;30(11):662-4.
258. Velzing-Aarts FV, Muskiet FA, Van der Dijs FP, Duits AJ. High serum interleukin-8 levels in afro-caribbean women with pre-eclampsia. Relations with tumor necrosis factor-alpha, duffy negative phenotype and von Willebrand factor. *Am J Reprod Immunol.* 2002 Nov;48(5):319-22.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
En el curso de Física, para el primer cuatrimestre de  
a. Juarez Vallejos, Marcelo  
por Estrés oxidativo en la patofisiología de  
los trastornos hipertensivos del corazón.

~~SE BENE~~ SACIENDE CUM LAUDE  
Dr. Cecilia M. ...

~~[Signature]~~  
El Secretario,

Fabián

Julio  
~~[Signature]~~  
El Secretario,

[Signature]

~~[Signature]~~  
El Decano,