



Preeclampsia y desequilibrio del estado óxido-reducción. Papel de los antioxidantes

Jesús Duarte Mote,* Rogelio F Espinosa López,** Salvador Díaz Meza,*** Graciela Sánchez Rojas,**** Víctor Enrique Lee Eng Castro,¹ Itzel Alejandra Díaz Cruz²

RESUMEN

La hipertensión arterial complica 5 a 10% de los embarazos y es la mayor causa de morbilidad y mortalidad materno-infantil. La preeclampsia es un problema hipertensivo del embarazo cuyas características sobresalientes son la implantación superficial y la inadecuada perfusión placentaria que está unida al aumento del estrés oxidativo. Los antioxidantes son importantes para mantener la integridad celular en un embarazo normal, al inhibir las reacciones de peroxidación y con ello proteger las enzimas, proteínas y células de la destrucción por peróxidos.

Palabras clave: preeclampsia, vitamina C y E, óxido nítrico, estrés oxidativo.

ABSTRACT

Hypertension complicates 5 to 10% of pregnancies and is a major cause of maternal and neonatal morbidity and mortality. Pre-eclampsia is a hypertensive pregnancy disorder characterized by superficial implantation and inadequate placental perfusion that has been linked to increased oxidative stress. Antioxidants are important to maintain cell integrity in normal pregnancies, by inhibiting peroxidation reactions, and thus protecting enzymes, proteins and cells of peroxide destruction.

Key words: pre-eclampsia, vitamin C and E, Nitric oxide, oxidative stress.

La preeclampsia complica, aproximadamente, 3 a 7% de todos los embarazos y sigue siendo una de las principales causas de muerte materno-infantil en todo el mundo.¹ Su causa se desconoce; sin embargo, la hipoperfusión placentaria y la disfunción endotelial conforman los dos hallazgos constantes que explican el curso de la enfermedad.^{2,3} El

proceso de invasión normal del sincitiotrofoblasto, que ocurre entre el día 12 y 15 de la implantación (proceso llamado placentación), crea un sistema placentario de alta capacidad y baja resistencia. Cuando se padece preeclampsia esa invasión no es adecuada y se conforma un sistema de baja capacidad y alta resistencia, con un estado de hipoperfusión placentaria crónica y sostenida.

Uno de los principales productos del endotelio es el óxido nítrico, que se encarga de mantener un estado de vasodilatación sistémica. Es el responsable de la disminución de las resistencias periféricas que se observan durante el embarazo normal.⁴ Uno de los principales hallazgos de la lesión endotelial y su consecuente disfunción es la alteración de la producción-disposición de óxido nítrico, que hace que aumenten las resistencias periféricas, la presión arterial sistémica y la sensibilidad a vasopresores.³⁻⁵

En la actualidad se conocen varias rutas fisiopatológicas que explican los hallazgos encontrados en la preeclampsia; sin embargo, la disfunción endotelial conforma un punto en común a todas estas vías. La disfunción endotelial tiene como características sobresalientes: alteraciones en la producción-disposición de óxido nítrico con alteraciones asociadas con el equilibrio de óxido-reducción (potencial Redox).⁴

* Jefe de la Unidad de Cuidados Intensivos.

*** Jefe de la División de Medicina Interna.

**** Enfermera especialista en Terapia Intensiva. Unidad de Cuidados Intensivos.

¹ Jefe de la Unidad de Cuidados Intermedios.

² Residente de tercer año de la Especialidad de Ginecología y Obstetricia.

Hospital General Dr. Nicolás San Juan, ISEM.

** Jefe del servicio de Medicina Interna, Hospital Central Norte PEMEX.

Correspondencia: Dr. Jesús Duarte Mote.

E-mail: jesusdm3@yahoo.com.mx

Recibido: julio, 2008. Aceptado: agosto, 2008.

Este artículo debe citarse como: Duarte MJ, Espinosa LRF, Díaz MS, Sánchez RG y col. Preeclampsia y desequilibrio del estado óxido-reducción. Papel de los antioxidantes. Med Int Mex 2008;24(6):407-13.

La versión completa de este artículo también está disponible en: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

Es indiscutible la participación de la placenta en la preeclampsia. La disminución de los lóbulos placentarios, la anormal maduración de los vellosidades terminales, la reducción en la masa del sincitiotrofoblasto, con relativo exceso de citotrofoblasto, además de los múltiples infartos placentarios (hallazgos que traducen hipoperfusión sostenida) soportan la función de la placenta en la preeclampsia (figura 1).

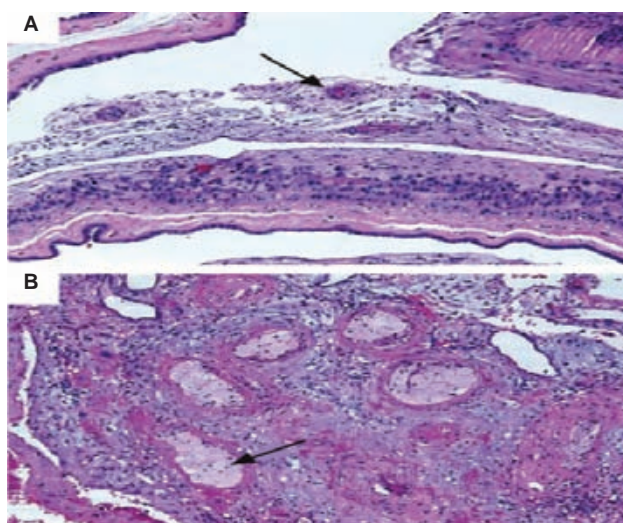


Figura 1. A y B. Datos de hipoperfusión sostenida que muestran la función de la placenta en la preeclampsia (modificada de Arun¹⁹).

La endoteliosis (lesión característica de la preeclampsia) es un hallazgo de disfunción endotelial observada en la preeclampsia. Las alteraciones en el metabolismo del óxido nítrico influyen en la evolución de la preeclampsia al afectar la perfusión no sólo placentaria sino también sistémica.^{3,4}

FUNCIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES

La función endotelial juega un papel central en el mantenimiento de la presión arterial. El endotelio secreta óxido nítrico, prostaciclina y endotelinas, que modulan el tono vascular. El óxido nítrico lo liberan los agonistas endoteliales, como la acetilcolina y la norepinefrina. También se libera cuando el endotelio se enfrenta a fuerzas que ocasionan estrés por cizallamiento.⁶

Cuando la producción-disposición de óxido nítrico está alterada, la respuesta hipertensiva vascular se hace más aguda, lo que ocasiona mayor lesión endotelial que cierra el círculo vicioso. La presión arterial alta (y el

estado de vasoconstricción) ocasiona estrés debido a las fuerzas de cizallamiento. Esta lesión endotelial promueve la expresión de marcadores inflamatorios, como las citoquinas, provoca que se expresen diferentes moléculas de adhesión endotelial, y mayor producción de endotelina 1. Estos cambios favorecen el aumento de la permeabilidad endotelial e inhiben la fibrinólisis, lo que culmina en la activación de la cascada de coagulación, que provoca la agregación plaquetaria que, a su vez, ocasiona los depósitos de fibrina que incrementan el proceso inflamatorio, perpetuando la lesión endotelial y el estado de vasoconstricción sistémico.^{6,7}

Se ha observado que el tabaquismo promueve, al principio, aumento en la producción de óxido nítrico. Las mujeres que fuman durante el embarazo tienen menos riesgo de preeclampsia (incluso ajustando el riesgo al índice de masa corporal, en relación con las mujeres que dejan de fumar antes del embarazo). Este hallazgo insiste en la participación del óxido nítrico en la evolución de la preeclampsia.^{7,8}

Las dificultades para producir óxido nítrico se explican por la disfunción endotelial y las alteraciones en su disposición debidas al desequilibrio de la óxido-reducción. Uno de los factores que llevan a la disfunción endotelial en la preeclampsia es el estrés oxidativo. Es ampliamente conocida la resistencia a la insulina que se padece durante el embarazo (sobre todo en los embarazos complicados con preeclampsia), lo que explica la elevación en las concentraciones de colesterol y triglicéridos, las alteraciones en el potencial Redox, la mayor oxidación de los lípidos que incrementan las alteraciones en el potencial Redox, que finalmente aumentarán la intensidad de peroxidación de lípidos.⁸⁻¹²

Los diferentes factores de riesgo cardiovascular comparten a la disfunción endotelial y el estrés oxidativo como característica común en todos ellos, lo que también sucede en la preeclampsia. La disfunción endotelial que sucede durante la preeclampsia, no desaparece con el término del embarazo. Se han identificado problemas en la generación de óxido nítrico endotelial, incluso 25 años después de que la paciente padeció preeclampsia. Así, las pacientes que padecieron preeclampsia tuvieron un riesgo dos veces mayor que las mujeres sin este antecedente, de morir por eventos cardiovasculares.^{11,12} La base inflamatoria de la disfunción endotelial explica la mayor expresión de las moléculas de adhesión leucocitaria, situación que puede

limitarse con la toma de antioxidantes (vitaminas E, C y N acetil-cisteína, por ejemplo).^{8,9,12}

FISIOPATOLOGÍA

La disfunción endotelial ha ganado interés como anormalidad fundamental de la preeclampsia. Los factores de riesgo para padecer preeclampsia son similares a los factores de riesgo cardiovascular (diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica, obesidad, etc.) y se caracterizan por la coexistencia de disfunción endotelial. De hecho, en las arterias placentarias se han observado lesiones ateroescleróticas cuya patogénesis es similar a la arteriopatía arterosclerótica.

Aunque se han propuesto muchos marcadores para predecir la enfermedad (detección de factores antianangiogénicos, bajas concentraciones de calcio urinario o hiperinsulinemia) el decisivo traslape de estos marcadores en mujeres que padecen preeclampsia y en las que no la sufren, así como el valor predictivo positivo bajo de estas medidas para la enfermedad, los hacen de poco valor práctico.

Seongho y sus colaboradores⁹ encontraron que no todas las mujeres con altas concentraciones de sFlt-1 y bajas de PIGF resultan con preeclampsia, incluso la padecieron mujeres con concentraciones bajas de sFlt-1. Esto sugiere la coexistencia de otros factores que quizá también afectan el desarrollo y expresión de la enfermedad.

La preeclampsia es una alteración hipertensiva marcada por la implantación superficial y la inadecuada perfusión placentaria, que se ha vinculado con incremento del estrés oxidativo. Éste es un estado donde el sistema antioxidante natural falla en la eliminación de especies de oxígeno altamente reactivo (ROS) que incluyen, ion superóxido, intermediarios de radicales libres, como el hidroxilo y el peroxinitrilo, producidos por la reducción paramagnética del oxígeno. La producción de oxígeno altamente reactivo en los sistemas biológicos puede ocurrir por una variedad de mecanismos: durante el metabolismo aeróbico normal de la fosforilación mitocondrial, la activación de la NADP (H) oxidasa, la xantinoxidasa (XO) y el citocromo P450.

El óxido nítrico ha demostrado que tiene un papel fundamental en la preeclampsia. El metabolismo del óxido nítrico depende de un endotelio sano, y un estado de oxido-reducción local adecuado; de la coexistencia de

algunos metabolitos elaborados de forma natural, como los análogos metilados de la arginina, que funcionan como inhibidores endógenos de las tres isoformas de la NOS.^{6,7}

La dimetil arginina asimétrica (ADMA) y la N mono-metil-L-arginina (L-NMA) compiten con la L-arginina, que conforma el sustrato básico de la NOS. Sin embargo, las concentraciones plasmáticas de dimetil arginina asimétrica son diez veces superiores que las de la L-NMA y, por tanto, de mayor relevancia médica. En contraste, el análogo metilado de la arginina, la dimetil arginina simétrica, no compite con la L-arginina.

Durante la preeclampsia, las concentraciones plasmáticas maternas de dimetil arginina asimétrica son más altas.^{4,12-14} Savvidou y su grupo¹⁴ reportaron concentraciones elevadas de dimetil arginina asimétrica antecediendo a la aparición de la preeclampsia. Las concentraciones de dimetil arginina asimétrica fueron más altas durante las semanas 23-25 en mujeres que posteriormente tuvieron preeclampsia. Estas concentraciones también se encontraron elevadas en pacientes con resultado anormal del estudio Doppler de las arterias uterinas, incluidas las mujeres que posteriormente tuvieron restricción del crecimiento intrauterino en ausencia de preeclampsia (figura 2).

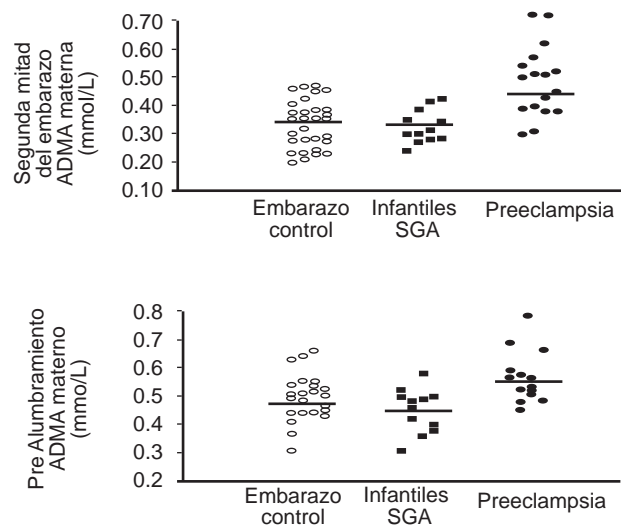


Figura 2. Las concentraciones plasmáticas de dimetil arginina asimétrica son mayores en la segunda mitad del embarazo y alumbramiento en mujeres con preeclampsia respecto de las control y con fetos menores para la edad gestacional. A. Concentraciones plasmáticas de dimetil arginina asimétrica en la segunda mitad del embarazo. B. Concentraciones plasmáticas de dimetil arginina asimétrica durante el prealumbramiento (modificado de Paul⁴; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$).

Estos hallazgos sugieren que las altas concentraciones de dimetil arginina asimétrica no están limitados a la preeclampsia y contribuyen a las condiciones fisiopatológicas de las alteraciones del embarazo caracterizadas por hipoperfusión placentaria.

La disfunción endotelial disminuye la tasa de síntesis de óxido nítrico, que a la postre perpetúa la lesión del endotelio. Las concentraciones elevadas de dimetil arginina asimétrica actúan como inhibidor endógeno de la NOS y contribuyen a la disfunción endotelial. Este mecanismo se observa también en la diabetes mellitus, en la hipercolesterolemia y en la obesidad.^{7-9,15} Además de alterar la síntesis de óxido nítrico, la dimetil arginina asimétrica promueve un desacoplamiento de la actividad enzimática de la NOS y, en vez de producir óxido nítrico, se convierte en una enzima generadora de superóxido.^{4,12}

La dimetil arginina asimétrica afecta la angiogénesis durante el embarazo y en la preeclampsia. Las acciones angiogénicas del VEGF, PlGF y el factor de crecimiento fibroblástico son influidas por el óxido nítrico.¹⁶⁻¹⁹ Estas acciones las afecta directamente la dimetil arginina asimétrica. La dimetil arginina asimétrica disminuye la expresión de los receptores para VEGF.

Es interesante especular acerca de la interacción entre factores proangiogénicos (VEGF, PlGF) y factores antiangiogénicos (ADMA, sFlt-1) en embarazos tempranos en relación con el riesgo de padecer preeclampsia. La causa de la elevación de las concentraciones de dimetil arginina en el embarazo se desconoce.^{4,12} La dimetil arginina deriva del catabolismo de proteínas que contienen residuos metil-arginina. Cuando las proteínas metiladas se catabolizan, sus residuos de arginina metilados se liberan a la circulación materna. La principal vía de degradación de la dimetil arginina es por medio de la dimetil-arginina-hidrolasa (DDAH), que se encuentra en dos isoformas (DDAH 1 y 2). La DDAH 2 se encuentra, principalmente, en el endotelio y la placenta. La disminución de la función de la dimetil-arginina-hidrolasa quizá sea la causa primaria de aumento en la cantidad de dimetil arginina.

El estrés oxidativo contribuye de manera muy importante en la fisiopatología de la preeclampsia. Este estrés oxidativo inhibe la función de la dimetil-arginina-hidrolasa, lo que hace que aumenten las concentraciones de dimetil arginina. En pacientes con preeclampsia, la función renal tiene problemas para eliminar la dimetil arginina. Esto significa que las altas concentraciones de

dimetil arginina se relacionan con la sobreproducción, disminución del catabolismo de ADMA y la menor excreción renal.^{4,11,12}

En pacientes con preeclampsia las concentraciones de dimetil arginina se elevan alrededor de la mitad del embarazo y permanecen en esa situación hasta el término del embarazo. Por sí misma, la dimetil arginina asimétrica afecta al endotelio e inhibe la angiogénesis. Los factores de riesgo cardiovascular tienen en común las alteraciones del endotelio con disfunción vascular y concentraciones elevadas de dimetil arginina asimétrica (hipertensión arterial sistémica, disfunción renal, inflamación, diabetes mellitus, hipercolesterolemia, estrés oxidativo, obesidad) y funcionan también como factores de riesgo asociado con la preeclampsia.^{4,13}

La peroxidación de lípidos y el estrés oxidativo ocasionan cambios en el endotelio con la consecuente infiltración de macrófagos. En las arterias espirales de mujeres con preeclampsia se han encontrado macrófagos, lo que soporta la existencia de lesión endotelial en este sitio (también se han encontrado señales de aterosclerosis en las arterias espirales).²⁻⁴

En la disfunción endotelial hay un proceso inflamatorio subyacente sistémico. El plasma de mujeres con preeclampsia es capaz de activar el factor nuclear kappa-beta que representa el factor iniciador del proceso inflamatorio sistémico como tal. Promueve la síntesis de citocinas (proteína quimiotáctica de los monocitos, IL -8, IL -6)⁹⁻¹¹ y la expresión de moléculas de adhesión endotelial (ICAM-1), lo que mantiene el proceso inflamatorio sistémico (figura 3).

Estos mismos mecanismos participan en la génesis de la aterosclerosis (también se observa en las arterias espirales de mujeres con preeclampsia).^{9,20}

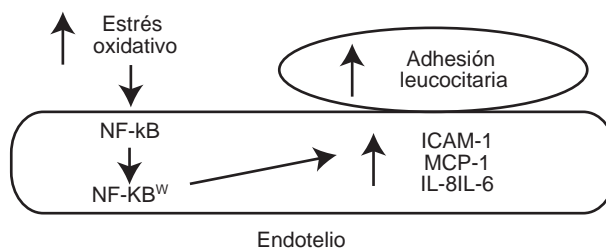


Figura 3. Mecanismos que desencadenan el aumento de la adhesión leucocitaria al endotelio en la preeclampsia (modificado de Seongho⁹).

Estudios con antioxidantes

La disfunción endotelial que se genera en la preeclampsia permanece debido a la coexistencia del estrés oxidativo. Esta alteración en el equilibrio de óxido reducción favorece la existencia de más radicales libres y menor disponibilidad de óxido nítrico.¹⁹

La vitamina E, además de quelar los radicales libres, es un potente inhibidor de la proteínasa (PKC). La proteínasa facilita la transcripción de la activación del factor nuclear kappa beta en proporción con el incremento en la expresión de la ICAM-1 y de las citocinas.^{9,20}

En diferentes escenarios clínicos se ha demostrado la utilidad de los antioxidantes, como sucede en el choque séptico, politraumatismo, quemaduras extensas, etc. Esta afirmación se fundamenta en el hecho de que promueven un estado redox adecuado, limitando la acción de radicales libres.

En las embarazadas se ha intentado el consumo de vitamina E y C como medida profiláctica de la preeclampsia, con resultados discordantes. Los estudios que soportan la eficacia de la administración de vitamina E y C para prevenir la preeclampsia son limitados. Los estudios publicados se centran en el consumo de antioxidantes por parte de la mujer embarazada con riesgo de preeclampsia.²⁰⁻²⁴

En un estudio con asignación al azar que incluyó a 283 mujeres con riesgo de preeclampsia establecido mediante estudio Doppler de las arterias uterinas anormal, o antecedente de preeclampsia, se encontró menor incidencia de ésta en el grupo que recibió antioxidantes. Además, los marcadores de disfunción endotelial y placentaria tuvieron una mejoría más evidente que el grupo de control.²¹ Sin embargo, otro estudio que incorporó a 109 pacientes no demostró ventaja alguna, aunque metodológicamente no es concluyente.²²

Otros estudios, lejos de demostrar ventajas con el tratamiento con antioxidantes encontraron más complicaciones (bajo crecimiento, acidemia fetal, hipertensión gestacional y mayor necesidad de antihipertensivos) sobre todo en pacientes con diabetes mellitus.^{23,24}

Para que el desarrollo normal de la placentación sea completo se necesita un medio rico en radicales libres locales. Estos hallazgos refieren la necesidad de un medio hipóxico inicial necesario para el desarrollo de la placenta

y del embrión. No obstante, este escenario no contradice la idea de la patogénesis de la preeclampsia; que es consecuencia de la toxicidad inducida por ROS originados durante un embarazo, que evoluciona con perfusión placentaria inadecuada.

En la preeclampsia, el continuo desarrollo del feto y la placenta a tensiones relativamente bajas de oxígeno engendra radicales libres y esto, junto con la insuficiencia enzimática reguladora, provoca la toxicidad por ROS.

Por lo que se refiere a la prescripción de tocoferol como antioxidante, se han encontrado funciones que limitan el éxito que se esperaría encontrar. Interfiere con la señalización para el ciclo celular, favorece la producción de citocinas y evita el cambio inmunológico necesario para la adecuada placentación (de Th1 a Th2), además de limitar la expresión de receptores del factor de necrosis tumoral alfa necesarios para completar la placentación. Estos hallazgos explican la falta de utilidad de la vitamina E como profiláctico de la preeclampsia.²⁴ Sin embargo, hasta la fecha no se ha intentado la indicación parenteral de antioxidantes con finalidad terapéutica en las pacientes con preeclampsia. En la actualidad, no se considera prudente la prescripción rutinaria profiláctica de antioxidantes.

CONCLUSIONES

Si partimos de que la lesión endotelial con alteraciones en la producción de óxido nítrico observadas en la preeclampsia es la causa no sólo de que se perpetúe la lesión, sino del origen de las complicaciones de este síndrome. Las alteraciones en la síntesis de óxido nítrico se deben a una alteración en el equilibrio de óxido-reducción. El restablecimiento de este equilibrio mediante la quelación de radicales libres puede constituir una opción más de tratamiento, pero quizá con un mecanismo de acción más directo en cuanto a restablecer el equilibrio perdido en el sistema redox. De acuerdo con los efectos adversos en cuanto a la placentación, es posible que la indicación tardía de antioxidantes, sobre todo del tipo de la Vitamina C por tener la facilidad de aplicación parenteral, tenga mayor utilidad al administrarse a mujeres embarazadas con fines terapéuticos y no profilácticos (figura 4).

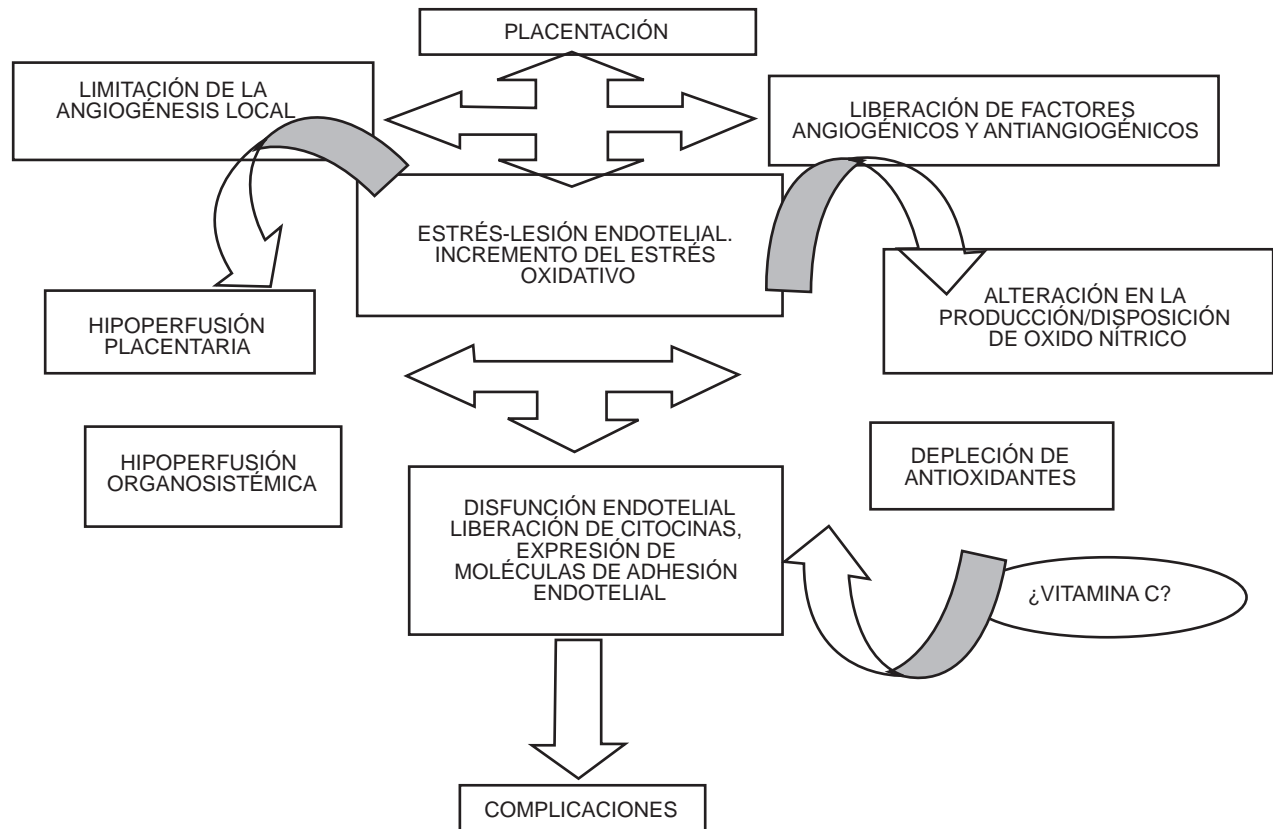


Figura 4. Fisiopatología de la preeclampsia.

REFERENCIAS

1. American College of Obstetricians and Gynecologists. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists: diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia: ACOG practice bulletin no. 33. *Obstet. Gynecol* 2002;99:159-61.
2. Sladek SM, Magness RR, Conrad KP. Nitric oxide and pregnancy. *Am J Physiol* 1997;272:R441-63.
3. Khalil RA, Granger JP. Vascular mechanisms of increased arterial pressure in preeclampsia: lessons from animal models. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002;283: R29-45.
4. Paul DS. Elevated asymmetric dimethylarginine concentrations precede clinical preeclampsia, but not pregnancies with small-for-gestational-age infants *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:112.e1-112.e7.
5. Fangxian L. The effect of over-expression of sFlt-1 on blood pressure and the occurrence of other manifestations of preeclampsia in unrestrained conscious pregnant mice. *Am J Obstet Gynecol* 2007;396e1-396e7.
6. Vaughn CJ, Delanty N. Hypertensive emergencies. *Lancet* 2000;356:411-7.
7. Aggarwal M. Hypertensive crisis: Hypertensive emergencies and urgencies. *Cardiol Clin* 2006;24:135-46.
8. Caren GS. Hypertension in pregnancy. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2006;35:157-71.
9. Seongho R. Increased leukocyte adhesion to vascular endothelium in preeclampsia is inhibited by antioxidants. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:400.e1-400.e8.
10. Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2032-37.
11. Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine: the Upper marker? *Circulation* 2004; 109:1813-8.
12. Holden DP, Fickling SA, Whitley GS, Nussey SS. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine, a natural inhibitor of nitric oxide synthase, in normal pregnancy and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:551-6.
13. Pettersson A, Hedner T, Milsom I. Increased circulating concentrations of asymmetric dimethyl arginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998;77:808-13.
14. Savvidou MD, Hingorani AD, Tsikas D, Frolich JC, Valleron P, Nicolaides KH. Endothelial dysfunction and raised plasma

- concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop preeclampsia. *Lancet* 2003;361:1511-7.
15. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004;350:672-83.
16. Cooke JP. NO and angiogenesis. *Atheroscler Suppl* 2003;4:53-60.
17. Fukumura D, Gohongi T, Kadambi A, et al. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:2604-9.
18. Teerlink T, Nijveldt RJ, de Jong S, van Leeuwen PA. Determination of arginine, asymmetric dimethylarginine, and symmetric dimethylarginine in human plasma and other biological samples by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 2002;303:131-7.
19. Arun J. Antioxidants and the Prevention of Preeclampsia -Unresolved Issues. *N Engl J Med* 2005;354(17):1841-43.
20. Carbonne B. Successful pregnancy with the use of nitric oxide donors and heparin after recurrent severe preeclampsia in a woman with scleroderma. *Am J Obstet Gynecol* 2007;e6-e7.
21. Chappell LC, Seed PT, Briley AL, et al. Effect of antioxidants on the occurrence of pre-eclampsia in women at increased risk: a randomized trial. *Lancet* 1999;354:810-6.
22. Beazley D, Ahokas R, Livingston J, Griggs M, Sibai BM. Vitamin C and E supplementation in women at high risk for preeclampsia: a double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:520-1.
23. Poston L, Briley AL, Seed PT, Kelly FJ, Shennan AH. Vitamin C and vitamin E in pregnant women at risk for pre-eclampsia (VIP trial): randomized placebo-controlled trial. *Lancet*; 2006;367:1145-54.
24. Subhasis B. Is vitamin E a safe prophylaxis for preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:1228-33.