



clínica e investigación en ginecología y obstetricia

www.elsevier.es/gine



ORIGINAL

Óxido nítrico plasmático y doppler de las arterias uterinas en preeclámpticas y embarazadas normotensas sanas



E. Reyna-Villasmil*, J. Mejia-Montilla, J. Santos-Bolívar, D. Torres-Cepeda, Y. Navarro-Briceño, N. Reyna-Villasmil y A. Cuevas-González

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

Recibido el 12 de octubre de 2015; aceptado el 2 de febrero de 2016

Disponible en Internet el 16 de marzo de 2016

PALABRAS CLAVE

Óxido nítrico;
Ultrasonido doppler;
Flujo sanguíneo;
Preeclampsia

Resumen

Objetivo: Establecer las concentraciones plasmáticas de óxido nítrico en preeclámpticas y embarazadas normotensas, y relacionar los valores de los hallazgos doppler de las arterias uterinas con las concentraciones plasmáticas.

Método: Se seleccionaron 160 sujetos. Se incluyeron 47 preeclámpticas severas (grupo A), 33 preeclámpticas leves (grupo B) y un grupo control con edades similares a los grupos de estudio de 80 embarazadas sanas (grupo C). Las muestras de sangre para la determinación de óxido nítrico plasmático y las mediciones de los índices doppler de las arterias uterinas se realizaron en todas las pacientes antes del parto e inmediatamente después del diagnóstico en las preeclámpticas.

Resultados: Las pacientes de los grupos A y B presentaron concentraciones plasmáticas significativamente más bajas de óxido nítrico (nitritos/nitratos) que las embarazadas del grupo C ($p < 0,05$). Las mediciones del índice de pulsatilidad, el índice de resistencia y la relación de flujo sístole/diástole de las arterias uterinas mostraron valores significativamente más altos en ambos grupos de preeclámpticas ($p < 0,05$). Al correlacionar las concentraciones plasmáticas de nitritos/nitratos con los valores de velocimetría doppler de las arterias uterinas se observó que esta era negativa y significativa con los parámetros evaluados ($p < 0,05$).

Conclusión: Las preeclámpticas presentan concentraciones plasmáticas de óxido nítrico más bajas que las embarazadas normotensas y existe una correlación significativa entre las concentraciones plasmáticas y los parámetros de velocimetría doppler de las arterias uterinas.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: sippenbauch@gmail.com (E. Reyna-Villasmil).

KEYWORDS

Nitric oxide;
Doppler ultrasound;
Blood flow;
Preeclampsia

Plasma nitric oxide and uterine artery doppler in preeclamptic patients and healthy normotensive pregnant women**Abstract**

Objective: To establish plasma nitric oxide concentrations in patients with preeclampsia and healthy normotensive pregnant women and to relate doppler findings to serum concentrations. **Method:** We selected 160 patients, of which 47 had severe preeclampsia (group A), 33 had mild preeclampsia (group B), and 80 were healthy pregnant women with a similar age to patients in the study groups who served as controls (group C). Blood samples for determination of nitric oxide and doppler measurements were taken in all patients before labour and immediately after diagnosis in the study group.

Results: Plasma nitric oxide (nitrites/nitrates) concentrations were lower in groups A and B than in group C ($P < .05$). Measurements of the pulsatility index, resistance index and systolic/diastolic blood flow ratio of uterine arteries were higher in both groups of preeclamptic patients ($P < .05$). Correlations of plasma nitric oxide concentrations with doppler velocimetry values showed a negative and significant association with all the evaluated parameters ($P < .05$). **Conclusion:** Plasma nitric oxide concentrations were higher in preeclamptic patients than in normotensive pregnant women and there was a significant correlation between plasma concentrations and parameters of doppler velocimetry of uterine arteries.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La preeclampsia es un trastorno multisistémico del embarazo que afecta a entre el 5-7% de los embarazos alrededor del mundo anualmente¹. La etiología subyacente es desconocida, pero se ha planteado que el desarrollo de una placenta relativamente hipoperfundida estimula la respuesta inflamatoria materna, llevando a alteraciones en el endotelio vascular de la madre². Se ha reportado alteración de las respuestas dependientes del endotelio en los vasos sistémicos aislados de preeclámpticas³.

El comportamiento del lecho vascular es afectado no solo por la estructura de los vasos, sino por la presencia de sustancias con marcado efecto sobre la reactividad de los vasos. La velocimetría de flujo de las arterias uterinas puede ser determinada por ecografía doppler, y entre las alteraciones se observan disminución del flujo diastólico (altos índices de pulsatilidad o resistencia) y/o presencia de una incursión diastólica temprana secundaria a la onda de alta presión en el lecho uteroplacentario^{4,5}.

El endotelio es una fuente de potentes sustancias vasoactivas y el óxido nítrico derivado del endotelio y sus funciones son, por lo tanto, de especial interés. El óxido nítrico es un potente vasodilatador e inhibidor de la agregación plaquetaria, producido por las líneas celulares endoteliales de los vasos a partir del aminoácido L-arginina, por acción de un grupo de enzimas denominadas sintasa de óxido nítrico⁶. Difunde inmediatamente a través de las células musculares lisas adyacentes e incrementa al segundo mensajero, guanósil monofosfato cíclico, produciendo relajación del músculo liso. Varios estudios han demostrado discrepancias con relación a la contribución del óxido nítrico en la vasodilatación tanto fisiológica como patológica⁷.

Algunos estudios han planteado que el óxido nítrico es uno de los principales mediadores en la disminución de la

resistencia vascular durante el embarazo⁸. Se ha encontrado una disminución de las concentraciones de L-arginina y de la actividad de la sintasa de óxido nítrico en la placenta de las preeclámpticas⁹. Las mediciones de nitritos/nitratos séricos, metabolitos estables del óxido nítrico, es un método alternativo para la determinación de la producción de óxido nítrico por el endotelio¹⁰. Los datos en roedores muestran que la inhibición crónica de la síntesis de óxido nítrico lleva a hipertensión, retardo del crecimiento intrauterino y trombocitopenia¹¹, por lo que la deficiencia de la producción de óxido nítrico puede ser un factor de importancia en el comportamiento de la velocimetría doppler de las arterias uterinas en las preeclámpticas.

El objetivo de la investigación fue establecer las concentraciones plasmáticas de óxido nítrico en preeclámpticas y embarazadas normotensas, y comparar los valores de los parámetros de velocimetría doppler de las arterias uterinas de acuerdo con las concentraciones plasmáticas de esta sustancia.

Materiales y métodos

Este estudio de casos y controles se realizó con embarazos de más de 32 semanas que acudieron a la urgencia obstétrica del Servicio de Obstetricia del Hospital Central Dr. Urbina de Maracaibo, Venezuela, de enero de 2008 a febrero de 2015, en aquellas pacientes en que se obtuvieron las concentraciones plasmáticas de óxido nítrico y la velocimetría doppler del flujo sanguíneo de las arterias uterinas. La investigación fue aprobada por el Comité de Ética e Investigación del hospital y se obtuvo el consentimiento por escrito de todas las pacientes.

Se incluyeron 80 mujeres con preeclampsia, de las cuales 47 tenían preeclampsia severa (grupo A) y 33, preeclampsia leve (grupo B). El grupo control fue seleccionado por tener

edad e índice de masa corporal similares a los grupos en estudio y consistió en 80 embarazadas sanas (grupo C). Solo se incluyeron pacientes nulíparas.

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

La preeclampsia leve se definió como la presión arterial sistólica de 140 mmHg o más, o presión arterial diastólica de 90 mmHg o más confirmada por 6 o más horas de diferencia, mientras que la proteinuria se definió como 0,3 g o más de proteína en una muestra de 24 h, o una a 2 cruces de proteinuria en un examen cualitativo después de las 20 semanas de gestación. La preeclampsia severa se definió si la presión arterial diastólica estaba por encima de 110 mmHg o la presión arterial sistólica era de 160 mmHg o más, presencia de cefalea, alteraciones visuales, dolor abdominal, oliguria (menos de 500 mL/24 h), hiperbilirrubinemia, elevación de las concentraciones séricas de creatinina (mayor de 1,1 mg/dL o el doble de las concentraciones de creatinina en ausencia de cualquier otra alteración renal), trombocitopenia (menos de 100.000/mm³) y elevación de las concentraciones de las transaminasas (2 veces por encima de las concentraciones normales) después de las 20 semanas de gestación.

En todas las pacientes se realizó el ultrasonido antes del uso de cualquier intervención. Se midieron el índice de pulsatilidad, el índice de resistencia y la relación del flujo sanguíneo sístole/diástole de las arterias uterinas. Las arterias uterinas fueron identificadas en una visualización longitudinal de las caras laterales del útero con la paciente reclinada y por vía abdominal. En esa posición se buscó 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 parámetros de velocimetría doppler de ambas arterias uterinas y se calculó el promedio de ambos vasos.

Las muestras de sangre de la vena antecubital para la determinación de nitritos/nitratos se recolectaron en el momento de la realización de la evaluación doppler en ambos grupos de pacientes y antes de cualquier intervención en las preeclámpticas. Todas las muestras se colocaron en tubos con ácido tetraacético etilendiamina y fueron centrifugadas a 3.000 rpm por 15 min y los hematíes y el plasma fueron cuidadosamente removidos de cada una de las muestras. Se le agregaron 300 µL de un buffer de KH₂PO₄/K₂HPO₄ (pH 7,5), 50 µL de NADPH a 2 mmol/L, 50 µL de FAD a 50 µmol/L y 50 µL de reductasa de nitrato de *Aspergillus* a 1 U/mL. Esta mezcla se incubó a temperatura ambiente por una hora y posteriormente se le agregó 500 µL de ZnSO₄ a 0,2 mol/L y 70 µL de NaOH a 2 mol/L para desproteinizar la

muestra. Después de la centrifugación se agregó 0,75 mL del sobrenadante a 1 mL de ácido sulfanílico al 1% (en 4 mol/L de HCL). Después de 10 min a temperatura ambiente se agregó 0,75 mL de diamina N-naftiletilen al 1%. El cambio de color resultante se midió a 548 nm usando un espectrofotómetro. La concentración de nitrato se calculó comparándola con los estándares.

Los datos se presentan como valores promedio ± desviación estándar. El análisis estadístico entre los grupos se realizó con la prueba de ANOVA con posprueba de Dunnett para comparar los datos sobre edad materna, edad gestacional, presión arterial sistólica y diastólica, concentraciones plasmáticas de nitritos/nitratos, índice de pulsatilidad, índice de resistencia y relación del flujo sanguíneo sístole/diástole de las arterias uterinas entre las preeclámpticas severas (grupo A), las preeclámpticas leves (grupo B) y las embarazadas controles (grupo C). Posteriormente, las concentraciones de nitritos/nitratos se dividieron por cuartiles (concentración baja, media, alta y muy alta) y se compararon los valores promedio de los parámetros de velocimetría doppler de los cuartiles medios, bajos y muy bajos con el cuartil de concentraciones altas utilizando la prueba de análisis de varianza con postest de Dunnett. Los coeficientes de correlación entre el factor y los valores promedio de los parámetros de velocimetría doppler de las arterias uterinas se evaluaron mediante la prueba de Pearson. Se consideró $p < 0,05$ como estadísticamente significativa.

Resultados

Las características de las embarazadas de ambos grupos se muestran en la [tabla 1](#). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la edad materna y la edad gestacional en el momento de la evaluación entre los 3 grupos de embarazadas ($p = ns$). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la edad gestacional en el momento del parto, y en el promedio de presión arterial sistólica y presión arterial diastólica entre las pacientes del grupo A y del grupo B con las embarazadas del grupo control ($p < 0,05$).

En la [tabla 2](#) se muestran las concentraciones plasmáticas de nitritos/nitratos y los valores de la velocimetría doppler de los 3 grupos. Las pacientes del grupo A ($11,5 \pm 3,9$ picomol/L) y del grupo B ($12,1 \pm 3,8$ picomol/L) presentaron concentraciones significativamente más bajas de nitritos/nitratos que las mujeres del grupo C ($24,0 \pm 2,8$ picomol/L; $p < 0,05$). Las mediciones del índice de pulsatilidad, el índice de resistencia y la relación de flujo sístole/diástole de las arterias uterinas también demostraron valores significativamente más altos en las pacientes del grupo A y las pacientes del grupo B comparados con los de las embarazadas del grupo C ($p < 0,05$).

Al correlacionar las concentraciones de nitritos/nitratos plasmáticos con los valores de velocimetría doppler de las arterias uterinas se observó que esta era moderada, negativa y significativa con los valores del índice de pulsatilidad ($r = -0,436$; $p < 0,05$), con el índice de resistencia ($r = -0,337$; $p < 0,05$) y con la relación de flujo sístole/diástole ($r = -0,2491$; $p < 0,05$).

Tabla 1 Características generales de las preeclámpticas y controles normotensas sanas

	Grupo A Preeclámpticas graves (n = 47)	Grupo B Preeclámpticas leves (n = 33)	Grupo C Controles (n = 80)
Edad materna, años	19,3 ± 2,3	20,5 ± 3,9	20,7 ± 4,5
Edad gestacional en el momento de la evaluación, semanas	33,7 ± 2,5	33,8 ± 2,5	34,0 ± 2,1
Edad gestacional en el momento del parto, semanas	35,0 ± 2,0*	36,8 ± 0,8*	39,4 ± 0,7
Presión arterial sistólica, mmHg	151,2 ± 11,7*	134,0 ± 9,7*	103,9 ± 9,6
Presión arterial diastólica, mmHg	110,3 ± 9,0*	97,6 ± 5,0*	73,9 ± 7,71
Excreción urinaria de proteínas en 24 h, n (%)	47 (100)	33 (100)	0

* p < 0,05 comparado con las normotensas sanas.

Tabla 2 Concentraciones de óxido nítrico plasmático y determinaciones hemodinámicas doppler de la arteria uterina de las preeclámpticas y controles normotensas sanas

	Grupo A Preeclámpticas graves (n = 47)	Grupo B Preeclámpticas leves (n = 33)	Grupo C Controles (n = 80)
Nitritos/nitratos plasmáticos, picomol/L	11,5 ± 3,9*	12,1 ± 3,8*	24,0 ± 2,8
Arteria uterina			
Índice de pulsatilidad	1,119 ± 0,021*	1,099 ± 0,017*	0,850 ± 0,056
Índice de resistencia	0,627 ± 0,060*	0,621 ± 0,061*	0,499 ± 0,052
Relación de flujo sístole/diástole	2,731 ± 0,308*	2,648 ± 0,294*	2,157 ± 0,210

* p < 0,05 comparado con las normotensas sanas.

Tabla 3 Valores promedio de la velocimetría doppler de la arteria uterina de acuerdo con la concentración de óxido nítrico plasmático

	Concentraciones altas (n = 40)	Concentraciones medias (n = 40)	Concentraciones bajas (n = 40)	Concentraciones muy bajas (n = 40)
Nitritos/nitratos plasmáticos, picomol/L	26,5 ± 1,2	21,5 ± 1,3*	15,0 ± 2,4*	8,4 ± 1,7*
Intervalo de las concentraciones de nitritos/nitratos plasmáticos, picomol/L	28,3-23,9	23,8-19,2	19,1-11,1	11,0-5,8
Índice de pulsatilidad de la arteria uterina	0,858 ± 0,052	0,862 ± 0,056	1,109 ± 0,048*	1,107 ± 0,021*
Índice de resistencia de la arteria uterina	0,496 ± 0,050	0,506 ± 0,048	0,608 ± 0,061*	0,640 ± 0,060*
Relación sístole/diástole de la arteria uterina	2,130 ± 0,202	2,185 ± 0,198	2,656 ± 0,262*	2,736 ± 0,331*

* p < 0,05 comparado con el grupo de concentraciones bajas.

Los valores promedio de los diferentes parámetros de velocimetría doppler por cada cuartil de concentración de nitritos/nitratos se muestran en la [tabla 3](#). Los valores promedio del índice de pulsatilidad, el índice de resistencia y la relación de flujo sanguíneo sístole/diástole fueron significativamente más altos en los grupos con concentraciones muy bajas y bajas de nitritos/nitratos al compararlas con aquellas pacientes con concentraciones altas (p < 0,05). No se encontraron diferencias significativas con el grupo de concentraciones medias al compararlo con el grupo de concentraciones altas (p = ns).

Discusión

Los resultados de esta investigación demuestran que las preeclámpticas tienen concentraciones de óxido nítrico más

bajas que las embarazadas normotensas sanas y que las pacientes con bajas concentraciones de óxido nítrico tienen mayores alteraciones ecográficas en el doppler del flujo sanguíneo de las arterias uterinas.

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 realizado en este nivel del árbol vascular. Se ha planteado que la relajación dependiente del endotelio en la preeclampsia está disminuida y que esto puede alterar la perfusión placentaria¹². 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 placentario¹³.

En el embarazo normal ocurren cambios importantes en la hemodinámica cardiovascular materna que incluyen un aumento del volumen sanguíneo y del trabajo cardíaco sin modificaciones de la presión arterial, y una de las principales razones para todas estas modificaciones durante el embarazo normal es la vasodilatación vascular sistémica inducida por el óxido nítrico¹⁴. Debido a que el óxido nítrico se transforma en nitrito/nitrato, diferentes estudios señalan que las mediciones plasmáticas de las concentraciones pueden reflejar la producción endógena de óxido nítrico. Esto se debe a que aproximadamente el 70% de los nitritos/nitros plasmáticos derivan de la actividad de la sintasa de óxido nítrico en el endotelio y la inhibición de esta enzima se asocia con una disminución de las concentraciones circulantes¹⁵.

La isquemia placentaria es un elemento clave involucrado en la etiología de la preeclampsia. Se considera que los factores circulantes liberados por el compromiso placentario son responsables de las diferentes complicaciones asociadas al síndrome hipertensivo del embarazo, incluyendo la disfunción endotelial¹⁶. Los cambios fisiopatológicos, que incluyen aumento en la sensibilidad a vasopresores, activación de la cascada de la coagulación e incremento de la permeabilidad vascular, evidencian que la disfunción endotelial vascular es un componente importante del síndrome¹⁷. La dilatación de los vasos uterinos se basa en la capacidad del endotelio de liberar óxido nítrico, y esto puede ser parcialmente bloqueado por la NG-monometil-L-arginina, un inhibidor específico de la sintasa de óxido nítrico¹⁸. La disminución de las concentraciones de óxido nítrico tanto en plasma como en sangre apoyan la idea de que la preeclampsia está caracterizada por una alteración en la producción/actividad de este^{19,20}.

Los resultados de este estudio demuestran que existe una relación negativa y significativa entre las concentraciones de nitritos/nitros y los índices de velocimetría doppler de las arterias uterinas, lo que demuestra la posible presencia de alteración de la respuesta vasodilatadora del óxido nítrico sobre estos vasos. Estos hallazgos son comparables con numerosos estudios *in vitro*, en los cuales se ha expuesto a vasos humanos aislados (tanto del miometrio como del epiplón) al plasma de las preeclámpticas llevando a una alteración significativa de la vasodilatación mediada por esta sustancia²¹.

Los datos sobre las concentraciones de óxido nítrico en pacientes con preeclampsia son controversiales. Existen informes de disminución, incremento o ausencia de cambio en las concentraciones sanguíneas²²⁻²⁶. Las posibles explicaciones para estas discrepancias son las diferentes dietas, preparación de la muestra, poblaciones de estudio, edad gestacional en el momento de la toma de la muestra y uso de fármacos antihipertensivos.

Los hallazgos de la presente investigación de concentraciones de óxido nítrico en pacientes con alteraciones del doppler de las arterias uterinas apoya la hipótesis de la disfunción endotelial. Los resultados de esta investigación son apoyados por los resultados de Beinder et al.²⁷, que reportaron una disminución significativa en la actividad de la sintasa de óxido nítrico en el lecho uteroplacentario, mientras que la resistencia del flujo sanguíneo en las arterias uterinas estaba elevado en comparación con los controles. Además, Di Iorio et al.²⁸ han descrito ondas de flujo

uterinas patológicas que son análogas a las observadas en los embarazos con concentraciones bajas de óxido nítrico en el líquido amniótico.

Los índices de velocimetría doppler utilizados en la presente investigación han sido ampliamente estudiados en la preeclampsia; este es uno de los primeros estudios que demuestran la evidente asociación entre las alteraciones de la resistencia de las arterias maternas y la disminución de la concentración de óxido nítrico (medido de forma indirecta por los valores de nitrito/nitrato) en preeclámpticas. Los resultados de esta investigación tienen implicaciones clínicas importantes. Aunque las causas de las alteraciones doppler de las arterias uterinas en la preeclampsia aún no son completamente comprendidas, es posible que las medidas terapéuticas que se enfocan en el aumento de la biodisponibilidad de óxido nítrico puedan ser útiles en este grupo de pacientes.

Se concluye, con base en los hallazgos de esta investigación, que las preeclámpticas presentan concentraciones plasmáticas de óxido nítrico más bajas que las embarazadas normotensas y existe una correlación significativa negativa entre las concentraciones plasmáticas y los parámetros de velocimetría doppler de las arterias uterinas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Jaafar J, Pechère-Bertschi A, Ditisheim A. Hypertension in pregnancy: Practical considerations. *Rev Med Suisse*. 2014;10:1645-9.
2. Myers J, Mires G, Macleod M, Baker P. In preeclampsia, the circulating factors capable of altering *in vitro* endothelial function precede clinical disease. *Hypertension*. 2005;45:258-63.
3. Luksha L, Luksha N, Kublickas M, Nisell H, Kublickiene K. Diverse mechanisms of endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated dilatation in small myometrial arteries in normal human pregnancy and preeclampsia. *Biol Reprod*. 2010;83:728-35.
4. Gómez O, Figueras F, Martínez JM, del Río M, Palacio M, Eixarch E, et al. Sequential changes in uterine artery blood flow pattern between the first and second trimesters of gestation in relation to pregnancy outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006;28:802-8.
5. Quintero J, Villamediana J, Paravisini I, Brito J, Cadena L. Velocimetría doppler de la arteria uterina como factor de predicción de preeclampsia y crecimiento fetal restringido. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2002;62:153-9.
6. Siasos G, Tousoulis D, Antoniadis C, Stefanadi E, Stefanadis C. L-arginine, the substrate for NO synthesis: An alternative treatment for premature atherosclerosis? *Int J Cardiol*. 2007;116:300-8.
7. Luksha L, Nisell H, Luksha N, Kublickas M, Hultenby K, Kublickiene K. Endothelium-derived hyperpolarizing factor in preeclampsia: Heterogeneous contribution, mechanisms, and morphological prerequisites. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;294:R510-9.
8. Anumba DO, Robson SC, Boys RJ, Ford GA. Nitric oxide activity in the peripheral vasculature during normotensive and preeclamptic pregnancy. *Am J Physiol*. 1999;277:H848-54.

9. Sankaralingam S, Xu H, Davidge ST. Arginase contributes to endothelial cell oxidative stress in response to plasma from women with preeclampsia. *Cardiovasc Res*. 2010;85:194-203.
10. Tsikas D. Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: Appraisal of the Griess reaction in the L-arginine/nitric oxide area of research. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2007;851:51-70.
11. Adu-Bonsaffoh K, Antwi DA, Obed SA, Gyan B. Nitric oxide dysregulation in the pathogenesis of preeclampsia among Ghanaian women. *Integr Blood Press Control*. 2015;8:1-6.
12. Eser A, Zulfikaroglu E, Eserdag S, Kilic S, Danisman N. Predictive value of middle cerebral artery to uterine artery pulsatility index ratio in preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet*. 2011;284:307-11.
13. Amit A, Thaler I, Paz Y, Itskovitz-Eldor J. The effect of a nitric oxide donor on doppler flow velocity waveforms in the uterine artery during the first trimester of pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1998;11:94-8.
14. Poniedziałek-Czajkowska E, Marciniak B, Kimber-Trojnar Z, Leszczyńska-Gorzelak B, Oleszczuk J. Nitric oxide in normal and preeclamptic pregnancy. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011;12:743-9.
15. Seeliger C, Brueckmann A, Schleußner E. [Maternal endothelial function in the course of pregnancy and postpartum - Ultrasound-based longitudinal assessment using flow-mediated dilatation (FMD)] German. *Ultraschall Med*. 2012;33: E126-31.
16. Gilbert JS, Ryan MJ, LaMarca BB, Sedeek M, Murphy SR, Granger JP. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: Linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294:H541-50.
17. Bernardi FC, Vuolo F, Petronilho F, Michels M, Ritter C, Dal-Pizzol F. Plasma nitric oxide, endothelin-1, arginase and superoxide dismutase in the plasma and placenta from preeclamptic patients. *An Acad Bras Cienc*. 2015;87:713-9.
18. Bellien J, Joannidès R, Iacob M, Eltchaninoff H, Thuillez C. [Role of endothelium-derived nitric oxide in sustained flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries] French. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 2003;96:738-41.
19. García RG, Celedón J, Sierra-Laguado J, Alarcón MA, Luen-gas C, Silva F, et al. Raised C-reactive protein and impaired flow-mediated vasodilation precede the development of preeclampsia. *Am J Hypertens*. 2007;20:98-103.
20. Tsikas D. Measurement of nitrite in plasma and serum: Still a challenging analytical task. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50:2049-51.
21. Walsh SK, English FA, Crocker IP, Johns EJ, Kenny LC. Contribution of PARP to endothelial dysfunction and hypertension in a rat model of pre-eclampsia. *Br J Pharmacol*. 2012;166:2109-16.
22. Reyna-Villasmil E, Prieto-Franchi M, Torres-Montilla M, Reyna-Villasmil N, Mejías-Montilla J. Metabolitos del óxido nítrico plasmático y niveles de peróxidos lipídicos en pacientes preeclámpticas antes y después del parto. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2002;62:89-92.
23. Reyna-Villasmil E, Torres-Cepeda D, Peña-Paredes E, Reyna-Villasmil N, Mejía-Montilla J. Homocisteína y óxido nítrico en preeclámpticas en pre y posparto. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2007;67:167-73.
24. Pathak N, Sawhney H, Vasishta K, Majumdar S. Estimation of oxidative products of nitric oxide (nitrates, nitrites) in preeclampsia. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 1999;39:484-7.
25. Schiessl B, Strasburger C, Bidlingmaier M, Mylonas I, Jeschke U, Kainer F, et al. Plasma- and urine concentrations of nitrite/nitrate and cyclic Guanosinemonophosphate in intrauterine growth restricted and preeclamptic pregnancies. *Arch Gynecol Obstet*. 2006;274:150-4.
26. Alemán I, Rixio A, Ramírez M, Hung A, Ramírez C. Expresión de las óxido nítrico sintasas constitutiva endotelial e inducible en pacientes venezolanas con preeclampsia. *Invest Clin*. 2008;49:321-30.
27. Beinder E, Mohaupt MG, Schlembach D, Fischer T, Sterzel RB, Lang N, et al. Nitric oxide synthase activity and doppler parameters in the fetoplacental and uteroplacental circulation in preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 1999;18:115-27.
28. Di Iorio R, Marinoni E, Coacci F, La Torre R, Cosmi EV. Amniotic fluid nitric oxide and uteroplacental blood flow in pregnancy complicated by intrauterine growth retardation. *Br J Obstet Gynaecol*. 1997;104:1134-9.