

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

**CARACTERIZACIÓN HEMODINÁMICA DOPPLER E
INFLAMATORIA DE LAS PREECLÁMPTICAS: ANÁLISIS
DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO CON PARCHES DE
NITROGLICERINA**

TESIS DOCTORAL

Eduardo Reyna-Villasmil

ALCALÁ DE HENARES, 2012

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ
DEPARTAMENTO DE MEDICINA



**CARACTERIZACIÓN HEMODINÁMICA DOPPLER E
INFLAMATORIA DE LAS PREECLÁMPTICAS: ANÁLISIS
DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO CON PARCHES DE
NITROGLICERINA**

TESIS DOCTORAL
Eduardo Reyna-Villasmil.

DIRECTORES DE TESIS
Melchor Álvarez de Mon Soto,
Catedrático de Medicina,
Departamento de Medicina, Universidad de Alcalá.

Mery Guerra Velásquez,
Catedrático de Medicina,
Facultad de Medicina, Universidad del Zulia.

ALCALÁ DE HENARES, 2012.

DEDICATORIA

A mis padres, Tula y Eduardo.

A mi hermana, Nadia.

A mi hijo, Eduardo Daniel

A ti, Jorly.

AGRADECIMIENTO

A los **Drs. Mery Guerra, Nereida Valero y Melchor Álvarez de Mon Soto** sin su apoyo y oportuno consejo este trabajo no podría haberse realizado.

A la **Mg. Sc. Jorly Mejia Montilla**, sin su presión, persecución y determinación no hubiese culminado este trabajo

A todas las personas que hicieron posible esta investigación

RESUMEN EN INGLES

BACKGROUND.

Preeclampsia is a multi-systemic disorder that involves predominantly some organs like liver, kidney, central nervous system and placenta. It affects from 2 to 8% of pregnancies and is associated with a substantial increase in maternal and fetal morbidity and mortality. Maternal complications are eclampsia, cerebrovascular disease, renal or hepatic disease and coagulation disorders. And fetal complication includes intrauterine growth restriction and preterm labor.

Uteroplacental vascular resistance, measured by Doppler ultrasound, is raised in preeclampsia, but is affected by conventional anti-hypertensive treatment. Some data indicate that administration of sublingual or intravenous nitroglycerine, and nitric oxide donator, causes vasodilatation in umbilical circulation. Drugs that can be converted by body in nitric oxide are widely available and have been used for years as therapeutic agents in cardiovascular disease as angor pectoris and hypertension.

OBJECTIVES.

- * To establish Doppler hemodynamic and biologic characterization of preeclamptic patients and to analyze the effects of treatment with nitroglycerin patches
- * To investigate general characteristics (maternal age, gestational age, systolic and diastolic blood pressure) and to compare with a group of normotensive pregnant women.
- * To describe Doppler blood flow hemodynamic parameters of maternal (uterine arteries) and fetal (umbilical, middle cerebral, renal and hepatic artery) blood vessels in preeclamptic patients and normotensive pregnant women.
- * To identify interleukins concentrations (interleukin 10, interleukin 6, tumor necrosis factor alpha, and interferon gamma) and inflammatory markers (selectins and asymmetric dimethylarginine) in preeclamptic patients and normotensive pregnant women.
- * To identify changes in Doppler blood flow hemodynamic parameters in maternal and fetal blood vessels in preeclamptic patients before and after

treatment with nitroglycerin patches.

* To study interleukin, inflammatory and endothelial dysfunction markers in preeclamptic patients and to evaluate the effect of treatment with nitroglycerin patches.

* To verify adverse effects produced by nitroglycerin patches in preeclamptic patients.

METHODS.

All patients were hospitalized and ultrasound was performed before and after the use of nitroglycerin patches. Blood pressure and maternal and fetal heart rate were monitored at beginning of treatment and every 15 minutes during the first 2 hours and then every 8 hours. Blood Flow of uterine, umbilical, fetal middle cerebral, renal and hepatic artery were analyzed. Pulsatility index, resistance index and systolic / diastolic ratio were measured. Treatment was with nitroglycerin transdermal patches (group A) of 5 mg, applied in anterior or lumbar thoracic region by a period of 12 hours, for a total time of 48 hours (total 4 patches). After 24 and 48 hours of beginning of treatment, Doppler measurements were repeated in both groups. All patients received betametasone (12 mg by 2 days) to promote fetal lung maturation. Preeclamptic patients of control group (group B) did not receive any treatment before measurements of Doppler velocimetry. There were also made measurements of interleukin 10, tumor necrosis factor alpha, interferon gamma, interleukin 6, C-reactive protein, selectins (P, E and L) asymmetric dimethylarginine, nitrate / nitrite and tiobarbitúrico acid reactive substance.

RESULTS.

There were not found significant differences between both groups related to maternal age and gestational age between preeclamptic patients and normotensive pregnant women ($p = ns$). There were found differences systolic and diastolic blood pressure in blood pressure ($P \leq 0.05$). Pulsatility index, resistance index and systolic / diastolic ratio of uterine artery, umbilical artery, fetal renal artery and hepatic renal artery were higher in preeclamptic patients, while these three parameters were lower for middle cerebral artery compared with normotensive pregnant women ($p > 0,05$). There was observed that preeclamptic patients has higher concentrations of tumour necrosis

factor alpha, interferon gamma, interleukin 6, C-reactive protein, asymmetric dimethylarginine and selectin P and E, and lower values of interleukin 10 and selectin L than normotensive pregnant women ($p < 0.05$).

After use of nitroglycerin patches, there was observed a significant reduction in pulsatility index, resistance index and systolic / diastolic ratio of uterine artery at 24 and 48 hours ($p < 0.05$). There were not found significant changes in these parameters in all other arteries ($p = ns$). Also, There were not found significant difference in concentrations of interleukin 10, tumor necrosis factor alpha, interferon gamma, interleukin 6, C-reactive protein, selectins (P, E and L) asymmetric dimethylarginine after the use of nitroglycerin ($p = ns$). Plasma concentrations of nitrate /nitrite concentrations were higher and thiobarbituric acid reactive substance were lower after 48 hours of use of nitroglycerin ($p < 0,05$).

There were not found significant differences between both groups in Apgar score, umbilical artery pH and hearth rate in newborn of both groups ($p = ns$). Newborns from preeclamptic patients who did not receive nitroglycerin patches had 5 major perinatal complications (12,5%) compared with 1 newborn (2,5%) with a major complication in the group of treated patients, but this difference was consider not significant ($p = ns$).

The main adverse effect in both groups was headache. Eighteen patients in group treated and 8 patients in group untreated refered its presences ($p < 0.05$).

CONCLUSIONS.

- * Preeclamptic patients have significant higher values of Doppler velocimetry of uterine, umbilical, fetal renal and fetal hepatic artery and lower values of fetal cerebral middle artery than normotensive pregnant women.
- * Patients with diagnosis of preeclampsia have higher values of interleukins, inflammation and endothelial dysfunction markers (excepting interleukin 10 and selectin L) than normotensive pregnant women.
- * Nitroglycerin patches produced a significant reduction in pulsatility index, resistance index and systolic / diastolic ratio of uterine arteries, without producing significant changes in umbilical artery, fetal middle cerebral artery, fetal renal artery and hepatic renal artery.

* Treatment with nitroglycerin patches did not affect modifications in serum concentrations of inflammation and endothelial dysfunction markers.

* The use of nitroglycerin patches did not modify significantly neonatal variables, development of perinatal complications and mortality. However, there is a clinical reduction in the incidence of complications and perinatal mortality in treated preeclamptic patients.

* Nitroglycerin patches is associated with a higher frequency of headache.

KEYWORDS: Preeclampsia, Doppler ultrasound, Velocimetry, Nitroglycerin patches, Inflammation.

ABREVIATURAS

AED = ausencia de la onda diastólica.

ARED = inversión de la onda diastólica.

eNOS = óxido nítrico sintetasa endotelial.

FNT- α = Factor de necrosis tumoral alfa.

HELLP = hemólisis, alteración de las enzimas y trombocitopenia.

INF- γ = Interferón gamma.

IL = interleuquina.

iNOS = óxido nítrico sintetasa calcio independiente.

IP = índice de pulsatilidad.

IR = índice de resistencia.

nNOS = óxido nítrico sintetasa neural.

NOS = óxido nítrico sintetasa.

ON = óxido nítrico

PCR = Proteína C reactiva.

rS/D = relación de flujo sistólico / diastólica.

ÍNDICE

	Página
Agradecimiento	
Dedicatoria	
Abstract	
Abreviaturas	
INTRODUCCIÓN.	24
Irrigación sanguínea fetal.	26
Ecografía Doppler.	28
Estados patológicos y mediciones ecográficas Doppler.	36
Síndrome de hipertensión inducida por el embarazo.	40
Óxido nítrico y efectos vasculares.	45
Marcadores de inflamación y disfunción endotelial.	47
Nitroglicerina.	52
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.	55
MATERIALES Y MÉTODOS.	59
Selección de los sujetos de estudio.	60
Técnica de medición Doppler.	61
Mediciones de indicadores de inflamación y disfunción endotelial.	62
Evaluación de las variables neonatales y complicaciones perinatales.	63
Análisis de datos.	64
RESULTADOS.	65
Características generales, ecográficas y de laboratorio de las preeclámpticas y las embarazadas controles.	66
Indicadores de inflamación y disfunción endotelial.	67
Características iniciales de las preeclámpticas.	79
Evaluación Doppler.	79
indicadores de inflamación y disfunción endotelial.	79
Efecto de la nitroglicerina en preeclámpticas.	84
Evaluación Doppler.	84
Indicadores de inflamación y disfunción endotelial.	85

Resultante neonatal.	85
Complicaciones perinatales.	86
Efectos adversos.	86
DISCUSIÓN.	98
Evaluación Doppler de las arterias uterinas, umbilical y cerebral media fetal y efectos de los parches de nitroglicerina.	99
Evaluación Doppler de las arterias renales fetal y efectos de los parches de nitroglicerina.	104
Evaluación Doppler de la arteria hepática fetal y efectos de los parches de nitroglicerina.	106
Relación de flujo sanguíneo Doppler de los diferentes terrenos vasculares fetales.	108
Nitrito / nitrito y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico.	110
Indicadores de inflamación y disfunción endotelial	111
Interleuquina 10.	111
Factor de necrosis tumoral alfa.	114
Interleuquina 6.	116
Interferón gamma.	118
Proteína C reactiva.	119
Selectinas.	122
Dimetilarginina asimétrica.	124
Efectos de la nitroglicerina sobre indicadores de inflamación y disfunción endotelial de inflamación vascular.	125
Resultante neonatal.	127
Complicaciones y mortalidad perinatal.	129
Efectos adversos.	130
CONCLUSIONES.	132
BIBLIOGRAFÍA.	135

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA		Página
1	<i>Características generales de las preeclámpticas y las embarazadas normotensas.</i>	69
2	<i>Promedio de las determinaciones hemodinámicas en las diferentes arterias en las preeclámpticas y las embarazadas normotensas.</i>	70
3	<i>Promedio de las determinaciones hemodinámicas arterias renales y hepática fetal en las preeclámpticas y las embarazadas normotensas.</i>	71
4	<i>Concentraciones plasmáticas de biomarcadores en las preeclámpticas y las embarazadas normotensas.</i>	72
5	<i>Concentraciones de nitrato / nitrito y sustancias reactivas al ácido barbitúrico en las preeclámpticas y las embarazadas normotensas.</i>	73
6	<i>Características generales de las preeclámpticas tratadas o no con parches de nitroglicerina.</i>	80
7	<i>Promedio de las determinaciones hemodinámicas en las diferentes arterias en preeclámpticas tratadas o no con parches de nitroglicerina.</i>	81
8	<i>Promedio de las determinaciones hemodinámicas arterias renales y hepática fetal en preeclámpticas tratadas o no con parches de nitroglicerina.</i>	82
9	<i>Relaciones de flujo sanguíneo doppler en preeclámpticas tratadas o no con parches de nitroglicerina.</i>	82
10	<i>Concentraciones plasmáticas de biomarcadores en preeclámpticas tratadas o no con parches de nitroglicerina.</i>	83
11	<i>Concentraciones de nitrato / nitrito y sustancias reactivas al ácido barbitúrico en preeclámpticas tratadas o no con parches de nitroglicerina.</i>	83
12	<i>Promedio de las mediciones hemodinámicas en las preeclámpticas de las diferentes arterias antes y después del uso de parches de nitroglicerina.</i>	88
13	<i>Mediciones hemodinámicas en las preeclámpticas de las arterias renal y hepática fetal antes y después del uso de parches de nitroglicerina.</i>	89
14	<i>Relaciones de flujo sanguíneo antes y después del uso de parches de nitroglicerina.</i>	90

15	<i>Valores de presión arterial sistólica y diastólica en preeclámpticas antes y después del uso de parches de nitroglicerina.</i>	90
16	<i>Modificaciones de la concentración de biomarcadores en preeclámpticas antes y después del uso de parches de nitroglicerina.</i>	91
17	<i>Concentraciones de nitrato / nitrito y sustancias reactivas al ácido barbitúrico antes y después del uso de parches de nitroglicerina.</i>	91
18	<i>VARIABLES NEONATALES EN PREECLÁMPTICAS TRATADAS O NO CON PARCHES DE NITROGLICERINA.</i>	92
19	<i>Complicaciones perinatales en preeclámpticas tratadas o no con parches de nitroglicerina.</i>	93
20	<i>Efectos adversos.</i>	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	<i>Promedio de las determinaciones hemodinámicas en las arterias uterinas en los casos y los controles.</i>	74
2	<i>Promedio de las determinaciones hemodinámicas en la arteria umbilical en los casos y los controles.</i>	75
3	<i>Promedio de las determinaciones hemodinámicas en la arteria cerebral media en los casos y los controles.</i>	76
4	<i>Promedio de las determinaciones hemodinámicas en la arterias renales fetales en los casos y los controles.</i>	77
5	<i>Promedio de las determinaciones hemodinámicas en la arterias hepáticas fetales en los casos y los controles.</i>	78
6	<i>Promedio del índice de pulsatilidad en las preeclámpticas de la arteria uterina en las preeclámpticas tratadas y no tratadas antes y después del tratamiento.</i>	93
7	<i>Promedio del índice de resistencia de la arteria uterina en las preeclámpticas tratadas y no tratadas antes y después del tratamiento.</i>	94
8	<i>Promedio de la relación de flujo sistólico / diastólico de la arteria uterina en las preeclámpticas tratadas y no tratadas antes y después del tratamiento.</i>	95
9	<i>Promedio de la presión arterial sistólica en las preeclámpticas tratadas y no tratadas antes y después del tratamiento.</i>	96
10	<i>Promedio de la presión arterial diastólica en las preeclámpticas tratadas y no tratadas antes y después del tratamiento.</i>	97

INTRODUCCIÓN

La hipertensión es común durante el embarazo, cerca del 10% de las embarazadas tienen un aumento de la presión arterial en cualquier momento del embarazo. Los desórdenes hipertensivos del embarazo incluyen un espectro de condiciones que generalmente se clasifican en cuatro categorías: 1) hipertensión gestacional, aumento de la presión arterial en la segunda mitad del embarazo; 2) preeclampsia, presencia de hipertensión acompañada de proteinuria durante la segunda mitad del embarazo; 3) hipertensión crónica, aumento de la presión arterial antes del embarazo o de las 20 semanas de gestación y 4) hipertensión crónica con preeclampsia sobreagregada (**Gifford, 2000**). Para las embarazadas con hipertensión leve o moderada sin complicaciones, la resultante perinatal es similar al de las embarazadas con presión arterial normal. El pronóstico perinatal empeora una vez que la presión arterial se vuelve más alta.

La preeclampsia es un desorden multisistémico, que involucra al hígado, los riñones, el cerebro y la placenta. Afecta del 2 al 8% de los embarazos (**Organización Mundial de la Salud, 2008**), y está asociado con un incremento substancial de la morbimortalidad, tanto materna como fetal (**Morris, 2005**). Las complicaciones para la madre pueden incluir eclampsia, enfermedad cerebrovascular, insuficiencia renal o hepática y alteraciones de la coagulación. Y las complicaciones del feto incluyen restricción del crecimiento intrauterino y parto pretérmino.

La causa de la preeclampsia es desconocida, pero existen teorías que proponen que el origen es la disminución del flujo sanguíneo hacia la placenta que lleva a disfunción de las células endoteliales, posiblemente como resultado del estrés oxidativo (**Gómez, 2005**). La disfunción endotelial provoca vasoconstricción generalizada, activación plaquetaria, trombosis y disminución del volumen plasmático, con posterior reducción del flujo sanguíneo a múltiples órganos (**Papageorghiou, 2005**).

El principal hallazgo fisiopatológico de la preeclampsia es la alteración de la vasodilatación de los vasos maternos, mediado por diferentes compuestos que se producen en el endotelio. El óxido nítrico (ON) es un potente vasodilatador e inhibidor de la agregación plaquetaria (**Moncada, 1993**). En el embarazo, el ON es sintetizado

por varios tejidos útero-placentarios y en las células endoteliales de los vasos umbilicales (**Myatt, 1993; Orpana, 1996**), una síntesis que puede contribuir a la baja resistencia del flujo sanguíneo en la circulación uterina y fetoplacentaria (**Learmont, 1996**).

El ON es producido por las líneas celulares endoteliales de los vasos, a partir del aminoácido L-arginina, por acción de un grupo de enzimas llamadas ON sintetasa (NOS). Inmediatamente difunden a través de las células musculares lisas adyacentes e incrementa al segundo mensajero, guanosinmonofosfato cíclico, produciendo relajación del músculo liso. El ON promueve la vasodilatación (**Moncada, 1991**) y reduce los efectos de la vasoconstricción (**Myatt, 2002**). También inhibe la agregación plaquetaria y la adhesión a las superficies endoteliales vasculares, limita la formación de trombos (**Radomski, 1987**), modifica la expresión de las citoquinas inflamatorias e inhibe la interacción entre las células endoteliales e inmunes (**Kubes, 1991; De Caterina, 1995**).

Se ha encontrado una disminución de las concentraciones de L-arginina (**Noris, 2004**) y de la actividad de la NOS (**Noris, 2005**) en la placenta de las preeclámpticas. Y la estimulación in vitro de la NOS de los vasos umbilicales produce una menor producción de ON comparado con embarazadas normales (**Pinto, 1991**). Sin embargo, otros investigadores han encontrado incrementos en la expresión placentaria de la enzima (**Shaamash, 2001; Ferrazi, 2002**) e incremento de las concentraciones de ON y sus metabolitos en los vasos umbilicales (**Lyll, 1995; Myatt, 2002; Norris, 2004**). Los datos en roedores muestran que la inhibición crónica de la síntesis de ON lleva hipertensión, retardo del crecimiento intrauterino y trombocitopenia (**Molnar, 1994; Silver, 2006**), por lo que la deficiencia de la producción de ON puede ser un factor de importancia en la preeclampsia (**Baylis, 1996; Morris, 2005**).

Las determinaciones de la velocimetría vascular útero-placentaria, determinada por el método de ecografía Doppler, está incrementada en la preeclampsia pero no es afectada por el tratamiento antihipertensivo convencional (**Jouppila, 1995**). Algunos datos indican que la administración de nitroglicerina sublingual (**Giles, 1992**) o endovenosa (**Grunenwald, 1995**), un donador de ON, causa vasodilatación en la

circulación umbilical. Más aún la infusión de nitroglicerina intravenosa reduce la resistencia vascular de la arteria uterina en embarazadas normotensas en el primer y segundo trimestre (**Lees, 2003**).

La resistencia de la arteria uterina puede estar incrementada en la preeclampsia, comprometiendo el flujo sanguíneo a la placenta. Algunos estudios han demostrado que la administración de donadores de ON esta asociado con una reducción de la resistencia de la arteria uterina en preeclámpicas (**Thaler, 1999; Lees, 2003**). Aunque estas observaciones no han sido confirmadas en todos los reportes (**Grunenwald, 1995; Makino, 1997**), esto ha llevado a sugerir que el ON puede tener un papel importante en el tratamiento de la preeclampsia.

Las drogas que pueden ser convertidas por el organismo en ON (conocidas como donantes de ON), están ampliamente disponibles y han sido utilizadas por años como agentes terapéuticos en enfermedades cardiovasculares como angina e hipertensión (**Makino, 1997**). Estos pueden ser administrados por diferentes vías como tabletas orales o sublinguales, aerosoles debajo de la lengua, parches transdérmicos o infusión endovenosa. Se puede desarrollar tolerancia rápidamente, con disminución de los efectos terapéuticos, pero esto se minimiza con una administración intermitente y cuidadosa. Los efectos adversos comunes incluyen cefalea, calorones, hipotensión postural e irritación local con los parches (**Meher, 2007**).

La administración de nitroglicerina puede, por lo menos en teoría, ser beneficiosa en las pacientes con preeclampsia. Debido a su rápida oxigenación, la nitroglicerina debe ser administrada continuamente (**Cacciatore, 1998**) y para cumplir este propósito los parches de liberación de nitroglicerina pueden ser convenientes ya que liberan el medicamento por periodos hasta de 24 horas, y en las embarazadas estos pueden ser mas útiles debido a que aparentemente son bien tolerados y no producen efectos adversos (**Lees, 2003**).

IRRIGACIÓN SANGUÍNEA FETAL

El feto obtiene el oxígeno a partir de la placenta y a través de la vena umbilical.

Este volumen de oxígeno debe ser distribuido de manera óptima a los órganos que requieren mayor aporte como son el corazón y el cerebro. Para lograr esto, el feto cuenta con cuatro shunts fisiológicos (ductus venoso, foramen oval, ductus arterioso y arteria umbilical) que permiten que la sangre con una concentración más alta de oxígeno llegue rápidamente a su destino y que, a nivel placentario se dé un intercambio adecuado de nutrientes y fluidos (**Divon, 2002; Harman, 2003; Kiserud, 2005; Baschat, 2006**).

Inicialmente, la sangre altamente oxigenada ingresa al feto por la vena umbilical, de allí, el torrente sanguíneo que viene por este vaso toma dos rutas: la vena hepática izquierda (que lleva los nutrientes al hígado) o el ductus venoso (que se une a la vena cava inferior). El ductus venoso es una estructura vascular muy pequeña (aproximadamente 2 mm a las 12 semanas de gestación) que por tener un calibre menor que el de la vena umbilical actúa como un acelerador de flujo o jet (similar a lo que sucede al ocluir parcialmente el orificio de una manguera). La sangre altamente oxigenada ingresa a una mayor velocidad a la vena cava y así evita ser mezclada con la sangre poco oxigenada que normalmente transporta este vaso (**Kiserud, 2005**); de la misma manera, esa mayor velocidad del flujo sanguíneo facilita su paso de la aurícula derecha a la aurícula izquierda a través del foramen oval (**Divon, 2002; Baschat, 2006**).

De esta forma, sangre con alto contenido de oxígeno llega de manera expedita al ventrículo izquierdo y a través de la aorta es transportada al corazón (arterias coronarias) y cerebro (tronco braquiocefálico). Sin embargo, no toda la sangre procedente del ducto venoso toma esta ruta. Parte de ese volumen pasa de la aurícula derecha al ventrículo derecho y de allí es eyectado por la arteria pulmonar. Para obviar la circulación pulmonar, poco funcional en el estado fetal, existe un tercer shunt que es el ducto arterioso, que une la arteria pulmonar con la aorta descendente y así facilita que esa sangre sea rápidamente distribuida al resto de la economía corporal.

Finalmente, la sangre con poco contenido de oxígeno es llevada a la placenta a través de la arteria umbilical para que allí se genere un intercambio gaseoso y nutricio. A medida que avanza la gestación, la circulación fetal se hace más parecida a la adulta. De esta manera la circulación pulmonar se vuelve funcional y contribuye,

cada vez en mayor proporción, al llenado del ventrículo izquierdo (**Harman, 2003; Baschat, 2006**).

ECOGRAFÍA DOPPLER

Todos los tipos de Doppler pueden ser empleados en obstetricia: el Doppler continuo, Doppler pulsado, el color y el power Doppler. El Doppler continuo es usado para el estudio de los tractos vasculares fijos. Su empleo en obstetricia en la actualidad es muy limitado (**Makikallio, 2000**). El Doppler pulsado permite muestrear con buena precisión el tracto vascular preseleccionado, permitiendo la contemporánea vascularización de la señal bidimensional y del espectro Doppler (**Deane, 2000**).

El Doppler color facilita la localización de las zonas vasculares a estudiar y permite un posicionamiento más exacto que la ventana del Doppler pulsado; por último, permite obtener un mapa de la red arterio-venosa de la zona anatómica en examen y poner en evidencia eventuales turbulencias de la circulación (**Deane, 2000 Joern, 2000**). El examen flujométrico permite una valoración cualitativa de la circulación pero no ofrece confiabilidad alguna en el cálculo del caudal hemático; en efecto, los vasos fetales, al ser de pequeño calibre, no son fáciles de medir desde el punto de vista ecográfico y por tanto hacen que la valoración del caudal sea sólo aproximada (**Karlsson, 2000**).

En cambio, la forma de la onda flujométrica Doppler está relacionada con los siguientes factores: compliance vascular, calibre del vaso, resistencias vasculares distales, fuerza contráctil cardíaca y distancia del corazón (**Karlsson, 2000**). La viscosidad hemática y la turbulencia influyen relativamente en el espectrograma Doppler. Se ha demostrado en animales que la morfología de la onda flujométrica depende principalmente de las resistencias que en su conjunto están presentes en la base del tracto estudiado (**Deane, 2000 Joern, 2000**).

Los índices de medición mayormente utilizados son:

a) Velocidad de pico sistólico.

- b) Velocidad de pico diastólico.
- c) Velocidad media.
- d) Relación sistólica / diastólica.
- e) Índice de resistencia.
- f) Índice de pulsatilidad.
- g) Tiempo de aceleración = tiempo de ascenso al pico sistólico.

El índice más usado en obstetricia es el índice de pulsatilidad (IP), porque es el menos influido por el ángulo de incidencia (**Berry, 2000**). Este permite extrapolar un valor de resistencia también en ausencia de señal diastólica, cuando el valor de IR es 1 y el valor de rS/D es infinito.

Ecografía Doppler de la arteria uterina

El útero es irrigado por la arteria uterina, derecha e izquierda, rama de la arteria ilíaca interna. Además de las ramas que irrigan el cuerpo del útero, la arteria uterina alimenta una rama cervico-vaginal que se distribuye al cuello del útero y a la pared anterior de la vagina, una rama tubárica que vasculariza la porción medial de la trompa y una rama ovárica que siguiendo el ligamento útero-ovárico, se empalma completamente con la arteria ovárica (**Rotmensch, 1999; Luzi, 1999**).

La invasión trofoblástica de la pared uterina tiene lugar en dos tiempos. La primera vez, durante el primer trimestre de embarazo entre la 6 y la 14 semana, el trofoblasto se extiende hasta el tracto decidual. La segunda invasión tiene lugar en el segundo trimestre, entre la 16 y la 24 semana. En esta época el trofoblasto avanza hasta el tracto miometrial de las arterias espirales. Este proceso, llamado modificación fisiológica, determina la disgregación de la cubierta media músculo-elástica del vaso espiral que se convierte en arteria útero-placentaria, dotada de baja impedancia y de insensibilidad de los estímulos vasomotores (**Rotmensch, 1999; Luzi, 1999**).

La presión sistólica en la desembocadura de las arterias espirales se espera sea

de aproximadamente 25 mm de Hg y, en los espacios intervellosos, a 15-20 mm de Hg, manteniéndose casi invariable hasta las arterias arqueadas. Así en los espacios intervellosos se crean embalses hemáticos de alto caudal y baja resistencia, idóneos para intercambios gaseosos y nutritivos fetales (**Ferrazi, 1999**). El caudal hemático medio en los espacios intervellosos y en las arterias uterinas es de aproximadamente 600 ml/min. Las arterias uterinas, en el embarazo, muestran casi el doble del calibre extra-gravídico, con un progresivo aumento de la velocidad de flujo de 9 a 60 cm/seg.

El estudio flujométrico de la arteria uterina persigue controlar la impedancia del lecho vascular distal a la arteria y por tanto a los espacios intervellosos, valorando cualitativamente la eficacia del proceso de placentación (**Thaler, 1999; Nakatsuka, 1999**). Se prefiere determinar el flujo en las arterias uterinas en lugar que en las ramificaciones internas para mayor facilidad del muestreo, por ser el recorrido de los vasos más rectilíneo y por la mayor exactitud con que reflejan la impedancia vascular distal a éstas (**Thaler, 1999**).

La técnica seguida para la obtención de datos se basa en lograr un rastreo parasagital uterino, con una ligera inclinación inferior y mediana hasta evidenciar el aparente cruce entre la arteria uterina y la ilíaca externa (**Mires, 1998**). La sede del muestreo está aproximadamente a 1 centímetro por encima de este cruce. La adopción del color Doppler facilita notablemente la apreciación del vaso y el correcto posicionamiento del "gate" Doppler (**Mires, 1998; Lees, 1998**). El ángulo de emisión del ultrasonido debe ser inferior a 30° (**Lees, 1998**). La medición presenta una buena reproducibilidad tanto intra como interoperador (**Mires, 1998**).

Se adopta preferiblemente el índice de resistencia (IR). La decisión de tomar este índice está relacionada con la constante presencia de un flujo diastólico. Se valora la resistencia de las dos ramas uterinas en su conjunto; la localizada en la proximidad de la inserción placentaria presenta menores resistencias (**Cacciatore, 1998**). La circulación en los espacios intervellosos es tributaria de ambas ramas por lo cual es fundamental el muestreo bilateral y el cálculo del valor medio del IR (**van Splunder, 1997**).

Además de la valoración del gradiente de velocidad sistó-diastólica es importante

la observación de la morfología de la onda flujométrica (**Kurjak, 1997**). La presencia de una incisura protodiastólica bilateral en un examen practicado después de la 24 semana de embarazo, constituye un indicio de invasión trofoblástica incompleta de la pared de los vasos espirales y/o de escasa difusión superficial del proceso de placentación, indica pues una reducida compliance de la circulación útero-placentaria y en los espacios intervelllosos (**Sherer, 1997; Dubiel, 1997**).

El examen Doppler debe ser realizado en condiciones de reposo materno, en ausencia de contracciones uterinas y en ligero decúbito lateral (**Dubiel, 1997**). Si no se respetan estas condiciones se puede determinar un incremento de la impedancia vascular debido a la compresión de los vasos miometriales (arterias arqueadas, radiales y espirales).

En el embarazo fisiológico se está en presencia de un progresivo incremento de las velocidades diastólicas que, en torno a la 24 semana, alcanzan casi el 50% de los valores sistólicos (**Hecher, 1997**). Esta progresión es proporcional a la evolución cuantitativa y cualitativa de la invasión trofoblástica. El IR medio, entre la 20 y la 24 semanas, se estabiliza en valores inferiores a 0,63. La presencia de una incisura protodiastólica monolateral del lado opuesto a la inserción placentaria es un hallazgo frecuente irrelevante desde el punto de vista clásico, por eso es definida arteria uterina placentaria la más cercana a la inserción placentaria (**Giles, 1997**). De modo análogo se define arteria uterina no placentaria la más distante a la inserción placentaria (**Hecher, 1997**).

En la preeclampsia y en parte en el retardo del crecimiento fetal las modificaciones fisiológicas a cargo de los vasos espirales se limitan al tracto intradecidual e interesan un menor por ciento de vasos (**Kohl, 1996; Giles, 1997**). Esta condición se relaciona con una elevada impedancia del lecho útero-placentario que puede ser observada mediante el estudio flujométrico uterino. IR uterina elevados y reducida compliance de la circulación útero-placentaria determinan un mayor riesgo de preeclampsia, de restricción del crecimiento intrauterino y de resultados neonatales desfavorable (**Challis, 1995**).

En numerosos estudios, la predictividad de la flujometría uterina para el

restricción del crecimiento intrauterino y la preeclampsia se ha presentada en extremo variable (**Newnham, 1995; Hall, 2000**). La discordancia en los índices de predictividad, a partir de diferentes experiencias, está relacionada también con la inconformidad de los protocolos de estudio adoptados (vasos indagados, sede del muestreo, técnicas de registro con Doppler pulsado, Doppler continuo, Color / Doppler pulsado, valores de corte) (**Talbert, 1995**).

Un estudio efectuado en población fuera de riesgo, considerando patológico el valor medio de IR uterino superior a 0,63 y / o la presencia de incisura bilateral en la 24 semana, ha mostrado un valor predictivo positivo (VPP) del 35% y una sensibilidad del 94% ante la preeclampsia (**van den Elzen, 1995**). Otros estudios han mostrado una predictividad positiva para la preeclampsia variable entre el 10 y el 45% (**Karsdorp, 1994**). Existe consenso al considerar que la incisura protodiastólica bilateral es el signo predictivo más preciso para la la preeclampsia (**Bahado, 2000**). Factores diversos al vascular contribuyen a la génesis de la preeclampsia y de la restricción del crecimiento, por lo cual la integración de la flujometría con otros métodos de investigación puede aumentar la predictividad diagnóstica en este tipo de patologías (**Karsdorp, 1994**).

En un reciente estudio, la asociación de valores de presión maternos elevados (obtenidos mediante Holter de 24 horas) al Doppler uterino desfavorable (IR medio elevado + incisura bilateral) aumentaba la predictividad positiva del test a más del 50% (**Kurjak, 1994**). Aun sin proponerla como método de pesquisa de masa, la flujometría uterina es útil para identificar, en una población de embarazadas a bajo riesgo, el subgrupo a riesgo en el cual se deba intensificar la vigilancia materno-fetal y practicar eventuales tratamientos preventivos (**Pattinson, 1994**). Los índices comúnmente utilizados son la rS/D y sobre todo, el IP; en efecto, éste puede darnos un valor de resistencia también en caso de ausencia de la fase diastólica (**Omtzigt, 1994**).

Ecografía Doppler de la arteria umbilical

La arteria umbilical es el reflejo de la circulación placentaria y como tal presenta patrones de flujo similares a los de la arteria uterina y contrarios a los de la arteria cerebral media. Normalmente, la umbilical presenta una morfología de alto flujo y baja

impedancia, no obstante, ante la presencia de obstrucción vascular a nivel placentario estos patrones comienzan a presentar cambios patológicos. Durante el embarazo se observa un aumento progresivo de las velocidades diastólicas en la arteria umbilical, sincrónico con los procesos de maduración de la vellosidad terciaria que implican la expansión fisiológica del lecho vascular y la caída de las resistencias (**Marsal, 1994**). Un estudio comparativo, flujométrico y anátomo-patológico, ha relacionado bien los valores de resistencia en la arteria umbilical la porcentual de arteriolas presentes en la vellosidad terciaria (**Hall, 2000**).

En el embarazo inicial, hasta las 10 -11 semanas, hay ausencia constante de flujo diastólico (**Owen, 1993**). En lo sucesivo, se aprecia la aparición progresiva de las velocidades diastólicas hasta que, en la 15 semana, el 100% de los fetos presenta este componente (**Viinikka, 1993**). Los valores del IP decrecen significativamente hasta la 26 semana (IP medio: 1,54) para presentar luego una reducción más lenta hasta el término (IP medio en la 34 semana: 0,95. IP medio en la 40 semana: 0,91). Este proceso se relaciona fielmente con la intensa proliferación vascular de la I y II fases de invasión trofoblástica que termina en las 24-26 semanas.

Las mediciones se realizan en ausencia de movimientos activos o respiratorios fetales, y en posición materna de ligero decúbito lateral izquierdo; en efecto, la posición materna supina puede determinar compresión de la vena cava con estasis venosa intervellosa que se traduce en un incremento del conjunto de resistencias placentarias (**Battaglia, 1993**). Leves modificaciones de la presión arterial materna no influyen significativamente en los valores de IR de la arteria umbilical (**Sohn, 1993**). También las variaciones de la viscosidad hemática tienen poca repercusión sobre la impedancia vascular. La reducción del líquido amniótico puede causar aumento de las resistencias umbilicales por compresión sobre el cordón (**Karlsson, 2000**).

El incremento de las resistencias umbilicales respecto a los valores medios para la época indica la existencia de relevantes alteraciones anátomo-funcionales en la circulación placentaria (**Rotmensch, 1999; Joern, 2000**). Estudios realizados con animales han demostrado que es necesaria la obliteración de más del 50% de los vasos placentarios para determinar un aumento significativo del IP en la arteria umbilical (**Cacciatore, 1998**). En presencia de una alterada circulación

útero-placentaria, debido al reducido aporte de sustancias nutrientes, se puede instaurar un hipodesarrollo fetal asimétrico. Si esta condición induce también hipoxia crónica, se puede observar un incremento significativo de las resistencias umbilicales (**Joern, 2000**).

El aumento de los valores de IP en la arteria umbilical que se puede encontrar en fetos con restricción del crecimiento intrauterino asimétrico, refleja tanto el aumento de las resistencias placentarias, como la constricción periférica de los vasos fetales inducida por la hipoxia y mediata de las catecolaminas (**Giles, 1997, Joern, 2000**). En los embarazos complicados por diabetes se puede observar un incremento del IP umbilical en medida proporcional al grado de vasculopatía arteriolar de la vellosidad terciaria. En este caso, el aumento del IP umbilical refleja exclusivamente las alteraciones anatómo-patológicas placentarias y por tanto resulta independiente de la acción de las sustancias vasoactivas (**Joern, 2000**).

En caso de insuficiencia placentaria progresiva se puede llegar al anulamiento del flujo diastólico umbilical (AED = ausencia de la onda diastólica), o al flujo diastólico invertido (ARED = inversión de la onda diastólica). Varios autores han evidenciado porcentuales de complicaciones neonatales en presencia de AED, con una mortalidad perinatal general de aproximadamente del 36% (**Luzi, 1999; Ferrazi, 1999**). La asociación con la acidosis fetal es extremadamente variable a causa de la diversidad de los métodos de valoración adoptados: se estima una porcentual general del 50% (**Ferrazi, 1999**). En presencia de restricción del crecimiento intrauterino asimétrico fetal, el incremento inicial de las resistencias umbilicales está precedido de vasodilatación de la circulación cerebral. Este mecanismo, mediato por la hipoxia, se denomina "brain sparing effect" y persigue proteger el tejido cerebral y miocárdico fetal mediante la vasodilatación de la zona (**Berry, 2000**).

Este estado de compensación puede persistir por un tiempo indeterminado, también en presencia de AED umbilical, sin inducir significativas alteraciones neuro-comportamentales postnatales, hasta el momento en que se manifiestan signos de descompensación cardíaca (incremento significativo del índice de precarga del conducto venoso, pulsaciones en vena umbilical). El intervalo de tiempo existente entre la desaparición del flujo diastólico en arteria umbilical y el desarrollo de grave

sufrimiento fetal es variable, con una media de aproximadamente siete días (**Joern, 2000**).

A la luz de estas consideraciones y por su facilidad de muestreo, el estudio flujométrico de la arteria umbilical se presta bien para una aplicación de rutina en el tercer trimestre (**Berry, 2000**). Aun mostrando escaso valor predictivo de restricción del crecimiento intrauterino y complicaciones neonatales en fetos con crecimiento normal, la flujometría umbilical integrada a la cerebral, aórtica y venosa, permite un adecuado manejo materno-fetal en caso de retardo del crecimiento asimétrico, con impacto significativo en la resultante neonatal (**Talbert, 1995**).

Las arterias umbilicales reflejan las resistencias placentarias. No existen diferencias significativas entre ambas arterias en la medida en que ambas son tributarias de las amplias anastómosis placentarias existentes entre las dos ramas (**Liuzzi, 2000**). En cambio, existen sensibles diferencias entre las mediciones realizadas a nivel fetal o placentario. La parte intra-abdominal del cordón está ricamente cubierta de nervios y su impedancia está ligada tanto al círculo útero-placentario distal, como a las variaciones del tono neuro-vascular fetal (**Pattison, 1994**). Por lo tanto la sede del muestreo debe estar localizada en el tracto libre del cordón, tratando de obtener ángulos $< 60^\circ$ (**Marsal, 1994**).

En los embarazos gemelares en que pueda ser difícil distinguir los cordones es preferible valorar la impedancia de la arteria umbilical en el tracto proximal fetal, con el fin de no realizar dos veces la flujometría umbilical del mismo feto, pasando por alto la del otro (**Karsdorp, 1994**). La arteria umbilical es el vaso más fácil de investigar, con buena reproducibilidad inter e intraoperador, por lo tanto es el vaso utilizado para valorar la funcionalidad placentaria (**Nakatsuka, 1999**). Se utiliza el Doppler pulsado o el Doppler color / Doppler pulsado para un registro más veloz, poniendo el volumen de la muestra en el centro del lumen vascular (**Nakatsuka, 1999; Mires, 1998**).

El posicionamiento ideal es entre la arteria y la vena, para obtener el registro contemporáneo del flujo venoso umbilical que debe ser de tipo continuo (**Mires, 1998**). También para la arteria umbilical la valoración es de tipo cualitativo, porque el cálculo exacto del caudal está obstaculizado por el recorrido helicoidal del cordón y por la difícil

alineación del haz Doppler con el eje del vaso (**Nakatsuka, 1999**).

Ecografía Doppler de la arteria cerebral media fetal

Al contrario de lo descrito para la arteria uterina y la umbilical, el patrón de flujo normal en la arteria cerebral media fetal es de alta resistencia y bajos volúmenes diastólicos, de allí se deduce entonces que en caso de alteración los índices son anormalmente bajos. La arteria cerebral media es rama directa de la carótida interna y es el vaso que ofrece mayor aporte sanguíneo al tejido encefálico. Es posible valorar la hemodinámica cerebral con mayor precisión y reproducibilidad a través del muestreo de la arteria cerebral media (Bahado, 2000).

En un rastreo transverso de la cabeza fetal, ésta se presenta en su recorrido longitudinal al nivel de la fisura de Silvio y puede ser estudiada con ángulo de emisión de ultrasonido cercano a 0° (Rotmensch, 1999; Bahado, 2000). Esto permite una medición exacta de la velocidad sistólica y diastólica, con elevada reproducibilidad. Se valora la excursión sisto-diastólica; el IR más adoptado es el IP (Rotmensch, 1999).

Ecografía Doppler de las arterias renales fetales

El IR de la arteria renal fetal disminuye en forma moderada durante el tercer trimestre del embarazo normal, posiblemente relacionado al incremento del flujo sanguíneo de la circulación renal. Además el incremento de la resistencia vascular en las extremidades inferiores está asociado con disminución de la resistencia vascular de la arteria umbilical (**Surányi, 2000**). Aunque las mediciones de los índices Doppler de la arteria renal han sido investigadas en fetos normales y con restricción del crecimiento intrauterino (**Vyas, 1989; Hecher, 1989; Baschat, 2000; Romero, 2009**), existen pocos datos con respecto a su relación con otros vasos fetales en preeclámpticas.

Ecografía Doppler de la arteria hepática fetal

El hígado tiene un papel preponderante en el crecimiento fetal, lo cual ha sido demostrado por estudios experimentales en los cuales se han demostrado incremento de la perfusión hepática, produciendo una proliferación de los hepatocitos fetales (**Tchirikov, 2002**), mayor expresión de los factores de crecimiento similar a la insulina e incremento del peso fetal (**Tchirikov, 2001**). Un estudio en fetos humanos al final de embarazo sugiere que la composición corporal materna y la dieta pueden modificar la distribución del flujo sanguíneo al hígado fetal (**Haugen, 2005**).

Aunque la arteria hepática tiene una modesta contribución al flujo sanguíneo hepático, esta juega un importante papel para mantener la perfusión hepática postnatal (**Yokoyama, 2006**). La contribución de flujo sanguíneo de la arteria hepática a la circulación del hígado, según estudios animales, es menor del 10% (**Pennati, 2003**). Una reducción en la perfusión hepática portal produciría un incremento en las concentraciones de adenosina, lo cual produce una reducción instantánea de la impedancia arterial, aún durante la vasoconstricción esplácnica generalizada posterior a hipovolemia (**Richter, 2001**). No se conoce si este mecanismo opera durante la etapa prenatal pero las mediciones Doppler en fetos con restricción del crecimiento sugieren que puede existir una respuesta similar (**Dubiel, 2001**).

ESTADOS PATOLÓGICOS Y MEDICIONES ECOGRÁFICAS DOPPLER

En el primer trimestre de embarazo y en las fases iniciales del segundo trimestre, a causa de la reducida masa cerebral, se observa flujo con alta resistencia, con ausencia del componente diastólico (**Bahado, 2000**). A partir de la 28 - 30 semana siempre es apreciable la velocidad diastólica y el IP presenta valor medio más bien constante hasta la 32 semana (IP medio: 1,85), para decrecer después hasta el término. (IP medio a la 40 semana: 1,6) (**Cacciatore, 1999**).

La actividad motora fetal y respiratoria determinan un aumento significativo del flujo diastólico con reducción de las resistencias (**Sherer, 1997**). También la presión intrauterina influye en los flujos cerebrales: ya la compresión de la cabeza fetal, sólo ad

opera de la sonda ecográfica, puede determinar aumento de las resistencias hasta la desaparición o la inversión del flujo diastólico (**Sherer, 1997; Dubiel, 1997**). Por el contrario, en caso de extremo empeño de la cabeza fetal al término del embarazo, el efecto vagal puede inducir vasodilatación e incremento del flujo diastólico (**Sohn, 1993**). Este último fenómeno hace que sea inútil el estudio flujométrico cerebral en trabajo de parto (**Viinikka, 1993**). Por lo tanto es fundamental que el registro de los flujos cerebrales se efectúe en condición de quietud fetal, evitando ejercer presión excesiva con la sonda ecográfica y en ausencia de empeño de la cabeza fetal (**Thaler, 1999**).

En caso de hipoxia, al incremento de las resistencias esplánicas y umbilicales se asocia una reducción de las cerebrales y coronarias, dando lugar al "brain sparing effect" que tiende a preservar el tejido cerebral y miocárdico del reducido aporte de oxígeno (**Thaler, 1999**). En la fase inicial de hipoxia existe una correlación directa entre presión parcial de oxígeno e IP de la arteria cerebral media: se observa un IR más bajo para niveles de oxígeno inferiores (**Lees, 1998**).

La persistencia de la causa hipóxica comporta una ulterior vasodilatación con progresivo aumento del flujo cerebral, que identifica una condición de compensación fetal hipóxica todavía no acidémica (**Zelop, 1996; van Splunder, 1997**). De todos modos, para grados avanzados de hipoxia, se pierde la compensación y se instaura un estado acidótico con isquemia y edema cerebral, compresión extrínseca sobre los vasos cerebrales e incremento de los IR (**van Splunder, 1997**).

En el feto restricción del crecimiento intrauterino por insuficiencia placentaria es fundamental el monitoreo progresivo de las resistencias cerebrales en la medida en que un eventual restablecimiento de la impedancia normal después de una fase inicial de evidente compensación dilatadora es un grave signo de isquemia, de edema y posible daño neurológico (**Kohl, 1996**). La condición de centralización de la circulación "brain sparing effect" puesta en función por algunos fetos restricción constituye un mecanismo de compensación respecto a la hipoxia inicial (**Makikallio, 2000**).

Este mecanismo, caracterizado por aumento de las resistencias aórticas y de los vasos esplánicos y la reducción de las resistencias cardíacas y cerebrales, permite al feto proteger de la hipoxia los parénquimas nobles (**Bahado, 2000**). Al nivel cardíaco,

la condición de centralización de la circulación determina aumento de la frecuencia cardíaca y del volumen de sangre expulsado en sístole, con modificación del flujo de salida aórtico y pulmonar.

La aorta, que alimenta prevalentemente la circulación cardíaca y cerebral, muestra una reducción de la velocidad de pico y un aumento del tiempo para alcanzarla. También en la arteria pulmonar, que alimenta prevalentemente la zona esplánica, se verifica una reducción de la velocidad de pico y aumento del tiempo para alcanzarla (**Bahado, 2000**). En realidad, debido a la presencia de respuestas quemorreceptoriales múltiples y por la diversa capacidad de adaptación fetal, las modificaciones de la frecuencia y de la hemodinámica cardíaca no siempre están presentes en las fases de hipoxia inicial (**Hecher, 1997**).

Entre los fetos restricción del crecimiento intrauterino con centralización de la circulación se selecciona un cierto número que, debido a que la hipoxia va aumentando su gravedad, puede evolucionar hacia una fase de descompensación hemodinámica y de acidosis (**Newnham, 1995**). Los cambios hemodinámicos que caracterizan esta fase se expresan con un marcado aumento de las resistencias periféricas que determinan reducción y sucesiva desaparición del componente diastólico de la onda flujométrica de la aorta y de la arteria umbilical (**Hecher, 1997**). En esta fase de descompensación se manifiestan por lo general las modificaciones hemodinámicas cardíacas expresadas anteriormente (**Bahado, 2000**).

Después de la fase inicial de taquicardia, después de la reducida oxigenación de los miocardiocitos, tiene lugar la reducción de la frecuencia cardíaca (**van Splunder, 1997**). Debido a las características anatómico-funcionales del corazón fetal, a la reducida oxigenación y al excesivo aumento de las resistencias periféricas, se observa reducción de la compliance cardíaca (**Hall, 2000**). Esta se caracteriza por el aumento progresivo del residuo diastólico ventricular con reducción del volumen sistólico y disminución de la PV aórtica y pulmonar (**Ferrazi, 1999**).

El evento determina reducción del flujo transvalvular de las válvulas aurículo-ventriculares, tanto durante la diástole ventricular (onda E) como en menor medida durante la contracción auricular (onda A) (**Ferrazi, 1999**). Este último dato es

la reducción de la relación onda E / onda A y de la velocidad de pico, tanto mitral como tricuspídal (**Hall, 2000**). A estos signos se añade la modificación del perfil flujométrico de la vena cava inferior y del conducto venoso, para instaurarse una conspicua regurgitación durante la onda A (**Bahado, 2000**). La aparición de pulsatilidad de la vena umbilical es el último signo que se verifica debido al incremento progresivo de la regurgitación auricular derecha (**Challis, 1996**).

El flujo de sangre a través de la circulación útero-placentaria puede ser estudiado utilizando la ecografía Doppler (**Medina, 2007**). En los embarazos afectados por la preeclampsia, la impedancia del flujo en las arterias uterinas se incrementa antes que se observen los signos clínicos de la enfermedad (**Hung, 1997; Romero, 2001; Papageorghiou, 2002**). Estos hallazgos han sido apoyados por estudios histológicos que demuestran que los IR están relacionados en forma inversa con el porcentaje de vasos sometidos a invasión trofoblástica (**Prefumo, 2004**).

Las mediciones de la velocidad de flujo sanguíneo en las arterias uterina y umbilical pueden revelar de forma exitosa la resistencia vascular de la placenta, la cual es predictiva para las complicaciones del embarazo (**Ghosh, 2006**). En respuesta a la reducción de la perfusión placentaria y la hipoxia crónica, el feto redistribuye su flujo sanguíneo a órganos vitales como cerebro, corazón y glándulas suprarrenales, un mecanismo para reservar el oxígeno para los órganos importantes (**Dubiel, 2000**). Durante la hipoxia sostenida, se ha observado, en modelos animales, que el flujo sanguíneo de riñón, hígado y pulmones se encuentra disminuido en forma significativa (**Thakor, 2009**). Hallazgos similares se han realizado en fetos humanos utilizando la ecografía Doppler (**Romero, 2001; Ritter, 2004; Arauz, 2008**).

El fenómeno de redistribución circulatoria en la preeclampsia ha sido confirmado por estudios Doppler, demostrando una disminución de la impedancia del flujo de los vasos cerebrales (**Wladimiroff, 1986**) y un incremento en la impedancia de la aorta torácica descendente (**Mori, 2000**). La velocidad de flujo sanguíneo de las ramas de la aorta abdominal, incluyendo las arterias renales fetales, proporciona un método de predicción más específico de la oxigenación fetal que la evaluación del flujo de la aorta (**Vyas, 1989; Baschat, 2000**). La evaluación de múltiples vasos fetales mejora la

validez de los parámetros de flujo sanguíneo (**Hecher, 1989; Belloti, 2004; Romero, 2009**).

SÍNDROME DE HIPERTENSIÓN INDUCIDA POR EL EMBARAZO

La preeclampsia se reconoce clínicamente como la asociación de hipertensión y proteinuria, pero constituye una enfermedad multiorgánica que se inicia mucho antes del debut clínico, y que incluso puede debutar sin hipertensión (**O'Brien, 2000**). En relación al estado de vasodilatación fisiológico de la gestación, la preeclampsia es un estado de marcada vasoconstricción generalizada secundario a una disfunción del endotelio vascular, asociado a una isquemia placentaria desde mucho antes del inicio del cuadro clínico, que parece ser la responsable de la liberación de factores tóxicos para el endotelio (**Carreiras, 2002**). Todavía quedan muchos aspectos no aclarados sobre la fisiopatología de la enfermedad.

En ausencia de una característica o alteración analítica específicas, la inclusión de proteinuria en la definición tiene como principal objetivo establecer un criterio clínico que permita diferenciar preeclampsia de hipertensión transitoria (o gestacional, según otras clasificaciones). Esta última es la forma más común de la hipertensión inducida por la gestación, representa una hipertensión aislada sin evidencias de alteración multiorgánica y se asocia a un resultado perinatal normal (**Dekker, 2006; Aldrich, 2007**). El no diferenciar estas entidades ha sido clásicamente causa de confusión en la investigación sobre la enfermedad, especialmente de los casos de preeclampsia leve.

Actualmente se considera que probablemente una parte importante de los casos de hipertensión transitoria son formas latentes o previamente no diagnosticadas de hipertensión crónica (**Clausen, 2001**). Es posible que, en algún caso, estas pacientes sean verdaderas preeclámpticas con una intensidad leve, o en las que la lesión renal no sea suficiente como para producir proteinuria. En ausencia de un diagnóstico específico de preeclampsia, parece adecuado seguir utilizando las definiciones actuales (**Dekker, 2006**). La secuencia de acontecimientos en el orden temporal en el que se supone que suceden: alteración placentaria, lesión endotelial y circulación de factores

tóxicos en plasma, y base fisiopatológica de las manifestaciones clínicas del síndrome (**Clausen, 2000**).

El déficit de perfusión e isquemia placentarias constituyen la alteración fundamental, normalmente por una implantación placentaria insuficiente, pero también en casos de desproporción entre tejido trofoblástico y perfusión sanguínea (gestación molar o múltiple). El cambio más característico es la falta de adaptación de las arterias espirales de la pared uterina, que en la gestación normal aumentan varias veces su diámetro para satisfacer los requerimientos de la unidad feto-placentaria (**Kilkpatrick, 1989; Zhang, 2007**). La idea más aceptada es que los mecanismos fisiológicos de reconocimiento y protección inmunológica para garantizar la implantación y desarrollo placentarios que se producen en la gestación normal están alterados en la preeclampsia (**Dekker, 2006**).

La gestación normal es un estado de baja resistencia arteriolar, que permite tolerar el marcado incremento en el volumen plasmático sin cambios de presión arterial. El endotelio presenta una falta de respuesta característica a la acción de vasopresores. Esta situación se explica esquemáticamente por un incremento relativo en la producción de sustancias vasodilatadoras, como prostaciclina y probablemente ON, sobre la de vasoconstrictoras, como tromboxano (**Clausen, 2000**). En la preeclampsia la acción endotóxica del plasma induce una inmersión de la situación fisiológica, y existe una sobreproducción relativa de vasoconstrictores sobre los vasodilatadores. En los casos graves se produce una pérdida de mayor o menor proporción de la membrana endotelial vascular. El conjunto de estas alteraciones induce un estado de hiperreactividad vascular y vasoespasmo a nivel arteriolar que constituye la base de todas las manifestaciones de la enfermedad (**Dekker, 2006**).

El plasma de la preeclampsia es tóxico para el endotelio vascular. Este es un concepto claramente demostrado por diferentes vías. Sin embargo, la identificación precisa de los factores citotóxicos circulantes es todavía una incógnita (**Kilpatrick, 1999; Goldman-Wolh, 2000**). Dada la evidencia disponible, existe un cierto acuerdo en que los lipoperóxidos (lípidos oxidados) circulantes pueden tener un importante papel en la lesión endotelial.

La placenta isquémica e inflamatoria de la preeclampsia genera una gran cantidad de radicales libres (con gran capacidad oxidativa y de alteración de las funciones celulares). Los lípidos transportados en las lipoproteínas plasmáticas se oxidarían de forma anormal a su paso por la placenta y actuarían como mensajeros de la lesión celular de los radicales libres, ya que el endotelio vascular es especialmente sensible a la acción de los lipoperóxidos (**Spanderman, 2004**). Se ha sugerido la implicación de otras sustancias o mecanismos, principalmente citoquinas, pero por el momento, su posible papel como inductoras de la lesión endotelial debe demostrarse (**Dekker, 2006**).

La preeclampsia es un cuadro potencialmente imprevisible, puede debutar con cualquiera de estas manifestaciones, y de la misma forma pueden estar ausentes algunas en cuadros graves. La hipertensión es consecuencia lógica del vasoespasmo arteriolar, pero la gravedad no se corresponde siempre con el grado de lesión tisular en otros órganos (**Li, 2000**). El vasoespasmo induce una reducción de la capacidad del sistema vascular y por tanto del volumen plasmático, en oposición al aumento fisiológico gestacional, un concepto de gran importancia para el manejo clínico del cuadro (**Koelman, 2000**). La pérdida de la integridad vascular a nivel capilar y la hipoproteinemia conducen al desarrollo de edema extracelular. El edema pulmonar es posible, especialmente en el postparto por la movilización de fluidos, y aunque actualmente muy infrecuente, cuando ocurre es particularmente grave (**Koch, 1999; Saito, 2003**).

El endotelio glomerular es especialmente sensible a la lesión de la preeclampsia, lo que explica la constancia de la proteinuria, y presenta una lesión anatomopatológica característica, la endoteliosis glomerular. El filtrado glomerular no se reduce de forma significativa en la preeclampsia (**Williams, 1999**). En casos graves, las lesiones microvasculares renales pueden conducir a fallo renal agudo, aunque ésta es una complicación poco frecuente. Mientras que en la gestación normal los niveles de renina y angiotensina se encuentran elevados, en la preeclampsia se hallan muy por debajo de la normalidad (**Mor, 2006**). Se cree que el sistema está esencialmente conservado y los cambios son secundarios a los cambios de volumen plasmático y vasoespasmo.

La lesión vascular a nivel hepático puede conducir al desarrollo de

manifestaciones, normalmente dolor epigástrico y vómitos. La alteración más habitual es una necrosis hepato-celular con depósitos de fibrina, que conduce a la característica elevación de transaminasas, aunque también son frecuentes pequeñas hemorragias subcapsulares (**Dekker, 2006**). La rotura o el infarto masivo hepáticos son complicaciones fatales, pero en la actualidad muy infrecuentes. La asociación de necrosis hepática con trombocitopenia y hemólisis se ha definido como síndrome de hemólisis, alteración de las enzimas y trombocitopenia (síndrome de HELLP).

El sistema vascular cerebral es extremadamente sensible en la preeclampsia, y el grado de vasoespasmo no siempre se correlaciona con las cifras de presión arterial (hasta un 20% de eclampsias debutan con cifras normales o límite de presión arterial). Este hecho, junto a que no existe evidencia de que la hipertensión grave en otras entidades conduzca a convulsiones, hacen que la encefalopatía en la preeclampsia no pueda considerarse estrictamente una encefalopatía hipertensiva. Aparte del riesgo de eclampsia y hemorragia cerebral, el área occipital presenta un porcentaje mayor de manifestaciones clínicas (fotopsias, escotomas, e incluso ceguera cortical transitoria), al ser una zona intermedia entre dos territorios vasculares (**Mor, 2006**).

Existe un estado de hiperagregabilidad plaquetaria, con un secuestro de plaquetas en la pared vascular, por lo que suele existir una reducción mayor o menor del recuento plaquetario y un aumento del tamaño medio (**Dekker, 2006**). Cuando el grado de lesión vascular es importante, se produce hemólisis por destrucción de hematíes a su paso por arteriolas y capilares. El estado de hipercoagulabilidad fisiológico de la gestación se acentúa en la preeclampsia, aunque resulta poco habitual el desarrollo de un síndrome de coagulación diseminada (**Dekker, 2006**). La afección hepática grave o la asociación de desprendimiento de placenta incrementan mucho esta posibilidad.

Aunque existen múltiples clasificaciones, son cuatro las de utilización más difundida. De ellas, se propone seguir los conceptos básicas de la del "Programa Nacional para Educación en Hipertensión" del Instituto Nacional de Corazón, Pulmón y Sangre (**Dekker, 2006**).

La clasificación incluye los cuatro tipos de hipertensión en el embarazo que se

describen:

a) Hipertensión crónica: Es una hipertensión que se detecta antes del embarazo o antes de la semana 20 del mismo.

b) Preeclampsia-eclampsia: Se define como el hallazgo después de la semana 20 de embarazo (salvo enfermedad trofoblástica o hidrops) de hipertensión, acompañada por proteinuria, edema o ambos. Eclampsia es la ocurrencia de convulsiones en una paciente con preeclampsia que no pueden ser atribuidas a otras causas.

c) Hipertensión crónica con preeclampsia sobreañadida: Se define como tal el aumento de la presión arterial previa de al menos 30 mm de Hg la sistólica o 15 mm de Hg la diastólica, o 20 mm de Hg la media, junto con aparición de proteinuria o edema generalizado.

d) Hipertensión transitoria: Se define como el desarrollo de hipertensión durante el embarazo o primeras 24 horas del puerperio sin otros signos de preeclampsia o hipertensión preexistente. Es un diagnóstico retrospectivo y si hay dudas el caso debe clasificarse como preeclampsia.

Aunque su etiología es incierta, se involucran a varios mecanismos como posibles efectores de la enfermedad, entre ellos (**Saito, 2003**):

a) Un componente genético (asociado a un genotipo materno recesivo, o paterno).

b) Un factor inmunológico, debida a la inadecuada respuesta inmunológica de la madre a los antígenos placentarios.

c) Un factor parasitario, Hydatosilualba.

d) Un factor placentario, por falta de invasión normal del trofoblasto en las semanas 10-20.

La mortalidad producida por esta enfermedad es consecuencia de la CID,

hemorragias a nivel cerebral, edema pulmonar e insuficiencia renal materna; así como retardo del crecimiento, prematuridad, y bajo peso al nacer del producto.

ÓXIDO NÍTRICO Y EFECTOS VASCULARES

El ON es un gas simple que se ha visto implicado en la producción de varios procesos fisiológicos a nivel de todo el organismo. En los primeros estudios realizados en 1980 por Furchgott y Zawadzki se le denominó factor relajante derivado del endotelio, en los mismos se demostró que existían un sinnúmero de acciones fisiológicas, bioquímicas y patológicas en las que actuaba directa e indirectamente (**Martín, 2005**).

El ON se libera por la conversión de L-arginina en L-citrulina. También se requiere de la presencia de calmodulina y de 4 cofactores que son: flavin mononucleótido, flavin adenina dinucleótido, tetrahidrobiopterina y NADPH. La enzima que cataliza esta reacción es la ON sintetasa. Se han identificado 3 isoformas de ON sintetasa: la endotelial o tipo III (eNOS), la neural o tipo I (nNOS) y la calcio independiente (iNOS). Las dos primeras son calcio / calmodulina dependientes, se encuentran en el citosol, y solo producen cantidades importantes de ON al ser activadas por una elevación del calcio intracelular (**Martin, 2000**).

La iNOS es también denominada inducible o tipo macrófago, es inducida por la liberación endógena de citoquinas proinflamatorias y endotoxinas que producen grandes concentraciones de ON que son citotóxicas y citostáticas para las células blanco (**Akhan, 2002**). Se produce en macrófagos, polimorfonucleares, músculo liso y endotelio vascular. La NOS puede ser inhibida por derivados estructurales de dicho aminoácido: N-mono-metil-L-arginina, la N-nitro-L-arginina y por otras sustancias (**Reese, 2000; Akhan, 2002**). En presencia de la calmodulina los electrones donados por el NADPH son transportados por el FAD y por el FMN hacia el grupo hem. La L-arginina se convierte en N-hidroxialanina y luego en ON y L-citrulina (**Ferrer, 1998**).

El ON por ser un radical libre se une al oxígeno, dando dos productos principales que son: nitritos y nitratos (**Scherrer, 1996; Sitges, 2001**). El ON puede difundir hacia

las células subyacentes donde activa la guanidilciclasa, lo que provoca el aumento intracelular de guanidil monofosfato cíclico que es el mediador de sus efectos fisiológicos (**Sitges, 2001**). La liberación del ON se produce de manera pulsátil, por el roce de la sangre sobre la capa endotelial del vaso y esta liberación aumenta conforme se eleva el gasto cardíaco (**Lanas, 2000**). Además es muy inestable por su reacción con la oxihemoglobina y el superóxido, por lo que su vida media es muy corta (6 segundos) (**Sitges, 2001**).

En el sistema cardiovascular el ON producido por el endotelio es el responsable de la respuesta vasodilatadora esencial para la regulación de la presión arterial, inhibe la agregación plaquetaria, disminuye los efectos dañinos de la aterosclerosis, protege contra la hipoxia pulmonar y controla la circulación colateral, participa en la fisiología de la erección del pene (**Ferrer, 1999**).

Durante el embarazo normal se elevan los niveles de ON materno, sin embargo, en las preeclámpticas se observa el efecto contrario; por ello se han orientado investigaciones para determinar la implicación del ON en esta patología. El papel del ON en el embarazo consiste en mantener la homeostasis del volumen sanguíneo circulante, modular las respuestas inmunitarias y regular la función plaquetaria (**Roberts, 1997; Gorocica, 1999**).

En la preeclampsia, la disminución del guanidil monofosfato cíclico se debe a la disminución de la producción de ON en las células endoteliales, las mismas que expresan además nuevas funciones como sintetizar endotelinas, factores procoagulantes y sustancias mitogénicas (**Ferrer, 1998**). Sin embargo, este no es el único mecanismo por el cual se producen los efectos y las manifestaciones clínicas de la preeclampsia, ya que las plaquetas tienen un rol aún más importante (**Myatt, 1993; Orpana, 1996**).

La primera alteración producida por la preeclampsia es la marcada trombocitopenia, y esta disminución afecta tanto a la madre como a su producto, debido a que se produce un consumo plaquetario exagerado (activación plaquetaria), con la consecuente liberación de los productos que estos contienen que por sus efectos trombogénicos y proagregantes conducen a la aparición de una coagulación

intravascular diseminada (**Lyall, 1995; Norris, 1999**).

A más de la disminución del número de plaquetas, su vida media en preeclámpticas es mucho menor en comparación con la de las embarazadas normotensas. Además se ha demostrado un incremento en la concentración intraplaquetaria de calcio durante la preeclampsia, lo cual incrementa la capacidad de las plaquetas para agregarse espontáneamente (**Norris, 1999; Meher, 2007**).

Estos factores sumado al hecho de que en la hipertensión inducida por el embarazo hay disminución de la síntesis sistémica de prostaciclina e incremento en la síntesis sistémica de tromboxano, constituyen pruebas contundentes de que la deficiencia de ON en preeclámpticas conlleva a una vasoconstricción prolongada y a la agregación plaquetaria (**Meher, 2007**).

El ON es producido en las células endoteliales, esta producción puede ser inducida por lesión endotelial como un mecanismo de defensa del organismo, puesto que cuando el endotelio se encuentra intacto este evita que las plaquetas se pongan en contacto con el tejido subendotelial que es altamente trombogénico (**Shaamash, 2001**).

MARCADORES DE INFLAMACIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

Interleuquina 6

La interleuquina (IL) 6 es producida por los linfocitos CD4 Th2 y los B, los macrófagos, células endoteliales y fibroblastos. Al comienzo fue denominada como interferón (INF) β 2, pensándose que tenía poder antiviral; induciendo en realidad la formación de INF. Es una citoquina multi funcional que regula las respuestas inmunes, reacciones inflamatorias de fase aguda, hematopoyesis y puede jugar un papel central en los mecanismos de defensa del huésped (**Castell, 1989**). Se produce en los sitios de inflamación local y actúa sobre el hepatocito para estimular o suprimir la síntesis de reactantes de fase aguda (**Bonnotte, 2003**). Actúa sinérgicamente con la IL-1 y el factor de necrosis tumoral e induce la respuesta de fase aguda. Entre los activadores de la IL-6, figuran la IL-1, el factor de necrosis tumoral y el factor de crecimiento

derivado de plaquetas. Tiene receptores de membrana que constan de una cadena alfa y otra beta, y se expresan en líneas celulares de macrófagos, hepatocitos y células B (**Molina, 1999; Saito, 2007**). También parece que es uno de los más confiables y útiles marcadores circulantes de disfunción endotelial (**Erzen, 2007**).

Interferón gamma

El INF- γ es una linfocina producida por los linfocitos T activados, los macrófagos y las células *natural killer*. Forma parte de las citoquinas Th1 que participan en la respuesta inmunitaria mediada por las células e inhibe la proliferación Th2, disminuyendo la inmunidad humoral (**Omu, 2004**). Su receptor específico de membrana se ha encontrado en casi todos los tipos celulares. Esta linfocina es el más potente activador conocido de los macrófagos, aumentando su actividad microbicida y, en menor grado, la citotoxicidad (**Ruiz, 2000**). Las respuestas celulares de esta citoquina incluyen: proliferación, apoptosis, interacciones leucocito-endotelio, regulación de la producción inducible de la NOS en los macrófagos, metabolismo del triptófano y regulación de numerosos genes cuya función aún esta por ser definida (**Leaman, 2003**).

Se piensa que el INF- γ puede jugar un importante papel en la implantación y en las fases iniciales de la gestación, ya que incrementa la expresión de antígenos clase I del complejo mayor de histocompatibilidad en las células trofoblásticas de roedores y humanos (**Grabowska, 1990**) y tienden a expresarse de manera co-dominante los antígenos maternos y paternos (**Lenfant, 1998; Sargent, 2006**). Se necesita la supresión de los antígenos de clase I y II del complejo mayor de histocompatibilidad para el mantenimiento del embarazo normal (**Sargent, 2006**) y para los de clase I esto puede ser revertido por las citoquinas proinflamatorias (**Lenfant, 1998**). Debido a que la preeclampsia se caracteriza por un defecto de la implantación del trofoblasto (**Norwitz, 2006**), es posible que el interferón pudiera estar involucrado como factor contribuyente a esta.

Interleuquina 10

La IL-10 actúa por inhibición de citoquinas inflamatorias, algunos factores de crecimiento (como el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos), quimocinas producidas por fagocitos mononucleares (como la proteína inhibidora de macrófagos 1 alfa), el INF- γ y el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α). Se le ha considerado una citoquina Th2, aunque se afirma que pueda tener origen Th0, Th1 o Th2 (**Mocellin, 2003**). Roth y colaboradores (**1996**) postulan que la producción de IL-10 por la placenta sirve para proteger al feto de la respuesta celular mediada por Th1. Además, se ha identificado como una citoquina importante en el embarazo, ya que puede estar involucrada en la maduración y mantenimiento del cuerpo lúteo y la producción de progesterona (**Hashii, 1998**).

Factor de necrosis tumoral alfa.

El FNT- α , inicialmente llamado caquetina, es un inmunoestimulante y mediador de la inflamación, capaz de promover algunos factores de crecimiento. Lo producen los macrófagos, las células T citotóxicas, la placenta y los tejidos deciduales (**Molina, 1999**). Ejercer función en la implantación, es capaz de modular la invasión del trofoblasto al útero, inhibir in vitro la síntesis de ADN y la proliferación celular del trofoblasto (**Kupfermin, 1994; Maekawa, 2000; Bowen, 2002**). El FNT- α es detectable por inmunotinciones en los extremos proliferativos de las vellosidades, en el citotrofoblasto intersticial (aunque no en las células gigantes multinucleadas) y en el trofoblasto que penetra a las arterias espirales (**Pijnenborg, 1998**). Además, está involucrado en el mecanismo de parto (**Figuroa, 2005**). Su concentración plasmática en embarazadas muestra importantes variaciones interindividuales y dependientes de la edad de gestación; se ha descrito un aumento paralelo en el segundo trimestre y luego disminuye (**Visser, 2002**). Diferentes datos sugieren que el FNT- α contribuye a las alteraciones endoteliales y a la dislipidemia que caracterizan la fisiopatología de la preeclampsia.

Proteína C reactiva

La proteína C reactiva (PCR) es un indicador objetivo y sensible de la actividad inflamatoria general. Existe evidencia que apoya la designación de la PCR como poderoso factor predictor positivo para futuro riesgo cardiovascular (**Duygu, 2008**). Predice el riesgo cardiovascular de una gran cantidad de condiciones en especial de hombres y mujeres sin patología cardiovascular preexistente, pacientes con angina estable o síndromes coronarios agudos preexistentes, seguimiento de pacientes posterior a infartos miocárdicos, y aquellos con síndrome metabólico (**Olsen, 2006**).

Selectinas

Las selectinas son receptores de adhesión, que se caracterizan por poseer una estructura muy conservada, la cual incluye a un dominio tipo leptina, un dominio tipo factor de crecimiento epidérmico, dos o más dominios tipo proteína reguladora del complemento, una región transmembrana y una región intracitoplásmica corta en el extremo carboxilo terminal. Se han identificado a tres miembros de esta familia, los cuales corresponden a los antígenos de diferenciación leucocitaria CD62L (selectina L), CD62P (selectina P) y CD62E (selectina E). Se expresan en las células endoteliales vasculares durante los procesos inflamatorios (**Tedder, 1995; Lok, 2007**).

La selectina E no se expresa de novo en células endoteliales, como consecuencia de la inducción de la expresión del gen correspondiente durante la activación celular; esta inducción es generalmente consecuencia del efecto de lipopolisacáridos bacterianos o de citoquinas. La forma soluble de selectina E es un marcador de disfunción endotelial (**Suefuji, 2000**) y se ha reportado que esta aumentada en suero de las preeclámpticas (**Heyl, 1999; Bretelle, 2001; Coata, 2002**). La selectina L se expresa en la membrana de granulocitos, monocitos y la mayoría de los linfocitos de sangre venosa periférica; al activarse estas células, la mayor parte de la selectina L es eliminada de la membrana mediante un mecanismo enzimático, el cual genera una forma soluble de la molécula, que es liberada al medio extracelular. Es responsable de la fijación directa inicial de los leucocitos al endotelio inflamado (**Furui, 2001**).

La selectina P es una molécula que media la interacción de los monocitos, plaquetas y células endoteliales (**Boukerche, 1996**). Es almacenada en gránulos intracitoplásmicos de plaquetas y células endoteliales; al activarse estas células la selectina P es translocada a la membrana plasmática, permitiendo la interacción con sus ligandos. Aunque la selectina P es casi específicamente expresada por las superficies de las células activadas, se encuentra una forma soluble en la circulación (**Kirschenbaum, 2002**). Esta forma soluble puede explicarse por la liberación de la selectina P del endotelio o las plaquetas. Se ha demostrado que las concentraciones plasmáticas de selectina P están incrementadas en la preeclampsia y el embarazo normal, pero son mucho más altas en la preeclampsia que en el embarazo normal (**Lok, 2007**).

Dimetilarginina asimétrica

Durante el embarazo normal, las concentraciones de dimetilarginina asimétrica (ADMA) en la circulación materna disminuyen por debajo de los valores previos al embarazo y se ha propuesto que esto está relacionado con los efectos del ON (**Holden, 1998; Tsukahara, 2008**). Al igual que los resultados de investigaciones previas (**Holden, 1998; Ellis, 2001; Tsukahara, 2008; Sandrim 2010**), esta investigación demostró que las preeclámpticas tienen valores de ADMA sérico más altos que los controles sanos. Sin embargo, otros investigadores (**Speer, 2008; Böger, 2010**) no han confirmado estos hallazgos. Se desconoce la explicación para esta diferencia, aunque en algunos casos las diferencias en el origen étnico, localización geográfica y estado nutricional juntos con otros factores pueden representar un papel importante como la severidad de la enfermedad y la extensión de la afección renal y hepática.

La ADMA es un producto del metabolismo proteico que se forma en todas las células del cuerpo y, al bloquear la producción de ON, induce la disfunción endotelial, lo que favorece el proceso aterogénico. El compuesto dimetil-L-arginina simétrica es producida en cantidades equivalentes pero no afecta la producción de ON (**Böger, 2003**). En individuos sanos, la relación L-arginina / ADMA se correlaciona con la disfunción endotelial (**Gates, 2007**). Las concentraciones plasmáticas de ADMA se

incrementan en diferentes condiciones patológicas como hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e hiperhomocisteinemia (**Stühlinger, 2005; Turiel, 2009**). Las concentraciones plasmáticas elevadas esta asociada con eventos cardiovasculares (**Krzyzanowska, 2007**).

La disfunción endotelial dependiente del endotelio es el hallazgo fisiopatológico central en la preeclampsia (**Germain, 2007**). Esta puede ser el resultado de la alteración de la síntesis de ON, con evidencia que sugiere que las concentraciones elevadas de ADMA actúan como un inhibidor endógeno que contribuye a la disfunción vascular dependiente del endotelio en la diabetes, hipertensión, hipercolesterolemia y obesidad (**Dayoub, 2008**). La ADMA también puede promover la alteración de la actividad enzimática de la NOS y convertirla en una enzima generadora de superóxido. Se ha propuesto que esta alteración de la actividad contribuye a una mayor disfunción vascular y puede representar un papel en la fisiopatología de la preeclampsia al servir como fuente de estrés oxidativo vascular.

NITROGLICERINA

Entre las drogas donadoras de ON se encuentra la nitroglicerina. La principal acción del trinitrato de glicerilo (nitroglicerina) es la relajación del músculo liso de los vasos sanguíneos y la consecuente dilatación de las venas y arterias periféricas. No tiene efectos inotrópicos o cronotrópicos directos sobre el músculo cardiaco. Afecta, sin embargo, el volumen cardiaco como consecuencia de los efectos sobre el sistema venoso y la resistencia arterial (**Bath, 2001; Hancock, 2005**).

El efecto benéfico de la nitroglicerina sobre la angina de pecho se debe a la disminución en el consumo de oxígeno por el músculo cardiaco (**Bath, 2001**). Los efectos secundarios (cefalea e hipotensión) están relacionados con su efecto farmacológico, la relajación del músculo liso. La absorción proveniente del parche adhesivo ejerce su efecto en forma continua a través de la piel. De esta manera, la nitroglicerina pasa a la circulación sistémica antes de ser desactivada en su primer paso por el hígado (**Rashid, 2003**).

El volumen de distribución es de aproximadamente 3 l/kg y es eliminada a ritmos muy rápidos a esta concentración, su vida media sérica es de 3 minutos (**Salom, 2000**). Los ritmos de eliminación observados 1 l/kg/minuto, exceden por mucho el flujo sanguíneo hepático; los sitios conocidos de metabolismo extrahepático incluyen los hematíes y paredes vasculares (**Rashid, 2003**). Los primeros productos del metabolismo de la nitroglicerina son nitratos inorgánicos y el 1,2 y 1,3-dinitrogliceroles (**Willmot, 2003**).

Los dinitratos tienen un efecto vasodilatador menor que el de la nitroglicerina, pero permanecen por más tiempo en el plasma y su contribución neta al efecto terapéutico aún no es conocida. Son metabolizados después en mononitratos y finalmente en glicerol y dióxido de carbono (**Butterworth, 1998; Willmot, 2003**). En voluntarios sanos, las concentraciones plasmáticas estables se logran cerca de dos horas después de que se ha aplicado el parche y se mantiene mientras se esté usando, sin embargo, no se recomienda que se use por más de 24 horas. Después de retirar el parche, la concentración plasmática declina con una vida media de aproximadamente 1 hora (**Rashid, 2003**).

La cefalea transitoria es el efecto colateral más común, especialmente cuando se administran dosis altas del fármaco. Estas cefaleas deberán ser tratadas con analgésicos suaves, mientras se continúa el tratamiento. Cuando estas cefaleas no responden al tratamiento, la dosis de nitroglicerina deberá reducirse o discontinuar el uso del producto (**Bath, 2001**).

Las reacciones secundarias con menor frecuencia registradas comprenden: hipotensión, aumento de la frecuencia cardíaca, lipotimia, rubor, mareos, náuseas y vómito. Estos síntomas son atribuibles a los efectos farmacológicos, pero pueden ser síntomas de sobredosis (**Corwin, 1985; Erba, 1989**). Cuando persistan, la dosis de nitroglicerina deberá reducirse o discontinuarse el uso del producto. Se ha reportado dermatitis por contacto con la nitroglicerina en forma tópica (**Hancock, 2005**).

La dosis de inicio sugerida es de 5 mg/24 horas. Aun cuando el intervalo mínimo libre de nitratos no ha sido definido, los datos muestran que 10 ó 12 horas son suficientes, por lo tanto, es conveniente usar el parche por periodos de 12 ó 14 horas

diariamente. Si bien estudios clínicos han demostrado que la eficacia se mantiene cuando los parches se usan continuamente, en la gran mayoría se desarrolla tolerancia dentro de las primeras 24 horas después del inicio del tratamiento (**Rashid, 2003**).

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La preeclampsia es un trastorno multisistémico en el que se involucra de forma predominante algunos órganos como hígado, riñones, sistema nervioso central y placenta. Afecta del 2 al 8% de los embarazos y está asociado con un incremento substancial de la morbimortalidad, tanto materna como fetal. Las complicaciones para la madre provocan en algunos casos eclampsia, enfermedad cerebrovascular, insuficiencia renal o hepática y alteraciones de la coagulación. Y las complicaciones del feto incluyen restricción del crecimiento intrauterino y parto pretérmino.

La etiología de la preeclampsia es desconocida, pero existen teorías que proponen que el origen es la disminución del flujo sanguíneo hacia la placenta que lleva a la disfunción de las células endoteliales, posiblemente como resultado del estrés oxidativo. Este daño endotelial provoca vasoconstricción generalizada, activación plaquetaria, trombosis y disminución del volumen plasmático, con posterior reducción del flujo sanguíneo a múltiples órganos. El hallazgo principal fisiopatológico de la preeclampsia es la limitación de la vasodilatación de los vasos maternos, mediado por diferentes compuestos que se producen en el endotelio.

El ON es un potente vasodilatador e inhibidor de la agregación plaquetaria. Se produce en las células endoteliales de los vasos, a partir del aminoácido L-arginina, por acción de un grupo de enzimas llamadas NOS. Inmediatamente difunden a través de las células musculares lisas adyacentes e incrementa al segundo mensajero, guanosín monofosfato cíclico, produciendo relajación del músculo liso. Se ha encontrado disminución de las concentraciones de L-arginina y de la actividad de la NOS en la placenta de las preeclámpticas. Los datos en roedores muestran que la inhibición crónica de la síntesis de ON lleva hipertensión, retardo del crecimiento intrauterino y trombocitopenia, por lo que la deficiencia de la producción de ON puede ser un factor de importancia en la preeclampsia.

La resistencia vascular útero-placentaria, determinada por el método de ecografía Doppler, está incrementada en la preeclampsia, pero se afecta por el tratamiento antihipertensivo convencional. Algunos datos indican que la administración de nitroglicerina sublingual o intravenosa, un donador de ON, causa vasodilatación en la

circulación umbilical. Las drogas que pueden ser convertidas por el organismo en ON (conocidas como donantes de ON) están ampliamente disponibles y han sido utilizadas por años como agentes terapéuticos en enfermedades cardiovasculares como la angina y la hipertensión. Éstos pueden ser administrados por diferentes vías como tabletas orales o sublinguales, parches transdérmicos o infusión endovenosa. Se puede desarrollar tolerancia rápidamente, con disminución de los efectos terapéuticos, pero esto se minimiza con una administración intermitente y cuidadosa. Los efectos adversos comunes incluyen cefalea, calorones, hipotensión postural e irritación local con los parches.

Se plantea investigar la caracterización hemodinámica Doppler (flujo sanguíneo de las arterias uterinas y arteria umbilical, arteria cerebral media fetal, arteria renal fetal y arteria hepática fetal) y estado inflamatorio (interleuquinas, proteína C reactiva y selectinas) en un grupo de preeclámpticas comparado con un grupo de embarazadas normotensas de la misma edad gestacional y analizar la modulación de estos parámetros en las preeclámpticas por el tratamiento con parches de nitroglicerina.

OBJETIVO GENERAL.

* Establecer la caracterización hemodinámica Doppler e inflamatoria de las pacientes con preeclampsia y analizar los efectos del tratamiento con parches de nitroglicerina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

* Investigar las características generales (edad materna, edad gestacional, presión arterial sistólica y diastólica) y se compararan con un grupo de embarazadas normotensas.

* Describir los parámetros hemodinámicos del flujo sanguíneo de los vasos maternos (arterias uterinas) y fetales (arteria umbilical, cerebral media, arteria renal y arteria hepática) en preeclámpticas y normotensas sanas.

- * Identificar las concentraciones de indicadores de inflamación (interleuquina-10, interleuquina-6, factor de necrosis tumoral alfa, interferón gamma y proteína C reactiva) y disfunción endotelial (selectinas y dimetilarginina asimétrica) en preeclámpticas y normotensas sanas.
- * Identificar las modificaciones en los parámetros Doppler del flujo sanguíneo de la arterias maternas y fetales en pacientes preeclámpticas antes y después del tratamiento con parches de nitroglicerina.
- * Estudiar el efecto del tratamiento con parches de nitroglicerina sobre los parámetros de inflamación y disfunción endotelial.
- * Identificar las variables neonatales y las complicaciones perinatales en preeclámpticas tratadas con parches de nitroglicerina.
- * Verificar los efectos adversos producidos por el uso de nitroglicerina en las preeclámpticas.

MATERIALES Y MÉTODO

SELECCIÓN DE LOS SUJETOS DE ESTUDIO

La muestra fue de 80 embarazadas preeclámplicas nulíparas y con embarazos de más de 25 semanas que acudieron a la emergencia obstétrica. La investigación fue aprobada por el Comité de Ética e Investigación del hospital y se obtuvo consentimiento por escrito de todas las pacientes. Se excluyeron las pacientes con gestaciones múltiples, con condiciones médicas que contraindiquen el uso de cualquiera de los medicamentos, presencia de infección intrauterina, alteraciones de la frecuencia cardíaca fetal, síndrome de HELLP, sospecha de restricción del crecimiento intrauterino del feto, hemorragia anteparto o polihidramnios. Las pacientes que necesitaron interrupción inmediata del embarazo o algún medicamento adicional para el tratamiento de la preeclampsia también fueron excluidas del estudio. La preeclampsia se definió como presión arterial mayor de 140/90mmHg en dos o más ocasiones con 4 h de diferencia entre las mediciones después de la vigésima semana de gestación, con proteinuria de más de dos cruces, en dos ocasiones diferentes con 6 h de diferencia. La presión sanguínea se midió en posición sentada después de 15 min de descanso.

Se realizó una lista de contenido diseñado por el investigador, al que se le practicó la validez de contenido a través de juicio de expertos y en el que se incluyeron: Edad materna, edad gestacional, presión arterial sistólica y diastólica, IP, IR y rS/D de las arterias uterina, umbilical, cerebral media fetal renal fetal y hepática fetal y concentraciones de IL-10, FNT- α , INF- γ , IL-6, PCR, selectina (P, E y L), ADMA, nitrato / nitrito y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico .

Todas las pacientes se hospitalizaron y se les realizó la ecografía antes y después del uso de la parches de nitroglicerina. La presión arterial y la frecuencia cardíaca materna y fetal fueron monitorizadas al inicio del tratamiento y cada 15 minutos durante las primeras dos horas y luego cada 8 horas. Se analizó el flujo sanguíneo de las arterias uterinas, umbilical cerebral media fetal, renal fetal y hepática fetal. Se midieron IP, IR y rS/D de cada arteria.

Para obtener una distribución igual del uso de los medicamentos en cada uno de los grupos, se asignaron sobres sellados con una distribución al azar entre los

diferentes grupos. El tratamiento fue con parches transdérmicos (grupo A) de nitroglicerina de 5 mg, aplicado en la región torácica anterior o lumbar de la pacientes por un periodo de 12 horas, por un tiempo total de 48 horas (un total de 4 parches). El parche fue colocado sobre la piel de la cara lateral del tórax. Después de 24 y 48 horas del inicio del tratamiento, se repitieron las mediciones ecográficas en el grupo A midiendo los mismos parámetros. A todas las pacientes se les administró betametasona (12 mg por 2 días) para promover la maduración pulmonar fetal. A las preeclámpticas del grupo control (grupo B) no se le aplicó ningun tratamiento antes de las determinaciones de la velocimetría Doppler la cual fue realizada solo una vez.

TÉCNICA DE MEDICIÓN DOPPLER

Las arterias uterinas fueron identificadas en una visualización longitudinal de las caras laterales del útero con la paciente reclinada. En esa posición demostró la bifurcación de la arteria iliaca común. La medición se realizó en el punto donde la arteria uterina y la iliaca externa parecen cruzarse. En ese punto se midieron los IP e IR de ambas arterias uterinas y se calculó el promedio de ambos vasos.

Las mediciones Doppler de la arteria umbilical se calcularon con el promedio de 3 mediciones obtenidas de la porción libre flotante del cordón umbilical, tomando en cuenta que la porción estudiada no se encontrara demasiado cerca del feto o la placenta. Para las mediciones de la arteria cerebral media fetal, se tomó una visión axial de la cabeza fetal al nivel de los pedúnculos cerebelosos y se visualizó el polígono de Willis realizandose las mediciones a 1 centímetro del origen de la arteria cerebral media fetal. El ángulo entre la emisión de ondas ecográficos y la dirección del flujo sanguíneo fue siempre $<$ de 30° .

Para realizar las mediciones Doppler de la arteria renal fetal se coloco a la paciente en posición lateral y se obtuvo una imagen axial del abdomen fetal a nivel de los riñones. Se identificó la arteria renal fetal y la ventana Doppler se colocó en el lumen del vaso sobre el hilio renal. Se intentó tener un ángulo de insonación cercano a 0° . Se

identificó la arteria hepática común fetal desde su nacimiento en el eje celiaco. La ventana Doppler fue colocada en la rama izquierda de la arteria hepática cerca del ducto venoso. Se intentó tener un ángulo de insonación menor al 30° en todas las mediciones con un mínimo de 3 mediciones consecutivas para calcular cada índice (Vyas, 1989).

MEDICIONES DE INDICADORES DE INFLAMACIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

Las muestras de sangre de la vena antecubital se recolectaron antes y después de 48 horas de tratamiento y se las dejó coagular a temperatura ambiente. Todas las muestras se almacenaron a -70° C hasta el momento de procesarlas. Posteriormente, fueron centrifugadas a 1.000 g por 15 minutos a los 60 minutos de tomada la muestra y almacenadas con posterioridad a -80° C. Las concentraciones plasmáticas de nitrato / nitrito se midieron por el promedio de la reacción de Griess después de la reacción enzimática de nitrato a nitrito de acuerdo al método de Conrad (1993). Los niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (SRAT), un producto de la peroxidación lipídica, se determinó en el plasma por el método de Yoshioka (1979).

Para la determinación de IL-6 e INF- γ utilizó una prueba de inmunoabsorbencia ligada a enzima para la medición cuantitativa en cada muestra. Todas las mediciones fueron hechas por duplicado y el promedio de las 2 mediciones fue el resultado final. La sensibilidad fue de 10 pg/ml para IL-6 y 3 pg/ml para INF- γ . El coeficiente de variación intra e inter-ensayo fue menor del 10% para ambas determinaciones.

Se utilizó una prueba de inmunoabsorbencia ligada a enzima para la medición cuantitativa de la IL-10 en cada muestra. Todas las mediciones fueron hechas por duplicado y el promedio de las 2 mediciones fue el resultado final. La sensibilidad fue de 1 pg/ml. El coeficiente de variación intra e inter-ensayo fue menor del 7%. Se utilizó una prueba de inmunoabsorbencia ligada a enzima para la medición cuantitativa del FNT- α en cada muestra. Todas las mediciones fueron hechas por duplicado y el promedio de las 2 mediciones fue el resultado final. La sensibilidad fue de 3,5 pg/ml. El coeficiente de variación intra e inter-ensayo fue menor del 5%. Las concentraciones plasmáticas de ADMA fueron medidas por un método inmunoenzimático. El coeficiente

de variación intraensayo e interensayo no excedió el 10% y 5%, respectivamente.

Las concentraciones plasmáticas de PCR se midieron por radioensayo de quimioluminiscencia con coeficientes de variación intra e inter ensayo de 8,7% y 7%, respectivamente. La sensibilidad de detección fue de 0,01 mg/dl. Las concentraciones de selectinas solubles se midieron usando una prueba de ELISA. El límite menor para la detección de selectina P fue de 1,30 ng/ml, para la selectina L fue de 0,25 ng/ml y para la selectina E fue de 0,33 ng/ml. Todas las determinaciones fueron hechas por duplicado. Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron menores de 5% y 10%, respectivamente.

EVALUACIÓN DE LAS VARIABLES NEONATALES Y COMPLICACIONES PERINATALES.

Todos los recién nacidos de las pacientes de ambos grupos de estudio fueron evaluados inmediatamente por un neonatólogo después del parto, que desconocía el tipo de tratamiento que se le había administrado a la madre. Los recién nacidos fueron evaluados durante la fase de adaptación post-natal. El pH de la arteria umbilical fue determinado inmediatamente después de la onfalotripsia. El puntaje de Apgar y la frecuencia cardíaca fueron medidas al minuto y a los 5 minutos después del parto.

Las complicaciones perinatales estudiadas fueron enfermedad pulmonar, enterocolitis necrotizante, hemorragia intraventricular (grado 3 o 4) y mortalidad perinatal. Para los recién nacidos de menos de 32 semanas la enfermedad pulmonar se describió como necesidad de suplemento de oxígeno (> 21%) con hallazgos anormales en la radiografía de tórax. Para los recién nacidos de más de 32 semanas, la enfermedad pulmonar se definió como la necesidad de suplementación de oxígeno durante los primeros 28 días de vida más hallazgos anormales en la radiografía de tórax (**Northway, 1967; Sheennan, 1988**).

Para la enterocolitis necrotizante se utilizó la clasificación de Vermont Oxford basada en 1 o más aspirados biliosos o emesis, distensión abdominal y / o sangre oculta o evidente en las evacuaciones (en ausencia de fisuras) junto con evidencia

radiográfica de neumatosis intestinal, gas hepato-biliar y / o neumoperitoneo (**Bell, 1978**). La hemorragia intraventricular se definió como la presencia de características de grado 3 (sangre intraventricular, dilatación ventricular que ocurre al momento de la hemorragia o posteriormente durante la hospitalización) o de grado 4 (hemorragia intraparenquimatosa). La mortalidad perinatal se definió como todos los mortinatos y las muertes neonatales que ocurren antes de los 7 días después del nacimiento y antes del alta hospitalaria.

ANÁLISIS DE DATOS.

Una vez aplicada la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y superado el supuesto de normalidad, se seleccionó la prueba t de Student para comparar los datos sobre edad materna, edad gestacional, presión arterial sistólica y diastólica, IP, IR y rS/D de las arterias uterina, umbilical y cerebral media fetal entre las preeclámpticas tratadas con parches de nitroglicerina (grupo A) y las preeclámpticas controles (grupo B).

Posteriormente, se comparó al grupo de las preeclámpticas antes y después de 24 y 48 horas de tratamiento en cada una de las mediciones Doppler, en las cuales se utilizó la prueba de análisis de la varianza con post-tests de Dunnett utilizando los valores iniciales como valor control utilizando como mediciones controles aquellas obtenidas antes de la administración del fármaco.

La diferencia en la incidencia de efectos adversos se realizó utilizando la prueba exacta de Fisher. Se consideró $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS GENERALES, ECOGRÁFICAS Y DE LABORATORIO DE LAS PREECLÁMPTICAS Y LAS EMBARAZADAS CONTROLES

Después de someter a las variables en estudio a la prueba de Kolmogorov-Smirnov y comprobar que las características generales y variables hemodinámicas pasan el supuesto de normalidad ($p > 0,05$), se procedió a comparar las características generales utilizando la prueba t de Student para muestras no relacionados o independientes para comparar las pacientes preeclámpticas con las embarazadas normales.

En la tabla 1 se muestran las características generales de ambos grupos. No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos con relación a la edad materna y edad gestacional ($p = ns$). Si se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con respecto a la presión arterial sistólica y diastólica ($p < 0,05$).

Las mediciones iniciales con la ecografía Doppler en ambos grupos de estudio se muestran en la tabla 2. Las mediciones del IP, IR y rS/D de las arterias uterinas demostraron valores significativamente más altos en el grupo de las preeclámpticas que en las controles (figura 1; $p < 0,05$). Una situación similar se observó al comparar las variables hemodinámicas en la arteria umbilical, en la cual se observó que los valores del IP, IR y rS/D eran significativamente más altos en las preeclámpticas que en los controles normotensas (figura 2; $p < 0,05$). Con respecto a la arteria cerebral media fetal se observó que los valores de IP, IR y rS/D eran significativamente más bajos en el grupo de las preeclámpticas que en los controles (figura 3; $p < 0,05$).

Los valores de las arterias renales y hepática fetal se muestran en la tabla 3 y figura 4. Con respecto a la arteria renal fetal, las preeclámpticas presentaron valores del IP significativamente más altos comparado con las embarazadas controles. Igualmente las preeclámpticas presentaron valores del IR significativamente más altos comparado con las embarazadas controles ($p < 0,05$). El IP de la arteria renal fetal presentó una correlación positiva, leve y significativa con el IP de la arteria uterina ($r = 0,327$; $p < 0,05$) y negativa, moderada y significativa con el IP de la arteria cerebral

media fetal ($r = -0,347$; $p < 0,05$). El IR de la arteria renal fetal presentó una correlación positiva, moderada y significativa con el IR de la arteria uterina ($r = 0,513$; $p < 0,05$); positiva, leve y significativa con la arteria umbilical ($r = 0,288$; $p < 0,05$) y negativa, leve y significativa con el IR de la arteria cerebral media fetal ($r = -0,276$; $p < 0,05$).

Al evaluar la arteria hepática fetal (tabla 3 y figura 5), las preeclámpticas presentaron valores del IP significativamente más altos comparado con las embarazadas controles ($p < 0,05$). Igualmente las preeclámpticas presentaron valores del IR significativamente más altos comparado con las embarazadas controles ($p < 0,05$). Con respecto al IP de la arteria hepática presentó una correlación positiva, moderada y significativa con el IP de la arteria uterina ($r = 0,562$; $p < 0,05$) y con el IP de la arteria umbilical ($r = 0,503$; $p < 0,05$) y negativa, moderada y significativa con el IP de la arteria cerebral media fetal ($r = -0,540$; $p < 0,05$). El IR de la arteria hepática presentó una correlación positiva, leve y significativa con el IR de la arteria umbilical ($r = 0,280$; $p < 0,05$) y negativa, leve y significativa con el IR de la arteria cerebral media fetal ($r = -0,282$; $p < 0,05$).

INDICADORES DE INFLAMACIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

Se observó que las preeclámpticas tenían concentraciones más elevadas de IL-6, FNT- α , INF- γ , PCR, selectina P, selectina E y ADMA al compararlo con las embarazadas controles ($p < 0,05$). Sin embargo, las embarazadas controles tenían valores significativamente más altos de IL-10 y selectina L al compararla con las preeclámpticas ($p < 0,05$).

Se observó una correlación negativa y significativa entre la IL-10 y los valores de presión arterial sistólica ($r = -0,423$) y con los valores de presión arterial diastólica ($r = -0,425$; $p < 0,05$). Al realizar la correlación entre las concentraciones de IL-6 y los valores de presión arterial, se observó una correlación positiva y significativa con los valores de presión arterial sistólica ($r = 0,289$; $p < 0,05$) y con los valores de presión arterial diastólica ($r = 0,318$; $p < 0,05$). Las concentraciones de FNT- α se correlacionaron en forma positiva y significativa con los valores de presión arterial sistólica ($r = 0,233$) y con los valores de presión arterial diastólica ($r = 0,212$; $p < 0,05$).

Las concentraciones de INF- γ presentaron una correlación positiva y significativa con los valores de presión arterial sistólica ($r = 0,183$) y una correlación débil, positiva y significativa con los valores de presión arterial diastólica ($r = 0,159$; $p < 0,05$).

Al realizar la correlación entre las concentraciones de PCR y los valores de presión arterial, se observó una correlación positiva y significativa con los valores de presión arterial sistólica ($r = 0,314$; $p < 0,05$) y con los valores de presión arterial diastólica ($r = 0,266$; $p < 0,05$), se observó una correlación positiva y significativa de las concentraciones de selectina P y la selectina E con los valores de presión arterial sistólica y diastólica ($p < 0,05$). Por el contrario, se encontró una correlación negativa y significativa de las concentraciones de selectina L con los valores de presión arterial sistólica y diastólica ($p < 0,05$).

Las preeclámpticas presentaron concentraciones más bajas de la relación nitrito / nitrato que las embarazadas controles ($p < 0,05$). Por otra parte, las preeclámpticas presentaron valores significativamente más altos de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico comparado con los controles ($p < 0,05$; tabla 5).

TABLA 1.
CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS PREECLÁMPTICAS Y LAS
EMBARAZADAS NORMOTENSAS.

Promedio +/- desviación estándar	Casos (Preeclámpticas) (n = 80)	Controles (Normotensas) (n = 80)	p
Edad materna, años	20,17 +/- 3,27	21,00 +/- 4,78	ns
Edad gestacional, semanas	33,73 +/- 2,85	34,17 +/- 2,16	ns
Presión arterial sistólica, mm de Hg	150,16 +/- 10,39	112,93 +/- 7,61	< 0,05
Presión arterial diastólica, mm de Hg	111,41 +/- 7,93	72,17 +/- 6,91	< 0,05

TABLA 2.
PROMEDIO DE LAS DETERMINACIONES HEMODINÁMICAS EN
LAS DIFERENTES ARTERIAS EN LAS PREECLÁMPTICAS Y
LAS EMBARAZADAS NORMOTENSAS.

Promedio +/- desviación estándar	Casos (Preeclámpticas) (n = 80)	Controles (Normotensas) (n = 80)	p
Arterias uterinas			
IP	1,116 +/- 0,021	0,850 +/- 0,056	< 0,05
IR	0,625 +/- 0,055	0,499 +/- 0,052	< 0,05
rS/D	2,722 +/- 0,275	2,157 +/- 0,210	< 0,05
Arteria umbilical			
IP	1,315 +/- 0,201	1,007 +/- 0,661	< 0,05
IR	0,696 +/- 0,068	0,643 +/- 0,049	< 0,05
rS/D	3,024 +/- 0,283	2,677 +/- 0,094	< 0,05
Arteria cerebral media fetal			
IP	1,189 +/- 0,114	1,809 +/- 0,149	< 0,05
Ir	0,657 +/- 0,065	0,752 +/- 0,062	< 0,05
rS/D	3,395 +/- 0,410	4,250 +/- 0,451	< 0,05

TABLA 3.
PROMEDIO DE LAS DETERMINACIONES HEMODINÁMICAS
ARTERIAS RENALES Y HEPÁTICA FETAL EN LAS PREECLÁMPTICAS
Y LAS EMBARAZADAS NORMOTENSAS.

Promedio +/- desviación estándar	Casos (Preeclámpticas) (n = 80)	Controles (Normotensas) (n = 80)	p
Arterias renal fetal			
IP	2,24 +/- 0,45	1,90 +/- 0,28	< 0,05
IR	0,85 +/- 0,12	0,75 +/- 0,11	< 0,05
Arteria hepática			
IP	1,85 +/- 0,46	1,57 +/- 0,28	< 0,05
IR	0,78 +/- 0,16	0,63 +/- 0,14	< 0,05

TABLA 4.
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE BIOMARCADORES
EN LAS PREECLÁMPTICAS Y LAS EMBARAZADAS
NORMOTENSAS.

Promedio +/- desviación estándar	Casos (Preeclámpticas) (n = 80)	Controles (Normotensas) (n = 80)	p
Interleuquina 10, pg/ml	16,3 +/- 3,6	90,6 +/- 20,0	< 0,05
Interleuquina 6, pg/ml	31,8 +/- 4,1	25,2 +/- 5,7	< 0,05
Factor de necrosis tumoral alfa, pg/ml	9,6 +/- 5,6	5,5 +/- 1,6	< 0,05
Interferón Gamma, pg/ml	75,5 +/- 27,7	54,2 +/- 29,6	< 0,05
Proteína C reactiva, mg/L	6,3 +/- 1,5	3,5 +/- 0,8	< 0,05
Selectina P, ng/ml	107,3 +/- 8,4	90,9 +/- 7,4	< 0,05
Selectina E, ng/ml	60,7 +/- 8,9	42,2 +/- 7,8	< 0,05
Selectina L, ng/ml	557,4 +/- 68,3	734,8 +/- 62,1	< 0,05
Dimetilarginina asimétrica, picomol/L	0,551 +/- 0,027	0,487 +/- 0,024	< 0,05

TABLA 5.
CONCENTRACIONES DE NITRATO / NITRITO Y
SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO BARBITÚRICO
EN LAS PREECLÁMPTICAS Y LAS EMBARAZADAS NORMOTENSAS.

Promedio +/- desviación estándar	Casos (Preeclámpticas) (n = 80)	Controles (Normotensas) (n = 80)	p
Nitrato / nitrito (μmol/L)	12,1 +/- 6,4	23,8 +/- 4,7	< 0,05
Sustancias reactivas al ácido barbitúrico (μmol/L)	11,1 +/- 2,9	9,6 +/- 1,3	< 0,05

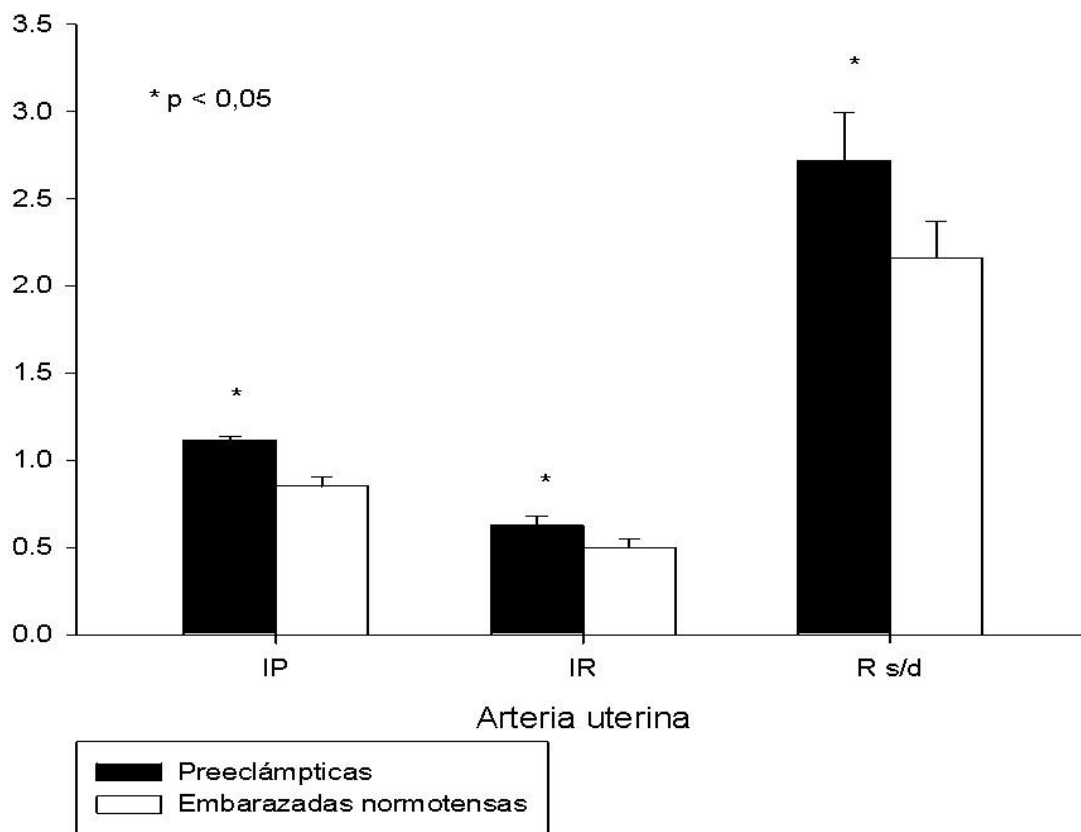


FIGURA 1. PROMEDIO DE LAS DETERMINACIONES HEMODINÁMICAS EN LAS ARTERIAS UTERINAS EN LOS CASOS Y LOS CONTROLES

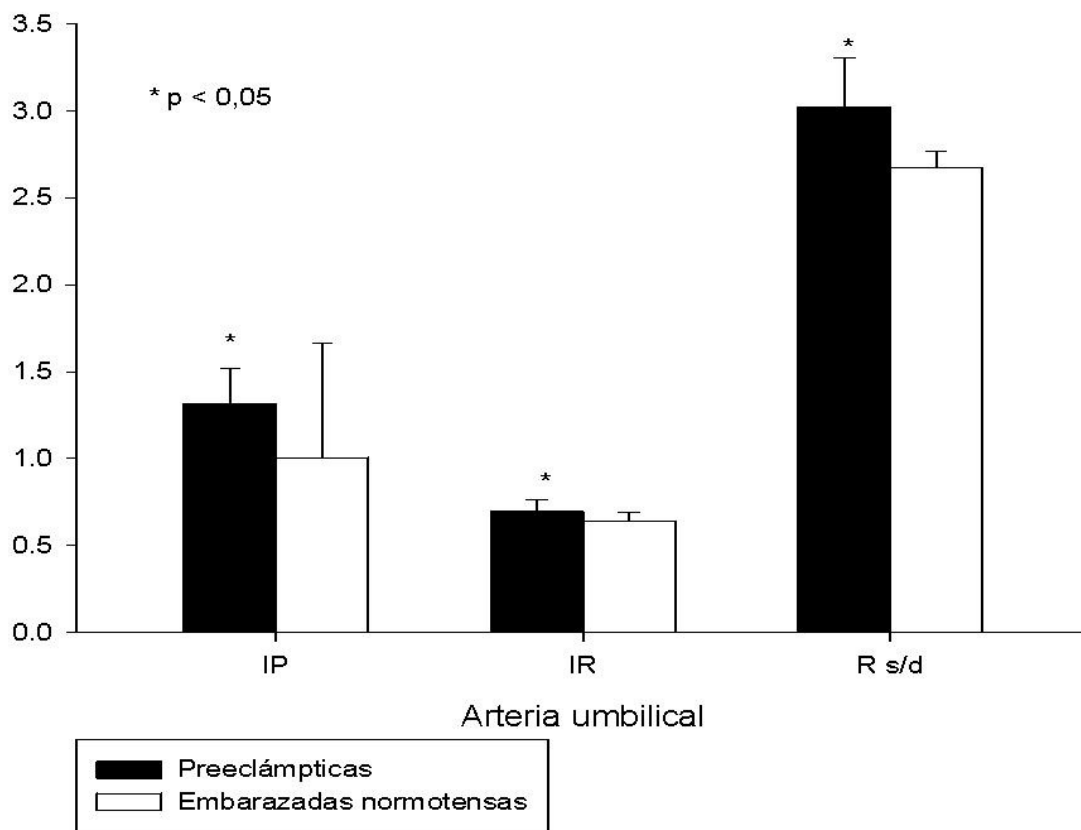


FIGURA 2. PROMEDIO DE LAS DETERMINACIONES HEMODINÁMICAS EN LA ARTERIA UMBILICAL EN LOS CASOS Y LOS CONTROLES.

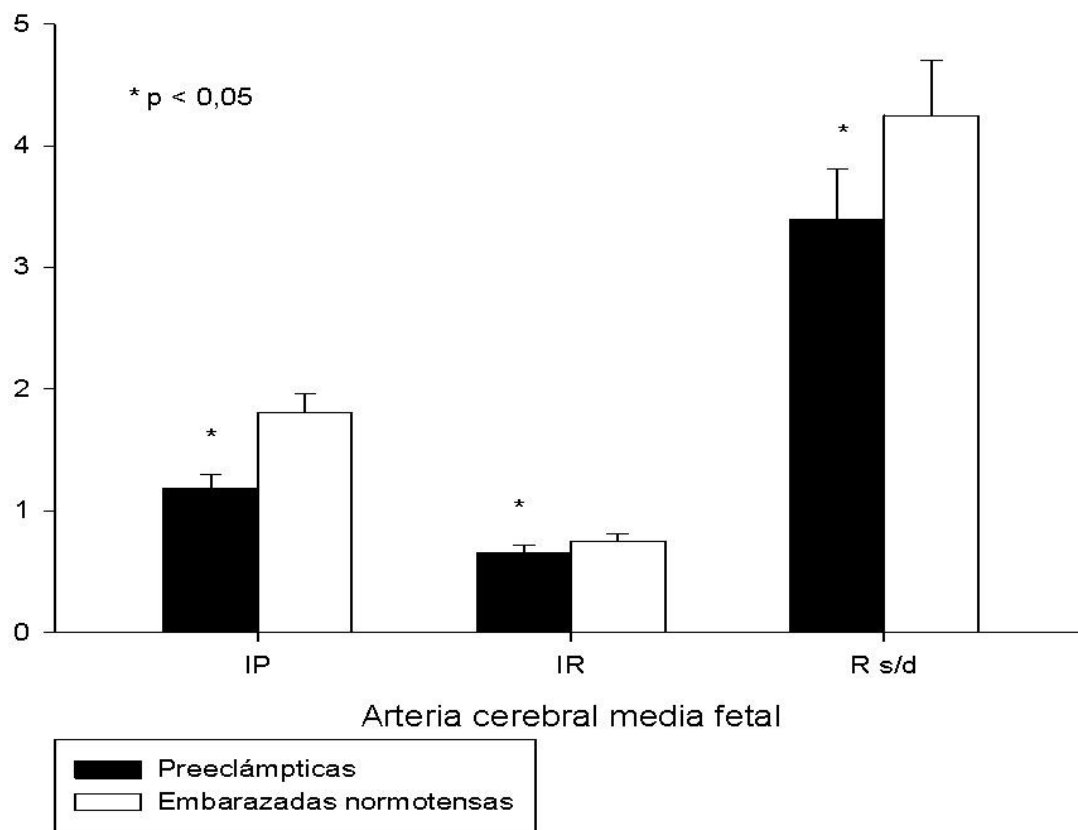


FIGURA 3. PROMEDIO DE LAS DETERMINACIONES HEMODINÁMICAS EN LA ARTERIA CEREBRAL MEDIA EN LOS CASOS Y LOS CONTROLES.

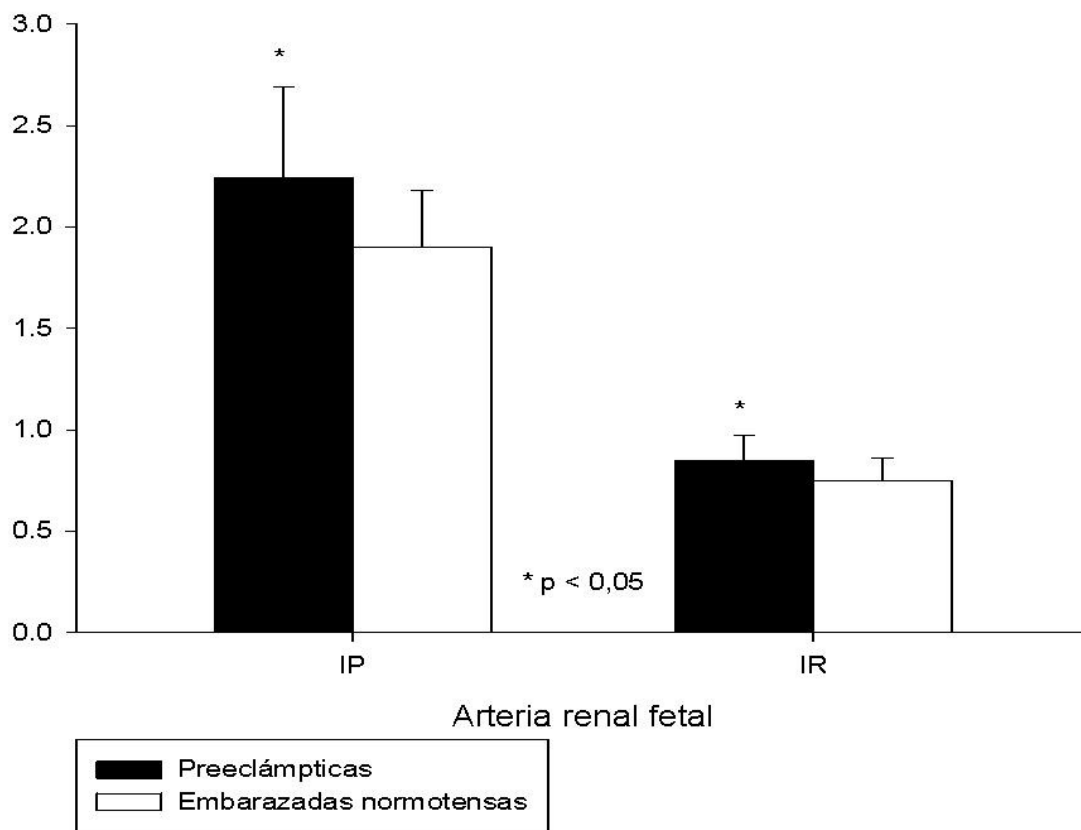


FIGURA 4. PROMEDIO DE LAS DETERMINACIONES HEMODINÁMICAS EN LA ARTERIAS RENALES FETALES EN LOS CASOS Y LOS CONTROLES.

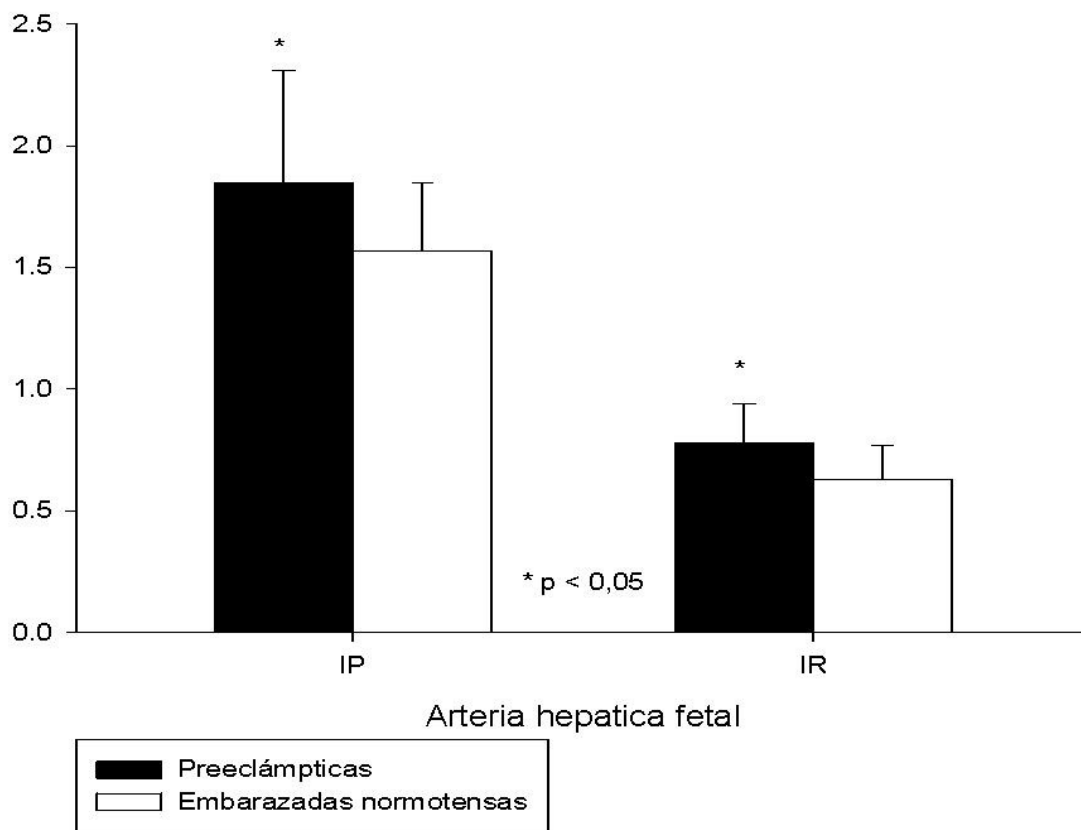


FIGURA 5. PROMEDIO DE LAS DETERMINACIONES HEMODINÁMICAS EN LA ARTERIAS HEPÁTICAS FETALES EN LOS CASOS Y LOS CONTROLES.

CARACTERÍSTICAS INICIALES DE LAS PREECLÁMPTICAS

Las preeclámpticas fueron divididas al azar en dos grupos para ser tratadas con parches de nitroglicerina (grupo A) o no tratadas (grupo B). Las características iniciales de ambos grupos se muestran en la tabla 6. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas con relación a la edad materna, edad gestacional, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica y proteinuria en 24 horas ($p = ns$).

EVALUACIÓN DOPPLER

Con respecto a los valores de la evaluación ecográfica Doppler de los vasos uterinos, umbilical y cerebral media fetal (tabla 7), no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes en ninguna de las mediciones Doppler de todos los territorios estudiados.

Tampoco se encontraron diferencias significativas en los valores de velocimetría Doppler de la arteria renal y hepática fetal (tabla 8), ni en las relaciones de flujo Doppler en los diferentes vasos estudiados (tabla 9; $p = ns$).

INDICADORES DE INFLAMACIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

Con respecto a los biomarcadores, concentraciones de nitrito / nitrato y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (tablas 10 y 11), no se encontraron diferencias entre los grupos de pacientes tratadas y no tratadas con parches de nitroglicerina antes del inicio del tratamiento.

TABLA 6.
CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS PREECLÁMPTICAS
TRATADAS O NO CON PARCHES DE NITROGLICERINA.

Promedio +/- desviación estándar	Grupo A Casos (Tratadas) (n = 40)	Grupo B Controles (No tratadas) (n = 40)	p
Edad materna, años	21,77 +/- 3,07	22,10 +/- 3,38	ns
Edad gestacional, semanas	34,23 +/- 1,85	34,77 +/- 1,56	ns
Presión arterial sistólica, mm de Hg	147,06 +/- 11,49	144,71 /- 6,57	ns
Presión arterial diastólica, mm de Hg	110,10 +/- 7,00	109,77 +/- 7,61	ns
Proteinuria, g/24 horas	3,1 +/- 1,9	3,0 +/- 1,5	ns

TABLA 7.
PROMEDIO DE LAS DETERMINACIONES HEMODINÁMICAS EN LAS DIFERENTES ARTERIAS EN PREECLÁMPTICAS TRATADAS O NO CON PARCHES DE NITROGLICERINA.

Promedio +/- desviación estándar	Grupo A Casos (Tratadas) (n = 40)	Grupo B Controles (No tratadas) (n = 40)	p
Arterias uterinas			
IP	1,105 +/- 0,020	1,085 +/- 0,056	ns
IR	0,642 +/- 0,055	0,599 +/- 0,052	ns
rS/D	2,719 +/- 0,273	2,757 +/- 0,210	ns
Arteria umbilical			
IP	1,331 +/- 0,203	1,307 +/- 0,661	ns
IR	0,695 +/- 0,059	0,693 +/- 0,049	ns
rS/D	3,019 +/- 0,281	3,077 +/- 0,194	ns
Arteria cerebral media fetal			
IP	1,189 +/- 0,122	1,190 +/- 0,149	ns
IR	0,657 +/- 0,059	0,652 +/- 0,062	ns
rS/D	3,399 +/- 0,378	3,380 +/- 0,451	ns

TABLA 8.
PROMEDIO DE LAS DETERMINACIONES HEMODINÁMICAS
ARTERIAS RENALES Y HEPÁTICA FETAL EN PREECLÁMPTICAS
TRATADAS O NO CON PARCHES DE NITROGLICERINA.

Promedio +/- desviación estándar	Grupo A Casos (Tratadas) (n = 40)	Grupo B Controles (No tratadas) (n = 40)	p
Arterias renal fetal			
IP	2,27 +/- 0,41	2,30 +/- 0,28	ns
IR	0,85 +/- 0,13	0,85 +/- 0,11	ns
Arteria hepática			
IP	1,84 +/- 0,45	1,87 +/- 0,28	ns
IR	0,77 +/- 0,11	0,75 +/- 0,14	ns

TABLA 9.
RELACIONES DE FLUJO SANGUÍNEO DOPPLER
EN PREECLÁMPTICAS TRATADAS O NO CON
PARCHES DE NITROGLICERINA.

Promedio +/- desviación estándar	Grupo A Casos (Tratadas) (n = 40)	Grupo B Controles (No tratadas) (n = 40)	p
Relación de flujo sanguíneo arteria cerebral media fetal / arteria umbilical	1,136 +/- 0,167	1,083 +/- 0,175	ns
Relación del IR de la arteria cerebral media fetal / arteria umbilical	1,054 +/- 0,130	1,034 +/- 0,104	ns

TABLA 10.
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE BIOMARCADORES
EN PREECLÁMPTICAS TRATADAS O NO
CON PARCHES DE NITROGLICERINA.

Promedio +/- desviación estándar	Grupo A Casos (Tratadas) (n = 40)	Grupo B Controles (No tratadas) (n = 40)	p
Interleuquina 10, pg/ml	15,9 +/- 3,1	16,6 +/- 4,0	ns
Interleuquina 6, pg/ml	31,4 +/- 2,5	32,2 +/- 5,7	ns
Factor de necrosis tumoral alfa, pg/ml	9,7 +/- 4,6	9,5 +/- 6,6	ns
Interferón Gamma, pg/ml	75,5 +/- 27,7	74,2 +/- 29,6	ns
Proteína C reactiva, mg/L	6,1 +/- 2,2	6,5 +/- 0,8	ns
Selectina P, ng/ml	104,8 +/- 9,4	109,9 +/- 7,4	ns
Selectina E, ng/ml	59,3 +/- 9,9	62,2 +/- 7,8	ns
Selectina L, ng/ml	550,0 +/- 74,2	564,8 +/- 62,1	ns
Dimetilarginina asimétrica, picomol/L	0,544 +/- 0,034	0,548 +/- 0,041	ns

TABLA 11.
CONCENTRACIONES DE NITRATO / NITRITO Y
SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO BARBITÚRICO
EN PREECLÁMPTICAS TRATADAS O NO
CON PARCHES DE NITROGLICERINA.

Promedio +/- desviación estándar	Grupo A Casos (Tratadas) (n = 40)	Grupo B Controles (No tratadas) (n = 40)	p
Nitrato / nitrito (μ mol/L)	12,0 +/- 8,4	12,5 +/- 7,1	ns
Sustancias reactivas al ácido barbitúrico (μ mol/L)	11,4 +/- 3,9	11,0 +/- 2,0	ns

EFEECTO DE LA NITROGLICERINA EN PREECLÁMPTICAS

EVALUACIÓN DOPPLER

En la tabla 12 se muestran los promedios de las mediciones hemodinámicas con ecografía Doppler antes y después de la administración de los parches de nitroglicerina en las pacientes del grupo de preeclámpticas, para lo que se utilizó la prueba ANOVA con post-tests de Dunnett utilizando los valores iniciales como valor control. Al analizar mediciones de las arterias uterinas, se observó que el IP inicial fue de 1,105 +/- 0,021, observándose una disminución progresiva a las 24 y 48 horas hasta llegar a 0,952 +/- 0,014. Esta disminución se consideró estadísticamente significativa (figura 6; $p < 0,05$). Con respecto al IR se observó un valor inicial de 0,624 +/- 0,055, observándose una disminución significativa hasta 0,576 +/- 0,068 luego de 48 horas de tratamiento. Esta disminución también fue considerada estadísticamente significativa (figura 7; $p < 0,05$). En cuanto a la relación de rS/D inicial fue de 2,719 +/- 0,273, observándose una disminución significativa posterior a 48 horas de tratamiento hasta 2,279 +/- 0,242 (figura 8; $p < 0,05$).

Con respecto a la arteria umbilical, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el IP ($p = ns$), IR ($p = ns$) y rS/D ($p = ns$) entre los dos periodos de tratamiento y los valores promedio iniciales.

Con relación a las mediciones hemodinámicas de la arteria cerebral media fetal, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores antes y después del tratamiento en el IP ($p = ns$), IR ($p = ns$) y rS/D ($p = ns$).

Con respecto a la evaluación de la arteria renal y hepática fetal (tabla 13), no se observaron cambios significativos en los valores promedio de los IP y IR en ambas arterias antes y después del uso de los parches de nitroglicerina ($p = ns$).

Igual a lo anteriormente descrito, tampoco se observaron cambios significativos en inducidos por el uso de los parches de nitroglicerina en la relación de flujo sanguíneo de la arteria cerebral media fetal / arteria umbilical y la relación de IR de la arteria cerebral media fetal / arteria umbilical ($p = ns$; tabla 14).

Al analizar los valores de presión arterial antes y después del tratamiento con los

parches de nitroglicerina (tabla 15), se observó que las pacientes de ambos grupos presentaban valores similares al inicio del estudio tanto de la presión arterial sistólica como de la presión arterial diastólica ($p = ns$). En las pacientes tratadas con parches de nitroglicerina se observó una disminución de la presión arterial sistólica superior al 3% luego de las 24 y 48 horas de tratamiento. Esta diferencia se consideró estadísticamente significativa (figura 9; $p < 0,05$). De igual forma, se encontró que la presión arterial diastólica disminuyó más de 4% luego del uso de tratamiento por 48 horas. Esta diferencia también se consideró estadísticamente significativa (figura 10; $p < 0,05$).

INDICADORES DE INFLAMACIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

Con respecto a la concentración de IL-10, FNT- α , INF- γ , IL-6, PCR, selectina P, E y L y ADMA, no se encontraron modificaciones en las concentraciones plasmáticas luego del uso de los parches de nitroglicerina al compararlo con los valores iniciales ($p = ns$; tabla 16).

La tabla 17 muestra las concentraciones plasmáticas promedio de nitrato / nitrito y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en ambos grupos de estudio. Las concentraciones plasmáticas de nitrato / nitrito en las preeclámplicas luego de 48 horas de tratamiento con parches de nitroglicerina fueron significativamente mayores $19,7 \pm 5,8 \mu\text{mol/L}$ comparado con $12,1 \pm 6,4 \mu\text{mol/L}$; $p < 0,05$) y las concentraciones de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico significativamente más bajas ($11,1 \pm 2,9 \mu\text{mol/L}$ comparado con $9,3 \pm 2,3 \mu\text{mol/L}$; $p < 0,05$).

RESULTANTE NEONATAL

Las variables neonatales se muestran en la tabla 18, la cual fue similar en ambos grupos de estudio. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de pacientes con relación a la puntuación de Apgar al minuto y a los 5 minutos, pH de la arteria umbilical y frecuencia cardiaca del recién nacido al minuto y a los 5 minutos ($p = ns$). La frecuencia cardiaca se incrementó espontáneamente en los

recién nacidos de ambos grupos luego de 5 minutos del nacimiento.

COMPLICACIONES PERINATALES

Con respecto a las complicaciones neonatales en cada grupo de estudio (tabla 19), se observó que el mayor número de complicaciones se observó en el grupo control (5 complicaciones totales, 3 recién nacidos (7,5%) con enfermedad pulmonar y 2 recién nacidos (5%) con enterocolitis necrotizante) comparado con el grupo de pacientes que recibió parches de nitroglicerina en el cual solo se observó un caso de un recién nacido con hemorragia intraventricular. Sin embargo, esta diferencia no fue significativa ($p = ns$). De igual forma se observó que las pacientes tratadas con parches de nitroglicerina tenían una menor frecuencia de partos vaginales (50,0%) comparado con las pacientes del grupo control (56,0%). Esta diferencia fue considerada no significativa ($p = ns$). Con respecto al número de muestras perinatales, se observó la muerte de un recién nacido (2,5%) en el grupo de pacientes tratadas con nitroglicerina y 4 muertes (10,0%) en las pacientes del grupo control. Esta diferencia no fue significativa ($p = ns$).

EFFECTOS ADVERSOS

El principal efecto adverso en ambos grupos de paciente fue la cefalea (tabla 20). Dieciocho pacientes en el grupo A y 8 pacientes en el grupo B refirieron la presencia de esta en algún momento ($p < 0,05$). Sin embargo, ninguna paciente necesito ser retirada del estudio debido a cefalea intensa. No se encontraron diferencias significativas en los otros efectos adversos estudiados ($p = ns$).

TABLA 12.
PROMEDIO DE LAS MEDICIONES HEMODINÁMICAS EN LAS
PREECLÁMPTICAS DE LAS DIFERENTES ARTERIAS
ANTES Y DESPUÉS DEL USO DE PARCHES NITROGLICERINA.

Promedio +/- desviación estándar (n = 40)			Antes del tratamiento		Después del tratamiento	
			Inicial	24 horas	24 horas	48 horas
Arterias uterinas						
IP	Tratadas		1,105 +/- 0,021	0,981 +/- 0,008 * ¥	0,952 +/- 0,014 * ¥	
	No tratadas		1,107 +/- 0,021	1,108 +/- 0,020	1,107 +/- 0,019	
IR	Tratadas		0,624 +/- 0,055	0,597 +/- 0,063 *	0,576 +/- 0,068 * ¥	
	No tratadas		0,626 +/- 0,054	0,626 +/- 0,064	0,628 +/- 0,065	
rS/D	Tratadas		2,719 +/- 0,273	2,472 +/- 0,221 * ¥	2,279 +/- 0,242 * ¥	
	No tratadas		2,726 +/- 0,277	2,723 +/- 0,276	2,721 +/- 0,337	
Arteria umbilical						
IP	Tratadas		1,331 +/- 0,203	1,349 +/- 0,271	1,255 +/- 0,228	
	No tratadas		1,299 +/- 0,199	1,296 +/- 0,199	1,313 +/- 0,255	
IR	Tratadas		0,695 +/- 0,058	0,730 +/- 0,059	0,724 +/- 0,070	
	No tratadas		0,697 +/- 0,078	0,699 +/- 0,096	0,692 +/- 0,079	
rS/D	Tratadas		3,019 +/- 0,280	2,979 +/- 0,334	3,050 +/- 0,351	
	No tratadas		3,029 +/- 0,285	3,025 +/- 0,304	2,990 +/- 0,289	
Arteria cerebral media fetal						
IP	Tratadas		1,189 +/- 0,122	1,188 +/- 0,120	1,170 +/- 0,057	
	No tratadas		1,207 +/- 0,107	1,199 +/- 0,107	1,203 +/- 0,107	
IR	Tratadas		0,657 +/- 0,059	0,682 +/- 0,061	0,686 +/- 0,049	
	No tratadas		0,658 +/- 0,071	0,658 +/- 0,077	0,657 +/- 0,080	
rS/D	Tratadas		3,399 +/- 0,378	3,278 +/- 0,446	3,261 +/- 0,401	
	No tratadas		3,391 +/- 0,441	3,357 +/- 0,445	3,358 +/- 0,441	

* p < 0,01 comparado con el valor inicial

¥ p < 0,05 comparado con las pacientes no tratadas.

TABLA 13.
MEDICIONES HEMODINÁMICAS EN LAS
PREECLÁMPTICAS DE LAS ARTERIAS RENAL Y HEPÁTICA FETAL
ANTES Y DESPUÉS DEL USO DE PARCHES DE NITROGLICERINA.

Promedio +/- desviación estándar (n = 40)		Antes del tratamiento	Después del tratamiento	
		Inicial	24 horas	48 horas
Arteria renal fetal				
IP	Tratadas	2,27 +/- 0,41	2,31 +/- 0,25	2,30 +/- 0,34
	No tratadas	2,21 +/- 0,49	2,27 +/- 0,49	2,29 +/- 0,49
IR	Tratadas	0,85 +/- 0,13	0,86 +/- 0,09	0,86 +/- 0,11
	No tratadas	0,84 +/- 0,11	0,85 +/- 0,10	0,85 +/- 0,10
Arteria hepática fetal				
IP	Tratadas	1,84 +/- 0,45	1,83 +/- 0,44	1,80 +/- 0,40
	No tratadas	1,86 +/- 0,47	1,86 +/- 0,47	1,85 +/- 0,47
IR	Tratadas	0,77 +/- 0,11	0,76 +/- 0,12	0,77 +/- 0,12
	No tratadas	0,78 +/- 0,16	0,78 +/- 0,16	0,78 +/- 0,14

TABLA 14.
*RELACIONES DE FLUJO SANGUÍNEO ANTES Y DESPUÉS DEL USO DE
PARCHES DE NITROGLICERINA.*

Promedio +/- desviación estándar (n = 40)		Antes del tratamiento			Después del tratamiento		
		Inicial	24 horas	48 horas	Inicial	24 horas	48 horas
Relación de flujo sanguíneo arteria cerebral media / arteria umbilical	Tratadas	1,136 +/- 0,167	1,104 +/- 0,125	1,099 +/- 0,177			
	No tratadas	1,124 +/- 0,165	1,111 +/- 0,165	1,114 +/- 0,173			
Relación de flujo sanguíneo arteria cerebral media fetal / arteria umbilical	Tratadas	1,054 +/- 0,130	1,050 +/- 0,112	1,056 +/- 0,133			
	No tratadas	1,059 +/- 0,122	1,058 +/- 0,122	1,059 +/- 0,125			

TABLA 15.
*VALORES DE PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA Y DIASTÓLICA
EN PREECLÁMPTICAS ANTES Y DESPUÉS
DEL USO DE PARCHES DE NITROGLICERINA*

Promedio +/- desviación estándar	Grupo A Casos (Tratadas) (n = 40)	Grupo B Controles (No tratadas) (n = 40)	p
Presión arterial sistólica, mm de Hg			
Inicial	147,06 +/- 11,49	148,71 +/- 6,57	ns
24 horas	142,47 +/- 13,32 [¥]	147,57 +/- 11,61	< 0,05
48 horas	142,61 +/- 15,71 [¥]	147,66 +/- 13,69	< 0,05
Presión arterial diastólica, mm de Hg			
Inicial	110,10 +/- 7,00	109,77 +/- 7,61	ns
24 horas	106,78 +/- 10,74 [¥]	111,15 +/- 8,45	< 0,05
48 horas	105,13 +/- 8,65 [¥]	111,44 +/- 8,99	< 0,05

[¥] p < 0,05 comparado con el valor inicial.

TABLA 16.
MODIFICACIONES DE LA CONCENTRACIÓN
DE BIOMARCADORES EN PREECLÁMPTICAS
ANTES Y DESPUÉS DEL USO DE
PARCHES DE NITROGLICERINA.

Promedio +/- desviación estándar (n = 40)	Antes del tratamiento	Después del tratamiento	p
Interleuquina 10, pg/ml	15,9 +/- 3,1	17,5 +/- 6,2	ns
Factor de necrosis tumoral alfa, pg/ml	9,7 +/- 4,6	9,0 +/- 5,1	ns
Interferón gamma (pg/ml)	75,5 +/- 27,7	74,2 +/- 29,6	ns
Interleuquina 6, pg/ml	31,4 +/- 2,5	29,5 +/- 6,4	ns
Proteína C reactiva, mg/L	6,1 +/- 2,2	6,3 +/- 2,8	ns
Selectina P, ng/ml	104,8 +/- 9,4	102,6 +/- 13,5	ns
Selectina E, ng/ml	59,3 +/- 9,9	58,1 +/- 10,2	ns
Selectina L, ng/ml	550,0 +/- 74,2	561,4 +/- 81,5	ns
Dimetilarginina asimétrica, picomol/L	0,547 +/- 0,034	0,552 +/- 0,027	ns

TABLA 17.
CONCENTRACIONES DE NITRATO / NITRITO Y
SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO BARBITÚRICO
ANTES Y DESPUÉS DEL USO DE
PARCHES DE NITROGLICERINA.

Promedio +/- desviación estándar (n = 40)	Antes del tratamiento	Después del tratamiento	p
Nitrato / nitrito (µmol/L)	12,1 +/- 6,4	19,7 +/- 5,8 *	< 0,05
Sustancias reactivas al ácido barbitúrico (µmol/L)	11,1 +/- 2,9	9,3 +/- 2,3*	< 0,05

TABLA 18.
**VARIABLES NEONATALES EN PREECLÁMPTICAS TRATADAS
O NO CON PARCHES DE NITROGLICERINA.**

Promedio +/- desviación estándar	Grupo A Casos (Tratadas) (n = 40)	Grupo B Controles (No tratadas) (n = 40)	p
Apgar al minuto, puntos	7,9 +/- 0,5	8,1 +/- 0,6	ns
Apgar a los 5 minutos, puntos	8,7 +/- 0,8	8,9 +/- 0,5	ns
pH arteria umbilical	7,367 +/- 0,007	7,330 +/- 0,244	ns
Frecuencia cardiaca del recién nacido al minuto, latidos x min	142,5 +/- 20,0	136,0 +/- 18,4	ns
Frecuencia cardiaca del recién nacido a los 5 minutos, latidos x min	157,8 +/- 10,9	153,9 +/- 6,8	ns

TABLA 19.
**COMPLICACIONES PERINATALES EN PREECLÁMPTICAS TRATADAS
 O NO CON PARCHES DE NITROGLICERINA.**

n (%)	Grupo A Casos (Tratadas) (n = 40)	Grupo B Controles (No tratadas) (n = 40)	p
Parto vaginal	20 (50,0)	28 (56,0)	ns
Enfermedad pulmonar	0	3 (7,5)	ns
Hemorragia intraventricular	1 (2,5)	0	ns
Enterocolitis necrotizante	0	2 (5,0)	ns
Complicaciones perinatales totales	1 (2,5)	5 (12,5)	ns
Muertes perinatales	1 (2,5)	4 (10,0)	ns

TABLA 20.
EFFECTOS ADVERSOS.

n (%)	Grupo A Casos (Tratadas) (n = 40)	Grupo B Controles (No tratadas) (n = 40)	p
Cefalea	18 (45,0)	8 (20,0)	< 0,05
Calorones	8 (20,0)	5 (12,5)	ns
Hipotensión	5 (12,5)	4 (10,0)	ns
Bradycardia fetal	5 (12,0)	0	ns

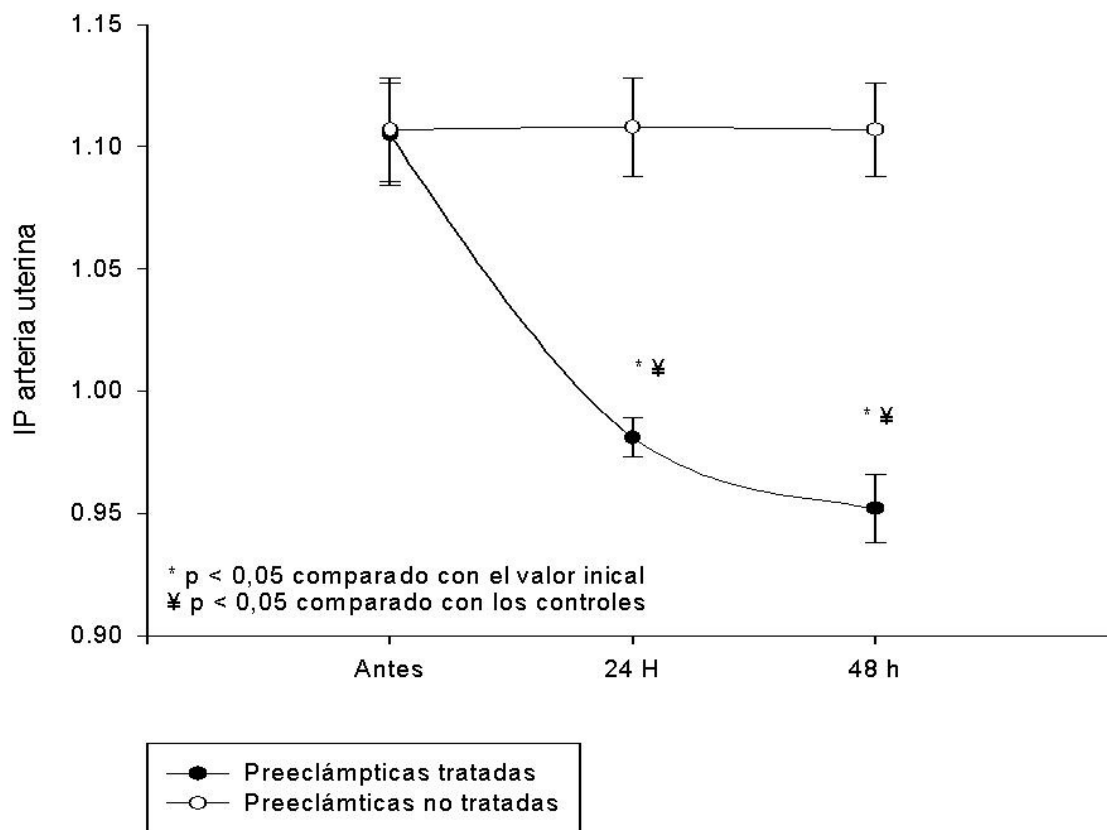


FIGURA 6. PROMEDIO DEL ÍNDICE DE PULSATILIDAD DE LA ARTERIA UTERINA EN LAS PREECLÁMPTICAS TRATADAS Y NO TRATADAS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO.

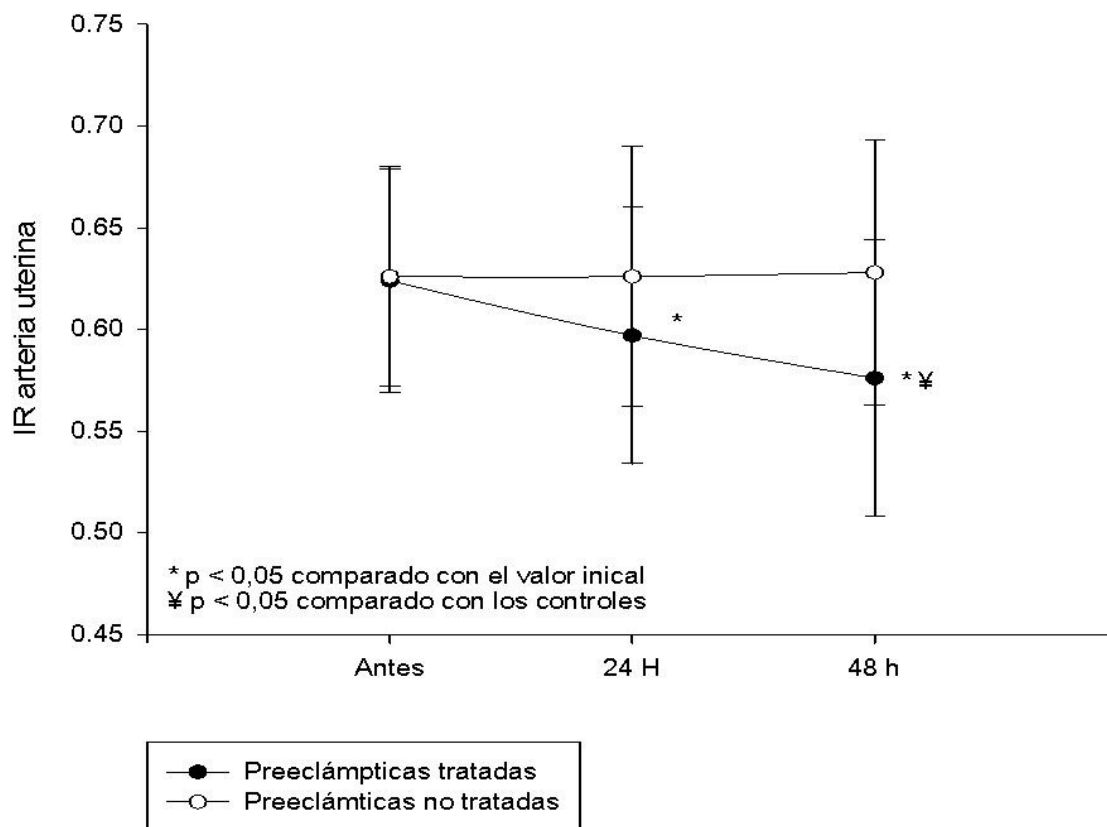


FIGURA 7. PROMEDIO DEL ÍNDICE DE RESISTENCIA DE LA ARTERIA UTERINA EN LAS PREECLÁMPTICAS TRATADAS Y NO TRATADAS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO.

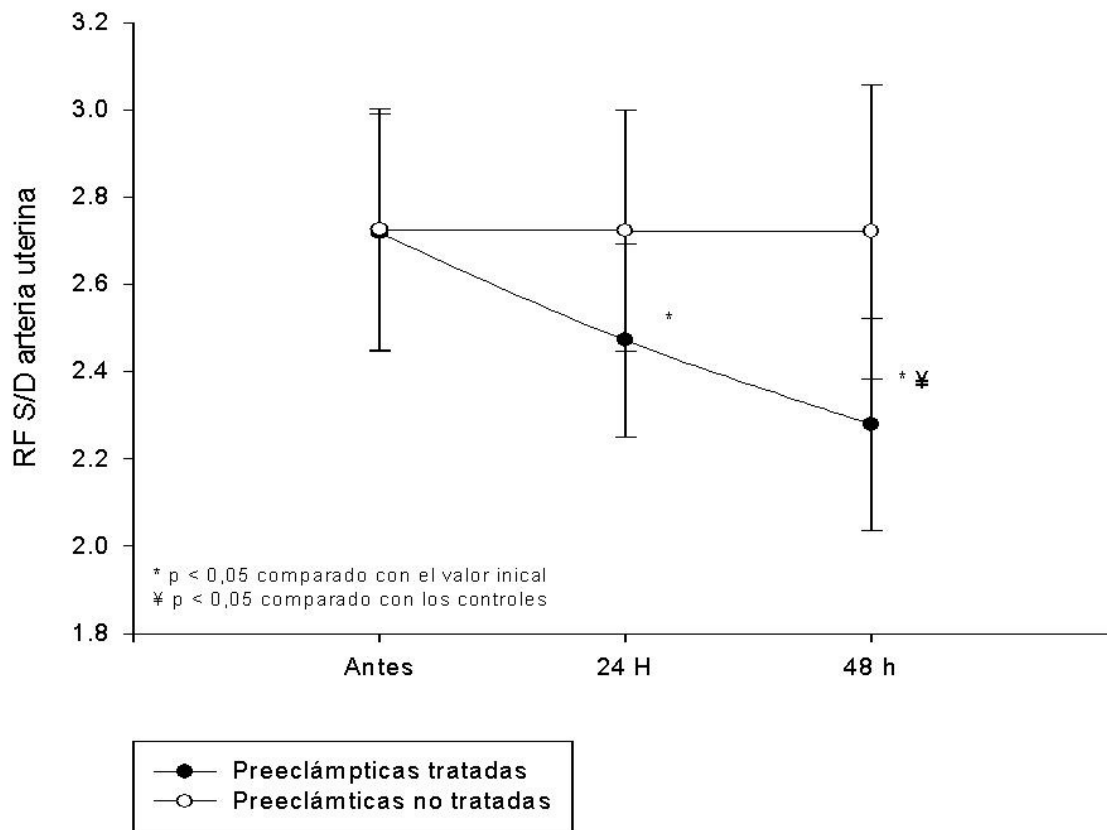


FIGURA 8. PROMEDIO DE LA RELACIÓN DE FLUJO SISTÓLICO / DIASTÓLICO DE LA ARTERIA UTERINA EN LAS PREECLÁMPTICAS TRATADAS Y NO TRATADAS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO.

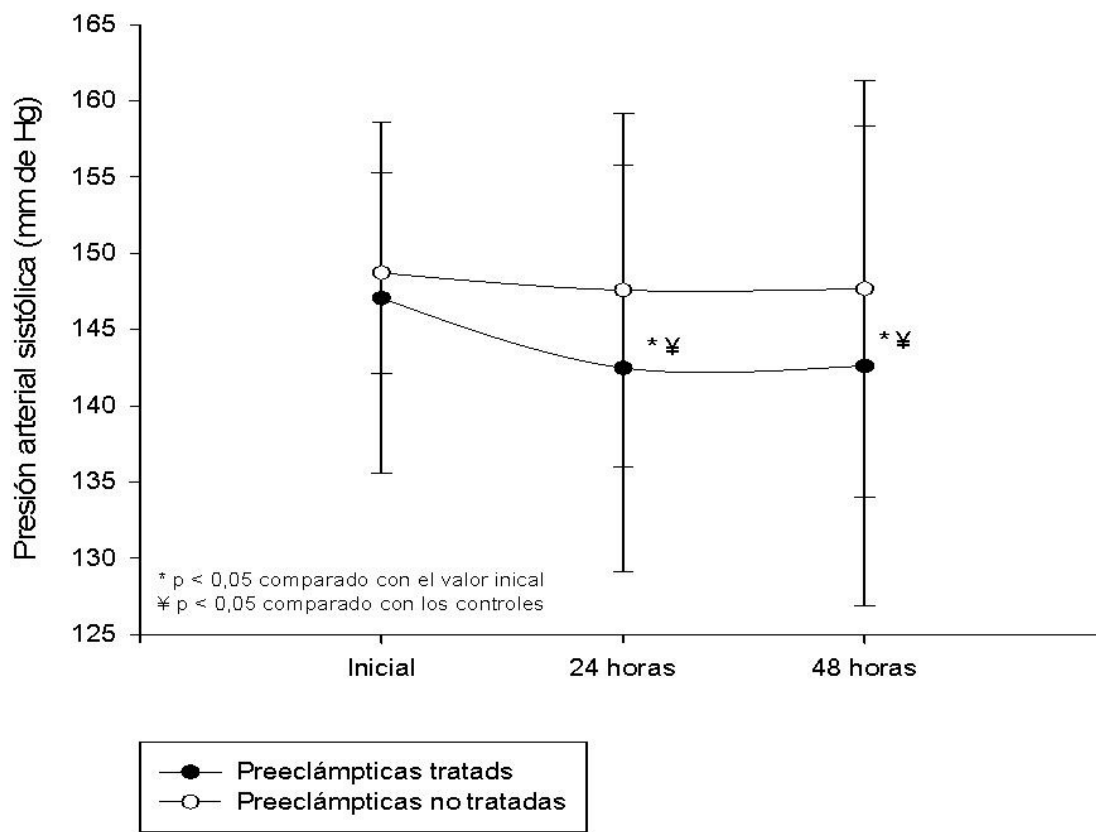


FIGURA 9. PROMEDIO DE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA EN LAS PREECLÁMPTICAS TRATADAS Y NO TRATADAS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO.

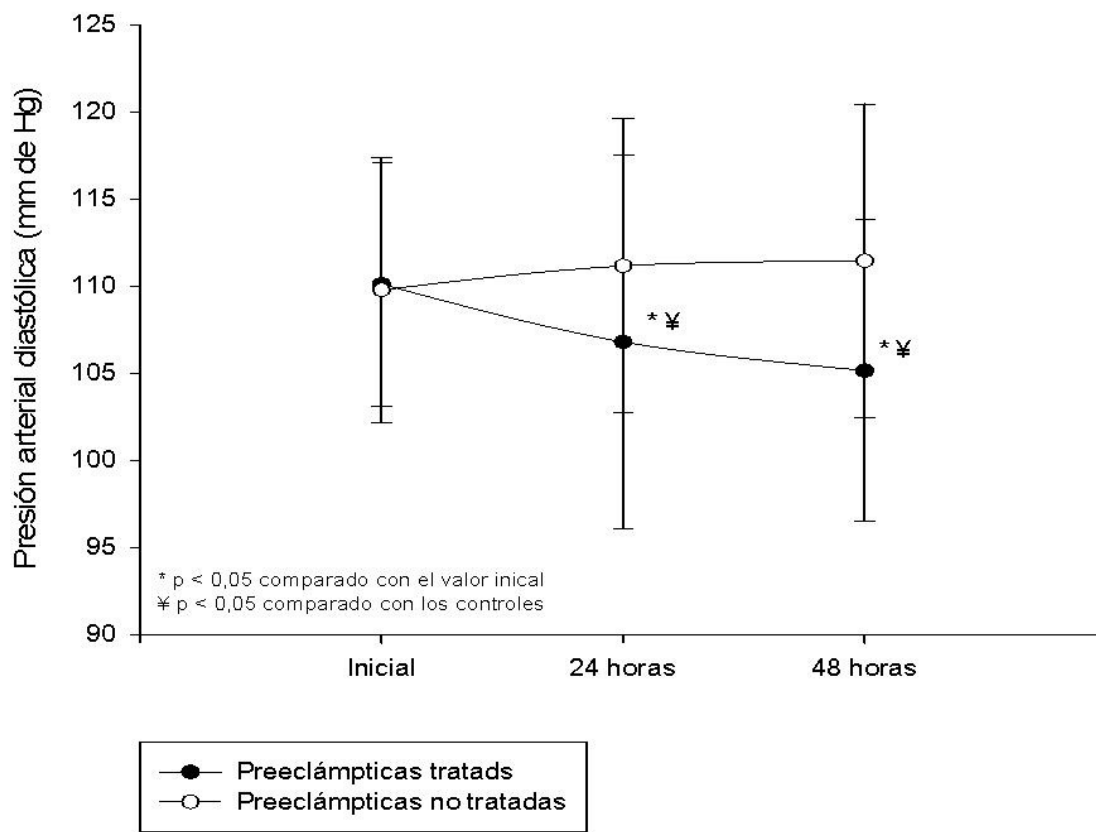


FIGURA 10. PROMEDIO DE LA PRESIÓN ARTERIAL DIASTÓLICA EN LAS PREECLÁMPTICAS TRATADAS Y NO TRATADAS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO.

DISCUSIÓN

EVALUACIÓN DOPPLER DE LAS ARTERIAS UTERINAS, UMBILICAL Y CEREBRAL MEDIA FETAL Y EFECTOS DE LOS PARCHES DE NITROGLICERINA

La preeclampsia es una de las principales causas de morbilidad materna y neonatal. El daño vascular endotelial y el vasoespasmo juegan un papel importante en la patogénesis del síndrome. Con el uso de diferentes fármacos para el tratamiento de la enfermedad la mortalidad ha disminuido en forma significativa (**Lees, 1998; Picciolo, 2000**).

La preeclampsia, y en un menor grado la hipertensión aislada durante el embarazo, es una enfermedad vascular que afecta tanto la circulación materna como fetal. Del lado materno, una de las características más tempranas de la enfermedad es la infiltración deficiente de las arterias espirales por el trofoblasto, por lo cual no se produce el incremento de 10 a 12 veces de la perfusión uterina, como se observa en el embarazo normal (**Whitley, 2009**). Esto afecta el flujo de las arterias uterinas (**Gudmundsson, 2003**). Del lado fetal, existe una pobre vascularización y hemorragias del estroma de las vellosidades terminales y endovasculitis hemorrágica (**Tchirikov, 2002; Harman, 2003**).

Debido a que el problema principal en la preeclampsia es el vasoespasmo, un fármaco que evite esta modificación resolvería el problema (**Picciolo, 2000**). Los resultados de esta investigación demuestran que los parches de nitroglicerina producen reducción significativa en las mediciones del IP, IR y rS/D de la arteria uterina a partir de las 24 horas de uso, sin producir modificaciones en los parámetros de las arterias umbilical y cerebral media fetal. Los resultados de este estudio son apoyados por estudios previos en arterias de preeclámpticas realizados *in vitro* (**Oketani, 1981; Izumi, 1994; Torfgård, 1994**).

De acuerdo a los complejos efectos del ON, los parches de nitroglicerina han sido utilizados en forma exitosa como agentes tocolíticos en embarazadas con riesgo de parto pretérmino (**Luzi, 1999; Leszczynska-Gorzalak, 2001**). Posterior a la administración transdérmica de nitroglicerina, las concentraciones plasmáticas parecen mantenerse por más de 24 horas con gran variabilidad entre los individuos tratados

(**Rashid, 2003**). Los datos de estudios en animales no pueden ser transpolado a humanos, ya que la metabolización del substrato no es solo dependiente de la edad, sino también de la especie (**Oketani, 1981; Abramovitz, 1988; Pacifici, 1988; Picciolo, 2000**).

El glicerol-trinitrato (el medicamento base en los parches de nitroglicerina) es metabolizado a 1,2 o 1,3 gliceril-dinitrato por hidrólisis reductiva y oxidación del glutatión con liberación de dióxido de nitrógeno. Este proceso depende de la concentración de glutatión reducido como substrato y sobre la actividad de los sub-tipos de la enzima glutatión-S-transferasa.

La disminución del flujo útero-placentario, sugeridos por la comparación de los hallazgos en las mediciones Doppler entre las preeclámpticas y los controles normotensas, demostrado por los resultados de esta investigación, puede ser el resultado directo de un incremento inapropiado de la vasoconstricción acompañado de una disminución de la relajación dependiente del endotelio como previamente lo reportaron Giles y colaboradores (**1992**), lo que determinaría que la utilidad clínica de los parches de nitroglicerina, por sus características de donador de ON, mejoraría la relajación de los vasos maternos, mediada por el ON, inducida por la preeclampsia.

Las variaciones en la resistencia de las arterias maternas, y en especial las miométriales, durante el embarazo demuestran ser importantes para la función placentaria normal. Debido a que las arterias espirales se transforman en vasos de conducción por la invasión trofoblástica durante la placentación, es probable que el control de la perfusión placentaria pueda ser a un nivel más alto del árbol vascular (**Ramsay, 1994**). Se ha sugerido que la relajación dependiente del endotelio en la preeclampsia está disminuida y que esto puede alterar la perfusión placentaria (**Thaler, 1992; Seligman, 1994**). Sin embargo, se ha indicado que la disminución de la reactividad vascular en las arterias maternas no es completamente responsable de la reducción del flujo placentario (**Poston, 1998**).

Una variedad de estudios han demostrado los efectos de los donadores de ON sobre el flujo sanguíneo uterino y fetal (**Cacciatore, 1998; Lees, 1998; Luzi, 1999; Nakatsuka, 1999; Nakatsuka, 2002**), pero estos estudios son difícilmente comparables

entre sí; se han utilizado diferentes tipos de fármacos, por diferentes vías, tiempos de medición diferentes y algunos estudios han incluido pacientes preeclámpticas con fetos con y sin restricción del crecimiento intrauterino. Di Iorio y colaboradores (**1997**) han descrito formas de flujo uterina patológicas que son análogas a las observadas en embarazos con concentraciones bajas de ON en el líquido amniótico.

Beinder y colaboradores (**1999**) reportaron una disminución significativa en la actividad de la NOS en el lecho útero-placentario, mientras que la resistencia del flujo sanguíneo en las arterias uterinas estaba elevado en comparación con los controles. Los datos de esa investigación demuestran que la alteración en las ondas de las arterias uterinas de las preeclámpticas corresponde a una disminución de la actividad de la NOS en el lecho útero-placentario. Esta deficiencia puede ser corregida y se puede lograr una modificación positiva en el IR con la administración de nitroglicerina transdérmica. Se ha propuesto que mientras mayor es la resistencia vascular, mayor será la vasodilatación (**Rytewski, 2005**).

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, en esta investigación se encontró una disminución significativa en las determinaciones hemodinámicas de la arteria uterina, con modificaciones significativas del IP, IR y rS/D cercano que se acercan a la normalidad después del tratamiento con parches de nitroglicerina.

Al analizar los estudios que describen el flujo sanguíneo en la arteria umbilical en embarazadas sanas con IR y IP en rangos normales, Luzi y colaboradores (**1999**) no encontraron modificaciones en el IP después de la administración de gliceroltrinitrato sublingual en el grupo control o de pacientes con amenaza de parto pretérmino con valores iniciales normales de IR y IP.

Grunenwald y colaboradores (**1995**) encontraron que la disminución en el IP de la arteria umbilical era más marcado en las pacientes con IP de la arteria umbilical anormalmente alto antes de la infusión de la nitroglicerina que en aquellas que tenían IP normales. En caso de preeclampsia y restricción del crecimiento intrauterino, los resultados son contradictorios. Algunos autores reportan la ausencia de este efecto (**Yallampalli, 1993**), mientras que otros han indicado una disminución del IR e IP de la arteria umbilical (**Riley, 1996; Makino, 1997**). Izumi y colaboradores (**1995**) encontraron

que el ON de las células endoteliales activa la guanilatociclasa para producir guanosina-monofosfato cíclico, el cual relaja el tejido umbilical, quizás como resultado de la activación del sistema de extrusión del calcio.

Aunque existe evidencia que el ON contribuye a la vasodilatación de la arteria umbilical, los resultados de esta investigación apoyan la hipótesis que la administración externa de nitroglicerina no produce modificaciones en el flujo de la arteria umbilical. La posible explicación para este hallazgo podría ser por: 1) los vasos, en condiciones fisiológicas, con el endotelio intacto y con alteración en la producción de ON no reaccionan a la administración de nitroglicerina externa con mayor dilatación, y 2) la sensibilidad de la arteria umbilical humana al ON es menor que las de los vasos coriónicos (**Makino, 1997**).

Al igual que lo reportado por investigaciones previas, los índices hemodinámicos de la arteria cerebral media fetal no son afectados por el uso de nitroglicerina transdérmica, indicando que el tono vascular cerebral no es dependiente de la administración externa de ON (**Mari, 2005**). Los cambios en el IP y en la rS/D fue muy leves, pero no significativos y permanecieron alrededor de los valores iniciales.

Los resultados de esta investigación aportan evidencias sobre el efecto de los parches de nitroglicerina en la reducción del IR de la arteria uterina. La marcada reducción en la relación entre el IP de las arterias uterinas y en el IP de la arteria cerebral media fetal durante el tratamiento con los parches de nitroglicerina puede sugerir que el fármaco mejora la circulación fetoplacentaria. Sin embargo, los cambios en el IR en la cerebral media fetal no fueron significativos en este estudio. Se ha propuesto que algunos donadores de ON (en especial el isosorbide), pueden normalizar el IP de la arteria cerebral media fetal en algunas preeclámpticas mejorando la circulación uterina y placentaria, sin producir efectos directos sobre la arteria cerebral media fetal (**Boegart, 1987**).

El efecto benéfico del uso de los parches de nitroglicerina en las pacientes preeclámpticas, y en general aquellas pacientes con compromiso de la circulación fetoplacentaria se puede basar en: la relajación vascular, como se observó en las mediciones del IR, IP y rS/D de la arteria uterina, probablemente facilitado por la

relajación de la musculatura uterina (**Leszczynska-Gorzalak, 2001**). Sumado a esto que la nitroglicerina puede tomar la función de las células endoteliales, la principal fuente de ON, que se encuentran alteradas en la preeclampsia. Los donadores de ON pueden rescatar o sustituir la síntesis de ON en los vasos de las pacientes. Otro efecto de la nitroglicerina es la relajación que produce sobre el miometrio (**Makino, 1997**). En ocasiones la ligera contractilidad del miometrio complica la preeclampsia. Las contracciones uterinas causan compresión directa del cordón umbilical y alteración crónica de la circulación fetoplacentaria.

Otro potencial efecto es la prevención de la formación de microtrombos en la circulación fetoplacentaria. Se conoce que la activación plaquetaria ocurre en embarazos sin complicaciones y es aún mas pronunciada en la preeclampsia. Se conoce que el ON inhibe la activación plaquetaria y la adhesión de los leucocitos a la superficie endotelial (**Hardy, 1994**), por lo cual puede prevenir la trombosis en madres preeclámpticas y en los fetos, a pesar de la alta viscosidad y alto nivel de hematocrito (**Davis, 2001**).

Según los hallazgos de esta investigación, y basado en la literatura revisada, el uso de los parches de nitroglicerina solo se justificaría por el momento en aquellas pacientes sin enfermedades cardiovasculares en las cuales las mediciones de la ecografía Doppler están alteradas para aumentar el flujo útero-placentario y la perfusión placentaria y, por ende, mejorar las condiciones fetales. Esto puede ser particularmente importante en embarazos menores de 30 semanas (**Hoekstra, 2004**).

Se seleccionó para el estudio una dosis de 5 mg dos veces al día (10 mg/día) de nitroglicerina por vía transdérmica debido a que las concentraciones plasmáticas exceden los 10 nmol/litro a las 4 horas después de la administración, ya que se ha comprobado que estas concentraciones serian efectivas a nivel uterino *in vivo* (**Torfgård, 1994; Boyce, 2001**). Esta concentración es 100 veces menor a la necesaria para producir inhibición de otras isoformas de la fosfodiesterasa, lo cual se ha indicado que esta en la escala de 0,1 a 1 nmol/litro (**Boyce, 2001**).

Se ha reportado que el tratamiento con parches de nitroglicerina producen un mejor control de la administración que el tratamiento oral, debido a que los parches

pueden ser fácilmente removidos cuando se observan efectos adversos. La administración transdérmica también puede presentar ventajas con relación a la actividad física y al costo comparado con el uso de fármacos endovenosos (**Lees, 1998; Cacciatore, 1998**).

EVALUACIÓN DOPPLER DE LAS ARTERIAS RENALES FETAL Y EFECTOS DE LOS PARCHES DE NITROGLICERINA

Se estima que el flujo renal representa aproximadamente 2-3% del gasto cardiaco en condiciones fisiológicas debido al muy alto IP de la arteria renal fetal humana. Durante la hipoxemia, el flujo renal disminuye 25-50% comparado con los valores basales, pero el mecanismo exacto de esta disminución no ha sido establecido (**Chihara, 2003; Gallareta, 2008**). Esto implicaría que en vez de una constricción local de la vasculatura renal, el flujo sanguíneo renal fetal se mantendría por una combinación de mecanismos incluyendo un incremento de la presión arterial y la acción intra-renal de varios metabolitos, los cuales inducen cambios hemodinámicos (**Robillard, 1981**).

Los efectos de la hipoxemia sobre la circulación renal fetal son complejos y pueden ser extrapolados de estudios experimentales (**Gallareta, 2008**). Chihara y colaboradores (**2003**) realizaron experimentos en ovejas no anestesiadas y estudiaron los efectos de varios niveles de oxigenación sobre la circulación a los órganos. Encontraron un incremento gradual del flujo sanguíneo en la transición de hiperoxia a hipoxia, seguido por una abrupta disminución cuando la hipoxia era más severa. Cock y colaboradores (**1997**) estudiaron los efectos de la hipoxemia prolongada sobre la producción fetal de orina y el volumen del líquido amniótico en ovejas y no encontraron cambios. Coumans y colaboradores (**2005**) realizaron un experimento en fetos de ovejas no anestesiadas *in utero* y observaron una reducción aguda del flujo de la arteria iliaca después de 5-7 minutos de hipoxia severa. Después del bloqueo de la síntesis de prostaglandinas la relativa protección del lecho vascular renal en respuesta a la hipoxemia se redujo en forma significativa. Se ha reportado una relación directa entre la hipoxia y el IP de la arteria renal (**Bom, 2007**).

El hallazgo de elevación de los IP y IR de la arteria renal fetal indica que existen hallazgos fisiopatológicos similares a la restricción del crecimiento intrauterino del feto. La reducción del peso fetal es una complicación bien reconocida del síndrome hipertensivo del embarazo y se piensa que se debe a la alteración de la circulación feto-placentaria. Simanaviciute y colaboradores (2006) analizaron las investigaciones publicadas y compararon la validez para la pesquisa de diferentes pruebas pre-parto (Doppler de la arteria umbilical y cerebral media fetal, monitoreo electrónico de la frecuencia cardiaca fetal, volumen de líquido amniótico) en la predicción de la resultante neonatal. La ecografía Doppler tenía los mejores resultados estadísticos. Los resultados de la investigación suministran evidencia de los cambios significativos que se observan en la preeclampsia.

Se seleccionaron preeclámpticas para la investigación debido a que es una causa reconocida de hipoxia crónica y es posible estudiarlas en el periodo pre-natal, encontrándose una correlación significativa entre los IP y IR de la arteria renal con los respectivos índices en la arteria uterina, umbilical y cerebral media fetal. Los resultados de la investigación sugieren que la circulación patológica renal esta asociada con los estados de hipoxia crónica, ya que se ha demostrado que existe una fuerte relación entre el progresivo aumento de la resistencia de la arteria renal fetal y disminución de la perfusión tisular (Duong, 2007). Además, los cambios en la resistencia de la arteria renal son vistos mas tempranamente que los cambios en la arteria umbilical (Surányi, 2001).

Existen varios mecanismos potenciales por los cuales se pueden producir alteraciones en el flujo renal en fetos de las preeclámpticas. Uno es la hipovolemia potencial y la hemoconcentración debido a los cambios en el balance de líquidos feto-placentario, propuestos por Konje y colaboradores (2005). El otro posible mecanismo es el incremento localizado de la impedancia de los vasos renales, el cual puede ser medido utilizando la ecografía Doppler. Los resultados de esta parecen reforzar esta hipótesis. Además, los hallazgos de esta investigación son apoyados por investigaciones previas (Veille, 1993; Oz, 2002).

La redistribución de la circulación fetal resulta en un flujo renal anormal, secundario a la hipoxemia fetal. Durante este proceso, los riñones fetales están entre

aquellos órganos que están comprometidos, llevando a insuficiencia renal transitoria, que generalmente es una condición benigna (**Surányi, 2001; Nori, 2004**). En teoría, la hipoxia fetal dispara una reacción vasomotora discordante en la arteria carótida común y en la aorta torácica descendente. En esta última, se produce una disminución de la velocidad sanguínea media y un aumento del IP, mientras que en la arteria carótida común la velocidad sanguínea promedio aumenta en paralelo con una disminución del IP (**Vyas, 1989**). El aumento del IR de la aorta torácica descendente puede ser un componente para la centralización de la circulación fetal debido a la hipoxia crónica. El flujo sanguíneo renal fetal puede estar afectado como resultado de una elevada resistencia intravascular, llevando a disminución de la perfusión renal (**Veille, 1993**).

Los resultados de la presente investigación demuestran que el uso de parches de nitroglicerina no produce modificaciones en las mediciones Doppler de la arteria renal fetal.

EVALUACIÓN DOPPLER DE LA ARTERIA HEPÁTICA FETAL Y EFECTOS DE LOS PARCHES DE NITROGLICERINA

La circulación hepática es compleja. El hígado es perfundido por la arteria hepática y una combinación de circulación portal - umbilical. Se estima que la contribución de la arteria hepática al flujo sanguíneo fetal total es menos de 10% en las ovejas, después del nacimiento esta contribución llega hasta el 30% (**Pennati, 2003; Haugen, 2004**). El hígado fetal se diferencia durante la gestación, de ser un órgano esencialmente hematopoyético en el primer trimestre, incrementa su actividad durante el segundo trimestre (**Rao, 2008**). Entre las 25 semanas de gestación y el nacimiento, existen pocos cambios en la arquitectura vascular del hígado (**Gouysse, 2002**). La velocidad sistólica pico tiene una cercana relación con el volumen sanguíneo de otras porciones del sistema arterial fetal (**Acharya, 2005**). Se considera que el incremento de la velocidad sanguínea arterial a partir de las 22 semanas puede reflejar una situación similar en el hígado.

Es conocido que la reducción del flujo de oxígeno abre el ducto venoso y desvía la sangre oxigenada que se dirigiría hacia el hígado al corazón. La apertura del ducto

venoso podría afectar la resistencia vascular de la arteria hepática (**Dubiel, 2001**). Además, la regulación neurológica y endocrina del lecho vascular hepático tiene un papel importante (**Paulick, 1991**). La vasculatura portal muestra una respuesta constrictora más pronunciada a la estimulación adrenérgica comparada con el ducto venoso (**Tchirikov, 2003**). Todo esto combinado hace que el sistema de distribución sea extremadamente sensible a la regulación activa y pasiva (**Ferrazzi, 2002**).

Las modificaciones observadas en la presente investigación en el IP y IR en la arteria hepática fetal de las preeclámpticas puede reflejar un mecanismo compensatorio para evitar la reducción de flujo sanguíneo hacia el hígado y para mantener la sangre dentro del órgano, como una medida de protección contra los cambios pasivos de la presión arterial central (**McCuskey, 2000**). En experimentos animales, el sistema vascular fetal responde a la disminución del flujo útero-placentario con una vasoconstricción generalizada con excepción de los vasos cerebrales, coronarios y hepáticos (**Fouron, 1999**). Esta investigación demostró que los IP y IR de la arteria hepática fetal tienen una correlación en algunos casos moderada con las arterias uterina, umbilical y cerebral media fetal, sugiriendo que puede existir cierto grado de regulación dependiente a las alteraciones del flujo sanguíneo observadas en la preeclampsia.

Kilavus y colaboradores (**1999**) encontraron que la resistencia vascular de la arteria hepática fetal era menor en los fetos con restricción del crecimiento intrauterino que en fetos normales. Esto podría ser explicado ya que el hígado es un órgano preferencial para el flujo sanguíneo arterial en el feto hipóxico. Los datos de la presente investigación contradicen los hallazgos de esa investigación. Al igual que lo reportado por Dubiel y colaboradores (**2001**) los resultados de esta investigación sugieren que al observarse alteraciones de las arterias uterinas y umbilical la resistencia vascular hepática tiende a aumentar, lo cual no confirma la hipótesis de protección hepática en todos los embarazos de alto riesgo, y en especial en la preeclampsia.

Los hallazgos de esta investigación, al igual que lo reportado por Dubiel y colaboradores (**2001**) demostraron relacionarse en forma significativa con los elevados IR en las arterias uterinas y umbilical. Pero a diferencia de estos investigadores, los hallazgos de esta investigación demostraron que significativamente más altos que las

embarazadas normotensas. Se ha sugerido que quizá la protección hepática está presente en las primeras etapas del compromiso fetal. Si el feto es afectado en forma más severa, se produce la apertura del ducto venoso y puede observarse un incremento de la resistencia de la arteria hepática (**Dubiel, 2001; Tchirikov, 2001; Ritter, 2004**).

Al igual que ocurre con las arterias cerebral media y renal fetal, los parches de nitroglicerina no producen efectos sobre los IP y IR de la arteria hepática fetal.

RELACIÓN DE FLUJO SANGUÍNEO DOPPLER DE LOS DIFERENTES TERRENOS VASCULARES FETALES

A pesar de la disponibilidad de múltiples modalidades de pruebas ante-parto, no existe una prueba ideal para los embarazos de alto riesgo y algunas pruebas pre-parto son más apropiadas que otras, dependiendo de la fisiopatología subyacente o la indicación de la prueba. El reto de la vigilancia prenatal es identificar aquellos fetos cuyos mecanismos de defensa fisiológicos están comprometidos para actuar antes de que ocurra un deterioro de las condiciones.

El uso de la ecografía Doppler en los embarazos de alto riesgo parece mejorar la resultante neonatal y disminuir las causas de muertes perinatales (**Neilson, 2000**). Los fetos con velocimetría Doppler anormal tienen una mayor incidencia de oligohidramnios, bajo peso al nacer e ingresos a la unidad de cuidados neonatales. La velocimetría Doppler de la arteria umbilical es una prueba de función placentaria que no siempre refleja el compromiso fetal (**Ebrashy, 2005**). Los avances en la ecografía han mejorado el acceso a la circulación fetal y existe un gran interés por los vasos intracraneales del feto (**Neilson, 2000**). El conocimiento de la velocimetría Doppler de la arteria cerebral media fetal puede ayudar al diagnóstico perinatal y al manejo de las complicaciones obstétricas. Se ha descrito que un bajo IR de la arteria cerebral media está asociado con compromiso del bienestar fetal (**Dubiel, 1997; Madazli, 2003; Simanaviciute, 2006; Robertson, 2009**). Debido a que el índice cerebro-placentario incorpora datos no solo del estado placentario sino también de la respuesta fetal, su uso puede ser potencialmente útil en la predicción de complicaciones. Los datos que

combinan la velocimetría de la arteria cerebral media fetal y la arteria umbilical suministran datos sobre las complicaciones fetales de las anomalías de la placenta (**Odibo, 2005**).

En la presente investigación se observó que los parches de nitroglicerina no producen modificaciones significativas en los valores de relación de flujo sanguíneo de la arteria cerebral media / arteria umbilical ni en los valores de relación del IR arteria cerebral media fetal / arteria umbilical luego de la aplicación de los parches de nitroglicerina.

Considerando que la relación del IR arteria cerebral media fetal / arteria umbilical no solo refleja la insuficiencia circulatoria de la placenta por alteraciones del IR de la arteria umbilical, pero solo los cambios adaptativos producen modificaciones de la resistencia de la arteria cerebral media fetal, esta parece ser una herramienta potencialmente útil en la predicción de los resultados perinatales en embarazos de alto riesgo.

En los fetos con relación de flujo sanguíneo de la arteria cerebral media / arteria umbilical anormal tienen una alta posibilidad de complicaciones fetales. En embarazos normales el componente diastólico en las arterias cerebrales es menor que el de las arterias umbilicales a cualquier edad gestacional. Por lo tanto, la resistencia cerebrovascular permanece más alta que la resistencia placentaria y la relación cerebro-placenta es mayor de 1. El índice se vuelve menor de uno si la distribución del flujo favorece al cerebro en condiciones patológicas. Se supone que la aparición de este fenómeno es para compensar la hipoxia fetal y está asociado la mayoría de las veces a restricción del crecimiento fetal y valores bajos de pH de la arteria umbilical. La relación de flujo sanguíneo de la arteria cerebral media / arteria umbilical anormal disminuye progresivamente para compensar la hiperperfusión cerebral (**Rizzo, 1989**). La relación de flujo sanguíneo de la arteria cerebral media / arteria umbilical que era menor que los valores normales aumenta y regresa al rango normal. En el caso que la capacidad de los vasos cerebrales para dilatarse sea sobrepasada. Se compensa la hipoxia y el feto se vuelve acidémico. Esta investigación demostró que la nitroglicerina no revierte esta situación

Algunos autores reportan que el IR arteria cerebral media fetal / arteria umbilical fue mas preciso que cada uno de sus componentes en el diagnóstico del compromiso fetal y la morbilidad neonatal (**Liberati, 1997; Makhseed, 2000; McCowan, 2001; Ebrashy, 2005**). Otros han reportado que la relación IR arteria cerebral media fetal / arteria umbilical, se asoció con un aumento significativo de la morbilidad y mortalidad perinatal en los embarazos con riesgo de restricción del crecimiento intrauterino del feto (**Odibo, 2005**). El uso de los parches de nitroglicerina no produce modificaciones en la IR arteria cerebral media fetal / arteria umbilical.

NITRATO / NITRITO Y SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO

Existe alguna evidencia que los radicales libres y los peróxidos lipídicos son generados y participan en la patogénesis de la preeclampsia (**Hubel, 1989; Walsh, 1994**). Se desconocen los factores que estimulan la peroxidación lipídica en la preeclampsia. Sin embargo, se ha sugerido que la placenta puede ser la principal fuente de peróxidos lipídicos, debido a que sus altos niveles en sangre materna disminuyen poco después de la culminación del embarazo (**Walsh, 1993**). Se ha propuesto a la hipoxia tisular que se produce debido a la reducción de la perfusión placentaria como la principal causa para la estimulación de la peroxidación lipídica en la placenta preecláptica (**Hubel, 1989**). Por otra parte, se sugiere que la elevación de los peróxidos lipídicos circulantes producen daño oxidativo en la célula endotelial vascular y disminución de la síntesis de ON (**Hubel, 1989; Seligman, 1994**). Debido a esto, recientemente se demostró que la actividad de la NOS en la placenta humana está significativamente reducida en la preeclampsia (**Brennecke, 1997**). Sin embargo, también se ha reportado elevación (**Nobunaga, 1996; Smarson, 1997**) o normalidad (**Curtis, 1995**) de los niveles de nitrato / nitrito en preeclápticas comparadas con embarazadas normales.

El nitrato / nitrito inorgánico es el metabolito final y estable del ON y puede ser medido en el plasma como un índice de producción de ON. Debido a que los niveles séricos de nitrato / nitrito pueden ser alterados también por factores dietéticos, a las pacientes en el estudio se les interrogó sobre su alimentación. En la presente

investigación, se observó un aumento significativa en los niveles plasmáticos de nitrato / nitrito al igual que una disminución significativa en los niveles de ON en el plasma de las preeclámpticas luego de ser tratadas con parches de nitroglicerina. Además, se demostró una correlación significativa entre los niveles de nitrato / nitrito plasmáticos y la presión arterial diastólica en las preeclámpticas. Por tanto, estos hallazgos apoyan la hipótesis que la disminución en la producción de ON endotelial puede representar un papel importante en la preeclampsia.

Por otra parte, hay reportes que el suero de la preeclámptica es citotóxico para las células endoteliales de la vena umbilical humana *in vitro*, y la actividad citotóxica en el suero de la preeclámptica disminuye a las 24-48 horas en el post-parto (**Rodgers, 1988**). Además, en un estudio previo (**Mutlu-Türkoglu, 1998**), se encontró que los elevados niveles plasmáticos de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico preparto disminuyen y la actividad antioxidante deprimida previa al parto se incrementa después del parto en las pacientes preeclámpticas, pero no en las embarazadas normales. Sin embargo, en la literatura, no existe un conocimiento adecuado sobre las alteraciones en el nitrato / nitrito y el estado de los peróxidos lipídicos en las preeclámpticas después del uso de nitroglicerina transdérmica. En este estudio, en la paciente preeclámptica, los niveles plasmáticos de nitrato / nitrito se incrementan y los niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico disminuyen después del uso de los parches de nitroglicerina comparado con los valores antes del tratamiento.

Estos resultados indican que las alteraciones en el nitrato / nitrito y los peróxidos lipídicos en el plasma son mejorados por el tratamiento con nitroglicerina transdérmica y que los altos niveles de peróxidos lipídicos pueden ser la causa de la disminución de la síntesis de ON y la hipertensión observada en las preeclámpticas.

INDICADORES DE INFLAMACIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

Interleuquina 10.

A diferencia de lo reportado por Gratacós y colaboradores (**1998**), quienes

hallaron concentraciones séricas normales de la IL-10, en la presente investigación, las pacientes con preeclampsia presentaron concentraciones significativamente más bajas de IL-10. Los valores anormales son secundarios al aumento de la producción, altas concentraciones y efectos negativos de citoquinas proinflamatorias, las hacen más bien posibles generadores de disfunción en la preeclampsia. Contra esos efectos, la IL-10 tiene la capacidad de autorregularse, inhibiendo su propio RNAm (**Mocellin, 2003**). Aunque se ha comprobado que las células mononucleares en sangre periférica y de la decidua producen menores cantidades de IL-10 en las preeclámpticas comparado con las embarazadas normales (**Wilczynski, 2002**).

Las citoquinas inmunoregulatoras, como la IL-10, regulan la inmunoestimulación y la inflamación. La producción por las células natural Killer CD56+ y linfocitos CD56- esta aumentada durante el embarazo (**Higuma-Myojo, 2005**). El trofoblasto produce una citoquina pro-inflamatoria (FNT- α) y una citoquina inmunoreguladora (IL-10). Hennessy y colaboradores (**2003**) reportaron una disminución de la IL-10 en el trofoblasto vellosos de las preeclámpticas y también se ha reportado incrementos en la relación IL-2 / IL-10 y FNT- α / IL-10 en tejidos placentarios de pacientes con el síndrome (**Dong, 2005**). No solo las células inmunocompetentes, sino también el trofoblasto, regulan la inmunoestimulación con la producción de IL-10. La inmunoestimulación excesiva por trofoblasto necrótico, condiciones hipóxicas o angiogénesis limitada puede superar el sistema de inmunoregulación produciendo condiciones de inflamación sistémica y disfunción endotelial.

Se ha encontrado por métodos inmunohistoquímicos, la presencia de la IL-10 en el área de interfase entre los tejidos maternos y fetales y se expresa en altas concentraciones en los tejidos placentarios (**Gotsch, 2008**). Las bajas concentraciones de IL-10 en las preeclámpticas en esta investigación puede ser debida al hecho que la preeclampsia es una manifestación de rechazo (**Olusi, 2000**). Además, también existe evidencia de incremento de los marcadores inflamatorios, principalmente del FNT- α en la placenta de las preeclámpticas (**Wang, 1996**) y en la circulación materna (**Heyl, 1999**).

Los resultados de esta investigación y otras investigaciones previas demuestra que la disminución de las concentraciones de IL-10 en la circulación materna puede

contribuir en forma significativa en los parámetros de la enfermedad, particularmente en la disfunción endotelial “sistémica y difusa”, la cual se ha propuesto como el hallazgo fisiopatológico fundamental de la preeclampsia (**Kilke, 2006; Baumwell, 2007**). También existen reportes sobre las concentraciones durante el embarazo y el parto (**Dudley, 1997**) y en recién nacidos pequeños para su edad gestacional (**Spong, 1996**). La IL-10 tiene varias funciones incluyendo la inhibición de la actividad y función de los macrófagos, supresión de la inmunidad medida por células in vivo e inhibición de la producción de ON (**Gotsch, 2008**).

Las posibles causas de las diferencias en las concentraciones de IL-10 entre las preeclámpticas y los controles entre los diferentes reportes puede deberse en parte a la heterogenicidad de los pacientes estudiados. El síndrome hipertensivo del embarazo es clasificado por la severidad de los hallazgos clínicos y de laboratorio. Esta severidad varía entre los diferentes órganos y sistemas (**Borecki, 2007**). Las bajas concentraciones de IL-10 en las preeclámpticas sugiere que existe un estado de respuesta pro-inflamatoria, aunque esta respuesta no puede ser exclusivamente explicada por la falta de signos de cambio del balance Th1 / Th2 (**Jonsson, 2005**).

La disminución de las concentraciones de IL-10 en las preeclámpticas puede ser secundaria a la aparición de los efectos significativos que tiene sobre la producción ON y el factor estimulante de colonias 1. Lo primero generaría trastornos circulatorios, y lo segundo, se asocia a recién nacidos de bajo peso (**Heyborne, 1994**). Las concentraciones de IL-10 observadas en esta investigación demostrarían un papel importante en la patogénesis de la preeclampsia. La alteración crónica de la producción de ON, en experimentos con animales, produce un síndrome similar a la preeclampsia (**Molnár, 1994; Romero, 2000**).

Esta investigación también confirmó lo demostrado previamente por Madazli y colaboradores (**2003**), con respecto a la correlación existente entre las concentraciones de IL-10 y los valores de presión arterial diastólica, y en esta investigación también la presión arterial sistólica. Aunque en esa investigación se encontraron valores de IL-10 mas altos en las preeclámpticas que en los controles, por lo que la correlación fue considerada positiva y significativa. Los resultados de las correlaciones demostrarían que las concentraciones de IL-10 tienen relación directa con la severidad de la

preeclampsia.

Factor de necrosis tumoral alfa.

La elevación de esta citoquina es fundamental para el desarrollo tanto de la preeclampsia como de otras condiciones del embarazo, como el aborto, parto pretérmino y la restricción del crecimiento intrauterino (**Pijnenborg, 1998; Figueroa, 2005**). En embarazadas sanas, se piensa que el FNT- α modula el crecimiento e invasión del trofoblasto en las arterias espirales (**Kupferminc, 1994**). Este factor puede contribuir a la invasión placentaria anormal, daño de las células endoteliales y estrés oxidativo (**Maekawa, 2000; Heikkinen, 2001**). Puede estimular la producción del IL-6, debido a que esta inhibe la liberación del factor de necrosis (**Shalaby, 1989**). Hay opiniones contradictorias en cuanto a una posible relación entre factor de necrosis tumoral circulante y la preeclampsia. Kupferminc y colaboradores (**1994**) han encontrado que los valores plasmáticos de la citoquina, cuantificados por inmunoanálisis, son más fácilmente detectables, y tienen concentraciones superiores en preeclámpticas, que en las embarazadas normales. Durante el parto, las cifras fueron superiores en preeclámpticas, tanto en plasma como en líquido amniótico, pero se igualan entre 20 y 24 horas después. Al igual que lo reportado en esta investigación, Visser y colaboradores (**1994**) reportaron concentraciones elevadas de FNT- α bioactivo en plasma de preeclámpticas. Schiff y colaboradores (**1994**), por el contrario, no encontraron diferencias significativas en las concentraciones de FNT- α de pacientes con preeclámpticas y controles, pero reportan que los valores de la citoquina son inferiores, tanto en plasma fetal como materno, cuando existe restricción intrauterina del crecimiento del feto de causa indeterminada.

Se ha descrito la presencia de concentraciones elevadas de FNT- α en el suero de embarazadas del primer trimestre que, más tarde, desarrollaron cuadro clínico de la hipertensión durante el embarazo (**Serin, 2002**). Vince y colaboradores (**1995**) reportaron concentraciones altas de IL-6, FNT- α y sus receptores, concentraciones que fueron superiores en las pacientes con trombocitopenia. Las concentraciones plasmáticas de los receptores del FNT- α , pueden ser un marcador clínico mejor que la

misma citoquina (**Maymon, 1999**).

La placenta hipóxica parece ser la fuente de cantidades por encima de lo normal del FNT- α . En los embarazos normales, es necesario que el trofoblasto extraveloso exprese la proteína antígeno de histocompatibilidad humano G, a fin de modular negativamente la formación de esta citoquina (**Kanai, 2001**), cuya producción exagerada pudiera conducir al aborto, así como limitar la invasión trofoblástica. La supresión de la formación del factor, tiene importancia la espermina, que a su vez, requiere de la presencia de fetuína (**Wang, 1997**). En la preeclampsia, no se expresa la proteína antígeno de histocompatibilidad humano G en el trofoblasto extraveloso (**Goldman-Wohl, 2000**), por lo que se puede pensar en la presencia de un incremento del FNT- α . La hipoxia placentaria, en condiciones experimentales, estimula la secreción de citoquinas proinflamatorias. La capacidad de responder a la hipoxia con una mayor secreción de IL-1 y FNT- α , pertenece principalmente a las vellosidades placentarias.

La fuente de la producción excesiva de FNT- α en la preeclampsia es desconocida, puede tener su origen en los monocitos, los neutrófilos o la placenta misma. Ambas clases de monocitos están activados en la preeclampsia (**Greer, 1989**). Uno de los posibles mecanismos es que en la preeclampsia uno o más factores derivados de la placenta estimulan los monocitos y / o los neutrófilos para producir el factor, el cual a su vez, causa las alteraciones subyacentes en el síndrome materno. La producción por la placenta puede tener algún papel fisiológico o patológico, ya que el sinciotrofoblasto de la placenta normal contiene ARN mensajero del factor y factor biológicamente activo (**Haider, 2009**).

El FNT- α puede causar daño tisular, mediante la acción de proteasas, colagenasas o fosfolipasa A2, o a través de radicales de oxígeno (**Dai, 2004**). La afección de las células endoteliales lleva a alteraciones locales del flujo sanguíneo, obstrucción de vasos y aumento de la permeabilidad del endotelio, elementos señalados como característicos de la secreción patológica de esta citoquina (**Younes, 2003; Dai, 2004**). Entre sus acciones también figuran la facilitación de la actividad procoagulante, por inducción del factor tisular de células endoteliales y supresión de la activación de la proteína C, y la liberación de sustancias vasopresoras, como la endotelina-1 (**Vemulapalli, 1991**) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas

(**Haijar, 1987**). Todas estas alteraciones son compatibles con lo que sucede en la preeclampsia. Ejerce acciones sobre la activación plaquetaria que, desde temprano, en fases pre-clínicas, tiene la preeclampsia. Añadir esta sustancia al plasma rico en plaquetas, antes de la prueba de ADP, resulta en disminución de la agregación en las muestras de no gestantes y de gestantes no complicadas, pero no en las preeclámpticas (**Bar, 2001**).

Dentro de este esquema del mecanismo de la enfermedad, las citoquinas actúan a distintos niveles. Se conoce que, el FNT- α y la IL-1 inducen la lipólisis en las células grasas (**Feingold, 1991**). Las dos sustancias, más la IL-6, promueven la síntesis de novo de ácidos grasos en el hígado, y sin la última, actúan negativamente sobre la oxidación hepática de los ácidos grasos y la cetogénesis (**Zechner, 1988; Feingold, 1991**). El FNT- α y la IL-6, además, disminuyen la actividad de la lipasa lipoproteíca, y empeoran la remoción de la circulación de lipoproteínas ricas en triglicéridos (**Kota, 2005**). Algunos productos de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad, inducen la liberación de IL-1 β por las células mononucleares sanguíneas (**Pfanzagl, 2006**).

Interleuquina 6

Aunque la patogénesis de la preeclampsia aún es desconocida, las causas inmunológicas e inflamatorias juegan un papel importante para la aparición de esta. La IL-6 y otras citoquinas son componentes importantes de la respuesta inmune y por lo tanto pueden participar en los aspectos inmunes de la fisiopatología. Las citoquinas proinflamatorias parecen estar involucradas en los eventos celulares para establecer y mantener el embarazo (**Marcinkiewicz, 2002**); sin embargo, su papel no ha sido bien definido.

Greer y colaboradores (**1994**) reportaron concentraciones plasmáticas altas y los valores de IL-6 se correlacionaron positivamente con los de la molécula de adhesión de células vasculares. Esto último, junto a otros datos, puede interpretarse como testimonio del daño endotelial, en el que estaría involucrada la citoquina. Vince y colaboradores (**1995**) han encontrado valores plasmáticos altos, al igual que los de receptor soluble del factor de necrosis tumoral, con correlación positiva entre estos, y

entre la IL-6 y el FNT- α . Las concentraciones más altas de las citoquinas y del receptor, correspondieron a las pacientes con trombocitopenia.

La disfunción endotelial y el aumento de la permeabilidad son característicos de la fisiopatología de la preeclampsia. La IL-6 puede incrementar la permeabilidad de las células endoteliales cambiando la forma de las células y reordenando las fibras de actina intracelulares (**Seiler, 2001; Desai, 2002**). Puede disminuir la síntesis de prostaciclina inhibiendo la enzima cicloxigenasa (**Maru, 1992**) e incrementa la relación tromboxano A₂ / prostaciclina, alteraciones descritas en la preeclampsia. También se puede observar estimulación del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (**Seiler, 2001**). Los radicales libres pueden inducir la síntesis de IL-6 en el endotelio, los cuales están implicados en la patogénesis de la preeclampsia, ya que causan daño endotelial, lo cual lleva a reducción de la síntesis de ON y a la alteración del balance de las prostaglandinas (**Ali, 1999; Reyna, 2002**).

En la patogénesis de la aterosclerosis, los peróxidos lipídicos y el estrés oxidativo activan las células endoteliales a través de un mecanismo mediado por la NF-kappaB que lleva a incremento en la producción de IL-6, la cual está elevada en pacientes con enfermedad vascular aterosclerótica (**Soufi, 2002**). En el sistema de ese modelo, la IL-6 incrementa la producción de PCR, la cual es un marcador de riesgo de enfermedad cardíaca coronaria y que se ha demostrado que se eleva en las preeclámpticas (**Heikkinen, 2001**).

Se ha publicado sobre concentraciones elevadas de IL-6 e IL-8, durante el segundo trimestre, en el líquido amniótico de pacientes que después desarrollaron preeclampsia (**Heikkinen, 2001**). Igualmente, se han cuantificado las concentraciones de trombomodulina en trofoblasto incubado con o sin adición de citoquinas y se encontró que, posterior a la estimulación con FNT- α el cultivo presentaba cantidades significativamente bajas de IL-6. En grupos de pacientes con síndrome HELLP, se han observado concentraciones plasmáticas superiores en las 24 horas siguientes al parto comparado con las embarazadas normales (**Haeger, 1996**), mientras que el factor de necrosis tumoral se elevó en las 24 horas siguientes al parto en las preeclámpticas. Estas pacientes tuvieron incremento plasmático de la anafilotoxina C5a y del complejo D5b-9 del complemento, antes del parto y a las 24 horas de este, en comparación con

los controles.

En los eventos secuenciales que se presentan en un proceso inflamatorio, la IL-6 es una molécula que aparece después de la IL-1 y antes del FNT- α , y estimula la secreción de la IL-8, un factor quimiotáctico y activador de neutrófilos, que amplifica la inflamación (**Molina, 1999; Uchide, 2005**).

La presente investigación también demostró la presencia de una correlación moderada positiva entre las concentraciones de IL-6 y los valores de presión arterial sistólica y diastólica. Las concentraciones se incrementa con el aumento de la presión arterial, una observación que ya ha sido previamente descrita, pero solo para la presión diastólica (**Madazli, 2003**).

Interferón gamma

La bibliografía sobre INF- γ y embarazo es bastante escasa, por lo que su localización y funciones en la interfase materno-fetal están escasamente documentadas. Durante el embarazo normal, esta citoquina producida por el grupo de linfocitos Th1 debería estar suprimida para facilitar la tolerancia al aloinjerto. Al disminuir facilita la producción de citoquinas tipo Th2, consideradas predominantes en condiciones fisiológicas y promotoras de la sobrevida fetal (**Ruiz, 1999**).

Diferentes investigaciones han demostrado que el receptor específico del INF- γ se expresa ampliamente en la placenta humana al término del embarazo y en forma específica en la capa externa de las vellosidades (**Stefanos, 1989; Hampson, 1993**). Paulescus y colaboradores (**1997**) describieron que esta citoquina se encuentra en la placenta durante la implantación pero no al término del embarazo, mientras que el receptor se observa en ambas fases de la gestación, expresándose en forma casi imperceptible al final de esta.

En el embarazo de ratones, el INF- γ se detecta en los tejidos a los 6 y 12 días, pero no se encuentra a los 18 días (**Ruiz, 1999**). La IL-10 interviene para modular negativamente la producción de INF- γ ya que el sobrenadante de células deciduales es capaz de inhibir la liberación por células esplénicas activadas de la IL-2, lo que se

bloquea añadiendo anticuerpos monoclonales anti - IL-10. En la decidida de estos animales aumenta la relación de citoquina Th2 / Th1. El cociente IL-10 / INF- γ en el sobrenadante de células endoteliales es de 10:1 en el día 2 y de 3:1 en el día 6. En cambio, para el sobrenadante de células esplénicas, la relación se invierte a 1:45 (Jin, 2006).

Al igual que lo reportado en la presente investigación, Saito y colaboradores (1999) observaron una correlación positiva entre los promedios de presión arterial y las concentraciones de INF- γ . Igualmente, Borzychowski y colaboradores (2005) reportaron aumento de las concentraciones del INF- γ en la preeclampsia con una pobre correlación con la IL-2, una citoquina cuya posible influencia sobre la patogenia del síndrome aún esta por determinarse. Otros informes (Bakheit, 2009; Weiss, 2009) coinciden en señalar concentraciones séricas elevadas, proponiendo que el INF- γ regula positivamente la expresión de moléculas de adhesión intercelular y la síntesis de IL-6, lo que contribuye al aumento de esta en la preeclampsia (Madzali, 2003). Algunos estudios no han podido detectar variaciones en las concentraciones de INF- γ , pero sí de IL-12, una citoquina estrechamente relacionada a esta (Daniel, 1998). Sin embargo, se ha demostrado que la disminución en las concentraciones de IL-12 no produce inhibición de la secreción de INF- γ (Nagai, 2003).

El incremento de las concentraciones del INF- γ es dañino para el embarazo, debido a que en modelos animales produce abortos espontáneos y recurrentes (Clark, 1998). También puede ser responsable de la apoptosis del trofoblasto (Chisaka, 2005). Debido a que en vez de presentar su efecto paracrino fisiológico sobre el trofoblasto, activaría las células *natural killer* uterinas, las cuales activan los macrófagos que inducen las vías pro-apotóicas en la preeclampsia. Este esquema apoyaría la tesis que la inmunidad innata del trofoblasto regularía el perfil de citoquinas sobre las células efectoras inmunes en la interfase materno-fetal (Guleria, 2000).

Proteína C reactiva.

Aunque la patogénesis de la preeclampsia es desconocida, se ha implicado un proceso inflamatorio generalizado en su aparición (Boulangier, 2007; Reyna-Villasmil,

2009; Oggé, 2010). La activación de los leucocitos circulantes, aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno, aumento de la liberación de citoquinas inflamatorias (como FNT- α e IL-6) y activación anormal del sistema de coagulación en las preeclámpticas comparado con las embarazadas sanas apoyan esta hipótesis (**Molina, 1999; Lee, 2003; Boulanger, 2007; Reyna-Villasmil, 2009; Oggé, 2010**). Más aún, Faas y colaboradores (**Faas, 2004**) demostraron que una microdosis única intravenosa de endotoxina en ratas a los 14 días de gestación activa la aparición de hipertensión y proteinuria que persiste hasta el final del embarazo.

En forma adicional, las observaciones post-mortem en preeclámpticas indican que en algunas circunstancias los hallazgos patológicos letales se asemejan a la reacción de Shwartzmam, una forma particular de respuesta inflamatoria a las endotoxinas en animales de experimentación (**McKay, 1953**). Basado en esa evidencia, Boulanger y colaboradores (**2007**) sugirieron que la disfunción endotelial materna, que hasta ahora se pensaba que tenía un papel principal en el desarrollo de la preeclampsia, es solo un componente de una más amplia alteración de todas las células en el compartimiento vascular que induce una respuesta inflamatoria generalizada e intravascular al embarazo.

Las concentraciones de PCR están aumentadas en las embarazadas sanas en comparación con las mujeres no embarazadas (**Belo, 2005**). La respuesta inflamatoria esta incrementada durante el embarazo, lo puede ser explicado por los diferentes estímulos que ocurren en cada una de las fases del embarazo, como la implantación, producción de IL-6 por los monocitos / macrófagos (**Sacks, 2004**), procesos necróticos asociados al envejecimiento placentario (**De Meeus, 1998**) e incrementos progresivos en las concentraciones de estrógenos durante el embarazo.

De acuerdo con informes previos (**Devereci, 2009; Derzsy, 2010**) y los resultados de la presente investigación, la preeclampsia está asociada con un incremento en las concentraciones de PCR. Belo y colaboradores (**2003**) encontraron concentraciones significativamente más altas de PCR en preeclámpticas pero la significancia estadística se perdió luego del ajuste del peso materno. En la presente investigación se observaron concentraciones significativamente más altas en las preeclámpticas que en los controles con edades maternas, gestacionales e índice de

masa corporal similares.

El uso potencial de la PCR como un marcador temprano ha sido estudiado, pero sigue siendo controversial. Aunque existe una asociación significativa entre las concentraciones durante el primer trimestre y el posterior desarrollo de preeclampsia (**Tjoa, 2003**), un estudio previo (**Savvidou, 2002**) reportó que las concentraciones séricas de PCR a las 23-25 semanas de gestación eran similares entre las embarazadas que desarrollaban preeclampsia y aquellas sin complicaciones durante el embarazo. La determinación de las concentraciones durante el tercer trimestre ha sido de gran ayuda en la predicción del pronóstico de las preeclámpticas (**Uszynski, 2011**).

Tanto la proteinuria como la presión arterial son parámetros utilizados para establecer la severidad de la preeclampsia (**Sibai, 2009**). Los resultados de la presente investigación demostraron una correlación positiva entre las presiones arteriales y las concentraciones de PCR. Previamente se había reportado la correlación entre las concentraciones de PCR y los valores de presión arterial sistólica (**Kumru, 2004**), pero no se había demostrado que esto también ocurría con la presión arterial sistólica. Se ha descrito que la PCR es un marcador proinflamatorio y se correlaciona con la presión arterial en la población general (**Olsen, 2006**) y la excreción de albúmina urinaria en pacientes con diabetes mellitus no insulino dependiente (**Choudhary, 2008**). Datos más recientes han demostrado que el daño endotelial es resultado de la alteración en la oxidación-reducción y contribuye con la aparición de la preeclampsia (**Kumru, 2004**). Es bien conocido que la disfunción renal generalmente ocurre en la preeclampsia, en especial en las formas más severas, se ha demostrado que en los casos de disfunción renal y endotelial existe incremento de los marcadores de inflamación como la PCR (**Stam, 2003**).

El presente estudio fue realizado en embarazadas con preeclampsia establecida y no fue posible determinar si el incremento en las concentraciones de PCR es causa o consecuencia de la enfermedad. Para comprobar la hipótesis si la inflamación es un factor de riesgo importante en la preeclampsia, sería necesario realizar un estudio longitudinal de las concentraciones de PCR y citocinas antes de la aparición de la preeclampsia.

Selectinas.

La adhesión del leucocito a la célula endotelial es fundamental en el proceso de trans migración de estas células al tejido perivascular. La adhesión endotelial del leucocito es regida por la interacción entre las moléculas de adhesión y sus ligandos en esas células (**Langer, 2009**). Las moléculas de adhesión, y en especial las selectinas, tienen un importante papel en la interacción leucocito - célula endotelial. Los ligandos de las selectinas P y E están localizados en la superficie de los neutrófilos, monocitos, basófilos, eosinófilos, células natural killer, células dendríticas y linfocitos T, mientras que los ligandos de la selectina L se distribuyen en las células endoteliales activadas, neutrófilos y en los componentes endoteliales del sistema linfático. Durante el proceso inflamatorio, las selectinas median la fijación de los leucocitos a las células endoteliales. La interacción leucocito-plaquetas-endotelio juega un papel crucial en la homeostasis y los mecanismos de defensa del huésped (**Chaiworapongsa, 2002; Langer, 2009**).

El incremento en las concentraciones de selectina P soluble en la preeclampsia ha sido reportado en investigaciones previas (**Lok, 2007**) y se ha encontrado que existe un aumento en la expresión de selectina P en las plaquetas de las preeclámpticas (**Yoneyama, 2001**). Los resultados de la presente investigación confirman esos datos. Se ha reportado que las mujeres con antecedentes de preeclampsia tienen de dos a seis veces más riesgo de morir por enfermedades cardíacas coronarias que las embarazadas que solo desarrollaron hipertensión durante el embarazo (**Wikström, 2005**). En los casos de preeclampsia esto puede ser atribuido a la liberación de trombina por las plaquetas activadas, lo cual estimula a las células endoteliales para expresar selectina P. Por lo tanto, el incremento en la activación de las plaquetas y / o el daño de las células endoteliales puede causar un incremento de la selectina P en el plasma (**Aksoy, 2002**).

Existe evidencia que sugiere que los leucocitos son mediadores potenciales de la lesión tisular en la preeclampsia. El incremento en las concentraciones de selectina E es un indicador de activación endotelial. Esta es considerada una sustancia

específica de daño endotelial, a diferencia de la molécula 1 de adhesión de las células vasculares, debido a que se puede unir a los granulocitos neutrofílicos (**Zeisler, 2001**). El mecanismo por el cual las moléculas de adhesión celular son liberadas a la circulación aún permanece sin resolverse. Los resultados sobre las concentraciones de selectina E son contradictorios, algunos estudios reportan aumento de las concentraciones circulantes en la preeclampsia (**Coata, 2002**) y otros no reportan modificaciones (**Phocas, 2000**). En la presente investigación, se encontraron concentraciones significativamente altas de selectina E en las preeclámpticas y una fuerte correlación entre las concentraciones séricas y la presión arterial sistólica y diastólica. Este hallazgo permite confirmar la hipótesis que la activación endotelial es fundamental en la patogénesis de la preeclampsia y más específicamente sugiere un papel de los leucocitos activados en el origen de esta disfunción (**Aydin, 2004; Sanada, 2005**).

La selectina L se expresa en los leucocitos y puede ser transportada hacia la superficie celular de estos después de la exposición in vitro a agentes activadores como productos bacterianos, IL-8 y factor activador de las plaquetas. La concentración plasmática de selectina L puede aumentar después de la activación aguda de los leucocitos (**Tu, 2002**). Tal aumento se ha reportado en procesos agudos como sepsis y síndrome de respuesta inflamatorio sistémico (**Seekamp, 2001; Tu, 2002**). Sin embargo, los pacientes con enfermedades crónicas (como la aterosclerosis) tienen bajas concentraciones de selectina L. El hallazgo de esta investigación de bajas concentraciones en preeclámpticas es similar al de investigaciones previas (**Chaiworapongsa, 2002**) y sugiere que los leucocitos sufren cambios similares a los observados en algunas patologías crónicas, lo cual podría ser explicado por la activación de los leucocitos observada en la preeclampsia.

La preeclampsia se ha considerado como un desorden productor de isquemia y se han descrito elementos similares con la aterosclerosis (**Myatt, 2009**). Los pacientes con enfermedad cardíaca coronaria presentan disminución de la selectina L soluble y disminución en la expresión de leucocitos CD62L (**Güray, 2004**). Hallazgos similares han sido reportados en la preeclampsia (**Gervasi, 2001**). Es posible que estos cambios sean producto de la inflamación intravascular crónica. Sin embargo, el mecanismo

responsable de la alteración de la expresión de los leucocitos CD62L y las concentraciones de selectina L en las preeclámpticas es desconocido (**Chaiworapongsa, 2002**).

En la presente investigación, las tres selectinas se correlacionaron fuertemente (en forma positiva o negativa) con la presión arterial. Esto puede reflejar que el daño endotelial secundario a la hipertensión se debe a la disfunción, activación y daño endotelial que esta bien documentado en la hipertensión esencial (**Preston, 2002; Aydin, 2004; Spencer, 2008**). Las anomalías endoteliales pueden ser la causa de la hipertensión posterior a la alteración de la función endotelial que produce una serie de modificaciones que contribuyen al aumento de las cifras de presión arterial (**Nadar, 2004**).

Dimetilarginina asimétrica.

En el presente estudio las pacientes con preeclampsia presentaron concentraciones significativamente más altas de ADMA en comparación con gestantes normotensas sanas. La ADMA es capaz de afectar la angiogénesis en el embarazo y la preeclampsia al alterar la actividad de sustancias como el factor de crecimiento endotelial vascular, el factor de crecimiento placentario y el factor de crecimiento de los fibroblastos, que es mediada por un mecanismo dependiente de la actividad ON que es inhibido por la ADMA (**Spyridopoulos, 2002**).

El ON producido por las células endoteliales contribuye a la vasodilatación produciendo la disminución de la resistencia vascular observada durante el embarazo normal (**Svedas, 2002**). Se ha propuesto que la disminución de la producción / biodisponibilidad de ON contribuye al aumento de la presión arterial, de la resistencia vascular sistémica y de la sensibilidad de los vasopresores observada en la preeclampsia, en donde la disfunción endotelial es la vía final común que lleva a los signos clínicos de la preeclampsia, incluyendo la hipertensión y la proteinuria. (**Svedas, 2002; Stennett, 2006**). Los análogos metilados de la arginina, en forma natural, son inhibidores endógenos de las tres isoformas de la NOS (**Böger, 2006**).

El mecanismo responsable de las altas concentraciones de ADMA en las preeclámpticas es desconocido. Se deriva del catabolismo de las proteínas que contienen residuos metilados de arginina que son liberados a la circulación materna. La principal vía de degradación del ADMA es por la enzima dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH), que tiene dos isoformas: I y II. La DDAH II es la principal isoforma en las células endoteliales y en la placenta y se considera que el principal mecanismo por el cual la ADMA se incrementa en forma significativa.

El estrés oxidativo ha sido propuesto como un contribuyente importante en la fisiopatología de la preeclampsia (**De Oiveira, 2010**), e inhibe la actividad de la DDAH (**Monsalve, 2007**). Más aún, las concentraciones de ADMA, y otros aminoácidos, son afectadas por la función renal (**Holden, 1998**). Por lo tanto, entre las preeclámpticas, la ADMA puede incrementarse en forma secundaria la sobreproducción de los residuos metilados de arginina de las proteínas, la degradación de la ADMA por la DDAH puede estar disminuida o las altas concentraciones de ADMA pueden ser el resultado de las alteraciones subyacentes de la función renal.

El hallazgo de la presencia de disfunción hepática también puede afectar las concentraciones plasmáticas de ADMA durante la preeclampsia. La mayoría de los estudios no han mostrado los resultados de la función del hígado. En forma interesante, la elevación de las enzimas y los parámetros de la función hepática indican la progresión de la preeclampsia hacia el síndrome de HELLP. Se ha demostrado que las concentraciones de ADMA en pacientes con síndrome de HELLP son mayores en comparación con las preeclámpticas y las embarazadas normotensas (**Böger, 2010**). Además, se puede concluir que cuando el curso clínico de la preeclampsia se agrava y se involucran órganos que modifican las concentraciones de ADMA (hígado, riñón y endotelio), las concentraciones aumentan y podrían afectar en forma negativa el flujo sanguíneo de los órganos.

EFFECTOS DE LA NITROGLICERINA SOBRE LOS INDICADORES DE INFLAMACIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL DE INFLAMACIÓN VASCULAR

Varios reportes en las ultimas dos décadas han documentado que el tratamiento

con nitroglicerina tiene efectos adversos sobre la función endotelial. Estudios previos han demostrado que el tratamiento a largo plazo con nitroglicerina causa una reducción significativa en estas respuestas en individuos sanos y en pacientes con enfermedad cardiaca coronaria sometidos a tratamiento con parches de nitroglicerina con un esquema similar al de esta investigación (**Azevedo, 2001; Gori, 2001; Gori, 2010**). Estas alteraciones han sido atribuidas al desacoplamiento de la NOS en la presencia del aumento de la producción vascular inducida por la nitroglicerina de radicales libres de oxígeno. El aumento del estrés oxidativo vascular secundario a la exposición de nitroglicerina esta bien documentado con una importante cantidad de fuentes descritas, incluyendo xantina oxidasa, NADH oxidasa, cadena de transporte de electrones mitocondriales, oxidasa del citocromo P450 al igual que la NOS misma (**Parker, 2003; Fung, 2004; Chen, 2006; Munzel, 2005**). Este incremento de la biodisponibilidad de radicales libres vasculares tiene implicaciones mas alla del desarrollo de la resistencia a los nitratos como que los radicales libres de oxígeno producen oxidación de los carbohidratos, lípidos, proteínas y ADN (**Beckman, 1996**) y ademas son capaces de alterar la homeostasis bioquímica e inducir daño biológico. En forma interesante, la evidencia de la disfunción vasomotora y endotelial inducida por la nitroglicerina ha sido asociada con incremento en las concentraciones de aldehídos e isoprostanos citotóxicos, ambos productos de la peroxidación lipídica (**Mollnau, 2006**), al igual que con alteración de la función de las células progenitoras endoteliales (**DiFabio, 2006**).

En vista de lo antes expuesto, se propuso investigar si el tratamiento con parches de nitroglicerina se asociaría con un incremento en las concentraciones de los marcadores de inflamación vascular y lesión endotelial en preeclámpticas. Los resultados de la investigación no muestran evidencia de inflamación inducida por la nitroglicerina, ya que el uso de los parches de nitroglicerina no altera los diferentes marcadores de inflamación en las preeclámpticas. Es posible que este efecto neutral pueda depender del balance neto entre los efectos tóxicos de las especies reactivas de oxígeno y el efecto protector del ON liberado por la nitroglicerina. En el estudio de de Berrazueta y colaboradores (**2003**), el tratamiento con nitroglicerina disminuyó las concentraciones de PCR y selectina E, mientras que no afectaba las concentraciones de otros marcadores de inflamación y lesión vascular en pacientes con enfermedad vascular periférica severa. Aunque la razón para esta inconsistencia no esta clara, es

posible que los efectos protectores del ON puedan prevalecer en estos pacientes con enfermedades cardiovasculares.

Existe una particular relación entre el tratamiento con nitratos y el ADMA. Se ha propuesto que el incremento de la biodisponibilidad de radicales libres de oxígeno, con subsecuente daño de la enzima responsable del metabolismo de la ADMA, dimetilarginina dimetilhidrolasa (**Boger, 2003; Boger, 2005; Zhang, 2009; Siervo, 2011**), lleva al incremento de las concentraciones de ADMA observado en pacientes con una variedad de enfermedades cardiovasculares. Estudios in vitro (**Zhang, 2009**) reportaron que la exposición de las células endoteliales a la nitroglicerina se asoció con una disminución de la actividad de la dimetilarginina dimetilhidrolasa, lo cual produce un incremento en las concentraciones de ADMA. El tratamiento de esas células endoteliales con ADMA también causó disminución de la actividad de la aldehído deshidrogenasa-2, una de las enzimas claves involucradas en la biotransformación de la nitroglicerina. Estos estudios concluyeron que la exposición a la nitroglicerina causa disminución de la dimetilarginina dimetilhidrolasa, aumento de las concentraciones de ADMA y disminución de la actividad de la aldehído deshidrogenasa (**Chen, 2006, Dragoni, 2007; Zhang, 2009**).

Aunque hechos cruciales con relación a la farmacología y terapéutica de los nitratos se han resuelto en los últimos años, incluyendo el mecanismo de biotransformación (**Gori, 2007; Gori, 2009**), aun queda un gran número de problemas, y en especial en la práctica obstétrica. De estos, uno de los más importantes, después de más de 100 años de uso clínico, es el impacto de los nitratos sobre el pronóstico de los pacientes en los cuales se utiliza (**Gori, 2008**). Los datos de la investigación demuestran que el tratamiento con parches de nitroglicerina no modifican los parámetros de inflamación y lesión vascular en pacientes con diagnóstico de preeclampsia.

RESULTANTE NEONATAL

En el feto y en el neonato la principal forma de glutatión S-transferasa es la glutatión S-transferasa placentaria, la cual no está presente en el adulto. Los subtipos

de glutation S-transferasa α y μ son detectables en pequeñas cantidades en los adultos y el subtipo glutation S-transferasa θ no es detectable durante el periodo perinatal (**Abramovitz, 1988**). Debido a que en el periodo postnatal se incrementa la cantidad de glutation oxidado debido a la actividad de la peroxidasa, se ha considerado la posibilidad si el glutation en el hígado del recién nacido tiene la capacidad de metabolizar efectivamente la nitroglicerina o el glicerol trinitrato.

En estudios animales no se observaron cambios significativos en los parámetros cardiovasculares o sobre el equilibrio ácido-base en el feto durante o después de la infusión de nitroglicerina y se ha demostrado que tanto la nitroglicerina como el glicerol trinitrato no tienen efectos teratogénicos o embriotóxicos (**Oketani, 1981**). En humanos se ha utilizado la nitroglicerina tanto endovenosa para el tratamiento del infarto del miocardio como en parches para la tocólisis en casos de insuficiencia istmicocervical. A pesar que el tratamiento se ha utilizado por varios días o semanas, no se han descrito efectos negativos en el feto (**Lees, 1997; Strambi, 2004; Sharabi, 2008**). de Rosayro y colaboradores (**1980**) sugirieron que las bajas concentraciones de nitroglicerina en cordón umbilical encontradas en ovejas se puede deber al rápido metabolismo en el hígado materno y fetal. También se debe mencionar, además del efecto del primer paso hepático, que la hidrólisis del glicerol trinitrato también ocurre en los eritrocitos de voluntarios sanos (**Noonan, 1985**). La nitroglicerina y sus metabolitos que alcanzan la circulación materna no parecen producir ningún efecto adversos sobre el sistema cardiovascular del recién nacido en el periodo inmediatamente posterior al parto.

De los datos de la investigación se deduce que la administración de los parches de nitroglicerina a preeclámpticas no se asocia con modificación de las variables del estado funcional del neonato (apgar, pH, frecuencia cardiaca). Sin embargo, debe señalarse que el pH sanguíneo fue mayor en los neonatos de las preeclámpticas tratadas con los parches de nitroglicerina comparado con aquellos recién nacidos de preeclámpticas no tratadas. Por lo tanto, se podría sugerir que si el tamaño de la muestra hubiese sido mayor, pudiese haber alcanzado significancia estadística, indicando mejoría clínica de la viabilidad neonatal.

COMPLICACIONES Y MORTALIDAD PERINATAL

La disminución de la morbilidad y mortalidad es la principal razón del uso de donadores de ON en obstetricia (**Tan, 2006**). Los datos de esta investigación demuestran una mejoría clínica, mas no estadística de las complicaciones perinatales. La diferencia en el número de complicaciones neonatales entre ambos grupos (una complicación perinatal en el grupo de pacientes tratadas con nitroglicerina comparado con 5 complicaciones en el grupo control) es un hallazgo clínico importante.

La disminución de las complicaciones neonatales en el grupo de pacientes tratadas con nitroglicerina no se debe a las diferencias en el intervalo de tiempo entre la administración del tratamiento y el parto o de las dosis de corticosteroides que las pacientes puedan recibir. Se ha sugerido que la disminución de las complicaciones neonatales se deben a la prolongación del parto, en el caso del parto pretérmino, y también a los potenciales efectos no tocolíticos de los parches de nitroglicerina, como los efectos directos sobre el flujo sanguíneo uterino o la placenta como se demostró en la presente investigación. Se ha demostrado que la nitroglicerina disminuye las concentraciones de hormona liberadora de corticotropina, sugiriendo un efecto placentario directo (**He, 2002**).

Debido a que la dosis, vía de administración y calidad de los estudios varia, la mayoría de estos concluye que la nitroglicerina transdérmica es segura en el tratamiento de preeclámpticas. El uso de cualquier fármaco durante el embarazo es un balance de riesgo de la droga para la madre/feto contra los potenciales beneficios para el feto (**Smith, 2007**). Varios fármacos en uso están asociados con importantes efectos adversos maternos (como los tocolíticos (**Yaju, 2006**) o fetales (como los analgésicos no esteroideos) (**Tan, 2006**) y en algunos casos, ninguno ha demostrado que disminuye las complicaciones neonatales ante diferentes patologías obstétricas.

Solo pequeñas cantidades del nitroglicerina cruzan la placenta (**Bustard, 2002; Bustard, 2003; Bustard, 2003**). Estudios en ovejas (**Bootstaylor, 1999; Bustard, 2003**) y en humanos (**Leszczynska-Gorzela, 2002; Kahler, 2004**) sugieren que la nitroglicerina no altera el flujo sanguíneo útero-placentario o fetal normal.

Los datos de la investigación demuestran que para el tamaño muestral estudiado

no existe diferencias estadísticamente significativas en las complicaciones perinatales en los recién nacidos de las preeclámpticas tratadas o no con parches de nitroglicerina. Sin embargo, para un tamaño muestral de 40 preeclámpticas por grupo, en las preeclámpticas no tratadas se observaron 4 muertes perinatales (10%) mientras que en las mujeres tratadas con los parches de nitroglicerina solo se observó una muerte (2,5%). Más aún, el número de complicaciones perinatales mayores fue de 5 casos (12,5%) en el grupo de preeclámpticas no tratadas y un caso (2,5%) en los recién nacidos de las preeclámpticas tratadas. El tamaño muestral debe tenerse en cuenta, ya que no se calculó para establecer las modificaciones en la supervivencia o en el desarrollo de complicaciones y, por lo tanto, los resultados de este estudio no son adecuados para obtener conclusiones para esta finalidad. Sin embargo, la reducción de la mortalidad perinatal puede considerarse dramática y por lo tanto lleva a concluir que es importante y necesario realizar un estudio prospectivo para establecer la efectividad de los parches de nitroglicerina en este aspecto de la investigación.

EFFECTOS ADVERSOS.

Se observaron una mayor cantidad de efectos adversos en las pacientes tratadas con nitroglicerina que en las pacientes del grupo control. Sin embargo, el principal efecto adverso asociado al uso de nitroglicerina transdérmica fue la cefalea. La cual no provoco que ninguna paciente abandonara el estudio.

Los efectos adversos de la nitroglicérina transdérmica han sido bien descritos posteriores al uso a largo plazo como terapia cardiológica. Todos los estudios de la nitroglicerina transdérmica han demostrado que la cefalea es efecto adverso mas común en 30-65% de los casos (**El-Sayed, 1998**). Afortunadamente la cefalea puede ser tratada con paracetamol y su duración no es mayor de 5 días (**Schleussner, 2003**).

En un estudio en el que se comparó el tratamiento con nitroglicerina endovenosa y sulfato de magnesio para la tocólisis del parto pretérmino, Se observó la presencia de hipotensión materna en las pacientes tratadas con nitroglicerina. Esta complicación no se observó en esta investigación y posiblemente este relacionada con la dosis, vía de administración y la cantidad de liquido endovenoso administrado antes del inicio del

tratamiento. Los estudios de equivalencia usando nitroglicerina transdérmica no han reportado problemas de hipotensión (**Lees, 1994; Black, 1999; Wani, 2004**). Estudios en animales (**Bootstaylor, 1999; Bustard, 2003**) y humanos (**Lees, 1994; Schleussner, 2003; Bustard, 2003; Bisits, 2004**) sugiere que la nitroglicerina es segura cuando se utiliza en dosis similares a la utilizada en la presente investigación.

Varios centros de atención obstétrica han adoptado el uso de nitroglicerina transdérmica como un agente estándar para el tratamiento de la amenaza de parto pretérmino. Sin embargo, no existe un consenso para el uso de los parches de nitroglicerina en el tratamiento de la preeclampsia, por lo que se necesitan investigaciones multicentricas para confirmar los resultados de la presente investigación.

El número de pacientes seleccionadas para la investigación puede subestimar la incidencia de complicaciones obstetricas en las pacientes tratadas con nitroglicerina transdermica. Dado los costos a corto y largo plazo asociados con la morbilidad neonatal, el uso de los parches de nitroglicerina en la preeclampsia puede disminuir los costos y producir beneficios a los recién nacidos a largo plazo.

CONCLUSIONES

De esta investigación prospectiva de la caracterización hemodinámica Doppler e inflamatoria de pacientes con preeclampsia y de un grupo control de embarazadas normotensas sanas, así como el análisis del efecto del tratamiento con parches de nitroglicerina en las preeclámpticas, se concluye que:

- 1) Las preeclámpticas tienen valores significativamente más altos de velocimetría Doppler en las arterias uterinas, umbilical, renal fetal y hepática fetal y mas bajos de la arteria cerebral media fetal comparado con las embarazadas normotensas.
- 2) Las pacientes con diagnóstico de preeclampsia presentaron concentraciones más altas de los marcadores de inflamación interleuquina-6, factor de necrosis tumoral alfa, interferón gamma y proteína C reactiva y de los marcadores de disfunción endotelial selectina P y E. Sin embargo, las concentraciones de interleuquina-10, selectina L, nitrato / nitrito y sustancia reactivas al ácido barbitúrico fueron mas bajas en este grupo de pacientes al compararlo con los controles.
- 3) El uso de parches de nitroglicerina produce reducción significativa en el índice de pulsatilidad y resistencia y en la relación sistólica / diastólica de la arterias uterinas, sin producir modificaciones significativas en los índices de velocimetría Doppler de la arteria umbilical, arteria cerebral media fetal, arteria renal fetal y arteria hepática fetal.
- 4) El tratamiento con parches de nitroglicerina no produce modificaciones en las concentraciones séricas de indicadores de inflamación y disfunción endotelial. Sin embargo, se observó aumento en las concentraciones plasmáticas de nitrato / nitrito y sustancia reactivas al ácido barbitúrico.
- 5) El uso de parches de nitroglicerina no modifica en forma significativa las variables neonatales, el desarrollo de complicaciones perinatales y la mortalidad perinatal. Sin embargo, existe una reducción en la incidencia de complicaciones

y la mortalidad perinatal en las preeclámpticas tratadas.

6) El empleo de los parches de nitroglicerina se asoció a una mayor frecuencia de cefalea.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abramovitz M, Listowsky I. Developmental regulation of glutathione S-transferases. **Xenob.** 18,1249-1254, 1988.
2. Acharya G, Wilsgaard T, Berntsen G, Maltau J, Kiserud T. Doppler-derived umbilical artery absolute velocities and their relationship to fetoplacental volume blood flow: a longitudinal study. **Ultrasound Obstet Gynecol.** 25:444-453, 2005.
3. Akhan S, Gurel T, Has R. Efectos de la terapia hormonal de reemplazo oral prolongada sobre los niveles plasmáticos de óxido nítrico y betaendorfinas en las mujeres posmenopáusicas. **Gynecol Obstet Invest.** 54:196-200, 2002.
4. Aksoy H, Kumtepe Y, Akçay F, Yildirim A. Correlation of P-selectin and lipoprotein(a), and other lipid parameters in preeclampsia. **Clin Exp Med.** 2:39-43, 2002.
5. Ali M, Schlidt S, Chandel N, Hynes K, Schumacker P, Gewertz B. Endothelial permeability and IL-6 production during hypoxia: role of ROS in signal transduction. **Am J Physiol.** 277:L1057-L1065, 1999.
6. Arauz J, León J, Velásquez P, Jiménez G, Pérez C. Velocimetría Doppler de la arteria umbilical y resultado perinatal adverso en preeclampsia severa. **Ginecol Obstet Mex.** 76:440-449, 2008.
7. 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.** 113:21-5, 2004.
8. Azevedo ER, Schofield AM, Kelly S, Parker JD. Nitroglycerin withdrawal increases endothelium-dependent vasomotor response to acetylcholine. **J Am Coll Cardiol.** 37(2):505-9, 2001.
9. Bakheit K, Bayoumi N, Eltom A, Elbashir M, Adam I. Cytokines profiles in Sudanese women with preeclampsia. **Hypertens Pregnancy.** 28:224-229, 2009.
10. Bar J, Zosmer A, Hod M, Lahav J, Elder M, Sullivan M. Changes in the effects of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha on platelet activation in early pregnancy. **Platelets.** 12:453-5, 2001.
11. Baschat A. The fetal circulation and essential organs - a new twist to an old tale. **Ultrasound Obstet Gynecol.** 27:349-354, 2006.
12. Baschat A, Gembruch U, Reiss I, Gortner L, Weiner C, Harman C. Relationship between arterial and venous Doppler and perinatal outcome in fetal growth restriction. **Ultrasound Obstet Gynecol.** 16:407-413, 2000.
13. Bath P. Major ongoing stroke trials: Efficacy of Nitric Oxide in Stroke (ENOS) trial. **Stroke.** 32:2450-2451, 2001.
14. Bath P, Pathansali R, Iddenden R, Bath F. The effect of transdermal glyceryl trinitrate, a nitric oxide donor, on blood pressure and platelet function in acute stroke. **Cerebrovasc Dis.** 11:265-272, 2001.
15. Baumwell S, Karumanchi S. Pre-eclampsia: clinical manifestations and molecular mechanisms. **Nephron Clin Pract.** 106:c72-81, 2007.
16. Baylis C, Suto T, Conrad K. Importance of nitric oxide in control of systemic and renal hemodynamics during normal pregnancy: studies in rats and implications for preeclampsia. **Hyperten Pregnan.** 15:147-169, 1996.

17. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. **Am J Physiol.** 271(5 Pt 1):C1424-37, 1996.
18. Beinder E, Mohaupt M, Schlembach D. Nitric oxide synthetase activity and Doppler parameters in the fetoplacental and uteroplacental circulation in pre-eclampsia. **Hyperten Pregnan.** 18:115-127, 1999.
19. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. **Ann Surg.** 187:1-7, 1978.
20. Bellotti M, Pennati G, De Gasperi C, Bozzo M, Battaglia FC, Ferrazzi E. Simultaneous measurements of umbilical venous, fetal hepatic, and ductus venosus blood flow in growth-restricted human fetuses. **Am J Obstet Gynecol.** 190:1347-1358, 2004.
21. Belo L, Santos-Silva A, Caslake M, Cooney J, Pereira-Leite L, Quintanilha A. Neutrophil activation and C-reactive protein concentration in preeclampsia. **Hypertens Pregnancy.** 22:129-141, 2003.
22. Belo L, Santos-Silva A, Rocha S, Caslake M, Cooney J, Pereira-Leite L. Fluctuations in C-reactive protein concentration and neutrophil activation during normal human pregnancy. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.** 123:46-51, 2005.
23. Bisits A, Madsen G, Knox M, Gill A, Smith R, Yeo G, Kwek K, Daniel M, Leung TN, Cheung K, Chung T, Jones I, Toohill J, Tudehope D, Giles W. The Randomized Nitric Oxide Tocolysis Trial (RNOTT) for the treatment of preterm labor. **Am J Obstet Gynecol.** 191(3):683-90, 2004.
24. Bodnar L, Ness R, Markovic N, Roberts J. The risk of preeclampsia rises with increasing prepregnancy body mass index. **Ann Epidemiol.** 15:475-482, 2005.
25. Bogaert M. Clinical pharmacokinetics of glyceryl trinitrate following the use of systemic and topical preparations. **Clin Pharm.** 12:1-11, 1987.
26. Böger R, Diemert A, Schwedhelm E, Lüneburg N, Maas R, Hecher K. The role of nitric oxide synthase inhibition by asymmetric dimethylarginine in the pathophysiology of preeclampsia. **Gynecol Obstet Invest.** 69:1-13, 2010.
27. Böger R. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk marker in cardiovascular medicine and beyond. **Ann Med.** 38:126-36, 2006.
28. Böger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and cardiovascular disease: insights from prospective clinical trials. **Vasc Med.** 10 Suppl 1:S19-25, 2005.
29. Böger R. Association of asymmetric dimethylarginine and endothelial dysfunction. **Clin Chem Lab Med.** 41:1467-72, 2003.
30. Bon C, Raudrant D, Poloce F, Champion F, Golfier F, Pichot J, Revol A. Biochemical profile of fetal blood sampled by cordocentesis in 35 pregnancies complicated by growth retardation. **Pathol Biol (Paris).** 55:111-120, 2007.
31. Bonnotte B, Olsson NO, Lorcerie B. Acute-phase reaction. **Rev Prat.** 53:489-494; 2003.
32. Bootstaylor BS, Roman C, Parer JT, Heymann MA. Fetal and maternal hemodynamic and metabolic effects of maternal nitroglycerin infusions in sheep. **Am J Obstet Gynecol.** 176(3):644-50, 1997.
33. Borekci B, Aksoy H, Al RA, Demircan B, Kadanali S. Maternal serum interleukin-10, interleukin-2 and interleukin-6 in pre-eclampsia and eclampsia. **Am J Reprod Immunol.**

- 58:56-64, 2007.
34. Borzychowski A, Croy B, Chan W, Redman C, Sargent I. Changes in systemic type 1 and type 2 immunity in normal pregnancy and pre-eclampsia may be mediated by natural killer cells. **Eur J Immunol.** 35:3054-3063, 2005.
 35. Boyce E, Umland E. Nitroglycerin patches: a therapeutic update. **Clin Ther.** 23:2-23, 2001.
 36. Boukerche H, Ruchaud-Sparagano M, Rouen C, Brochier J, Kaplan C, McGregor J. A monoclonal antibody directed against a granule membrane glycoprotein (GMP-140/PADGEM, P-selectin, CD62P) inhibits ristocetin-induced platelet aggregation. **Br J Haematol.** 92:442-51, 1996.
 37. Boulanger H, Flamant M. New insights in the pathophysiology of preeclampsia and potential therapeutic implications. **Nephrol Ther.** 3:437-448, 2007.
 38. Bowen J, Chamley L, Mitchell M, Keelan J. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: biosynthesis, secretion and roles in establishment of pregnancy in women. **Placenta.** 23:239-56, 2002.
 39. Brennecke S, Gude N, Lulio J, King R. Reduction of placental nitric oxide synthase activity in preeclampsia. **Clin Sci.** 93:51-55, 1997.
 40. Bretelle F, Sabatier F, Blann A, D'Ercole C, Boutière B, Mutin M, et al. Maternal endothelial soluble cell adhesion molecules with isolated small for gestational age fetuses: comparison with pre-eclampsia. **BJOG.** 108:1277-82, 2001.
 41. Bustard MA, Farley AE, Smith GN. The pharmacokinetics of glyceryl trinitrate with the use of the in vitro term human placental perfusion setup. **Am J Obstet Gynecol.** 187(1):187-90, 2002.
 42. Bustard MA, Ryan G, Seaward G, Saleniak ME, Smith GN. Human maternal and fetal plasma glyceryl trinitrate concentrations. **Am J Obstet Gynecol.** 189(6):1777-8, 2003.
 43. Bustard MA, Farley AE, Bennett BM, Smith GN. Steady-state maternal and fetal plasma concentrations of glyceryl trinitrate (GTN) in the preterm sheep. **Can J Physiol Pharmacol.** 81(9):884-9, 2003.
 44. Butterworth R, Cluckie A, Jackson S, Buxton-Thomas M, Bath P. Pathophysiological assessment of nitric oxide (given as sodium nitroprusside) in acute ischaemic stroke. **Cerebrovasc Dis.** 8:158-165, 1988.
 45. Cacciatore B, Halmesmaki E, Kaaja R, Teramo K, Ylikorkala O. Effects of transdermal nitroglycerin on impedance to flow in the uterine, umbilical, and fetal middle cerebral arteries in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth retardation. **Am J Obstet Gynecol.** 179:140-145, 1998.
 46. Carreiras M, Montagnani S, Layrisse Z. Preeclampsia: a multifactorial disease resulting from the interaction of the fetomaternal HLA genotype and HCMV infection. **Am J Reprod Immunol;** 48:176-183, 2002.
 47. Castell J, Andus T, Kunz D, Heinrich P. Interleukin-6. The major regulator of acute-phase protein synthesis in man and rat. **Ann N Y Acad Sci.** 557:87-99, 1989.
 48. Chaiworapongsa T, Romero R, Yoshimatsu J, Espinoza J, Kim Y, Park K. Soluble adhesion molecule profile in normal pregnancy and pre-eclampsia. **J Matern Fetal Neonatal Med.** 12:19-27, 2002.
 49. Chen Z, Stamler JS. Bioactivation of nitroglycerin by the mitochondrial aldehyde

- dehydrogenase. **Trends Cardiovasc Med.** 16(8):259-65, 2006.
50. Chihara H, Blood A, Hunter C, Power G. Effect of mild hypothermia and hypoxia on blood flow and oxygen consumption of the fetal sheep brain. **Pediatr Res.** 54:665-671, 2003.
 51. Chisaka H, Johnstone J, Premyslova M, Manduch Z, Challis J. Effect of pro-inflammatory cytokines on expression and activity of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in cultured human term placental trophoblast and human choriocarcinoma JEG-3 cells. **J Soc Gynecol Investig.** 12:303-309, 2005.
 52. Choudhary N, Ahlawat R. Interleukin-6 and C-reactive protein in pathogenesis of diabetic nephropathy: new evidence linking inflammation, glycemic control, and microalbuminuria. **Iran J Kidney Dis.** 2:72-9, 2008.
 53. Clark D, Chaouat G, Arck P, Mittrucker H, Levy G. Cytokine-dependent abortion in CBA x DBA/2 mice is mediated by the procoagulant fgl2 prothrombinase. **J Immunol.** 160:545-499, 1998.
 54. Clausen T, Djurovic S, Brosstad F, Berg K, Henriksen T. Altered circulating levels of adhesion molecules at 18 weeks' gestation among women with eventual preeclampsia: indicators of disturbed placentation in absence of evidence of endothelial dysfunction? **Am J Obstet Gynecol** 182:321-325, 2000.
 55. Coata G, Pennacchi L, Bini V, Liotta L, Di Renzo GC. Soluble adhesion molecules: marker of pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. **J Matern Fetal Neonatal Med.** 12:28-34, 2002.
 56. Cock M, McCrabb G, Wlodek M, Harding R. Effects of prolonged hypoxemia on fetal renal function and amniotic fluid volume in sheep. **Am J Obstet Gynecol.** 176:320-326, 1997.
 57. Conrad K, Joffe G, Kruszyna H, Kruszyna R, Rochelle L, Smith R. Identification of increased nitric oxide biosynthesis during pregnancy in rats. **FASEB J.** 7:566-571, 1993.
 58. Corwin S, Reiffel J. Nitrate therapy for angina pectoris. **Arch Intern Med.** 145:538-543, 1985.
 59. Coumans A, Garnier Y, Supçun S, Jensen A, Berger R, Hasaart T. Nitric oxide and fetal organ blood flow during normoxia and hypoxemia in endotoxin-treated fetal sheep. **Obstet Gynecol.** 105:145-155, 2005.
 60. Curtis N, Gude N, King R, Marriott P, Rook T, Brennecke S. Nitric oxide metabolites in normal human pregnancy and preeclampsia. **Hypertens Pregnancy.** 14:339-349, 1995.
 61. Dai S, Nishioka K, Yudoh K. Interleukin (IL) 18 stimulates osteoclast formation through synovial T cells in rheumatoid arthritis: comparison with IL1 beta and tumour necrosis factor alpha. **Ann Rheum Dis.** 63:1379-86, 2004.
 62. Daniel Y, Kupferminc M, Baram A, Jaffa A, Fait G, Wolman I. Plasma interleukin-12 is elevated in patients with preeclampsia. **Am J Reprod Immunol.** 39:376-80, 1998
 63. Davis G, Brown M. Glyceryl trinitrate patches are unsuitable in hypertensive pregnancy. **Aus N Zeal J Obstet Gynaecol.** 41:474, 2001.
 64. Dayoub H, Rodionov R, Lynch C, Cooke J, Arning E, Bottiglieri T. Overexpression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase inhibits asymmetric dimethylarginine-induced endothelial dysfunction in the cerebral circulation. **Stroke.** 39:180-4, 2008.
 65. de Berrazueta JR, Sampedro I, Garcia-Unzueta MT, Llorca J, Bustamante M, Amado

- JA. Effect of transdermal nitroglycerin on inflammatory mediators in patients with peripheral atherosclerotic vascular disease. **Am Heart J.** 146(4):E14, 2003.
66. De Caterina R, Libby P, Peng H, Thannickal V, Rajavashisth T, Gimbrone M. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. **J Clin Invest.** 96:60-68, 1995.
 67. De Meeus J, Pourrat O, Gombert J, Magnin G. C-reactive protein levels at the onset of labour and at day 3 post-partum in normal pregnancy. **Clin Exp Obstet Gynecol.** 25:9-11, 1998.
 68. de Oliveira L, Karumanchi A, Sassi N. Preeclampsia: oxidative stress, inflammation and endothelial dysfunction. **Rev Bras Ginecol Obstet.** 32:609-16, 2010.
 69. de Rosayro M, Nahrwold ML, Hill AB, Tait AR, Busch MD, Kirsh MM. Plasma levels and cardiovascular effect of nitroglycerin in pregnant sheep. **Can Anaesth Soc J.** 27(6):560-4, 1980.
 70. Dekker G, Sibai B. The immunology of preeclampsia. **Sem Perinatol.** 23:24-33, 2006.
 71. Derzsy Z, Prohászka Z, Rigó J, Füst G, Molvarec A. Activation of the complement system in normal pregnancy and preeclampsia. **Mol Immunol.** 47:1500-1506, 2010.
 72. Desai T, Leeper N, Hynes K, Gewertz B. Interleukin-6 causes endothelial barrier dysfunction via the protein kinase C pathway. **J Surg Res.** 104:118-123, 2002.
 73. Deveci K, Sogut E, Evliyaoglu O, Duras N. Pregnancy-associated plasma protein-A and C-reactive protein levels in pre-eclamptic and normotensive pregnant women at third trimester. **J Obstet Gynaecol Res.** 35:94-98, 2009.
 74. Di Iorio R, Marinoni E, Coacci F, La Torre R, Cosmi E. Amniotic fluid nitric oxide and uteroplacental blood flow in pregnancy complicated by intrauterine growth retardation. **Br J Obstet Gynaecol.** 104:1134-1139, 1997.
 75. DiFabio JM, Thomas GR, Zucco L, Kuliszewski MA, Bennett BM, Kutryk MJ, Parker JD. Nitroglycerin attenuates human endothelial progenitor cell differentiation, function, and survival. **J Pharmacol Exp Ther.** 318(1):117-23, 2006.
 76. Divon M, Ferber A. Doppler evaluation of the fetus. **Clin Obstet Gynecol.** 45: 1015-1025, 2002.
 77. Dong M, He J, Wang Z, Xie X, Wang H. Placental imbalance of Th1- and Th2-type cytokines in preeclampsia. **Acta Obstet Gynecol Scand.** 84:788-93, 2005.
 78. Dragoni S, Gori T, Lisi M, Di Stolfo G, Pautz A, Kleinert H, Parker JD. Pentaerythryl tetranitrate and nitroglycerin, but not isosorbide mononitrate, prevent endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 27(9):1955-9, 2007.
 79. Dubiel M, Korszun P, Breborowicz G, Gudmundsson S. Fetal hepatic artery blood flow velocimetry in normal and high-risk pregnancies. **Prenat Neonat Med.** 6:151-156, 2001.
 80. Dubiel M, Breborowicz G, Marsal K, Gudmundsson S. Fetal adrenal and middle cerebral artery Doppler velocimetry in high-risk pregnancy. **Ultrasound Obstet Gynecol.** 16:414-418, 2000.
 81. Dudley D, Hunter C, Mitchell M, Varner M. Amniotic fluid interleukin-10 (IL-10) concentrations during pregnancy and with labor. **J Reprod Immunol.** 33:147-56, 1997.

82. Duong M, MaCkenzie T, Zwolak R, Kaplan A, Robb J, Thompson C. Correlation of invasive Doppler flow wire with renal duplex ultrasonography in the evaluation of renal artery stenosis: the Renal Artery Stenosis Invasive Doppler (RAIDER) study. **J Vasc Surg.** 45:284-288, 2007.
83. Duygu H, Zoghi M, Nalbantgil S, Ozerkan F, Cakir C, Ertas F, et al. High-sensitivity C-reactive protein may be an indicator of the development of atherosclerosis in myocardial bridging. **Int J Cardiol.** 124:267-270, 2008.
84. El-Sayed Y, Riley E, Holbrook R, Cohen S, Chitkara U, Druzin M. Randomized comparison of intravenous nitroglycerin and magnesium sulfate for treatment of preterm labor. **Obstet Gynecol.** 93:79-83, 1999.
85. Ebrashy A, Azmy O, Ibrahim M, Waly M, Edris A. Middle cerebral/umbilical artery resistance index ratio as sensitive parameter for fetal well-being and neonatal outcome in patients with preeclampsia: case-control study. **Croat Med J.** 46(5):821-5, 2005.
86. Ellis J, Wennerholm U, Bengtsson A, Lilja H, Pettersson A, Sultan B. Levels of dimethylarginines and cytokines in mild and severe preeclampsia. **Acta Obstet Gynecol Scand.** 80:602-8, 2001.
87. Erba M, Jungreis C, Horton J. Nitropaste for prevention and relief of vascular spasm. **Am J Neuroradiol,** 15:155-156, 1989.
88. Erzen B, Sabovic M, Sebestjen M, Keber I, Poredos P. Interleukin-6 correlates with endothelial dysfunction in young post-myocardial infarction patients. **Cardiology.** 107:111-116; 2007.
89. Faas M, Broekema M, Moes H, van der Schaaf G, Heineman M, de Vos P. Altered monocyte function in experimental preeclampsia in the rat. **Am J Obstet Gynecol.** 191:1192-1198, 2004.
90. Feingold K, Soued M, Adi S, Staprans I, Neese R, Shigenaga J. Effect of interleukin-1 on lipid metabolism in the rat. Similarities to and differences from tumor necrosis factor. **Arterioscler Thromb.** 11:495-500, 1991.
91. Ferrazzi E, Bozzo M, Rigano S, Bellotti M, Morabito A, Pardi G, Battaglia F, Galan H. Temporal sequence of abnormal Doppler changes in the peripheral and central circulatory systems of the severely growth-restricted fetus. **Ultrasound Obstet Gynecol.** 19:140-146, 2002.
92. Ferrer D, Fonseca C. Importancia biológica y participación en algunas funciones cardiovasculares y hematológicas. **Medisan.** 2:45-53, 1998.
93. Ferrer D, Fonseca C. Radicales Libres y su papel en la homeostasia neuronal. **Medisan.** 3:5-11, 1999.
94. Figueroa R, Garry D, Elimian A, Patel K, Sehgal P, Tejani N. Evaluation of amniotic fluid cytokines in preterm labor and intact membranes. **J Matern Fetal Neonatal Med.** 18:241-7, 2005.
95. Fouron J, Skoll A, Sonesson S, Pfizenmaier M, Jaeggi E, Lessard M. Relationship between flow through the fetal aortic isthmus and cerebral oxygenation during acute placental circulatory insufficiency in ovine fetuses. **Am J Obstet Gynecol.** 181:1102-1107, 1999.
96. Fung HL. Biochemical mechanism of nitroglycerin action and tolerance: is this old mystery solved? **Annu Rev Pharmacol Toxicol.** 44:67-85, 2004.

97. Furui J. Soluble forms of P-, E- and L-selectin in children with Kawasaki disease. **Kurume Med J.** 48:135-43, 2001.
98. Gallarreta F, Martins Wde P, De Moraes E, Ferreira C, Nicolau L, Barra A, Mauad Filho F. Evaluation of blood flow in the fetal renal artery between the 22nd and 38th week in normal pregnancies. **Rev Bras Ginecol Obstet.** 30:494-498, 2008.
99. Gates P, Boucher M, Silver A, Monahan K, Seals D. Impaired flow-mediated dilation with age is not explained by L-arginine bioavailability or endothelial asymmetric dimethylarginine protein expression. **J Appl Physiol.** 102:63-71, 2007.
100. Germain A, Romanik M, Guerra I, Solari S, Reyes M, Johnson R. Endothelial dysfunction: a link among preeclampsia, recurrent pregnancy loss, and future cardiovascular events? **Hypertension.** 49:90-5, 2007.
101. Gervasi M, Chaiworapongsa T, Pacora P, Naccasha N, Yoon BH, Maymon E. Phenotypic and metabolic characteristics of monocytes and granulocytes in preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol.** 185:792-7, 2001.
102. Ghosh G, Breborowicz A, Brazert M, Maczkiewicz M, Kobelski M, Dubiel M, Gudmundsson S. Evaluation of third trimester uterine artery flow velocity indices in relationship to perinatal complications. **J Matern Fetal Neonatal Med.** 19:551-555, 2006.
103. Gifford R, August P, Cunningham G, Green L, Lindhemier M, McNellis D. Report of the national high blood pressure education program working group on high blood pressure in pregnancy. **Am J Obstet Gynecol.** 183:S1-S22, 2000.
104. Giles W, O'Callaghan S, Boura A, Walters W. Reduction in human fetal umbilical-placental vascular resistance by glyceryl trinitrate. **Lancet.** 340:856, 1992.
105. Goldman-Wohl D, Ariel I, Greenfield C, Hochner-Celnikier D, Cross J, Fisher S. Lack of human leukocyte antigen-G expression in extravillous trophoblasts is associated with pre-eclampsia. **Mol Hum Reprod.** 6:88-95, 2000.
106. Gomez O, Martinez J, Figueras F, Del Rio M, Borobio V, Puerto B. Uterine artery Doppler at 11-14 weeks of gestation to screen for hypertensive disorders and associated complications in an unselected population. **Ultrasound Obstet Gynecol.** 26:490-494, 2005.
107. Gori T, Dragoni S, Di Stolfo G, Sicuro S, Liuni A, Luca MC, Thomas G, Oelze M, Daiber A, Parker JD. Tolerance to nitroglycerin-induced preconditioning of the endothelium: a human in vivo study. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** 298(2):H340-5, 2010.
108. Gori T, Daiber A. Non-hemodynamic effects of organic nitrates and the distinctive characteristics of pentaerythryl tetranitrate. **Am J Cardiovasc Drugs.** 9(1):7-15, 2009.
109. Gori T, Daiber A, Di Stolfo G, Sicuro S, Dragoni S, Lisi M, Münzel T, Forconi S, Parker JD. Nitroglycerine causes mitochondrial reactive oxygen species production: in vitro mechanistic insights. **Can J Cardiol.** 23(12):990-2, 2007.
110. Gori T, Mak SS, Kelly S, Parker JD. Evidence supporting abnormalities in nitric oxide synthase function induced by nitroglycerin in humans. **J Am Coll Cardiol.** 38(4):1096-101, 2001.
111. Gorocica P, Chávez R. Oxido Nítrico una molécula multifuncional. **Rev Inst Nac Enferm Resp Mex.** 12:300-304, 1999.
112. Gotsch F, Romero R, Kusanovic J, Erez O, Espinoza J, Kim C. The anti-inflammatory

- limb of the immune response in preterm labor, intra-amniotic infection/inflammation, and spontaneous parturition at term: a role for interleukin-10. **J Matern Fetal Neonatal Med.** 21:529-47, 2008.
113. Gouysse G, Couvelard A, Frachon S, Bouvier R, Nejjari M, Dauge M, Feldmann G, Hénin D, Scoazec J. Relationship between vascular development and vascular differentiation during liver organogenesis in humans. **J Hepatol.** 37:730-740, 2002.
 114. Grabowska A, Chumbley G, Carter N, Loke Y. Interferon-gamma enhances mRNA and surface expression of class I antigen on human extravillous trophoblast. **Placenta.** 11:301-308, 1990.
 115. Gratacós E, Filella X, Palacio M, Cararach V, Alonso P, Fortuny A. Interleukin-4, interleukin-10, and granulocyte-macrophage colony stimulating factor in second-trimester serum from women with preeclampsia. **Obstet Gynecol.** 92:849-53, 1998.
 116. Greer I, Lyall F, Perera T, Boswell F, Macara L. Increased concentrations of cytokines interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in plasma of women with preeclampsia: a mechanism for endothelial dysfunction? **Obstet Gynecol.** 84:937-940, 1994.
 117. Greer I, Haddad N, Dawes J, Johnston T, Johnstone F, Steel J. Increased neutrophil activation in diabetic pregnancy and in nonpregnant diabetic women. **Obstet Gynecol.** 74:878-81, 1989.
 118. Grunewald C, Kublickas M, Carlström K, Lunell N, Nisell H. Effects of nitroglycerin on the uterine and umbilical circulation in severe preeclampsia. **Obstet Gynecol.** 86:600-604, 1995.
 119. Gudmundsson S, Korszun P, Olofsson P, Dubiel M. New score indicating placental vascular resistance. **Acta Obstet Gynecol Scand.** 82:807-812, 2003.
 120. Guleria I, Pollard J. The trophoblast is a component of the innate immune system during pregnancy. **Nat Med.** 6:589-593, 2000.
 121. Güray U, Erbay A, Güray Y, Yilmaz M, Boyaci A, Sasmaz H. Levels of soluble adhesion molecules in various clinical presentations of coronary atherosclerosis. **Int J Cardiol.** 96:235-40, 2004.
 122. Guzin K, Tomruk S, Tuncay Y, Naki M, Sezginsoy S, Zemheri E, Yucel N, Kanadikirik F. The relation of increased uterine artery blood flow resistance and impaired trophoblast invasion in pre-eclamptic pregnancies. **Arch Gynecol Obstet.** 272:283-288, 2005.
 123. Haeger M, Unander M, Andersson B, Tarkowski A, Arnestad J, Bengtsson A. Increased release of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in women with the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. **Acta Obstet Gynecol Scand.** 75:695-701, 1996.
 124. Haider S, Knöfler M. Human tumour necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium. **Placenta.** 30:111-23, 2009.
 125. Hajjar K, Hajjar D, Silverstein R, Nachman R. Tumor necrosis factor-mediated release of platelet-derived growth factor from cultured endothelial cells. **J Exp Med.** 166:235-45, 1987.
 126. Hampson J, McLaughlin P, Johnson P. Low-affinity receptors for tumour necrosis factor-alpha, interferon-gamma and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor are expressed on human placental syncytiotrophoblast. **Immunology.** 79:485-490, 1993.

127. Hancock S, Eastwood J, Mahajan R. Effects of inhaled nitrous oxide 50% on estimated cerebral perfusion pressure and zero flow pressure in healthy volunteers. **Anaesthesia**. 60:129-132, 2005.
128. Hardy E, Rubin P, Horn E. Effects of nitric oxide donors in vitro on the arachidonic acid-induced platelet release reaction and platelet cyclic GMP concentration in pre-eclampsia. **Clin Sc**. 86:195-202, 1991.
129. Harman C, Baschat A. Comprehensive assessment of fetal wellbeing: which Doppler tests should be performed? **Curr Opin Obstet Gynecol**. 15:147-157, 2003.
130. Harman C, Baschat A. Arterial and venous Doppler in IUGR. **Clin Obstet Gynecol**. 46:931-946, 2003.
131. Hashii K, Fujiwara H, Yoshioka S, Kataoka N, Yamada S, Hirano T. Peripheral blood mononuclear cells stimulate progesterone production by luteal cells derived from pregnant and non-pregnant women: possible involvement of interleukin-4 and interleukin-10 in corpus luteum function and differentiation. **Hum Reprod**. 13:2738-44, 1998.
132. Haugen G, Hanson M, Kiserud T, Crozier S, Inskip H, Godfrey K. Fetal liver-sparing cardiovascular adaptations linked to mother's slimness and diet. **Circ Res**. 96:12-14, 2005.
133. Haugen G, Kiserud T, Godfrey K, Crozier S, Hanson M. Portal and umbilical venous blood supply to the liver in the human fetus near term. **Ultrasound Obstet Gynecol**. 24:599-605, 2004.
134. He Q, Sha J, Gu Q, Gu H, Chen X, Yang Z, Ning H. Clinical effect and mechanism of nitroglycerin patch on arresting preterm labor. **Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi**. 37(3):134-5, 2002.
135. Hecher K, Spernal R, Szalay S. Doppler blood flow velocity waveforms in the fetal renal artery. **Arch Gynecol Obstet**. 246:133-137, 1989.
136. Heikkinen J, Möttönen M, Pulkki K, Lassila O, Alanen A. Cytokine levels in midtrimester amniotic fluid in normal pregnancy and in the prediction of pre-eclampsia. **Scand J Immunol**. 53:310-314, 2001.
137. Hennessy A, Painter D, Orange S, Horvath J. Placental tissue interleukin-10 receptor distribution in pre-eclampsia. **Am J Reprod Immunol**. 49:377-81, 2003.
138. Heyborne K, McGregor J, Henry G, Witkin S, Abrams J. Interleukin-10 in amniotic fluid at midtrimester: immune activation and suppression in relation to fetal growth. **Am J Obstet Gynecol**. 171:55-9, 1994.
139. Heyl W, Handt S, Reister F, Gehlen J, Schröder W, Mittermayer C, et al. Elevated soluble adhesion molecules in women with pre-eclampsia. Do cytokines like tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1beta cause endothelial activation. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**. 86:35-41, 1999.
140. Higuma-Myojo S, Sasaki Y, Miyazaki S, Sakai M, Siozaki A, Miwa N. Cytokine profile of natural killer cells in early human pregnancy. **Am J Reprod Immunol**. 54:21-9, 2005.
141. Hoekstra R, Ferrara T, Couser R, Payne N, Connett J. Survival and long-term neurodevelopmental outcome of extremely premature infants born at 23–26 weeks' gestational age at a tertiary center. **Pediatrics**. 113:e1-e6, 2004.
142. Holden D, Fickling S, Whitley G, Nussey S. Plasma concentrations of asymmetric

- dimethylarginine, a natural inhibitor of nitric oxide synthase, in normal pregnancy and preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol.** 178:551-6, 1998.
143. Hubel C, Roberts J, Taylor R, Musci T, Rogers G, MaCLaughlin M. Lipid peroxidation in pregnancy: New perspective on preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol.** 161:1025-1034, 1989.
 144. Hulley S, Cummings S. (Ed.). Designing clinical research. An epidemiologic Approach. Baltimore, **Williams & Wilkins**, 2000.
 145. Hung J, Ng H, Pan Y, Yang M, Shu L. Color Doppler ultrasound, pregnancy-induced hypertension and small-for-gestational-age fetuses. **Int J Gynaecol Obstet.** 56:3-11, 1997.
 146. Izumi H, Garfield R, Makino Y, Shirakawa K, Itoh T. Gestational changes in endothelium-dependent vasorelaxation in human umbilical artery. **Am J Obstet Gynecol.** 170:236-245, 1994.
 147. Izumi H, Makino Y, Shirakawa K, Garfield R. Role of nitric oxide on vasorelaxation in human umbilical artery. **Am J Obst Gynecol.** 172:1477-1484, 1995.
 148. Jin LP, Zhou Y, Zhu X, Wang M, Li D. Adoptive transfer of paternal antigen-hyporesponsive T cells facilitates a Th2 bias in peripheral lymphocytes and at materno-fetal interface in murine abortion-prone matings. **Am J Reprod Immunol.** 56:258-266, 2006.
 149. Jonsson Y, Matthiesen L, Berg G, Ernerudh J, Nieminen K, Ekerfelt C. Indications of an altered immune balance in preeclampsia: a decrease in in vitro secretion of IL-5 and IL-10 from blood mononuclear cells and in blood basophil counts compared with normal pregnancy. **J Reprod Immunol.** 66:69-84, 2005.
 150. Jouppila P, Räsänen J, Alahuhta S, Jouppila R. Vasoactive drugs in obstetrics: a review of data obtained by Doppler and color Doppler methods. **Hypertens Pregnan.** 14:261-275, 1995.
 151. Kähler C, Schleussner E, Möller A, Seewald HJ. Nitric oxide donors: effects on fetoplacental blood flow. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.** 115(1):10-4, 2004.
 152. Kanai T, Fujii T, Unno N, Yamashita T, Hyodo H, Miki A. Human leukocyte antigen-G-expressing cells differently modulate the release of cytokines from mononuclear cells present in the decidua versus peripheral blood. **Am J Reprod Immunol.** 45:94-9, 2001.
 153. Kilavuz O, Vetter K. Is the liver of the fetus the 4th preferential organ for arterial blood supply besides brain, heart, and adrenal glands? **J Perinat Med.** 27:103-106, 1999.
 154. Kilpatrick D, Liston W, Jazwinska E, Smart G. Histocompatibility studies in preeclampsia. **Tissue Antigens.** 29:232-236, 1987.
 155. Kirschenbaum L, Adler D, Astiz M, Barua R, Saha D, Rackow E. Mechanisms of platelet-neutrophil interactions and effects on cell filtration in septic shock. **Shock.** 17:508-12, 2002.
 156. Kiserud T. Physiology of the fetal circulation. **Sem Fetal Neonatal Med.** 10:493-503, 2005.
 157. Koelman C, Coumans A, Nihman H, Doxiadis I, Dekker G. Class F. Correlation between oral sex and low incidence of preeclampsia: a role of soluble HLA in seminal fluid. **J Reprod Immunol.** 46:155-166, 2000.

158. Kohl T, Silverman N. Evaluation of umbilical venous blood flow by Doppler color flow mapping and conventional ultrasonographic methods. **J Ultrasound Med.** 15:465-473, 1996.
159. Konje J, Abrams K, Taylor D. Normative values of Doppler velocimetry of five major fetal arteries as determined by color power angiography. **Acta Obstet Gynecol Scand.** 84:230-237, 2005.
160. Kota R, Ramana C, Tenorio F, Enelow R, Rutledge J. Differential effects of lipoprotein lipase on tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma-mediated gene expression in human endothelial cells. **J Biol Chem.** 280:31076-84, 2005.
161. Krzyzanowska K, Mittermayer F, Wolzt M, Schernthaner G. Asymmetric dimethylarginine predicts cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care.** 30:1834-9, 2007.
162. Kubes P, Suzuki M, Granger D. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. **Proc Natl Acad Sc USA.** 88:4651-4656, 1991.
163. Kumru S, Aydin S, Gursu M, Ozcan Z. Changes of serum paraoxonase (an HDL-cholesterol-associated lipophilic antioxidant) and arylesterase activities in severe preeclamptic women. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.** 114:177-81, 2004.
164. Kupferminc M, Peaceman A, Wigton T, Tamura R, Rehnberg K, Socol M. Immunoreactive tumor necrosis factor-alpha is elevated in maternal plasma but undetected in amniotic fluid in the second trimester. **Am J Obstet Gynecol.** 171:976-9, 1994.
165. Lanas A, Bajador E. Nitrovasodilators, Low-Dose Aspirin, Other Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs, and the Risk of Upper Gastrointestinal Bleeding. **NEJM.** 343:834-839, 2000.
166. Langer H, Chavakis T. Leukocyte-endothelial interactions in inflammation. **J Cell Mol Med.** 13:1211-20, 2009.
167. Leaman D, Chawla-Sarkar M, Jacobs B, Vyas K, Sun Y, Ozdemir A. Novel growth and death related interferon-stimulated genes (ISGs) in melanoma: greater potency of IFN-beta compared with IFN-alpha2. **J Interferon Cytokine Res.** 23:745-756, 2003.
168. Learmont J, Poston L. Nitric oxide is involved in flow-induced dilation of isolated human small fetoplacental arteries. **Am J Obstet Gynecol.** 174:583-588, 1996.
169. Lee V, Quinn P, Jennings S, Ng L. Neutrophil activation and production of reactive oxygen species in pre-eclampsia. **J Hypertens.** 21:395-402, 2003.
170. Leeman L, Fontaine P. Hypertensive disorders of pregnancy. **Am Fam Physician.** 78:93-100, 2008.
171. Lees CC, Lojcono A, Thompson C, Danti L, Black RS, Tanzi P, White IR, Campbell S. Glyceryl trinitrate and ritodrine in tocolysis: an international multicenter randomized study. GTN Preterm Labour Investigation Group. **Obstet Gynecol.** 94(3):403-8, 1999.
172. Lees C, Valensise H, Black R, Harrington K, Byiers S, Romanini C. The efficacy and fetal-maternal cardiovascular effects of transdermal glyceryl trinitrate in the prophylaxis of pre-eclampsia and its complications: a randomized double-blind placebo-controlled trial. **Ultrasound Obstet Gynecol.** 12:334-338, 1998.
173. Lees C, Campbell S, Jauniaux E, Brown R, Ramsay B, Gibb D. Arrest of preterm labor and prolongation of gestation with glycerin trinitrate, a nitric oxide donor. **Lancet.**

- 343:1325-1326, 2003.
174. Leszczynska-Gorzela B, Laskowska M, Marciniak B, Oleszczuk J. Nitric oxide for treatment of threatened preterm labor. **Inter J Gynaecol Obstet**. 73:201-206, 2001.
 175. Lenfant F, Fort M, Rodriguez A, Campan A, Aguerre-Girr M, Sommer E. Absence of imprinting of HLA class Ia genes leads to co-expression of biparental alleles on term human trophoblast cells upon IFN-gamma induction. **Immunogenetics**. 47:297-304, 1998.
 176. Li D, Wi S. Changing paternity and the risk of preeclampsia / eclampsia in the subsequent pregnancy. **Am J Epidemiol**. 151:57-62, 2000.
 177. Liberati M, Rotmensch S, Zannolli P, Perrino S, Celentano C, Tiboni GM, Bellati U. Uterine artery Doppler velocimetry in pregnant women with lateral placentas. **J Perinat Med**. 25(2):133-8.
 178. Lok C, Nieuwland R, Sturk A, Hau C, Boer K, Vanbavel E, et al. Microparticle-associated P-selectin reflects platelet activation in preeclampsia. **Platelets**. 18:68-72, 2007.
 179. Lok C, Nieuwland R, Sturk A, Hau C, Boer K, Vanbavel E. Microparticle-associated P-selectin reflects platelet activation in preeclampsia. **Platelets**. 18:68-72, 2007.
 180. Lyall F, Young A, Greer I. Nitric oxide concentrations are increased in the fetoplacental circulation in preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol**. 173:714-718, 1995.
 181. Luzi G, Caserta G, Iammarino G, Clerici G, Di Renzo G. Nitric oxide donors in pregnancy: fetomaternal hemodynamic effects induced in mild pre-eclampsia and threatened preterm labor. **Ultrasound Obstet Gynecol**. 14:101-109, 1999.
 182. Lyall F. Priming and remodelling of human placental bed spiral arteries during pregnancy--a review. **Placenta**. 26:S31-S36, 2005.
 183. 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**. 82:797-802, 2003.
 184. Maekawa H, Iwabuchi K, Nagaoka I, Watanabe H, Kamano T, Tsurumaru M. Activated peritoneal macrophages inhibit the proliferation of rat ascites hepatoma AH-130 cells via the production of tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide. **Inflamm Res**. 49:541-7, 2000.
 185. Makhseed M, Jirous J, Ahmed MA, Viswanathan DL. Middle cerebral artery to umbilical artery resistance index ratio in the prediction of neonatal outcome. **Int J Gynaecol Obstet**. 71(2):119-25, 2000.
 186. Makino Y, Izumi H, Makino I, Shirakawa K. The effect of nitric oxide on uterine and umbilical artery flow velocity waveform in preeclampsia. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**. 73:139-143, 1997
 187. Marcinkiewicz J, Balchak S, Morrison L. The involvement of tumor necrosis factor-alpha (TNF) as an intraovarian regulator of oocyte apoptosis in the neonatal rat. **Front Biosci**. 7:d1997-2005, 2002.
 188. Mari G, Zimmermann R, Moise K, Deter R. Correlation between middle cerebral artery peak systolic velocity and fetal hemoglobin after 2 previous intrauterine transfusions. **Am J Obstet Gynecol**. 193:1117-1120, 2005.
 189. Martín G, Petroff V. Rol y mecanismos subcelulares del óxido nítrico en la regulación de la contractilidad miocárdica. **Rev Fed Argen Cardiol**. 29:501-507, 2005.

190. Maruo N, Morita I, Ishizaki Y, Murota S. Inhibitory effects of interleukin 6 on prostaglandin I2 production in cultured bovine vascular endothelial cells. **Arch Biochem Biophys**. 292:600-604, 1992.
191. Maymon E, Ghezzi F, Edwin S, Mazor M, Yoon B, Gomez R. The tumor necrosis factor alpha and its soluble receptor profile in term and preterm parturition. **Am J Obstet Gynecol**. 181:1142-8, 1999.
192. McCowan LM, North RA, Harding JE. Abnormal uterine artery Doppler in small-for-gestational-age pregnancies is associated with later hypertension. **Aust N Z J Obstet Gynaecol**. 41(1):56-60, 2001.
193. McCuskey R. Morphological mechanisms for regulating blood flow through hepatic sinusoids. **Liver**. 20:3-7, 2000.
194. McKay D, Merrill S, Weiner A, Hertig A, Reid D. The pathologic anatomy of eclampsia, bilateral renal cortical necrosis, pituitary necrosis, and other acute fatal complications of pregnancy, and its possible relationship to the generalized Shwartzman phenomenon. **Am J Obstet Gynecol**. 66:507-39, 1953.
195. Medina Castro N, Moreno Alvarez O, Guzmán Huerta M, Hernández Andrade E. Principios físicos, metodología, consistencia y seguridad del ultrasonido Doppler en la evaluación fetoplacentaria. **Ginecol Obstet Mex**. 75:621-629, 2007
196. Meher S, Duley L. Interventions for prevention of preeclampsia and its consequences: generic protocol. **Cochrane Datab Syst Rev**. 2:57-78, 2007.
197. Mocellin S, Panelli M, Wang E, Nagorsen D, Marincola F. The dual role of IL-10. **Trends Immunol**. 24:36-43, 2003.
198. Molina R, Romero T, Ruiz A. Citocinas en la fisiopatología de la preeclampsia. **Gac Med Caracas**. 107:505-516, 1999.
199. Mollnau H, Wenzel P, Oelze M, Treiber N, Pautz A, Schulz E, Schuhmacher S, Reifenberg K, Stalleicken D, Scharffetter-Kochanek K, Kleinert H, Münzel T, Daiber A. Mitochondrial oxidative stress and nitrate tolerance--comparison of nitroglycerin and pentaerithrityl tetranitrate in Mn-SOD+/- mice. **BMC Cardiovasc Disord**. 6:44, 2006.
200. Molnar M, Suto T, Toth T, Hertelendy F. Prolonged blockade of nitric oxide synthesis in gravid rats produces sustained hypertension, proteinuria, thrombocytopenia, and intrauterine growth retardation. **Am J Obst Gynecol**. 170:1458-1466, 1994.
201. Molina R, Romero T, Ruiz A. Citocinas en la patología de la preeclampsia. **Gac Med Caracas**. 107:505-516, 1999.
202. Molnár M, Sütö T, Tóth T, Hertelendy F. Prolonged blockade of nitric oxide synthesis in gravid rats produces sustained hypertension, proteinuria, thrombocytopenia, and intrauterine growth retardation. **Am J Obstet Gynecol**. 170:1458-66, 1994.
203. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. **NEJM**. 329:2002-2012, 1993.
204. Monsalve E, Oviedo P, García-Pérez M, Tarín J, Cano A, Hermenegildo C. Estradiol counteracts oxidized LDL-induced asymmetric dimethylarginine production by cultured human endothelial cells. **Cardiovasc Res**. 73:66-72, 2007.
205. Mor G, Gutierrez L, Eliza M, Kahyaoglu F, Arici A. Fas-Fas ligand system-induced apoptosis in human placenta and gestational trophoblastic disease. **Am J Reprod Immunol**. 40:89-94, 2006.

206. Mori A, Iwabuchi M, Makino T. Fetal haemodynamic changes in fetuses during fetal development evaluated by arterial pressure pulse and blood flow velocity waveforms. **BJOG**. 107:669-677, 2000.
207. Morris N, Sooranna S, Learmont J, Poston L, Ramsey B, Peason J. Nitric oxide synthase activities in placental tissue from normotensive, preeclamptic, and growth retarded fetuses. **Br J Obstet Gynaecol**. 102:711-714, 2005.
208. Münzel T, Daiber A, Mülsch A. Explaining the phenomenon of nitrate tolerance. **Circ Res**. 97(7):618-28, 2005.
209. Mutlu-Türkoglu Ü, Ademoglu Ü, Ibrahimoglu L, Aykac-Toker G, Uysal M. The imbalance between lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia. **Gynecol Obstet Invest**. 46:37-40, 1998.
210. Myatt L, Brockman D, Langdon G, Pollock J. Constitutive calcium-dependent nitric oxide synthase in human placental villous vascular tree. **Placenta**. 14:373-383, 1993.
211. Myatt L, Brewer A, Brockman D. The action of nitric oxide in the perfused human fetal-placental. **J Ultrasound Med** 21:831-836, 2002.
212. Myatt L, Webster R. Vascular biology of preeclampsia. **J Thromb Haemost**. 7:375-84, 2009.
213. Nadar S, Al Yemeni E, Blann A, Lip G. Thrombomodulin, von Willebrand factor and E-selectin as plasma markers of endothelial damage/dysfunction and activation in pregnancy induced hypertension. **Thromb Res**. 113:123-8, 2004.
214. Nagai T, Devergne O, Mueller T, Perkins D, Van Seventer J, Van Seventer G. Timing of IFN-beta exposure during human dendritic cell maturation and naive Th cell stimulation has contrasting effects on Th1 subset generation: a role for IFN-beta-mediated regulation of IL-12 family cytokines and IL-18 in naive Th cell differentiation. **J Immunol**. 171:5233-5243, 2003.
215. Nakatsuka M, Tada K, Kimura Y, Asagiri K, Kamada Y, Takata M. Clinical experience of long-term transdermal treatment with nitric oxide donor for women with preeclampsia. **Gynecol Obstet Invest**. 47:13-19, 1999.
216. Nakatsuka M, Takata M, Tada K, Asagiri K, Habara T, Noguchi S. A long-term transdermal nitric oxide donor improves uteroplacental circulation in women with preeclampsia. **J Ultrasound Med**. 21:831-836, 2002.
217. Neri I, Ternelli G, Facchinetti F, Volpe A. Effectiveness of oral nifedipine and transdermal glyceryltrinitrate on 24-hour blood pressure values in pregnancy-induced hypertension. **Hypertens Pregnan**. 19,O65, 2005.
218. Nobunaga T, Tokugawa Y, Hashimoto K, Kimura T, Matsuzaki N, Nitta Y. Plasma nitric oxide levels in pregnant patients with preeclampsia and essential hypertension. **Gynecol Obstet Invest**. 41:189-193, 1996.
219. Noonan PK, Williams RL, Benet LZ. Dose dependent pharmacokinetics of nitroglycerin after multiple intravenous infusions in healthy volunteers. **J Pharmacokinet Biopharm**. 13(2):143-57, 1985.
220. Nori G, Granata A, Leonardi G, Sicurezza E, Spata C. The US color Doppler in acute renal failure. **Minerva Urol Nefrol**. 56:343-352, 2004.
221. Noris M, Todeschini M, Cassis P, Pasta F, Cappellini A, Bonazzola S. L-arginine depletion in preeclampsia orients nitric oxide synthase toward oxidant species.

- Hypertension.** 43:614-622, 2004.
222. Norris L, Higgins J, Darling M, Walshe J, Bonnar J. Nitric oxide in the uteroplacental, fetoplacental, and peripheral circulation in preeclampsia. **Obstet Gynecol.** 93:958-963, 2004.
 223. Northway WH, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline membrane disease. **N Engl J Med.** 276:357-68, 1967.
 224. Norwitz E. Defective implantation and placentation: laying the blueprint for pregnancy complications. **Reprod Biomed Online.** 2006;13:591-599, 2006.
 225. O'Brien M, Dausset J, Carosella E, Moreau P. Analysis of the role of HLA-G in preeclampsia. **Hum Immunol.** 61:1126-1131, 2000.
 226. Odibo AO, Riddick C, Pare E, Stamilio DM, Macones GA. Cerebroplacental Doppler ratio and adverse perinatal outcomes in intrauterine growth restriction: evaluating the impact of using gestational age-specific reference values. **J Ultrasound Med.** 24(9):1223-8, 2005.
 227. Oggé G, Romero R, Chaiworapongsa T, Gervasi M, Pacora P, Erez O. Leukocytes of pregnant women with small-for-gestational age neonates have a different phenotypic and metabolic activity from those of women with preeclampsia. **J Matern Fetal Neonatal Med.** 23:476-87, 2010.
 228. Oketani Y, Mitsuzono T, Ichikawa K, Itono Y, Gojo T, Gofuku M. Toxicological studies on nitroglycerin (nk-843)(6) teratological study in rabbits. **Oyo Yakuri.** 22:633-638, 1981.
 229. Olsen M, Christensen M, Hansen T, Gustafsson F, Rasmussen S, Wachtell K, et al. High-sensitivity C-reactive protein is only weakly related to cardiovascular damage after adjustment for traditional cardiovascular risk factors. **J Hypertens.** 24:655-66, 2006.
 230. Olusi S, Diejomaoh M, Omu A, Abdulaziz A, Prabha K, George S. Interleukins in preeclampsia. **Ann Saudi Med.** 20:4-7, 2000.
 231. Omu A, Al-Azemi M, Al-Qattan F, Al-Yatama M. Connection between human leucocyte antigens D region and T helper cytokines in preeclampsia. **Arch Gynecol Obstet.** 269:79-84, 2004.
 232. Organización Mundial de la Salud. International Collaborative Study of Hypertensive Disorders in Pregnancy. Geographic variation in the incidence of hypertension in pregnancy. **Am J Obstet Gynecol.** 158:830-833, 2008.
 233. Orpana A, Avela K, Ranta V, Viinikka L, Ylikorkala O. The calcium-dependent nitric oxide production of human vascular endothelial cells in preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol.** 174:1056-1060, 1996.
 234. Oz A, Holub B, Mendilcioglu I, Mari G, Bahado-Singh R. Renal artery Doppler investigation of the etiology of oligohydramnios in postterm pregnancy. **Obstet Gynecol.** 100:715-718, 2002.
 235. Pacifici G, Franchi M, Colizzi C, Giuliani L, Rane A. Glutathione S-transferase in humans: development and tissue distribution. **Arch Toxicol.** 61:265-269, 1988.
 236. Papageorghiou A, Roberts N. Uterine artery Doppler screening for adverse pregnancy outcome. **Curr Opin Obstet Gynecol,** 17, 584-590, 2005.
 237. Papageorghiou A, Yu C, Cicero S, Bower S, Nicolaidis K. Second-trimester uterine artery Doppler screening in unselected populations: a review. **J Matern Fetal Neonatal Med.** 12:78-88, 2002.

238. Parker JD. Therapy with nitrates: increasing evidence of vascular toxicity. **J Am Coll Cardiol.** 42(10):1835-7, 2003.
239. Paulesu L, Romagnoli R, Fortino V, Cintorino M, Bischof P. Distribution of type-I interferon-receptors in human first trimester and term placental tissues and on isolated trophoblast cells. **Am J Reprod Immunol.** 37:443-448, 1997.
240. Paulick R, Meyers R, Rudolph C, Rudolph A. Umbilical and hepatic venous responses to circulating vasoconstrictive hormones in fetal lamb. **Am J Physiol.** 260:H1205-H1213, 1991.
241. Pennati G, Corno C, Costantino M, Bellotti M. Umbilical flow distribution to the liver and the ductus venosus in human fetuses during gestation: an anatomy-based mathematical modeling. **Med Eng Phys.** 25:229-238, 2003.
242. Pfanzagl B. LDL oxidized with iron in the presence of homocysteine/cystine at acidic pH has low cytotoxicity despite high lipid peroxidation. **Atherosclerosis.** 187:292-300, 2006.
243. Phocas I, Rizos D, Papoulias J, Xyni K, Sarandakou A, Salamalekis E. A comparative study of serum soluble vascular cell adhesion molecule-1 and soluble intercellular adhesion molecule-1 in preeclampsia. **J Perinatol.** 20:114-9, 2000.
244. Picciolo C, Roncaglia N, Neri I, Pasta F, Arreghini A, Facchinetti F. Nitric oxide in the prevention of pre-eclampsia. **Prenatal Neonatal Med.** 5:212-215, 2005.
245. Pijnenborg R, McLaughlin P, Vercruysse L, Hanssens M, Johnson P, Keith J. Immunolocalization of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in the placental bed of normotensive and hypertensive human pregnancies. **Placenta.** 19:231-9, 1998.
246. Pinto A, Sorrentino R, Sorrentino P. Endothelial-derived relaxing factor released by endothelial cells of human umbilical vessels and its impairment in pregnancy-induced hypertension. **Am J Obstet Gynecol.** 164:507-513, 1991.
247. Poston L. Nitrovasodilators - will they be useful in lowering uterine artery resistance in pre-eclampsia and intrauterine growth restriction? **Ultrasound Obstet Gynecol.** 11:92-93, 1998.
248. Prefumo F, Sebire N, Thilaganathan B. Decreased endovascular trophoblast invasion in first trimester pregnancies with high-resistance uterine artery Doppler indices. **Hum Reprod.** 19:206-209, 2004.
249. Preston R, Ledford M, Materson B, Baltodano N, Memon A, Alonso A. Effects of severe, uncontrolled hypertension on endothelial activation: soluble vascular cell adhesion molecule-1, soluble intercellular adhesion molecule-1 and von Willebrand factor. **J Hypertens.** 20:871-7, 2002.
250. Radomski M, Palmer R, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. **Lancet.** 2:1057-1058, 1987.
251. Ramsay B, De Belder A, Campbell S, Moncada S, Martin J. A nitric oxide donor improves uterine artery diastolic blood flow in normal early pregnancy and in women at high risk of pre-eclampsia. **Eur J Clin Invest.** 24:76-78, 1994.
252. Rao M, Khan A, Parveen N, Habeeb M, Habibullah C, Pande G. Characterization of hepatic progenitors from human fetal liver during second trimester. **World J Gastroenterol.** 14:5730-5737, 2008.
253. Rashid P, Weaver C, Leonardi-Bee J, Fletcher S, Bath F, Bath P. The effects of transdermal glyceryl trinitrate, a nitric oxide donor on blood pressure, cerebral and

- cardiac haemodynamics and plasma nitric oxide levels in acute stroke. **J Stroke Cerebrovasc Dis.** 13:143-151, 2003.
254. Rashid P, Whitehurst A, Lawson N, Bath P. Plasma nitric oxide (nitrate/nitrite) levels in acute stroke and their relationship with severity and outcome. **J Stroke Cerebrovasc Dis.** 12:82-87, 2003.
255. Reese H. Low-dose nitric oxide therapy for persistent pulmonary hypertension of the newborn. **NEJM**, 342, 469-474, 2000.
256. Reyna E, Prieto M, Torres M, Reyna N, Mejías J. Metabolitos del óxido nítrico plasmático y niveles de peróxidos lipídicos en pacientes preeclámpticas antes y después del parto. **Rev Obstet Ginecol Venez.** 62:89-92, 2002.
257. Reyna-Villasmil E, Briceño-Pérez C, Torres-Cepeda D. Inmunología, inflamación y preeclampsia. **Rev Obstet Ginecol Venez.** 69:97-110, 2009.
258. Richter S, Vollmar B, Mücke I, Post S, Menger M. Hepatic arteriolo-portal venular shunting guarantees maintenance of nutritional microvascular supply in hepatic arterial buffer response of rat livers. **J Physiol.** 531:193-201, 2001.
259. Riley E, Flangan B, Cohen S, Chitkara U. Intravenous nitroglycerin: a potent uterine relaxant for emergency obstetric procedures. Review of literature and report of three cases. **Int J Obstet Anesth.** 5:264-268, 1996.
260. Ritter S, Jörn H, Weiss C, Rath W. Importance of ductus venosus Doppler assessment for fetal outcome in cases of intrauterine growth restriction. **Fetal Diagn Ther.** 19:348-355, 2004.
261. Robertson MC, Murila F, Tong S, Baker LS, Yu VY, Wallace EM. Predicting perinatal outcome through changes in umbilical artery Doppler studies after antenatal corticosteroids in the growth-restricted fetus. **Obstet Gynecol.** 113(3):636-40, 2009.
262. Robillard J, Weitzman R, Burmeister L, Smith F. Developmental aspects of the renal response to hypoxemia in the lamb fetus. **Circ Res.** 48:128-138, 1981.
263. Romero T, Ruiz A, Molina R, Heredia W, Atencio R. Interleucina-10 sérica en preeclampsia. **Rev Obstet Ginecol Venez.** 60:165-7, 2000.
264. Romero Gutiérrez G, Ramírez Hernández G, Molina Rodríguez R, Ponce De León A, Cortés Salim P. Valor predictivo de la flujometría Doppler de las arterias umbilical y cerebral media con los resultados perinatales en fetos con restricción del crecimiento intrauterino. **Ginecol Obstet Mex.** 77:19-25, 2009.
265. Romero Gutiérrez G, Aguilar Barajas I, Chávez Curiel A, Ponce Ponce De León A. Predicción del bienestar fetal mediante el perfil flujométrico Doppler en embarazadas con hipertensión. **Ginecol Obstet Méx.** 69:480-486, 2001.
266. Roth I, Corry D, Locksley R, Abrams J, Litton M, Fisher S. Human placental cytotrophoblasts produce the immunosuppressive cytokine interleukin 10. **J Exp Med.** 184: 539-48, 1996.
267. Ruiz A, Romero T, Molina R, Heredia W, Atencio R, Montero M. Interferón-Gamma en el suero de pacientes con preeclampsia. **Rev Obstet Ginecol Venez.** 60:161-164, 2000.
268. Ruiz A, Romero T, Molina R, González E, Taborda J, Estevez J. Concentraciones séricas de interferón-gamma en embarazadas normales. **Rev Obstet Ginecol Venez.** 59:173-175, 1999.
269. Rytlewski K, Olszanecki R, Korbut R, Zdebski Z. Effects of prolonged oral

- supplementation with L-arginine on blood pressure and nitric oxide synthesis in pre-eclampsia. **Eur J Clin Invest.** 35:32-37, 2005.
270. Sacks G, Seyani L, Lavery S, Trew G. Maternal C-reactive protein levels are raised at 4 weeks gestation. **Hum Reprod.** 19:1025-30, 2004.
271. Saito S, Umekage H, Sakamoto Y, Sakai M, Tanebe K, Sasaki Y. Increased T-helper-1-type immunity and decreased T-helper-2-type immunity in patients with preeclampsia. **Am J Reprod Immunol.** 41:297-306, 1999.
272. Saito S, Sakai M. Th1/Th2 balance in preeclampsia. **J Reprod Immunol.** 59:161-173, 2003.
273. Saito S, Shiozaki A, Nakashima A, Sakai M, Sasaki Y. The role of the immune system in preeclampsia. **Mol Aspects Med.** 28:192-209, 2007.
274. Salom J, Orti M, Centeno J, Torregrosa G, Alborch E. Reduction of infarct size by the NO donors sodium nitroprusside and spermine/NO after transient focal cerebral ischemia in rats. **Brain Res.** 865:149-56, 2000.
275. Sanada H, Midorikawa S, Yatabe J, Yatabe M, Katoh T, Baba T. Elevation of serum soluble E- and P-selectin in patients with hypertension is reversed by benidipine, a long-acting calcium channel blocker. **Hypertens Res.** 28:871-8, 2005.
276. Sandrim V, Palei A, Metzger I, Cavalli R, Duarte G, Tanus-Santos J. Interethnic differences in ADMA concentrations and negative association with nitric oxide formation in preeclampsia. **Clin Chim Acta.** 411:1457-60, 2010.
277. Sargent I, Borzychowski A, Redman C. NK cells and human pregnancy--an inflammatory view. **Trends Immunol.** 27:399-404, 2006.
278. Savvidou M, Lees C, Parra M, Hingorani A, Nicolaides K. Levels of C-reactive protein in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. **BJOG.** 109:297-301, 2002.
279. Schleussner E, Möller A, Gross W, Kähler C, Möller U, Richter S. Maternal and fetal side effects of tocolysis using transdermal nitroglycerin or intravenous fenoterol combined with magnesium sulfate. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.** 106:14-9, 2003.
280. Scherrer U, Vollenweider L. Inhaled nitric oxide for high-altitude pulmonary edema. **NEJM.** 334:624-629, 1996.
281. Schiff E, Friedman S, Baumann P, Sibai B, Romero R. Tumor necrosis factor-alpha in pregnancies associated with preeclampsia or small-for-gestational-age newborns. **Am J Obstet Gynecol.** 170(5 Pt 1):1224-9, 1994.
282. Seekamp A, van Griensven M, Hildebrandt F, Brauer N, Jochum M, Martin M. The effect of trauma on neutrophil L-selectin expression and sL-selectin serum levels. **Shock.** 15:254-60, 2001.
283. Seiler P, Plenz G, Deng M. The interleukin-6 cytokine system in embryonic development, embryo-maternal interactions and cardiogenesis. **Eur Cytokine Netw.** 12:15-21, 2001.
284. Seligman S, Buyon J, Clancy R, Young B, Abramson S. The role of nitric oxide in pathogenesis of preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol.** 171:944-948, 1994.
285. Serin I, Ozçelik B, Basbug M, Kiliç H, Okur D, Erez R. Predictive value of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in preeclampsia. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.** 100:143-5, 2002.

286. Shalaby M, Waage A, Aarden L, Espevik T. Endotoxin, tumor necrosis factor-alpha and interleukin 1 induce interleukin 6 production in vivo. *Clin Immunol Immunopathol.* 53(3):488-98, 1989.
287. Sheennan AT, Dunn MS, Ohlsson A, Lennox K, Hoskins EM. Abnormal pulmonary outcomes in premature infants; prediction from oxygen requirement in the neonatal period. *Pediatrics.* 82:527-32, 1988.
288. Sibai B, Stella C. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 200:481, 2009.
289. Siervo M, Corander M, Stranges S, Bluck L. Post-challenge hyperglycaemia, nitric oxide production and endothelial dysfunction: the putative role of asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 21(1):1-10, 2011.
290. Silver R, Kupferminc M, Russell T, Adler L, Mullen T, Caplan M. Evaluation of nitric oxide as a mediator of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 175:1013-1017, 2006.
291. Simanaviciute D, Gudmundsson S. Fetal middle cerebral to uterine artery pulsatility index ratios in normal and pre-eclamptic pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 28(6):794-801, 2006.
292. Sitges M, Roqué M. El Estradiol potencia la vasodilatación dependiente del endotelio a través del óxido nítrico. *Rev Esp Cardiol.* 54:990-996, 2001.
293. Shaamash A, Elsonosy E, Zakhari M, Radwan S, El-Dien H. Placental nitric oxide synthase (NOS) activity and nitric oxide (NO) production in normal pregnancy, pre-eclampsia, and eclampsia. *Int J Gynecol Obstet.* 72:127-133, 2001.
294. Shahabi S, Smith NA, Chanana C, Abbott JD, Copel J, Setaro JF. Pregnancy-associated myocardial infarction: a report of two cases and review of the literature. *Ups J Med Sci.* 113(3):325-30, 2008.
295. Smarson A, Allman K, Young D, Redman C. Elevated levels of serum nitrate, a stable end product of nitric oxide, in women with preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol.* 10:538-543, 1997.
296. Smith GN, Walker MC, Ohlsson A, O'Brien K, Windrim R; Canadian Preterm Labour Nitroglycerin Trial Group. Randomized double-blind placebo-controlled trial of transdermal nitroglycerin for preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 196(1):37.e1-8, 2007.
297. Soufi M, Sattler A, Maisch B, Schaefer J. Molecular mechanisms involved in atherosclerosis. *Herz.* 27:637-648, 2002.
298. Spaanderman M, Ekhart T, Van Eyck J, Cheriex E, De Leeuw P. Latent hemodynamic abnormalities in symptom-free women with a history of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 182:1101-1017, 2004.
299. Speer P, Powers R, Frank M, Harger G, Markovic N, Roberts J. Elevated asymmetric dimethylarginine concentrations precede clinical preeclampsia, but not pregnancies with small-for-gestational-age infants. *Am J Obstet Gynecol.* 198:112.e1-7, 2008.
300. Spencer C, Felmeden D, Blann A, Lip G. Effects of "newer" and "older" antihypertensive drugs on hemorrheological, platelet, and endothelial factors. A substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial. *Am J Hypertens.* 20:699-704, 1997.
301. Spong C, Sherer D, Ghidini A, Jenkins C, Seydel F, Eglinton G. Second-trimester amniotic fluid or maternal serum interleukin-10 levels and small for gestational age

- neonates. **Obstet Gynecol.** 88:24-8, 1996.
302. Spyridopoulos I, Luedemann C, Chen D, Kearney M, Chen D, Murohara T. Divergence of angiogenic and vascular permeability signaling by VEGF: inhibition of protein kinase C suppresses VEGF-induced angiogenesis, but promotes VEGF-induced, NO-dependent vascular permeability. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 22:901-6, 2002.
 303. Stam F, van Guldener C, Schalkwijk C, ter Wee P, Donker A, Stehouwer C. Impaired renal function is associated with markers of endothelial dysfunction and increased inflammatory activity. **Nephrol Dial Transplant.** 18:892-98, 2003.
 304. Svedas E, Nisell H, Vanwijk M, Nikas Y, Kublickiene K. Endothelial dysfunction in uterine circulation in preeclampsia: can estrogens improve it? **Am J Obstet Gynecol.** 187:1608-16, 2002.
 305. Stennett A, Khalil R. Neurovascular mechanisms of hypertension in pregnancy. **Curr Neurovasc Res.** 3:131-48, 2006.
 306. Strambi M, Vezzosi P, Buoni S, Berni S, Longini M. Blood pressure in the small-for-gestational age newborn. **Minerva Pediatr.** 56(6):603-10, 2004.
 307. Stefanos S, Ahn Y, Pestka S. Characterization of human interferon-gamma receptor purified from placenta. **J Interferon Res.** 9:719-730, 1989
 308. Stigter R, Mulder E, Bruinse H, Visser G. Doppler studies on the fetal renal artery in the severely growth-restricted fetus. **Ultrasound Obstet Gynecol.** 18:141-145, 2001.
 309. Suefuji H, Ogawa H, Yasue H, Sakamoto T, Miyao Y, Kaikita K, et al. Increased plasma level of soluble E-selectin in acute myocardial infarction. **Am Heart J.** 140:243-8, 2000.
 310. Surányi A, Retz C, Rigo J, Schaaps J, Foidart J. Fetal renal hyperechogenicity in intrauterine growth retardation: importance and outcome. **Pediatr Nephrol.** 16:575-580, 2001.
 311. Surányi A, Streitman K, Pál A, Nyári T, Retz C, Foidart J, Schaaps J, Kovács L. Fetal renal artery flow and renal echogenicity in the chronically hypoxic state. **Pediatr Nephrol.** 14:393-399, 2000.
 312. Talbert D. Uterine flow velocity waveform shape as an indicator of maternal and placental development failure mechanisms: a model-based synthesizing approach. **Ultrasound Obstet Gynecol.** 6:261-271, 1995.
 313. Tan TC, Devendra K, Tan LK, Tan HK. Tocolytic treatment for the management of preterm labour: a systematic review. **Singapore Med J.** 47(5):361-6, 2006.
 314. Tchirikov M, Kertschanska S, Schröder H. Differential effects of catecholamines on vascular rings from ductus venosus and intrahepatic veins of fetal sheep. **J Physiol.** 548:519-526, 2003.
 315. Tchirikov M, Kertschanska S, Stürenberg H, Schröder H. Liver blood perfusion as a possible instrument for fetal growth regulation. **Placenta.** 23A:S153-S158, 2002.
 316. Tchirikov M, Kertschanska S, Schröder H. Obstruction of ductus venosus stimulates cell proliferation in organs of fetal sheep. **Placenta.** 22:24-31, 2001.
 317. Tedder T, Steeber D, Chen A, Engel P. The selectins: vascular adhesion molecules. **FASEB J.** 9:866-73, 1995.
 318. Thakor A, Giussani D. Effects of acute acidemia on the fetal cardiovascular defense to acute hypoxemia. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 296:R90-R99, 2009.

319. Thaler I, Weiner Z, Itskovitz J. Systolic or diastolic notch in uterine artery blood flow velocity waveforms in hypertensive pregnant patients: relationship to outcome. **Obstet Gynecol.** 80:277-282, 1992.
320. Thaler I, Amit A, Jakobi P, Itskovitz-Eldor J. The effect of isosorbide dinitrate on uterine artery and umbilical artery flow velocity waveforms at mid-pregnancy. **Obstet Gynecol.** 88:838-843, 1996.
321. Tjoa M, van Vugt J, Go A, Blankenstein M, Oudejans C, van Wijk I. Elevated C-reactive protein levels during first trimester of pregnancy are indicative of preeclampsia and intrauterine growth restriction. **J Reprod Immunol.** 59:29-37, 2003.
322. Torfgård K, Ahlner J. Mechanisms of action of nitrates. **Cardiovasc Drug Ther.** 8:701-717, 1994.
323. Tsukahara H, Ohta N, Tokuriki S, Nishijima K, Kotsuji F, Kawakami H. Determination of asymmetric dimethylarginine, an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, in umbilical blood. **Metabolism.** 57:215-20, 2008.
324. Tu L, Poe J, Kadono T, Venturi G, Bullard D, Tedder T. A functional role for circulating mouse L-selectin in regulating leukocyte/endothelial cell interactions in vivo. **J Immunol.** 169:2034-43, 2002.
325. Uchida N, Ohyama K, Bessho T, Toyoda H. Induction of pro-inflammatory cytokine gene expression and apoptosis in human chorion cells of fetal membranes by influenza virus infection: possible implications for maintenance and interruption of pregnancy during infection. **Med Sci Monit.** 11:RA7-RA16, 2005.
326. Veille J, Penry M, Mueller-Heubach E. Fetal renal pulsed Doppler waveform in prolonged pregnancies. **Am J Obstet Gynecol.** 169:882-884, 1993.
327. Vemulapalli S, Chiu P, Rivelli M, Foster C, Sybertz E. Modulation of circulating endothelin levels in hypertension and endotoxemia in rats. **J Cardiovasc Pharmacol.** 18:895-903, 1991.
328. Vince G, Starkey P, Austgulen R, Kwiatkowski D, Redman C. Interleukin-6, tumour necrosis factor and soluble tumour necrosis factor receptors in women with pre-eclampsia. **Br J Obstet Gynaecol.** 102:20-25, 1995.
329. Visser W, Beckmann I, Knook M, Wallenburg H. Soluble tumor necrosis factor receptor II and soluble cell adhesion molecule 1 as markers of tumor necrosis factor-alpha release in preeclampsia. **Acta Obstet Gynecol Scand.** 81:713-9, 2002.
330. Visser W, Beckmann I, Bremer H, Lim H, Wallenburg H. Bioactive tumour necrosis factor alpha in pre-eclamptic patients with and without the HELLP syndrome. **Br J Obstet Gynaecol.** 101:1081-2, 1994.
331. Vyas S, Nicolaidis K, Campbell S. Renal artery flow-velocity waveforms in normal and hypoxemic fetuses. **Am J Obstet Gynecol.** 161:168-172, 1989.
332. Uszynski M, Uszynski W. Coagulation and fibrinolysis in amniotic fluid: physiology and observations on amniotic fluid embolism, preterm fetal membrane rupture, and pre-eclampsia. **Semin Thromb Hemost.** 37:165-74, 2011.
333. Wang H, Zhang M, Soda K, Sama A, Tracey K. Fetuin protects the fetus from TNF. **Lancet.** 350:861-2, 1997.
334. Wang Y, Walsh S. TNF alpha concentrations and mRNA expression are increased in preeclamptic placentas. **J Reprod Immunol.** 32:157-69, 1996.

335. Walsh S. Lipid peroxidation in pregnancy. **Hypertens Pregnancy**. 13:1-32, 1994.
336. Walsh S, Wang Y. Secretion of lipid peroxides by the human placenta. **Am J Obstet Gynecol**. 169:1462-1466, 1993.
337. Wareing M, Myers J, O'Hara M, Baker P. Sildenafil citrate (Viagra) enhances vasodilatation in fetal growth restriction. **J Clin Endocrinol Metab**. 90:2550-2551, 2005.
338. Weiss G, Goldsmith L, Taylor R, Bellet D, Taylor H. Inflammation in reproductive disorders. **Reprod Sci**. 16:216-229, 2009.
339. Whitley G, Cartwright J. Trophoblast-mediated spiral artery remodelling: a role for apoptosis. **J Anat**. 215:21-26, 2009.
340. Wikström A, Haglund B, Olovsson M, Lindeberg S. The risk of maternal ischaemic heart disease after gestational hypertensive disease. **BJOG**. 112:1486-91, 2005.
341. Wilczynski J, Tchórzewski H, Glowacka E, Banasik M, Lewkowicz P, Szpakowski M. Cytokine secretion by decidual lymphocytes in transient hypertension of pregnancy and pre-eclampsia. **Mediators Inflamm**. 11:105-11. 2002.
342. Wilke C, Renz H, Tekesin I, Hellmeyer L, Herz U, Schmidt S. Suppression of IL-2 and IFN-gamma production in women with spontaneous preterm labor. **J Perinat Med**. 34:20-7, 2006.
343. Williams M, Farrand A, Mittendorf R, Sorensen T, Zingheim R, O'Reiley, G. Maternal second trimester serum tumor necrosis factor-alpha-soluble receptor p55 (sTNFp55) and subsequent risk of preeclampsia. **Am J Epidemiol**. 149:323-329, 1999.
344. Willmot M, Bath P. The potential of nitric oxide therapeutics in stroke. **Exp Opin Invest Drugs**. 12:455- 470, 2003.
345. Wladimiroff J, Tonge H, Stewart P. Doppler ultrasound assessment of cerebral blood flow in the human fetus. **Br J Obstet Gynaecol**. 93:471-475, 1986.
346. Yaju Y, Nakayama T. Effectiveness and safety of ritodrine hydrochloride for the treatment of preterm labour: a systematic review. **Pharmacoepidemiol Drug Saf**. 15(11):813-22, 2006.
347. Yallampalli C, Garfield R, Byam-Smith M. Nitric oxide inhibits contractility during pregnancy but not during delivery. **Endocrinology**. 133:1899-1902, 1993.
348. Yokoyama Y, Wawrzyniak A, Sarmadi A, Baveja R, Gruber H, Clemens M, Zhang J. Hepatic arterial flow becomes the primary supply of sinusoids following partial portal vein ligation in rats. **J Gastroenterol Hepatol**. 21:1567-1574, 2006.
349. Yoneyama Y, Suzuki S, Sawa R, Kiyokawa Y, Power G, Araki T. Plasma adenosine levels and P-selectin expression on platelets in preeclampsia. **Obstet Gynecol**. 97:366-70, 2001.
350. Yoshioka T, Kawada K, Shimida T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against oxygen toxicity in the blood. **Am J Obstet Gynecol**. 135:372-376, 1979.
351. Younes A, Aggarwall B. Clinical implications of the tumor necrosis factor family in benign and malignant hematologic disorders. **Cancer**. 98:458-67, 2003.
352. Zechner R, Newman T, Sherry B, Cerami A, Breslow J. Recombinant human cachectin/tumor necrosis factor but not interleukin-1 alpha downregulates lipoprotein lipase gene expression at the transcriptional level in mouse 3T3-L1 adipocytes. **Mol Cell**

- Biol.** 8:2394-401, 1988.
353. Zeisler H, Livingston J, Schatten C, Tempfer C, Knöfler M, Husslein P. Serum levels of adhesion molecules in women with pregnancy-induced hypertension. **Wien Klin Wochenschr.** 113:588-92, 2001.
 354. Zhang J, Zeisler J, Hatch M, Berkowitz G. Epidemiology of pregnancy-induced hypertension. **Epidemiol Rev.** 19:218-232, 2007.
 355. Zhang H, Park Y, Wu J, Chen X, Lee S, Yang J, Dellsperger KC, Zhang C. Role of TNF-alpha in vascular dysfunction. **Clin Sci (Lond).** 116(3):219-30, 2009.