



ORIGINAL

## Células endoteliales maduras y progenitoras en preeclámpticas

E. Reyna\*, J. Mejia, N. Reyna, D. Torres, J. Santos y J. Perozo

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

Recibido el 21 de abril de 2009; aceptado el 19 de mayo de 2009

Disponible en Internet el 5 de agosto de 2009

### PALABRAS CLAVE

Preeclampsia;  
Células endoteliales  
maduras;  
Células endoteliales  
progenitoras

### KEYWORDS

Preeclampsia;  
Mature endothelial  
cells;  
Progenitor endothelial  
cells

### Resumen

**Objetivo:** Comparar las cantidades de células endoteliales maduras y progenitoras en preeclámpticas con embarazadas normotensas sanas.

**Material y métodos:** Se seleccionó a pacientes que asistieron a la Emergencia de Obstetricia del Hospital Central Dr. Urquinaona, Maracaibo, Venezuela. Los grupos consistieron en preeclámpticas (grupo A; n = 5) y embarazadas normotensas (grupo B; n = 35), estas últimas consideradas como controles, estudiadas en forma consecutiva. Las muestras de sangre se recolectaron en todas las pacientes antes del parto y en el grupo en estudio inmediatamente después del diagnóstico para la determinación de la cantidades de células endoteliales maduras y progenitoras.

**Resultados:** Las pacientes del grupo A tenían promedios de edad y peso similares a los del grupo control (p = ns). Se observaron diferencias estadísticamente significativas con relación a la edad gestacional al momento de la toma de la muestra, presión arterial diastólica y sistólica, peso del recién nacido y presencia de proteinuria (p < 0,05). También se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las cantidades de células endoteliales progenitoras (p < 0,05) y en las cantidades de células endoteliales maduras (p < 0,05) entre las preeclámpticas y los controles.

**Conclusiones:** Las preeclámpticas presentan reducción significativa en las células endoteliales maduras y progenitoras comparada con embarazadas normotensas sanas.

© 2009 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Mature and progenitor endothelial cells in preeclamptic pregnant women

#### Abstract

**Objective:** To compare the quantities of mature and progenitor endothelial cells in preeclamptic patients with those in normotensive pregnant women.

**Materials and methods:** Patients attending the Obstetrics Emergency Service at the Dr. Urquinaona Central Hospital in Maracaibo, Venezuela, were selected. There were two groups: group A (n = 35) consisting of preeclamptic women and group B (n = 35) consisting

\*Autor para correspondencia.

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

of normotensive pregnant women. This latter group was considered as a control group and the patients were studied consecutively. In all patients, blood samples were collected before labor and in the study group immediately after diagnosis to determine quantities of mature and progenitor endothelial cells.

**Results:** Age and weight were similar in the two groups ( $p = ns$ ). Statistically significant differences were observed in gestational age at sample collection, systolic and diastolic pressure, newborn weight and the presence of proteinuria ( $p < 0.05$ ). Significant differences were also found between preeclamptic patients and controls in the quantities of progenitor endothelial cells ( $p < 0.05$ ) and mature endothelial cells ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** Preeclamptic patients showed a significant reduction in the quantities of mature and progenitor endothelial cells compared with normotensive pregnant women.

© 2009 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

La preeclampsia es la principal causa de morbilidad y mortalidad perinatal. Aunque su etiología exacta aún es desconocida, la regulación del crecimiento vascular en la unidad fetoplacentaria parece estar alterada, llevando a alteraciones en la placentación<sup>1</sup>. Salafia et al<sup>2</sup> demostraron una correlación positiva entre la presencia de lesiones vasculares uteroplacentarias y alteraciones de las vellosidades (vellosidades avasculares y endovasculitis hemorrágicas) en las preeclámpticas. Varios estudios han demostrado déficits selectivos de factores angiogénicos en el suero de las preeclámpticas y en la sangre venosa umbilical de los recién nacidos<sup>3,4</sup>. Las alteraciones en la expresión de los factores angiogénicos también han sido demostradas en la placenta<sup>5</sup>.

La angiogénesis es la generación de capilares desde vasos preexistentes, mientras que la vasculogénesis es el desarrollo de vasos sanguíneos a partir de células endoteliales. Éstas se diferencian *in situ* y son esenciales para la diferenciación de la red del sistema vascular en el embrión y el feto<sup>6,7</sup>. Las células endoteliales progenitoras han sido detectadas entre las células mononucleares en la circulación materna<sup>8</sup>, y se piensa que derivan de las células endoteliales de la médula ósea para contribuir a la neovascularización y a la vasculogénesis<sup>9,10</sup>.

Se ha descrito que la movilización e incorporación de células endoteliales contribuye a la restauración de la capa endotelial<sup>11</sup>. Las células endoteliales maduras son una subpoblación de células circulantes que no se multiplican, constituyendo una población celular estable y tienen la capacidad de diferenciarse en endotelio si se requieren capilares de neoformación<sup>12</sup>. Se ha descrito la alteración en la función y el número de las células endoteliales en condiciones patológicas, como las enfermedades cardiovasculares<sup>13</sup> y la diabetes mellitus<sup>14</sup>. Las células endoteliales maduras y progenitoras pueden jugar un papel importante en la vascularización del miometrio al momento de la implantación y placentación, ya que la angiogénesis se incrementa en este sitio anatómico desde la implantación hasta el embarazo temprano<sup>15</sup>.

El objetivo de la investigación fue comparar la cantidad de células endoteliales maduras y progenitoras en preeclámpticas con embarazadas normotensas sanas.

## Material y métodos

Se seleccionó a pacientes que asistieron a la Emergencia de Obstetricia del Hospital Central Dr. Urquinaona, Maracaibo, Venezuela, mediante un muestreo no probabilístico intencionado en todas las pacientes con diagnóstico de preeclampsia y en las normotensas, en las que se pudo determinar la cantidad de células endoteliales maduras y progenitoras. Los grupos consistieron en preeclámpticas (grupo A) y embarazadas normotensas (grupo B), estas últimas consideradas como controles, estudiadas en forma consecutiva. La preeclampsia se definió como presión arterial mayor de 140/90 mmHg 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 con 6 h de diferencia. La presión sanguínea se midió en posición sentada después de 15 min de descanso. Se excluyó a las pacientes con antecedentes de infección urinaria, hipertensión crónica, diabetes mellitus o enfermedad renal preexistente. El Comité de Ética del Hospital aprobó el estudio.

Las muestras de sangre (20 ml) se recolectaron en todas las pacientes antes del parto y en el grupo en estudio inmediatamente después del diagnóstico. El plasma fue separado de las células posterior a centrifugación de la sangre durante 10 min, posteriormente las células fueron diferenciadas utilizando un centrifugador con gradiente de densidad. Las células polimorfonucleares en sangre periférica fueron recolectadas y contadas para ser suspendidas en una solución salina de Dubelcco mezclado con suero bovino fetal para la realización del conteo de células fluorescentes. La presencia de las células progenitoras y maduras se confirmó con el uso de anticuerpos monoclonales marcados contra el receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF-R2), CD133 y CD34 humano. Las células fueron incubadas con todos los anticuerpos por 30 min a 4 °C en la oscuridad, utilizando los controles isotópicos como controles. Después de la incubación, las células fueron analizadas por citometría de flujo y conteo de las células fluorescentes. Las células progenitoras endoteliales circulantes fueron determinadas por la presencia de VEGF-R2 y CD133. Las células endoteliales maduras fueron identificadas por la presencia de VEGF-R2 y CD34.

Los datos se presentan como valores promedios  $\pm$  desviación estándar. El análisis estadístico entre los dos

grupos se realizó con el test de la t de Student para datos no relacionados para comparar las características demográficas y las cantidades de células endoteliales maduras y progenitoras entre el grupo de preeclámpticas y las normotensas sanas. Se aceptó un nivel de significancia de  $p < 0,05$ .

## Resultados

Un total de 35 pacientes con diagnóstico de preeclampsia (grupo A) y 35 pacientes normotensas (grupo B) fueron incluidas en el estudio. Las características generales de las pacientes se muestran en la [tabla 1](#). Las pacientes del grupo A tenían promedios de edad y peso similares a los del grupo control ( $p = ns$ ). Se observaron diferencias estadísticamente significativas con relación a la edad gestacional al momento de la toma de la muestra, presión arterial diastólica y sistólica, peso del recién nacido y presencia de proteinuria ( $p < 0,05$ ).

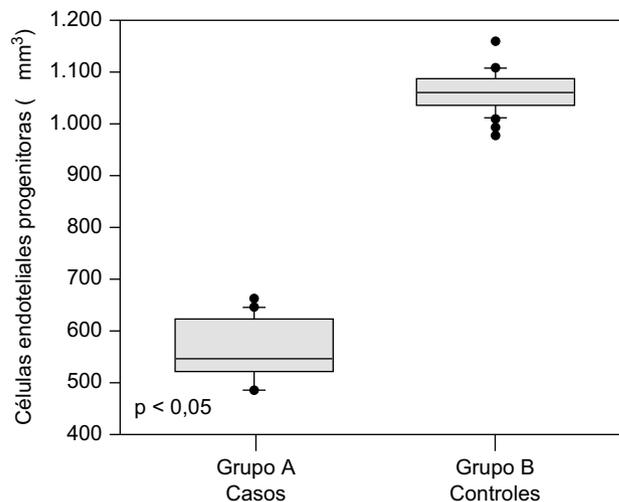
Las cantidades de células endoteliales maduras y progenitoras se muestran en la [tabla 2](#). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las cantidades de células endoteliales progenitoras ( $562,6 \pm 56,3 \times 10^6/l$  en el grupo A comparado con  $1.057,9 \pm 37,1 \times 10^6/l$  en el grupo B;  $p < 0,05$ ; [figura 1](#)) y en las cantidades de células endoteliales maduras ( $26.670,2 \pm 1.440,3 \times 10^6/l$  en el grupo de preeclámpticas comparado con  $30.797,3 \pm 2.085,6 \times 10^6/l$  en el grupo de controles;  $p < 0,05$ ; [figura 2](#)).

## Discusión

Los hallazgos de esta investigación demuestran que las pacientes con preeclampsia presentan una disminución en

las cantidades de células endoteliales maduras y progenitoras comparada con embarazadas normotensas.

El embarazo representa un reto fisiológico a los sistemas que dependen de la adaptación y plasticidad exitosa del endotelio. Es posible que las células endoteliales maduras y progenitoras contribuyan a los cambios en la adaptación del sistema cardiovascular. Tanto la neoangiogénesis, especialmente del lecho vascular uteroplacentario, como la vasodilatación de los vasos existentes contribuyen a estos cambios adaptativos<sup>16</sup>. El conocimiento actual con relación a la función de estas células en mujeres no embarazadas, al



**Figura 1** Cantidades de células endoteliales progenitoras en las participantes del estudio.

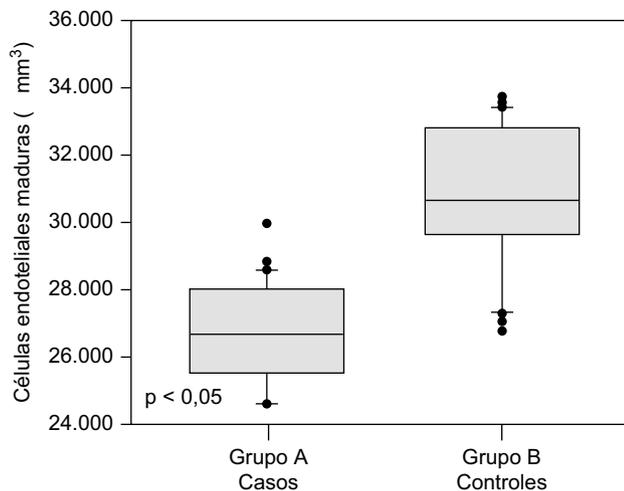
**Tabla 1** Características demográficas

	Grupo A Preeclámpticas (n = 35)	Grupo B Controles (n = 35)	p
Edad, años	20,80 ± 2,59	21,71 ± 2,69	ns
Edad gestacional, semanas	35,69 ± 1,16	38,46 ± 1,17	< 0,05
Presión arterial			
Sistólica	159,34 ± 5,21	111,94 ± 2,90	< 0,05
Diastólica	96,49 ± 2,93	73,14 ± 5,15	< 0,05
Peso materno, kg	90,37 ± 8,39	85,94 ± 7,36	ns
Peso del recién nacido, g	2.546,86 ± 125,51	3.603,46 ± 98,11	< 0,05
Proteinuria, n	35/35	0/35	< 0,05

ns: no significativo.

**Tabla 2** Cantidades de células endoteliales progenitoras y maduras en las participantes del estudio

	Grupo A Preeclámpticas (n = 35)	Grupo B Controles (n = 35)	p
Células endoteliales progenitoras, $\times 10^6/l$	562,6 ± 56,3	1.057,9 ± 37,1	< 0,05
Células endoteliales maduras, $\times 10^6/l$	26.670,2 ± 1.440,3	30.797,3 ± 2.085,6	< 0,05



**Figura 2** Cantidades de células endoteliales maduras en las participantes del estudio.

igual que el papel del endotelio en la adaptación cardiovascular al embarazo, sugiere que las células endoteliales pueden estar involucradas en esta adaptación<sup>16,17</sup>.

Debido a que las células endoteliales proliferan en forma marcada y se movilizan en la sangre periférica durante la fase lútea comparada con la fase folicular, se considera que juegan un papel crucial en el crecimiento vascular del endometrio en la preparación para la implantación. Aunque el mecanismo regulador de las células endoteliales no está claro en los órganos reproductivos, los estrógenos aceleran en parte la reparación endotelial de las arterias lesionadas mediante un mecanismo relacionado con el óxido nítrico<sup>8,18</sup>. Además, los estrógenos estimulan la neovascularización placentaria a través de la activación de factores angiogénicos en el útero durante el embarazo. La función de las células endoteliales ha sido descrita como un proceso de tres pasos: a) movilización desde la médula ósea; b) llegada al sitio de la lesión, y c) adhesión o incorporación a la zona. Cada una de estas fases es afectada por factores endógenos y puede ser modificada por la administración de agentes exógenos<sup>9</sup>.

La preeclampsia está caracterizada por isquemia y disfunción vascular de la circulación uteroplacentaria. Las células endoteliales en la sangre periférica son movilizadas para aumentar la neovascularización en las zonas de isquemia<sup>7,19</sup>. Múltiples líneas de investigación han propuesto al endotelio como el punto central de la fisiopatología de la preeclampsia<sup>20</sup>. Los cambios histológicos, los marcadores circulantes de la activación endotelial y los estudios funcionales *in vitro* apoyan este hecho<sup>16</sup>. Existe evidencia de que la disfunción endotelial proviene de la determinación de la respuesta presora característica del embarazo normal<sup>21</sup>, la activación de las células endoteliales umbilicales humanas posterior a la exposición al suero de preeclámpticas<sup>22</sup> y las alteraciones en la vasodilatación en las pacientes con preeclampsia<sup>23</sup>. La disfunción endotelial descrita potencia la relación entre las células endoteliales y la preeclampsia. Las cantidades anormales durante o antes del embarazo pueden llevar a alteraciones de la reparación, lesión persistente o acelerada que conllevan a los cambios patológicos observados en la preeclampsia<sup>16</sup>.

Al igual que los hallazgos encontrados en esta investigación, Sugawara et al<sup>19</sup> demostraron que las preeclámpticas tenían una menor cantidad de células endoteliales al compararlas con controles sanos y encontraron un aumento en el envejecimiento celular. Además, Kim et al<sup>24</sup> también encontraron una disminución en las células endoteliales de pacientes con preeclampsia. Luppi et al<sup>25</sup> demostraron que las células estaban significativamente más bajas en las pacientes preeclámpticas en comparación con las embarazadas normales y que el número de células endoteliales maduras circulantes no era estadísticamente diferente a aquellas que nunca habían estado embarazadas. Xia et al<sup>26</sup> también encontraron una disminución significativa y alteraciones en la capacidad de proliferación, migración y vasculogénesis en las células endoteliales progenitoras en la sangre venosa placentaria/fetal en las preeclámpticas en comparación con los controles.

En contraste con los estudios descritos previamente, Matsubara et al<sup>7</sup> reportaron que las cantidades de células endoteliales en la sangre periférica de las pacientes preeclámpticas no eran diferentes de las cantidades de las embarazadas normales durante el tercer trimestre. La posible diferencia puede estar en el subtipo de células endoteliales analizadas.

Hasta la fecha se desconoce si la disminución de las células endoteliales es una causa o una consecuencia de la enfermedad. Es posible que el agotamiento debido a su función de compensación del daño endotelial pueda afectar el número de células endoteliales. En la preeclampsia se incrementa la producción de citoquinas inflamatorias, posiblemente por la presencia de condiciones hipóxicas sobre la placenta o por una respuesta inflamatoria sistémica secundaria<sup>27,28</sup>. Además, la presencia del factor 1 derivado de la célula estromal, que es importante para la selección de las células endoteliales<sup>29</sup>, es estimulada por la hipoxia tisular a través de la acción del factor 1 inducible por la hipoxia<sup>30</sup>.

Se ha observado la presencia de estrés oxidativo y alteraciones de los lípidos en preeclámpticas, los cuales pueden estar relacionados con la disfunción endotelial sistémica<sup>31-33</sup>. Imanishi et al<sup>34</sup> han sugerido que la lipoproteína de baja densidad (LDL) oxidada induce alteraciones en las células endoteliales. Además, diferentes investigaciones sugieren que las concentraciones de proteína C reactiva, un marcador de inflamación sistémica, pueden tener efectos sobre la disfunción vascular en la preeclampsia<sup>35,36</sup>. Se ha demostrado que la proteína C reactiva inhibe la diferenciación, proliferación y función de las células endoteliales<sup>37,38</sup>. Es posible que la LDL oxidada y la proteína C reactiva en las preeclámpticas produzcan alteraciones de las células endoteliales que puedan llevar a daño endotelial.

El papel de las células endoteliales maduras y progenitoras en la preeclampsia es desconocido. Aún no está claro si las diferencias en las cantidades de células endoteliales maduras y progenitoras son una causa o una consecuencia de la preeclampsia. Sin embargo, existe evidencia de que las pacientes con diabetes mellitus preconcepcional tienen una mayor tendencia a desarrollar preeclampsia. Se ha reportado que la disfunción endotelial observada en los diabéticos está asociada a modificaciones en las células endoteliales<sup>14</sup>, lo cual sugeriría que esta alteración puede ser uno de los factores contribuyentes principales a la patogénesis de la

preeclampsia<sup>10</sup>. Estas alteraciones en número y función de las células endoteliales podrían ser la vía común que relaciona los factores de riesgo cardiovascular y la disfunción endotelial con la preeclampsia<sup>12</sup>.

En conclusión, las preeclámpticas presentan reducción significativa en las cantidades de células endoteliales maduras y progenitoras en comparación con las de embarazadas normotensas sanas.

## Bibliografía

1. Van Beck E, Peeters L. Pathogenesis of pre-eclampsia: A comprehensive model. *Obstet Gynecol Surv.* 1998;53:233–9.
2. Salafia C, Pezzullo J, López-Zeno J, Simmens S, Minior V, Vintzileos A. Placental pathologic features of preterm preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173:1097–105.
3. Reuvekamp A, Velsing-Aarts F, Poulina I, Capello J, Duits A. Selective deficit of angiogenic growth factors characterises pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol.* 1999;106:1019–22.
4. Lyall F, Young A, Boswell F, Kingdom J, Greer I. Placental expression of vascular endothelial growth factor in placentae from pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction does not support placental hypoxia at delivery. *Placenta.* 1997;18:269–76.
5. Zygmunt M, Herr F, Münstedt K, Lang U, Liang O. Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;110:510–8.
6. Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 1995;11:73–91.
7. Matsubara K, Abe E, Matsubara Y, Kameda K, Ito M. Circulating endothelial progenitor cells during normal pregnancy and preeclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 2006;56:79–85.
8. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 1997;275:964–7.
9. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med.* 1999;5:434–8.
10. Sugawara J, Mitsui-Saito M, Hayashi C, Hoshiai T, Senoo M, Chisaka H, et al. Decrease and senescence of endothelial progenitor cells in patients with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:5329–32.
11. Walter D, Rittig K, Bahlmann F, Kirchmair R, Silver M, Murayama T, et al. Statin therapy accelerates reendothelialization. A novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation.* 2002;105:3017–24.
12. Robb A, Mills N, Newby D, Denison F. Endothelial progenitor cells in pregnancy. *Reproduction.* 2007;133:1–9.
13. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res.* 2001;89:e1–7.
14. Tepper O, Galiano R, Capla J, Kalka C, Gagne P, Jacobowitz G, et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetes exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation.* 2002;26:2781–6.
15. Rowe A, Wulff C, Fraser H. Angiogenesis and microvascular development in the marmoset (*Callithrix jacchus*) endometrium during early pregnancy. *Reproduction.* 2004;128:107–16.
16. Hilary S, Gammill C, Hubel C. Endothelial progenitor cells and preeclampsia. *Fron Bioscience.* 2007;12:2383–94.
17. Clapp M, Ford J, Capeless E. Cardiovascular function before, during, and after the first and subsequent pregnancies. *Am J Cardiol.* 1997;80:1469–73.
18. Iwakura A, Luedemann C, Shastry S, Hanley A, Kearney M, Aikawa R, et al. Estrogen-mediated, endothelial nitric oxide synthase dependent mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells contributes to reendothelialization after arterial injury. *Circulation.* 2003;108:3115–21.
19. Sugawara J, Saito-Mitsui M, Hoshiai T, Hayashi C, Kimura Y, Okamura K. Circulating endothelial progenitor cells during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:1845–8.
20. Roberts J, Taylor R, Musci T, Rodgers G, Hubel C, McLaughlin M. Preeclampsia: An endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161:1200–4.
21. Gant N, Daley G, Chand S, Whalley P, MacDonald P. A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy. *J Clin Invest.* 1973;52:2682–9.
22. Roberts J, Edep M, Goldfien A, Taylor R. Sera from preeclamptic women specifically activate human umbilical vein endothelial cells in vitro: Morphological and biochemical evidence. *Am J Reprod Immunol.* 1992;27:101–8.
23. Lampinen K, Ronnback M, Kaaja R, Groop P. Impaired vascular dilatation in women with a history of pre-eclampsia. *J Hypertens.* 2006;24:751–6.
24. Kim S, Park S, Kim J, Kim Y, Yang J, Kim M, et al. Circulating endothelial progenitor cells, plasma VEGF, VEGFR-1, and VEGFR-2 levels in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193:s74.
25. Luppi P, Harger G, Lain K, Hubel C. The number of circulating CD34/KDR—positive endothelial progenitor cells is increased during normal pregnancy but not preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig.* 2005;12:197A.
26. Xia L, Zhou X, Zhu J, Xie X, Zhang H, Wang X, et al. Decrease and dysfunction of endothelial progenitor cells in umbilical cord blood with maternal pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res.* 2007;33:465–74.
27. Redman C, Sacks G, Sargent I. Preeclampsia, an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180:499–506.
28. Sacks G, Studena K, Sargent K, Redman C. Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179:80–6.
29. Yamaguchi J, Kusano K, Masuo O, Kawamoto A, Silver M, Murasawa S, et al. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. *Circulation.* 2003;107:1322–8.
30. Ceradini D, Kulkarni A, Callaghan M, Tepper O, Bastidas N, Kleinman M, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med.* 2004;10:858–64.
31. Reyna-Villasmil E, Prieto-Franchi M, Torres-Montilla M, Reyna-Villasmil N, Mejia-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.
32. Reyna-Villasmil E, Prieto-Franchi M, Torres-Montilla M, Reyna-Villasmil N, Mejia-Montilla J. Peroxidación lipídica en embarazos con preeclampsia y diabetes. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 2002;62:93–6.
33. Reyna-Villasmil E, Torres-Cepeda D, Peña-Paredes E, Reyna-Villasmil N, Mejia-Montilla J. Homocisteína y óxido nítrico en preeclámpticas en pre y postparto. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 2007;67:167–73.
34. Imanishi T, Hano T, Sawamura T, Nishio I. Oxidized low-density lipoprotein induces endothelial progenitor cell senescence, leading to cellular dysfunction. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2004;31:407–13.

35. Qiu C, Luthy D, Zhang C, Walsh S, Leisenring W, Williams M. A prospective study of maternal serum C-reactive protein concentrations and risk of preeclampsia. *Am J Hypertens*. 2004;17:154–60.
36. Teran E, Escudero C, Moya W, Flores M, Vallance P, López-Jaramillo P. Elevated C-reactive protein and pro-inflammatory cytokines in Andean women with preeclampsia. *Int J Gynaecol Obstet*. 2001;75:243–9.
37. Verma S, Kuliszewski M, Li S, Szmitko P, Zucco L, Wang C, et al. C-Reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation, and function. *Circulation*. 2004;109:2058–67.
38. Suh W, Kim K, Choi J, Lee Y, Lee J, Kim J, et al. CC-Reactive protein impairs angiogenic functions and decreases the secretion of arteriogenic chemo-cytokines in human endothelial progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;321:65–71.