

Función endotelial y estados hipertensivos del embarazo

ESPECIAL
HIPERTENSIÓN
ARTERIAL

Velocidad de la onda del pulso carótido-radial como método alternativo para detectar disfunción endotelial en embarazadas

Dres. Juan Torrado ¹, Ignacio Farro ¹, Federico Farro¹, Yanina Zócalo ², Claudio Sosa ³, Santiago Scasso ⁴, Ricardo L. Armentano ⁵, Justo Alonso ⁶, Daniel Bia ⁷

Resumen

La preeclampsia constituye una causa mayor de morbimortalidad materno-fetal que cursa con una disfunción endotelial (DFE) generalizada. Detectar la DFE subclínica durante el embarazo contribuiría en su identificación precoz y anticiparía su tratamiento. Se ha propuesto utilizar los cambios en la velocidad de la onda del pulso carótido-radial (VOPCr) para evaluar la DFE en pacientes con enfermedad arterial. Sin embargo, se desconocen los alcances de dicha técnica en la evaluación de la DFE durante el embarazo.

Objetivo: evaluar y comparar los cambios de la VOPCr en embarazadas y mujeres no embarazadas.

Material y método: participaron embarazadas sanas (ES; n = 13), preeclámpticas (PE; n = 7), hipertensas sin proteinuria (HNP; n = 6) y mujeres no embarazadas (NE; n = 32). Se cuantificó la VOPCr (mecanotransductores), el diámetro arterial braquial (ultrasonido) y la velocidad sanguínea braquial (Doppler) antes (basal) y después de realizar un estímulo isquémico (esfigmomanometría).

Resultados: la VOPCr disminuyó en ES ($6,9 \pm 1,5$ a $6,0 \pm 0,9$ m/s, $p < 0,001$) y en NE ($8,1 \pm 0,9$ a $7,4 \pm 0,9$ m/s; $p < 0,001$); no se obtuvieron cambios en HNP ($6,6 \pm 1,4$ a $6,7 \pm 1,0$ m/s; $p = 0,91$) y en PE se observó una tendencia al aumento ($6,0 \pm 0,7$ a $6,4 \pm 0,8$ m/s; $p = 0,10$). El $\Delta VOPCr\%$ (porcentaje de cambio de la VOPCr basal versus postisquemia) fue distinto comparando ES con HNP (-11,9% versus +2,2%; $p < 0,01$), con NE (-11,9% versus -8,5%; $p < 0,05$) y con PE (-11,9 versus +6,2%; $p < 0,01$), respectivamente, sin encontrar diferencias entre HNP y PE ($p = 1,00$).

Conclusión: las ES mostraron una reactividad vascular aumentada respecto a NE y HNP/PE evaluada por $\Delta VOPCr\%$, evidenciando en HNP/PE una respuesta vascular alterada. La VOPCr podría desempeñar un importante rol en el estudio de la DFE durante el embarazo, con una potencial aplicación clínica en la predicción de la preeclampsia.

1. Médico, Grupo Hemodinámica Cardiovascular, CUiiDARTE.

2. Médico, Prof. Adjunto, Depto. Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República. Directora clínica, Centro Universitario de Investigación, Innovación y Diagnóstico Arterial (CUiiDARTE). Investigador (Nivel 1), Sistema Nacional de Investigadores, Agencia Nacional de Investigación e Innovación. Investigador (Grado 3), PEDECIBA-Biología. Colaborador calificado, Depto. Cardiología, Facultad de Medicina, Udelar.

3. Médico, Prof. Agregado Clínica Ginecotológica "C", Hospital Pereira Rossell, Facultad de Medicina, Udelar.

4. Médico, Asistente Clínica Ginecotológica "C", Hospital Pereira Rossell, Facultad de Medicina, Udelar.

5. Prof. Agregado Depto. Fisiología, Facultad de Medicina, Udelar. Co-Director, CUiiDARTE. Investigador (Nivel 2), Sistema Nacional de Investigadores, Agencia Nacional de Investigación e Innovación. Investigador (Grado 5), PEDECIBA-Biología. Colaborador calificado, Depto. Cardiología, Udelar.

6. Médico, Prof. Director Clínica Ginecotológica "C", Hospital Pereira Rossell, Facultad de Medicina, Udelar.

7. Prof. Adjunto Depto. Fisiología, Facultad de Medicina, Udelar. Co-Director/Coordinador General, CUiiDARTE. Investigador (Nivel 1), Sistema Nacional de Investigadores, Agencia Nacional de Investigación e Innovación. Investigador (Grado 4), PEDECIBA-Biología. Colaborador calificado, Depto. Cardiología, Facultad de Medicina, Udelar.

Instituciones responsables: Centro Universitario de Investigación, Innovación y Diagnóstico Arterial (CUiiDARTE; www.cuiidarte.fmed.edu.uy). Clínica Ginecotológica "C", Hospital Pereira Rossell, Facultad de Medicina, Udelar. www.ginec.org.

Correspondencia: Dr. Juan Torrado. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República. General Flores 2125, Montevideo.CP: 11800. Correo electrónico: jtorrado@fmed.edu.uy

Palabras clave: ANÁLISIS DE LA ONDA DE PULSO-métodos
HIPERTENSIÓN INDUCIDA EN EL EMBARAZO-diagnóstico
PREECLAMPSIA
ENDOTELIO-fisiopatología

Key words: PULSE WAVE ANALYSIS-methods
HYPERTENSION, PREGNANCY-INDUCED-diagnosis
PRE-ECLAMPSIA
ENDOTHELIUM-physiopathology

Introducción

El síndrome preeclampsia/eclampsia constituye una causa mayor de morbimortalidad materno-fetal a nivel mundial⁽¹⁾. Si bien la fisiopatología de la preeclampsia no se encuentra completamente aclarada, dos procesos secuenciales se han identificado como principales en la patogenia de la preeclampsia que preceden a las manifestaciones clínicas. El primero consiste en una placentación insuficiente asociada a un aumento de la resistencia de la vasculatura útero-placentaria, siendo el restante la reacción materna consecuentemente con una respuesta inflamatoria inapropiada asociado con una alteración generalizada de la función endotelial (FE)⁽²⁾. La posibilidad de identificar precozmente el daño endotelial subclínico durante el embarazo podría ser de valor en el reconocimiento y la clasificación de los diferentes estados hipertensivos del embarazo y tener un impacto positivo en la comprensión del síndrome, así como en el tratamiento oportuno de estas pacientes.

La técnica de Celermajer y colaboradores constituye la técnica que ha logrado mayor difusión para estudiar la FE⁽³⁾. La misma consiste en posicionar un brazalete esfigmomanométrico en el antebrazo y provocar una oclusión arterial por 5 minutos (estímulo isquémico transitorio, [EIT]). Una vez que la oclusión es liberada se produce un incremento en el flujo sanguíneo arterial (hiperemia reactiva, [HR]) que promueve la liberación de óxido nítrico (ON), con dilatación de la arteria braquial (vasodilatación mediada por flujo, [VMF]) evaluada por ultrasonido modo B) y cambios biomecánicos de la pared arterial. De este modo, la magnitud de la vasodilatación de la arteria braquial es utilizada como indicador de la integridad de la función endotelial⁽⁴⁻⁶⁾. A pesar de la gran asociación entre VMF y la FE, y de la amplia difusión de esta técnica, la misma actualmente no posee un lugar definido en la práctica clínica habitual. Entre las principales razones al respecto se encuentra la carencia de consensos que hayan definido criterios comunes de implementación de la técnica y de procesamiento de los datos obtenidos, lo que

ha llevado a gran diversidad de variantes en su implementación y la consecuente gran variabilidad entre los resultados obtenidos por diferentes autores^(5,7).

Recientemente se ha propuesto la evaluación de los cambios de la velocidad de la onda del pulso (VOP) para estudiar los cambios intrínsecos de la pared arterial que siguen a la HR, como medida de FE^(5,8). La VOP constituye el parámetro “estándar oro” para la evaluación de la rigidez arterial regional y ha cobrado una amplia aplicación biomédica⁽⁹⁾. Tal es el caso de la VOP carótido-femoral, cuya medición es recomendada en guías actuales para la evaluación del daño de órgano blanco subclínico en el manejo de la hipertensión arterial⁽¹⁰⁾. El vínculo entre los cambios en la VOP y la FE ha quedado de manifiesto en estudios previos que demostraron que la VOP puede ser alterada de manera aguda por cambios en el tono vascular a diferentes estímulos y por liberación constitutiva de ON dependiente del endotelio⁽¹¹⁾. En consonancia con lo anterior, los niveles de VOP disminuyen y aumentan en respuesta a nitroglicerina (donante de ON) y a la administración de L-NMMA (inhibidor de la sintasa de ON endotelial), respectivamente⁽¹²⁾.

Los valores de la VOP disminuyen en respuesta a la HR en adultos jóvenes sanos, mientras que se ha observado una respuesta alterada (disminución en la reducción de los niveles) en pacientes con hipertensión arterial o insuficiencia cardíaca congestiva^(5,8,13). Sin embargo, se desconoce si la alteración de la FE que acompaña a los estados hipertensivos del embarazo puede ser evaluada utilizando los cambios en la VOP. Es en este contexto que el objetivo principal del presente trabajo fue evaluar la FE en mujeres embarazadas (sanas y con estados hipertensivos) y en mujeres no embarazadas tomadas como controles mediante la medición de los cambios de la VOP determinados por la HR y compararlos con el análisis de la VMF.

Revisión de la literatura

Función endotelial y embarazo

El embarazo normal se asocia con profundos cambios hemodinámicos. Al respecto, la resistencia vascular sistémica (RVS) se mantiene disminuida a lo largo del embarazo mientras que la presión arterial (PA) muestra una caída progresiva en el primer y segundo trimestre, a pesar de que el gasto cardíaco y la frecuencia cardíaca gradualmente se incrementan hasta una meseta durante el segundo y tercer trimestre⁽¹⁴⁾. Los mecanismos responsables de la vasodilatación (reducción de la RVS) asociada al embarazo no están completamente aclarados, pero información disponible sugiere que el ON liberado por el endotelio cumpliría un rol destacado como mediador en la caída de la RVS⁽¹⁵⁾. En ese sentido, los hallazgos de varios estudios han sido coherentes con esta afirmación, reportando una potenciación de la FE evaluada mediante la VMF, al encontrar un incremento en el porcentaje de dilatación evaluada por ultrasonido mediante el test de HR en comparación con mujeres no embarazadas, siendo máximo el cambio durante el segundo o tercer trimestre^(16,17).

Por otro lado, la preeclampsia, definida como la instalación de cifras hipertensivas y proteinuria significativa luego de las 20 semanas de gestación, constituye una condición donde la RVS y la PA se encuentran elevadas, y la respuesta a estímulos vasoconstrictores se mantiene alta y no atenuada, contrariamente a lo que ocurre fisiológicamente en el embarazo normal^(18,19). La preeclampsia se asocia con una vasoconstricción que compromete distintos lechos vasculares y se reconoce cada vez más como un síndrome caracterizado por una profunda disfunción endotelial con disminución de la biodisponibilidad de ON⁽²⁰⁾. Es por ello que se plantea la hipótesis que la disfunción endotelial, incluida el fracaso en la producción de ON, sería un evento clave en la patogenia de los estados hipertensivos del embarazo, particularmente la preeclampsia, y podría tener un gran impacto sanitario su búsqueda y detección precoz.

Importancia biomédica en la identificación precoz de daño endotelial subclínico durante el embarazo

La preeclampsia afecta aproximadamente a 2%-3% de los embarazos y constituye una causa mayor de mortalidad materna con un importante número de defunciones a nivel mundial⁽¹⁾. A su vez, constituye la causa principal de admisión hospitalaria materna en unidades de terapia intensiva⁽²¹⁾ y se asocia con riesgo aumentado de mortalidad perinatal, siendo

responsable de 10% de los óbitos⁽²²⁾ y de 15% de los pretérminos⁽²³⁾. De manera global, el costo adicional de la preeclampsia incrementa notablemente los gastos en salud⁽²⁴⁾. La importancia clínica del síndrome preeclampsia/eclampsia queda ilustrada una vez más cuando se analizan datos retrospectivos que muestran que una sustancial proporción de casos de muerte fetal debidos a la preeclampsia podrían haberse evitado si el manejo clínico hubiese sido distinto⁽²⁵⁾. El mejoramiento en cuanto a la predicción de la preeclampsia podría optimizar la utilización de los recursos disponibles para el tratamiento de las pacientes, así como la monitorización adecuada de la condición obstétrica, logrando finalmente mejores resultados materno-fetales⁽²⁶⁾. A manera de ejemplo, actualmente la evidencia demuestra que si se selecciona adecuadamente a la paciente, la utilización de bajas dosis de ácido acetilsalicílico previene significativamente la ocurrencia de preeclampsia⁽²⁷⁾. Este punto se suma al hecho de que se ha demostrado que la utilización de estrategias y pautas de controles prenatales más intensivos para embarazos con riesgo identificado de desarrollo de preeclampsia mejora el resultado perinatal. Es por eso que se reconoce que la detección precoz de la preeclampsia posee un gran impacto sanitario⁽¹⁸⁾. Cabe destacar, sin embargo, que detectar aquellas pacientes que van a padecer finalmente dicha condición clínica continúa siendo un reto diagnóstico, y la no disponibilidad de una única técnica que satisfaga completamente este propósito con suficiente precisión⁽²⁸⁾, ilustra en parte el hecho de que la patogenia de la preeclampsia permanece sin aclararse completamente.

Actualmente, distintas combinaciones de factores de riesgo derivados de la historia clínica, marcadores bioquímicos y el ultrasonido Doppler de las arterias uterinas se encuentran bajo investigación⁽²⁹⁻³¹⁾. Por ejemplo, la tasa de detección de la preeclampsia utilizando solo un modelo clínico de screening que incluye factores de riesgo (por ejemplo, nuliparidad, edad materna, historia familiar previa de preeclampsia, etcétera) es de 45,3%, solo mediante el estudio Doppler de las arterias uterinas en el segundo trimestre es de 63,1% y con una evaluación combinada se alcanza el 67,5%, pero con una tasa de 25% de falsos positivos⁽³²⁾. Estudios Doppler de las arterias uterinas del primer trimestre han mostrado alta sensibilidad pero pobre especificidad, igualmente con una alta tasa de falsos positivos⁽³³⁾. El rendimiento de modelos de combinaciones de múltiples parámetros son prometedores en este sentido, pero es necesaria una mayor evidencia al respecto para confirmarlos⁽²⁹⁾.

La extensa y creciente bibliografía que vincula

la disfunción endotelial como eslabón importante en la fisiopatología de la preeclampsia^(20,34,35) motiva el desarrollo de herramientas que permitan su evaluación de modo de aportar información complementaria. La disfunción endotelial comienza considerablemente antes del inicio del período clínico sintomático⁽³⁶⁾, otorgando un tiempo valioso para su determinación⁽³⁵⁾. Por tanto, identificar precozmente el daño endotelial subclínico durante el embarazo podría ser de valor en el reconocimiento y la clasificación de los diferentes estados hipertensivos del embarazo y tener un impacto positivo en la comprensión del síndrome, así como en el tratamiento oportuno y apropiado de estas pacientes.

Función endotelial y técnicas de medición

El endotelio vascular constituye una monocapa de células que tapiza la superficie interna del vaso que separa el resto de los constituyentes parietales de la luz. Posee particularmente un rol regulatorio de una gran gama de procesos fisiológicos, tales como trombogenicidad, permeabilidad vascular, inflamación, formación de radicales libres, proliferación celular y actividad vasomotora⁽³⁷⁾. El fallo del estricto control de dichos procesos por parte de las células endoteliales constituye el paso fisiopatológico inicial para el desarrollo posterior de procesos inflamatorios que progresan finalmente en alteraciones de la función y estructura arterial⁽³⁸⁾. Aunque las “funciones endoteliales” citadas son pasibles de estudio en mayor o menor grado, ha cobrado especial interés en los últimos años la evaluación de la función vasomotora dependiente del endotelio, mostrando su alteración una clara asociación con la alteración de las restantes. Tal es así que es habitual referirse de manera general como sinónimo de “disfunción endotelial” a la alteración de la actividad vasomotora (vasorreactividad) dependiente del endotelio⁽³⁹⁾.

Actualmente la técnica descrita por Celermajer y colaboradores (test de HR) constituye la estrategia no invasiva más popular para evaluar la FE⁽⁴⁰⁾. Se basa en la medición ultrasonográfica del diámetro arterial braquial antes y después de provocar un EIT. Dicho estímulo provocado habitualmente en el antebrazo del sujeto mediante un manguito esfigmomanométrico produce un cambio a nivel del lecho microcirculatorio (disminución de la resistencia arteriolar) determinando un incremento abrupto e instantáneo del flujo sanguíneo una vez liberada la oclusión. El incremento del flujo sanguíneo con respecto a las condiciones basales es denominado HR y se utiliza ampliamente como estímulo endotelial, ya que conlleva un aumento de fuerzas friccionales (tensión de cizallamiento) sobre la superfi-

cie endotelial, de manera que este último determina la liberación de ON, responsable principal de la dilatación arterial (VMF dependiente del endotelio)⁽⁴⁾ además de cambios en las propiedades parietales intrínsecas (rigidez arterial)⁽⁶⁾. La VMF evaluada por ultrasonido de alta resolución es aceptada globalmente como el “estándar oro” para la evaluación de la FE y se ha utilizado principalmente como medida para la evaluación de pacientes con factores de riesgo de enfermedad arterial aterosclerótica⁽³⁸⁾. Alteraciones (reducciones) en el porcentaje de VMF encontradas debido al test de HR han mostrado asociación con la presencia de factores de riesgo cardiovascular (CV) (por ejemplo, hipertensión arterial, obesidad, tabaquismo), y se han hallado en estadios tempranos del desarrollo de enfermedad aterosclerótica, con una implicancia teórica en relación con la formación, progresión y complicaciones de la aterosclerosis, sugiriéndose que la misma sería predictor independiente de eventos cardiovasculares⁽⁴⁰⁾.

Sin embargo, el estudio de la FE no se ha limitado para el estudio del riesgo CV y su asociación con la enfermedad arterial aterosclerótica, sino que se ha extendido y utilizado en otros escenarios clínicos debido al reconocimiento cada vez mayor de que la disfunción endotelial cobraría un rol preponderante en la patogenia de otras condiciones fisiopatológicas^(35,41-43). Tal es el caso de los estados hipertensivos del embarazo, particularmente de la preeclampsia, donde dicha técnica ha sido utilizada para aportar información adicional en cuanto a la valoración de la función arterial durante el embarazo y complementar la información respecto a la predicción de la ocurrencia de la preeclampsia⁽⁴⁴⁾.

Cabe señalar, sin embargo, que los valores aportados por las técnicas tradicionales (por ejemplo, VMF) para medir la FE han arrojado resultados controversiales⁽⁴⁵⁾. Según algunos autores existe una gran variabilidad intra e interindividual reportada en las medidas, para lo cual una explicación satisfactoria podría residir en la técnico-dependencia, en la falta de estandarizaciones metodológicas internacionales disponibles, lo que determina, a su vez, importantes variaciones en las formas en que esta técnica se implementa (por ejemplo, oclusión de brazo versus oclusión de antebrazo) y en las que se procesan los registros obtenidos (por ejemplo, medición de la dilatación al minuto versus medición de la máxima dilatación alcanzada)^(46,47). Como consecuencia de las grandes diferencias en los niveles de VMF descritos en la bibliografía, ha sido complejo arribar a valores de referencia en individuos sanos que posibiliten definir función endotelial normal y patológica, lo que a su vez ha limitado su aplicación clínica. Un abordaje metodológico técni-

co-independiente para evaluar la FE, como el utilizado en el presente trabajo, podría cobrar un papel destacado.

En ese contexto han surgido técnicas alternativas para evaluar la FE^(5,8,48). Tal es el caso de la evaluación de la VOP arterial. Mediante estudios realizados en jóvenes sanos y poblaciones con enfermedad CV (por ejemplo, hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca), y utilizando las mismas bases conceptuales del test de la HR (es decir, determinación de un estímulo endotelial mediante la HR y liberación consecuente de ON) se ha confirmado la factibilidad de evaluar los cambios en la rigidez arterial mediante la VOP como medida para evaluar la FE^(5,8,13).

La VOP constituye la velocidad del viaje de la onda de presión generada por la actividad ventricular en una distancia comprendida entre dos sitios de medición en el sistema arterial. La VOP es considerada el estándar oro para la evaluación de la rigidez arterial regional y su medición brinda importancia diagnóstica y pronóstica⁽⁴⁹⁾. La sólida correlación de la VOP con la rigidez arterial, la no invasividad de su determinación, técnico-independencia y bajo costo, la simplicidad de su obtención y reproducibilidad, ha llamado fuertemente a investigadores a ampliar su utilización⁽⁹⁾.

Los valores de la VOP en respuesta a la HR se reducen en jóvenes sanos sin factores de riesgo CV⁽⁵⁰⁾. De manera contraria, pacientes con hipertensión arterial o insuficiencia cardíaca han mostrado una alteración de la conducta evidenciada, comparada con sujetos sanos de la misma edad y sexo, con menor caída de los valores de la VOP, abolición completa de la respuesta, y hasta incluso un aumento en los niveles de la VOP pos EIT^(5,13). Las principales propiedades vasculares que determinan el valor de la VOP son geométricas e intrínsecas, como el diámetro arterial y las propiedades parietales intrínsecas, respectivamente⁽⁹⁾. La HR provocada mediante el EIT determina cambios en la VOP como resultado tanto de la VMF como de cambios en las propiedades intrínsecas de la pared arterial⁽⁶⁾. Las modificaciones en las propiedades intrínsecas podrían jugar un rol clave en la determinación de la reducción de los niveles de la VOPcr en individuos sanos y se ha asociado a la actividad de las células endoteliales⁽⁶⁾. Kinlay y colaboradores demostraron que la VOP aumenta frente a la administración de L-NMMA (inhibidor de la sintasa de ON) y disminuye frente a la nitroglicerina (dador de ON), existiendo un claro vínculo entre la producción de ON (función endotelial) y la determinación en los niveles encontrados de la VOP⁽¹¹⁾.

Material y método

Participantes

Las definiciones y clasificación de los estados hipertensivos del embarazo siguieron las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood pressure in Pregnancy)⁽¹⁾. Se incluyeron mujeres embarazadas sanas (ES; n = 13), con preeclampsia (PE; n = 7), hipertensas sin proteinuria (HNP; n = 6), y mujeres no embarazadas sanas (NE; n = 32). Todas las participantes entregaron consentimiento informado escrito. Las embarazadas con preeclampsia incluidas fueron solo leves en términos de severidad del síndrome.

Protocolo de estudio, muestras de laboratorio y registros

Las participantes se encontraban en abstinencia para actividad física, tabaco y suplementos vitamínicos por al menos cuatro horas previas al estudio. El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina.

La primera parte del estudio incluyó medidas antropométricas (peso y altura, el índice de masa corporal [IMC] fue calculado) y entrevista clínica para recabar la información gineco-obstétrica. Se extrajeron muestras sanguíneas y urinarias para estudio de laboratorio (entre los cuales se destacan proteinuria de 24, ácido úrico y creatinina), que permitió: a) en las embarazadas con hipertensión, realizar la clasificación del tipo de estado hipertensivo (estado hipertensivo no proteinúrico o preeclampsia)⁽¹⁾ y su severidad; b) en las embarazadas sanas y no embarazadas, realizar diagnóstico de salud y control (tabla 1).

Posteriormente las participantes tomaron posición de decúbito lateral parcial (45°) o total (90°) por 15 minutos en un ambiente con temperatura controlada (21 °C a 23 °C) para estabilizar los parámetros hemodinámicos. La frecuencia cardíaca (FC) fue medida latido a latido usando la información obtenida mediante la señal mecanográfica (*ver más adelante*). Se tomó la PA braquial derecha usando esfigmomanometría cada intervalos fijos de 2 minutos durante todo el procedimiento.

La HR (el estímulo endotelial) fue provocada mediante la modificación de la microcirculación al aplicar 5 minutos de isquemia continua en el antebrazo, ocluyendo las arterias radial y cubital mediante el inflado con presión suprasistólica (50 mmHg por encima de la PA sistólica braquial).

De manera no invasiva se obtuvo simultáneamente la onda de presión carotídea y radial median-

Tabla 1. Información demográfica y clínica de los cuatro grupos estudiados

Variable	NE (n=32)	ES (n=13)	PE (n=7)	HNP (n=6)
Edad (años)	27,4±5,8	26,9±8,3	31,4±8,8	30,2±3,9
Edad gestacional (semanas)	-±-	34,3±3,7	35,9±2,3	36,3±1,5
Número de gestaciones (n)	1,1±1,2	3,2±3,9	1,7±1,7	4,5±3,8
Peso (kg)	60,9±9,3	69,0±9,6	97,9±13,8 ^{a,b}	79,3±10,3 ^{a,c}
Altura (cm)	166,5±6,3	159,8±8,0	159,6±6,7	156,8±5,6
IMC (kg/m ²)	21,9±2,9	27,1±3,9 ^a	38,6±6,6 ^{a,b}	32,4±5,3 ^a
PAS (mmHg)	125,1±8,4	116,6±13,5	126,6±12,1	129,7±9,6 ^b
PAD (mmHg)	71,6±7,4	67,8±9,8	71,4±7,7	76,7±12,1
FC (lpm)	82,0±8,1	82,5±14,7	89,9±13,0	79,3±8,6
Creatinina (mg/dL)	0,7±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1
Ácido úrico (mg/dL)	2,5±1,0	3,2±1,2 ^a	5,6±1,0 ^{a,b}	3,8±0,7 ^{a,c}
Proteinuria de 24 (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,5±0,1 ^{a,b}	0,1±0,1 ^{a,b,c}

a, b, y c indica p < 0,05 comparando NE, ES y PE respectivamente. Se utilizó ANOVA + test de Bonferroni. NE: no embarazada; ES: embarazada sana; PE: preeclápticas; HNP: hipertensión no proteinúrica.

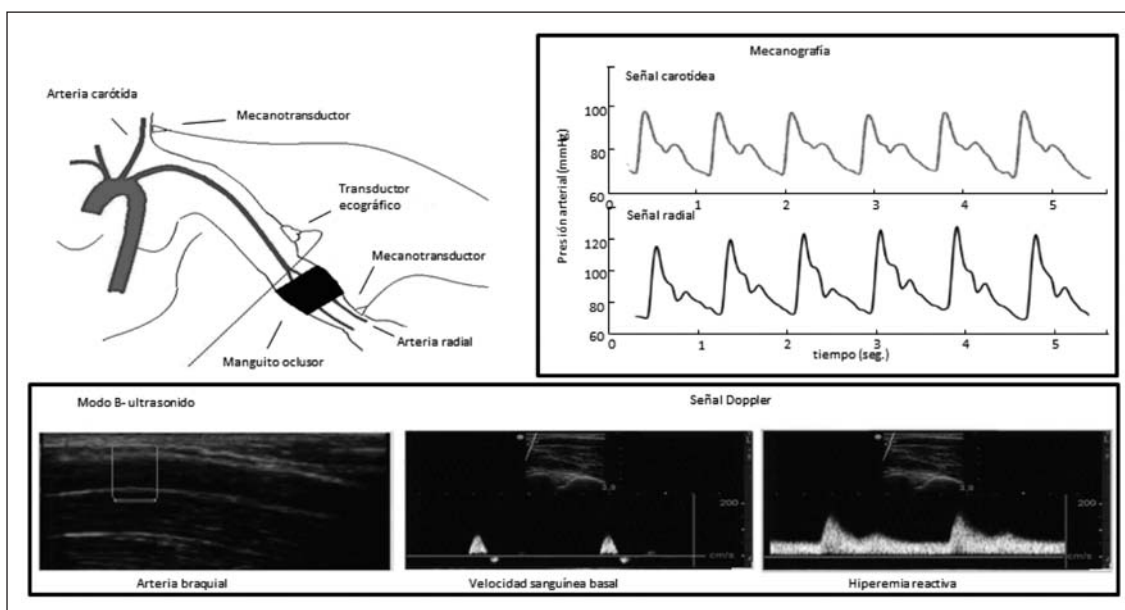


Figura 1. Esquema del abordaje instrumental empleado para determinar la VOPcr (mecanotransductores), diámetro arterial braquial (ultrasonido modo B) y la velocidad sanguínea (señal Doppler).

te utilización de mecanotransductores de deformación (Motorola MPX 2050, Motorola Inc., Corporate 1303 E. Algonquin Road, Schaumburg, Illinois 60196, USA) al posicionarlos sobre la piel contigua a las arterias carótida y radial (hemicuerpo izquierdo): a) antes de la oclusión arterial (estado basal), y b) durante la liberación de la oclusión y el estado hiperémico resultante (registro de 4 minutos) (figura

1). Si bien fue tomado un registro de 4 minutos luego de liberar el brazalete ocluidor, el análisis contempló específicamente el minuto posisquemia de acuerdo a las recomendaciones vigentes de evaluación ultrasonográfica de la FE⁽⁴⁷⁾. Las señales fueron grabadas y analizadas *off-line* utilizando un software que permite el cálculo automatizado de la VOPcr tomando en cuenta la distancia (Δx) entre

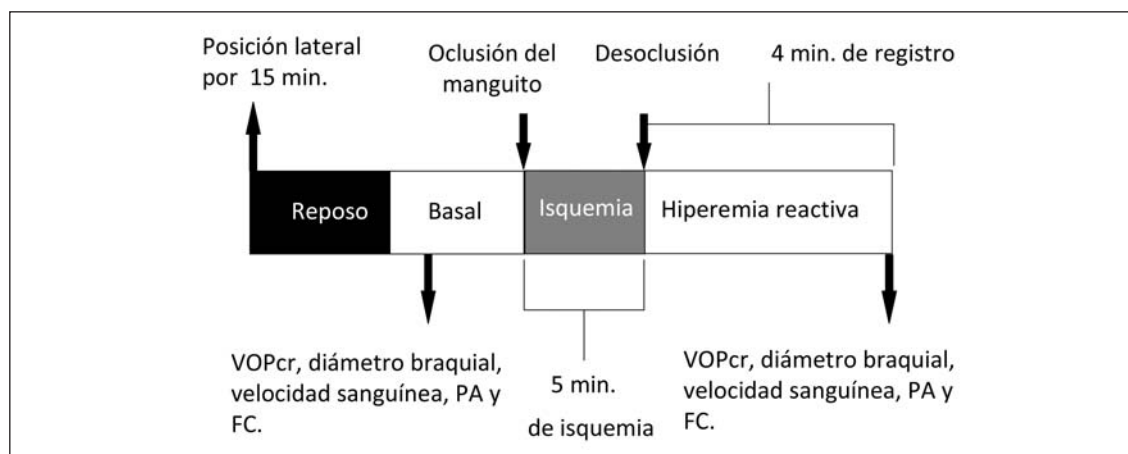


Figura 2. Diagrama que representa el protocolo experimental empleado para evaluar los cambios en los parámetros arteriales.

los sensores y el retraso temporal (Δt) entre el inicio de las ondas carotídeas y radiales. El algoritmo de detección del inicio de las ondas fue explicado en trabajos previos⁽⁵⁰⁾. El coeficiente de variación de las medidas de la VOPcr fue menor a 7% en todos los registros obtenidos. En la figura 2 se representa el protocolo de estudio.

Al mismo tiempo, la arteria braquial izquierda fue visualizada longitudinalmente sobre el pliegue del codo utilizando ultrasonido de alta resolución modo B (SonoSite, MicroMaxx, SonoSite Inc., 21919 30th Drive SE, Bothell, WA 98021, USA; sonda: L38e). Simultáneamente a la obtención de las señales carotídeas y radiales (descritas previamente), se registraron videos de la arteria braquial. El diámetro arterial braquial fue obtenido mediante un algoritmo automatizado de análisis al procesar cada imagen digitalizada *off-line* de la secuencia de imágenes del video almacenado⁽⁵¹⁾.

A su vez, se utilizó el modo Doppler para obtener la velocidad del flujo sanguíneo arterial en condiciones basales y en intervalos específicos durante el período postoclusivo. La velocidad sanguínea, mediante la tasa de cizallamiento (*ver más adelante*) fue utilizada para determinar y caracterizar el estímulo endotelial. Todos los registros fueron realizados por los mismos operadores, entrenados en la realización de estos estudios.

Análisis de datos

Los determinantes principales de la VOP son el diámetro arterial diastólico (DD) y el módulo elástico (E), según lo expresa la ecuación de Moens y Korteweg⁽⁵²⁾:

$$VOP = \sqrt{\frac{E \cdot h}{DD \cdot \rho}}$$

(Ecuación 1)

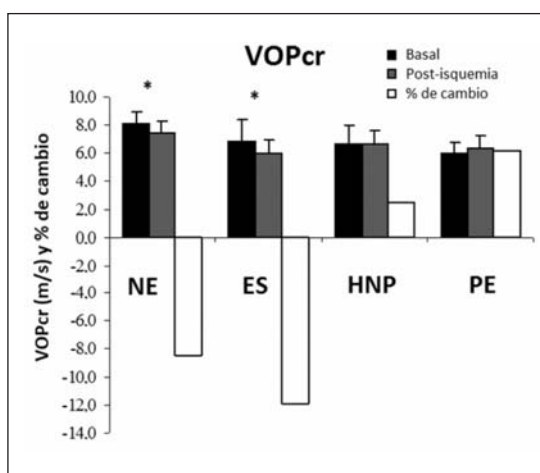


Figura 3. Niveles de VOPcr basales (Basal) y obtenidos después de la liberación de la oclusión arterial (posisquemia), y porcentaje de cambio entre ambos estados. NE- no embarazada. ES- embarazada sana. PE- preeclámpticas y HNP- hipertensión no proteinúrica. * Indica $p < 0,5$ (test de t pareado de Student de dos colas) comparando condiciones basales con niveles posoclusión.

donde ρ es la densidad sanguínea y h el espesor parietal. Los niveles de la VOPcr correspondientes a las condiciones basales y al minuto postoclusión fueron determinados al promediar cuatro latidos sucesivos. Posteriormente se calculó el porcentaje de cambio de la VOPcr al minuto postoclusión con respecto a los niveles basales, como se expresa a continuación:

$$\Delta VOPcr\% = \frac{VOPcr_{postoclusión} - VOPcr_{basal}}{VOPcr_{basal}} \times 100$$

(Ecuación 2)

Para analizar la FE tomando en cuenta la metodología convencional, se cuantificó la VMF como el cambio porcentual del DD considerando el estado basal y un minuto posisquemia:

Tabla 2. Cambios porcentuales de VMF, VOPcr y TC inducidos por el test de HR

Variable	NE	ES	PE	HNP
VMF%	7,1±2,3	9,4±6,4 ^a	4,4±2,6 ^{a,b}	5,9±6,0 ^a
ΔVOPcr%	-8,5±6,4	-11,9±8,8 ^a	6,2±8,3 ^{a,b}	2,2±7,9 ^{a,b}
TC%	184,3±85,8	195,2±93,1	178,0±66,8	166,5±89,2

a, b y c indica p < 0,05 comparando NE, ES y PE respectivamente. Se utilizó ANOVA + test de Bonferroni. NE: no embarazada; ES: embarazada sana; PE: preeclámpticas; HNP: hipertensión no proteinúrica.

$$VMF\% = \frac{DD_{postoclusión} - DD_{basal}}{DD_{basal}} \times 100$$

(Ecuación 3)

La velocidad media del flujo sanguíneo (Vm [cm/s]) y el diámetro medio arterial braquial (Dm) fueron utilizados para determinar la tasa de cizallamiento (TC), un estimador de la tensión de cizallamiento⁽⁷⁾. La TC fue obtenida para caracterizar el estímulo endotelial, de acuerdo con las siguientes ecuaciones:

$$TC = \frac{Vm}{Dm}$$

(Ecuación 4)

$$TC\% = \frac{TC_{postoclusión} - TC_{basal}}{TC_{basal}} \times 100$$

(Ecuación 5)

Estadística

Cambios en la PA, FC, VOPcr, diámetro arterial y TC fueron evaluados utilizando ANOVA + test de Bonferroni. Las diferencias porcentuales de cambio en las variables (VOPcr, diámetro arterial y TC), respecto del estado basal, se evaluaron mediante test de t pareado de Student de dos colas. Toda la información se presenta como media (M) ± desviación estándar (DE). Una p < 0,05 indica diferencia estadísticamente significativa.

Resultados

La información demográfica, consideraciones clínicas y analíticas se presentan en la tabla 1. No se encontraron diferencias en la edad de la paciente y en la edad gestacional entre los grupos de mujeres embarazadas. El peso y el IMC calculado fueron significativamente mayores en las embarazadas con hipertensión (PE y HNP) en comparación con las ES y las NE. Los niveles de PAS durante el estudio fueron diferentes solo en ES en comparación con HNP (p = 0,04). La proteinuria de 24 horas fue significativa (> 0,3 g / 24 h) únicamente en el grupo de PE, con los mayores niveles de ácido úrico obtenidos.

En todos los casos se generaron cambios hiperémicos significativos evaluados por TC% (p < 0,001),

sin encontrar diferencias significativas entre los diferentes grupos (p = 0,80) (tabla 2). No se produjeron cambios significativos en la FC y PA antes y luego de liberar la oclusión arterial, asegurando condiciones hemodinámicas estables durante el desarrollo del estudio (p = 0,30).

Cuando se analizan todos los grupos en términos de VMF%, todos mostraron dilatación de la arteria braquial con respecto a las condiciones basales. El grupo de ES alcanzó los máximos valores de dilatación en comparación con los restantes grupos (9,4 ± 6,4%; p < 0,05), mientras que los mínimos valores fueron obtenidos en el grupo conformado por PE (4,4 ± 2,6%; p < 0,04) y por HNP (5,9 ± 6,0%; p < 0,05). En el grupo control de NE se obtuvieron valores intermedios (7,1 ± 2,3%; p < 0,05) con respecto a los grupos de embarazadas sanas y con hipertensión. Cabe destacar, sin embargo, que al realizar la comparación de los valores obtenidos de dilatación entre los distintos grupos, el grupo de NE y de ES fueron significativamente distintos a PE (tabla 2).

Se observaron cambios en los niveles de VOPcr para los grupos de ES y NE. Al minuto de la liberación del brazalete ocluyente, los niveles de VOPcr de ES disminuyeron de 6,9 ± 1,5 a 6,0 ± 0,9 m/s, (p < 0,001) y de 8,1 ± 0,9 a 7,4 ± 0,9 m/s (p < 0,001) para NE. Sin embargo, no se observaron cambios significativos en los niveles de la VOPcr en el grupo conformado por HNP (6,6 ± 1,4 a 6,7 ± 1,0 m/s; p = 0,91), mientras que en PE se observó una tendencia al aumento de la rigidez arterial evaluada por la VOPcr (6,0 ± 0,7 a 6,4 ± 0,8 m/s; p = 0,10). La respuesta en porcentaje de cambio de VOPcr (ΔVOPcr%) con respecto a los niveles basales fue distinta al comparar ES con HNP (-11,9% versus +2,2%; p < 0,01) y con PE (-12 versus +6%; p < 0,01). Los grupos de embarazadas con estados hipertensivos (HNP y PE) no mostraron diferencias en ΔVOPcr% (p = 1,00) (tabla 2).

Discusión

Está claro que a pesar de que distintas variables clí-

nicas y de laboratorio poseen un valor clínico demostrado para establecer el riesgo de ocurrencia de preeclampsia (por ejemplo, variables demográficas, obstétricas y de laboratorio), el gran impacto en términos de mortalidad materno-fetal permanece elevado, lo que motiva el desarrollo de parámetros adicionales que colaboren en la predicción de la preeclampsia. En ese sentido, la tendencia actual es estudiar herramientas adicionales que permitan determinar tempranamente las alteraciones intrínsecamente relacionadas con los estados hipertensivos del embarazo, tal es el caso de la evaluación de la estructura y función arterial que complementaría al abordaje tradicional^(26,43,53). Por otra parte, existe también necesidad de contar con nuevas y mejores técnicas que permitan evaluar la FE de un paciente en concreto. En este contexto, el presente trabajo evalúa por vez primera la FE mediante los cambios en la rigidez arterial a través de la medición de la VOPcr en respuesta a la HR en mujeres embarazadas y con estados hipertensivos del embarazo, evidenciando que es posible aplicar esta técnica en estos sub-grupos de pacientes, y que la misma permite evidenciar las alteraciones en la FE que han sido descritas por otros autores.

La magnitud de la respuesta vasodilatadora (VMF) evaluada por ultrasonido encontrada en el grupo de ES en respuesta al EIT y a la HR fue similar a la reportada en estudios previos⁽¹⁶⁾. Al comparar las ES con las NE se evidenció un incremento en el porcentaje de vasodilatación (potenciación de la FE) como fue reportado anteriormente⁽¹⁷⁾. Contrariamente y como era de esperar, las embarazadas con hipertensión (PE y HNP) mostraron una vasodilatación atenuada con respecto a las ES y NE, coherente con grados mayores de disfunción endotelial y con reportes previos^(34,43,54). Sin embargo, este resultado no alcanzó significancia estadística en el grupo de HNP con respecto a ES, probablemente relacionado por la magnitud del desvío, debido al tamaño reducido de la muestra. Por otro lado, si bien la respuesta vasodilatadora tendió ser menor en las embarazadas con PE con respecto a las HNP, los valores no alcanzaron significancia estadística. Sin embargo, existe escasa información disponible que compare la respuesta vasodilatadora entre PE y la HNP. No obstante, el estudio prospectivo de Filho y colaboradores tampoco encontró diferencias en la VMF% de la arteria braquial en pacientes con dos formas distintas de estados hipertensivos, en concreto comparando preeclampsia pura y superimpuesta⁽⁴⁴⁾.

Al analizar la rigidez arterial en respuesta a la HR, el grupo de ES mostró un mayor cambio en términos de reducción de VOPcr en comparación con

las mujeres no embarazadas (controles), lo que es consistente también con una potenciación de la FE observada en el embarazo normal evaluada por otros métodos mencionados anteriormente^(16,17). Por otro lado, en las mujeres con estados hipertensivos del embarazo no solo se evidenció una conducta alterada, sino que en el grupo conformado por embarazadas con PE mostraron una tendencia al aumento de la rigidez arterial al minuto luego de la liberación de la oclusión arterial. Incluso, como era de esperar, los cambios de la VOPcr% en PE tendieron a ser mayores en comparación con HNP, indicando probablemente un mayor grado de severidad de la disfunción endotelial. Este punto se encuentra en consonancia con los niveles encontrados de ácido úrico, que si bien no se evidenciaron aumentos francos en los grupos estudiados, las embarazadas con PE constituyó el grupo que presentó los mayores niveles. El aumento de las concentraciones de ácido úrico en sangre implica, entre otros factores, un incremento en la actividad de la xantina oxidasa plasmática y una disminución de los sistemas amortiguadores antioxidantes⁽⁵⁵⁾, relacionada con un incremento en el estrés oxidativo resultante y disfunción endotelial⁽⁵⁶⁾.

Como se mencionó anteriormente y según lo ilustra la ecuación Moens y Korteweg⁽⁵²⁾, la VOP está determinada principalmente por el diámetro arterial y el módulo elástico. Si los cambios hiperémicos en la VOPcr en PE y HNP siguieran solo a los cambios de diámetro arterial (VMF), los cambios obtenidos en la VOPcr mostrarían igual comportamiento al cambio geométrico (cambio de diámetro). Sin embargo, según los valores obtenidos en los grupos de embarazadas con hipertensión, se evidenció una disociación entre las dos variables estudiadas, con un aumento en el diámetro arterial (evaluado por VMF%, que determinaría una disminución de la VOPcr) sin cambios significativos en los niveles de VOPcr (o incluso una tendencia al aumento en PE) durante el período postoclusión. Esta discordancia entre el comportamiento de los parámetros estudiados en respuesta a la HR indicaría un incremento en el módulo elástico paralelo a los cambios en el diámetro arterial, evidenciando, por tanto, un comportamiento recíproco simultáneo de las propiedades de la pared arterial en respuesta a la HR.

Cabe destacar que variables como edad, edad gestacional, niveles basales de VOPcr y PA fueron similares entre los grupos de embarazadas, eliminando potenciales factores de confusión en el análisis. Por otro lado, todos los participantes mostraron un incremento en la velocidad sanguínea con respecto a las condiciones basales inmediatamente luego de liberar la oclusión (estímulo endotelial), sin

diferencias significativas entre los distintos grupos de estudio. Las diferencias en el peso y el IMC encontradas (PE y HNP versus ES) pueden reflejar retención de Na⁺ y H₂O por la sobrecarga hemodinámica de la condición hipertensiva y así como un estado de sobrepeso/obesidad asociado. Por tanto, las diferencias de reactividad vascular inducidas por HR y el EIT, encontradas entre los diferentes grupos de estudio evaluados tanto por la VMF como por los cambios de la VOPcr, representarían alteraciones intrínsecas de las respuestas vasculares asociadas a disfunción endotelial, probablemente consecuentes al estado hipertensivo del embarazo y a otros factores de riesgo CV reconocidos, como es el incremento del IMC.

La respuesta arterial alterada al incremento del flujo sanguíneo en un territorio vascular concreto (arteria braquial), sin la reducción en la rigidez arterial concomitante, o incluso con aumentos en algunas pacientes con preeclampsia, podría tener consecuencias fisiológicas hemodinámicas importantes. En primer lugar, este comportamiento alterado podría representar una disminución de la reserva vasodilatadora, principalmente relacionada con disfunción endotelial, como ocurre en otras circunstancias fisiopatológicas⁽⁵⁷⁾, que implicaría una incapacidad del sistema arterial de la paciente gestante de realizar ajustes apropiados frente a cambios hemodinámicos de corto plazo (por ejemplo, ejercicio, cambios posturales, etcétera) e incluso frente a demandas determinadas más a largo plazo por el propio embarazo (crecimiento fetal normal). A su vez, la alteración en la capacidad de respuesta o de adaptación a cambios hemodinámicos podría explicar también otras alteraciones cardiovasculares funcionales encontradas en la preeclampsia, como es un aumento en la poscarga ventricular izquierda y disfunción diastólica ventricular izquierda relacionada con disfunción endotelial, encontrada por otros autores⁽⁵⁸⁾.

Finalmente, resta evaluar si la incorporación de la información adicional aportada por estudios funcionales como la del presente trabajo, que utiliza la VOPcr en el contexto del test de HR, evaluando la reserva funcional o capacidad de respuesta del sistema vascular además de variables basales, en modelos multiparamétricos de predicción (que incluye variables clínicas clásicas, obstétricas y de laboratorio, etcétera⁽²⁶⁾), es capaz de mejorar la predicción de la ocurrencia de la preeclampsia y, por tanto, alterar el manejo clínico de las pacientes.

Conclusión

Las embarazadas cursando hipertensión gestacional mostraron una respuesta vascular alterada a la

EIT/HR en comparación con las embarazadas sanas y no embarazadas (controles). Este comportamiento alterado podría representar una disminución de la reserva vasodilatadora, evidenciado comparativamente por ambos parámetros estudiados (VMF y VOPcr), principalmente relacionada con disfunción endotelial.

La función endotelial puede ser evaluada por medio de la utilización de los cambios de la VOPcr en respuesta a la isquemia transitoria del antebrazo en mujeres embarazadas. El análisis de la VOPcr podría tener un rol potencial en la evaluación del embarazo para estudiar la función endotelial con aplicación clínica en la predicción de la hipertensión inducida por el embarazo y preeclampsia.

Abreviaturas

CV: cardiovascular; DD: diámetro arterial diastólico; DE: desviación estándar; DFE: disfunción endotelial; Dm: diámetro arterial medio; Δt: diferencia de tiempo; ΔVOPcr%: porcentaje de cambio de la VOPcr basal versus postisquemia; Δx: diferencia de distancia; E: módulo elástico; EIT: estímulo isquémico transitorio; ES: embarazadas sanas; FC: frecuencia cardíaca; FE: función endotelial; h: espesor parietal; HNP: hipertensas sin proteinuria; HR: hipermia reactiva; IMC: índice de masa corporal; L-NMMA: inhibidor de la sintasa de ON endotelial; M: media muestral; NE: mujeres no embarazadas; ON: óxido nítrico; ρ: densidad sanguínea; PA: presión arterial; PE: preeclámpticas; RVS: resistencia vascular sistémica; TC: tasa de cizallamiento; TC%: porcentaje de cambio de la TC basal versus postisquemia; Vm: velocidad media del flujo sanguíneo; VMF: vasodilatación mediada por flujo; VOP: velocidad de la onda del pulso; VOPcr: velocidad de la onda del pulso carótido-radial

Bibliografía

1. **WHO.** Risking death to give life. Geneva: World Health Organization; 2005.
2. **Roberts JM, Hubel CA.** The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta.* 2009; 30 (Suppl. A): S32-7.
3. **Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al.** Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 340: 1111-1115, 1992.
4. **Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, et al.** Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 91:1314-1319, 1995.

5. **Naka KK, Tweddel AC, Doshi SN, Goodfellow J, Henderson AH.** Flow-mediated changes in pulse wave velocity: a new clinical measure of endothelial function. *Eur Heart J.* 2006 Feb; 27 (3): 302-309.
6. **Torrado J, Bia D, Zócalo Y, Farro I, Farro F, Valero M, et al.** Carotid-radial pulse wave velocity as a discriminator of intrinsic wall alterations during evaluation of endothelial function by flow-mediated dilatation. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2011;2011: 6458-61.
7. **Pyke KE, Dwyer EM, Tschakovsky ME.** Impact of controlling shear rate on flow-mediated dilation responses in the brachial artery of humans. *J Appl Physiol.* 2004 Aug;97(2):499-508.
8. **Torrado J, Bia D, Zocalo Y, Valls G, Lluberás S, Craiem D, et al.** Reactive hyperemia-related changes in carotid-radial pulse wave velocity as a potential tool to characterize the endothelial dynamics. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2009; 2009:1800-3.
9. **Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al.** Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J.* 2006 Nov;27(21):2588-605.
10. **Mancia G, Laurent S, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Burnier M, Caulfield MJ, et al.** Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document. *J Hypertens.* 2009 Nov;27(11): 2121-58.
11. **Kinlay S, Creager MA, Fukumoto M, Hikita H, Fang JC, Selwyn AP, et al.** Endothelium-derived nitric oxide regulates arterial elasticity in human arteries in vivo. *Hypertension.* 2001;38(5): 1049-1053.
12. **Doshi SN, Naka KK, Payne N, Jones CJ, Ashton M, Lewis MJ, et al.** Flow-mediated dilatation following wrist and upper arm occlusion in humans: the contribution of nitric oxide. *Clin Sci (Lond)* 101: 629-635, 2001.
13. **Kamran H, Saliccioli L, Ko EH, Qureshi G, Kazmi H, Kassotis J, et al.** Effect of reactive hyperemia on carotid-radial pulse wave velocity in hypertensive participants and direct comparison with flow-mediated dilation: a pilot study. *Angiology.* 2010 Feb-Mar;61(1):100-6.
14. **Phippard AF, Horvath JS, Glynn EM.** Circulatory adaptation to pregnancy: serial studies on haemodynamics, blood volume, renin and aldosterone in the baboon (*Papiohamadryas*). *J Hypertens* 1986; 4: 773-9.
15. **Morton JS, Davidge ST.** Arterial Endothelium-Derived Hyperpolarisation: Potential Role in Pregnancy Adaptations and Complications. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2012 Nov 22.
16. **Dørup I, Skajaa K, Sørensen KE.** Normal pregnancy is associated with enhanced endothelium-dependent flow-mediated vasodilation. *Am J Physiol.* 1999 Mar;276(3 Pt 2):H821-5.
17. **Savvidou MD, Kametas NA, Donald AE, Nicolaides KH.** Non-invasive assessment of endothelial function in normal pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000 Jun;15(6):502-7..
18. **National Collaborating Centre for Women's and Children's Health.** Hypertension in pregnancy. The management of hypertensive disorders during pregnancy. London (UK): National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE); 2010 Aug. 46 p. (Clinical guideline; no. 107).
19. **Morris NH, Eaton BM, Dekker G.** Nitric oxide, the endothelium, pregnancy and pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103: 4-15.
20. **Poston L.** Endothelial dysfunction in pre-eclampsia. *Pharmacol* 2006;58 Suppl:69-74.
21. **Tang LC, Kwok AC, Wong AY, Lee YY, Sun KO, So AP.** Critical care in obstetrical patients: an eight-year review. *Chin Med J (Engl)* 1997; 110(12): 936-41.
22. **Gardosi J, Kady SM, McGeown P, Francis A, Tonks A.** Classification of stillbirth by relevant condition at death (ReCoDe): population based cohort study. *BMJ* 2005; 331(7525):1113-7.
23. **Lams JD, Goldenberg RL, Mercer BM, Moaward A, Thom E, Meis PJ.** The Preterm Prediction Study: recurrence risk of spontaneous preterm birth. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178:1035-40.
24. **Meads CA, Cnossen JS, Meher S, Juarez-Garcia A, ter Riet G, Duley L, et al.** Methods of prediction and prevention of preeclampsia: systematic reviews of accuracy and effectiveness literatura with economic modelling. *Health Technol Assess* 2008; 12(6):iii-iv, 1-270.
25. **Maternal and Child Health Research Consortium.** Confidential enquiry into stillbirths and deaths in infancy: 8th annual report, 1 January-31 December 1999. London: Maternal and Child Health Research Consortium; 2001.
26. **Scazzocchio E, Figueras F.** Contemporary prediction of preeclampsia. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2011 Apr;23(2):65-71.
27. **Duley L, Henderson-Smart DJ, Meher S, King JF.** Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2007;18(2)CD004659.
28. **Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M.** World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2004; 104:1367-1391.

29. **Nicolaides KH, Bindra R, Turan OM, Chefetz I, Sammar M, Meiri H, et al.** A novel approach to first-trimester screening for early preeclampsia combining serum PP-13 and Doppler ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006;27:13-17.
30. **Zwahlen M, Gerber S, Bersinger NA.** First trimester markers for preeclampsia: placental vs. non-placental protein serum levels. *Gynecol Obstet Invest* 2007;63:15-21.
31. **Spencer K, Cowans NJ, Nicolaides KH.** Low levels of maternal serum PAPP-A in the first trimester and the risk of pre-eclampsia. *Prenat Diagn* 2008;28:7-10.
32. **Papageorghiou AT, Yu CK, Erasmus IE, Cuckle HS, Nicolaides KH.** Assessment of risk for the development of pre-eclampsia by maternal characteristics and uterine artery Doppler. *BJOG* 2005; 112(6):703-9.
33. **Harrington K, Carpenter RG, Goldfrad C, Campbell S.** Transvaginal Doppler ultrasound of the uteroplacental circulation in the early prediction of pre-eclampsia and intrauterine growth retardation. *Br J Obstet Gynaecol* 1997;104:674-81.
34. **Brandão AH, Cabral MA, Leite HV, Cabral AC.** Endothelial function, uterine perfusion and central flow in pregnancies complicated by Preeclampsia. *Arq Bras Cardiol.* 2012 Oct;99(4):931-5.
35. **Savvidou MD, Hingorani AD, Tsikas D, Frölich JC, Vallance P, Nicolaides KH.** Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet* 2003; 361(9368): 1511-7.
36. **Roberts JM, Taylor RN, Goldfien A.** Clinical and biochemical evidence of endothelial cell dysfunction in the pregnancy syndrome preeclampsia. *Am J Hypertens* 1991;4:700-8.
37. **Ross R.** Atherosclerosis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984;6 Suppl 4:S714-9.
38. **Yeboah J, Crouse JR, Hsu FC, Burke GL, Herrington DM.** Brachial flow-mediated dilation predicts incident cardiovascular events in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Circulation* 2007;115(18):2390-7.
39. **Sitges M.** Facts and fiction about endothelial function: a new tool for the clinician?. *Rev Esp Cardiol* 2003;56(2):121-3.
40. **Ras RT, Streppel MT, Draijer R, Zock PL.** Flow-mediated dilation and cardiovascular risk prediction: A systematic review with meta-analysis. *Int J Cardiol* 2012 Oct 4. pii: S0167-5273(12)01153-9. [Epub ahead of print].
41. **Moreau KL, Hildreth KL, Meditz AL, Deane KD, Kohrt WM.** Endothelial Function Is Impaired across the Stages of the Menopause Transition in Healthy Women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Dec;97(12):4692-700.
42. **Lau CS, Cheung T.** Should clinicians start measuring flow mediated dilation response in patients with systemic lupus erythematosus? *J Rheumatol* 2011;38(7):1231-3.
43. **Takase B, Goto T, Hamabe A, Uehata A, Kuroda K, Satomura K, et al.** Flow-mediated dilation in brachial artery in the second half of pregnancy and prediction of pre-eclampsia. *J Hum Hypertens* 2003;17(10):697-704.
44. **Filho EV, Mohr C, Filho BJ, Gadonski G, Paula LG, Antonello IC, et al.** [Flow-mediated dilatation in the differential diagnosis of preeclampsia syndrome]. *Arq Bras Cardiol* 2010;94(2):182-6, 195-200, 185-9.
45. **Bots ML, Westerink J, Rabelink TJ, de Koning EJ.** Assessment of flow-mediated vasodilatation (FMD) of the brachial artery: effects of technical aspects of the FMD measurement on the FMD response. *Eur Heart J.* 2005 Feb;26(4):363-8.
46. **Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, et al.** Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011;300(1):H2-12.
47. **Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al.** Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(6):1082.
48. **Stoner L, Young JM, Fryer S.** Assessments of arterial stiffness and endothelial function using pulse wave analysis. *Int J Vasc Med* 2012;2012:903107.
49. **Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, Chowienczyk P, Cruickshank JK, De Backer T, et al.** Artery Society; European Society of Hypertension Working Group on Vascular Structure and Function; European Network for Noninvasive Investigation of Large Arteries. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J Hypertens* 2012;30(3):445-8.
50. **Torrado J, Farro I, Bia D, Zocalo Y, Valls G, Valero M, et al.** Levels and rates of change in carotid-radial pulse wave velocity associated with reactive hyperaemia: Analysis of the dependence on transient ischemia length. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2010;2010:2865-8.
51. **Craiem D, Chironi G, Simon A, Levenson J.** New assessment of endothelium-dependent flow-mediated vasodilation to characterize endothelium dysfunction. *Am J Ther.* 2008 Jul-Aug;15(4):340-4.

52. **Caro CG, Pedley JG, Schroter RC, Seed WA.** The Mechanics of the Circulation. Oxford, UK: Oxford University Press, 1978:281.
53. **Kaihura C, Savvidou MD, Anderson JM, McEniery CM, Nicolaides KH.** Maternal arterial stiffness in pregnancies affected by preeclampsia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009 Aug;297(2):H759-64.
54. **Cockell AP, Poston L.** Flow mediated vasodilation is enhanced in normal pregnancy but reduced in pre-eclampsia. *Hypertension* 1997; 30: 247-51.
55. **Yildirim A, Altinkaynak K, Aksoy H, Sahin YN, Akcay F.** Plasma xanthine oxidase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities and uric acid levels in severe and mild pre-eclampsia. *Cell Biochem Funct.* 2004 Jul-Aug;22(4):213-7.
56. **Khosla UM, Zharikov S, Finch JL, Nakagawa T, Roncal C, Mu W, et al.** Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. *Kidney Int.* 2005; 67(5): 1739-42.
57. **Kubo SH, Rector TS, Bank AJ, Williams RE, Heifetz SM.** Endothelium-dependent vasodilation is attenuated in patients with heart failure. *Circulation* 1991;84:1589-96.
58. **Tyldum EV, Backe B, Støylen A, Slørdahl SA.** Maternal left ventricular and endothelial functions in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2012 May;91(5):566-73.