

11217

44



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

**ENSAYO CLINICO DE SUPLEMENTACION DE
L-ARGININA COMO PREVENCION DE
DESARROLLO DE PREECLAMPSIA.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
E S P E C I A L I S T A E N
G I N E C O L O G I A Y O B S T E T R I C I A**

P R E S E N T A :
DR. DAVID SAMUEL FLORES MACÍAS
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA



Handwritten signature

DIRECCION DE ENSEÑANZA

PROFESOR TITULAR : DR. JOSÉ ROBERTO AHUED AHUED
ASESOR METODOLÓGICO: DR. FELIPE VADILLO ORTEGA

Handwritten signature



MEXICO, D.F.

TESIS CON
CALLE DE ORIGEN

2004

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

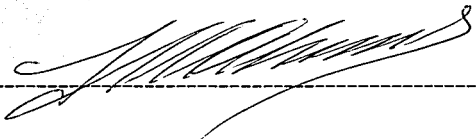
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

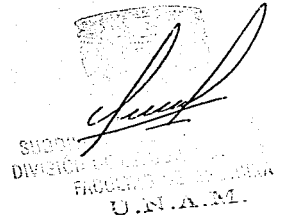
Atención a la Comunidad General de México, S. de C. v.
Unidad de Informática Electrónica y Datos
Calle de la mi trabajo 123456789
NOMBRE: David Flores
Macías
FECHA: 06 Oct. 2003
FIRMA: David Samuel Flores H.

DR ROBERTO AHUED AHUED.

Director General del Instituto Nacional de Perinatología.

Asesor clínico.





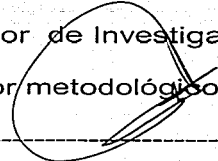
SUBDIR
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y PROMOCIÓN DE LA SALUD
U.N.A.M.

DR FELIPE VADILLO ORTEGA.

Doctor en ciencias Médicas

Director de Investigación del Instituto Nacional de Perinatología.

Asesor metodológico.



B

TESIS CON
PALMA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Por brindarme la bellísima oportunidad de ser instrumento de su paz.

A mis padres: Paz Eugenia y David:

Por enseñarme con hechos que la tenacidad y el amor son componentes indispensables en la vida.

A mis hermanos:

Por compartir conmigo los momentos importantes de la vida.

A mis maestros:

Por hacerme depositario de sus conocimientos.

A mis amigos:

Por permitirme hacerlos parte de mi familia y por hacer llevaderos los momentos difíciles e inolvidables los momentos felices.

A mis pacientes:

Por ser ellas la razón y el motor que me impulsó durante esta parte de mi formación.

C

TESIS CON
FOLIO DE ORIGEN

ÍNDICE:

ANTECEDENTES	2
JUSTIFICACIÓN	15
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	16
METODOLOGÍA	16
MATERIAL Y METODOS	23
PRUEBA PILOTO	26
PLAN DE ANÁLISIS	27
ASPECTOS ÉTICOS	30
MANEJO DE DATOS	31
COMPENSACIÓN	31
CONTROL DE CALIDAD	31
RESULTADOS	32
DISCUSIÓN	45
CONCLUSIONES	50
REFERENCIAS	53

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANTECEDENTES

La preeclampsia es un síndrome de origen desconocido, caracterizado por hipertensión, edema y proteinuria. Aparece de manera usual en el tercer trimestre del embarazo y ocurre de modo más frecuente en primigrávidas. La preeclampsia se puede complicar con condiciones que amenazan la vida de la embarazada e incluyen el desarrollo de convulsiones, insuficiencia hepática, falla renal y coagulopatía. La preeclampsia es una de las causas principales de morbilidad materna en todo el mundo (1,2) y en el caso de México, se ha reportado como la causa principal de muerte (25% de las muertes maternas) (3). También se relaciona con resultados perinatales pobres que afectan al producto y que obedecen a tasa alta de prematuros y a retraso en el crecimiento intrauterino. Es por lo anterior, que cualquier esfuerzo para disminuir la preeclampsia o sus complicaciones asociadas, podría repercutir en el ámbito de la salud materno infantil.

La información más reciente que existe en torno al origen de la preeclampsia, ha permitido señalar algunos defectos en la invasión del trofoblasto y en la remodelación de la arquitectura de las arterias espirales uterinas, que se manifiesta como aumento en la resistencia vascular local en la interfase uteroplacentaria (4). Lo anterior resulta en disminución de la perfusión uteroplacentaria debido a la imposibilidad de formar conductos sanguíneos de baja presión, que son indispensables para el intercambio adecuado. Se supone que esta condición, obliga a la placenta a liberar una serie de compuestos con acción primaria sobre el endotelio vascular y que resultan en vasoespasmo sistémico (5,6). Las evidencias que apoyan el daño endotelial incluyen incremento de inhibidor del activador de plasminógeno-1 (PAI-1), que es sintetizado casi exclusivamente en las células del endotelio y es un marcador molecular de la activación del endotelio vascular (7,8). Se acepta en general que algunas especies reactivas de oxígeno causan, al menos en parte, las anomalías

endoteliales mencionadas (9). Estos compuestos tóxicos pueden ser derivados de la peroxidación de triacilglicéridos y de ácidos grasos no esterificados, ambos compuestos, han sido encontrados aumentados en el suero de pacientes con preeclampsia (10). Una característica central en la preeclampsia es la sensibilidad aumentada en las arteriolas a sustancias presoras, que se constituye en otra evidencia de la existencia de disfunción endotelial vascular (por ejemplo pérdida de vasodilatadores locales).

Oxido nítrico y preeclampsia

El NO es un vasodilatador potente derivado del endotelio vascular y participa de manera central en el control del flujo sanguíneo a los tejidos (11). La acción del NO sobre el músculo liso es mediado por guanosín monofosfato cíclico (cGMP), que resulta de la activación de la guanilato ciclasa por el NO. El NO se ha propuesto como un mediador central del tono miogénico y de la resistencia vascular en la circulación periférica (12) y en la circulación uterina (13,14,15). La concentración de cGMP en el plasma se incrementa durante el embarazo normal, pero no cuando se desarrolla preeclampsia (16,17). De manera adicional, se ha demostrado que la administración de hidralazina, un fármaco utilizado para tratar la hipertensión en el embarazo, incrementa la concentración sérica de cGMP, lo que indica la inducción de la ruta activada bajo condiciones normales por el NO.

El estrés producido por la presión aumentada en el interior de los vasos sanguíneos es un estímulo potente para producir vasodilatación arterial durante el embarazo y se ha demostrado que este tipo de vasodilatación se encuentra inhibido en vasos arteriales de mujeres con embarazos complicados por preeclampsia (18). Esta observación es consistente con los reportes en los que se señala que las mujeres con preeclampsia tienen capacidad reducida para producir NO (19,20,21). Facchinetti y cols (21) encontraron que la infusión intravenosa de L-arginina reduce la presión arterial en mujeres embarazadas, en asociación con concentraciones incrementadas de L-citrulina, lo que indica la

metabolización de la L-arginina por la NO sintetasa. La disminución en la presión sanguínea observada, fue mayor en mujeres con preeclampsia. En contraste con estas observaciones, Grunewald et al. (22) no encontraron disminución en la presión arterial en mujeres afectadas por preeclampsia a las que se dieron infusiones de L-arginina, a pesar de que sí se observó incremento en las concentraciones plasmáticas de cGMP. Este es el único reporte en la literatura que contradice los estudios en humanos y animales y que relacionan el metabolismo del NO con la patogénesis de la preeclampsia.

El papel regulatorio del NO sobre el flujo sanguíneo uteroplacentario podría ser más relevante que el que tienen sobre la circulación periférica (23). Los estudios *in vitro* en los que se ha utilizado perfusión doble de cotiledones placentarios sugiere que la reducción en la producción basal de NO provoca vasoconstricción fetoplacentaria que se traduce en hipoxia tisular (24). Este estudio ha sido corroborado por el hecho de que la infusión de L-arginina en mujeres con resistencia vascular incrementada en la circulación uteroplacentaria y asociada a retardo en el crecimiento intrauterino resulta en disminución significativa de la resistencia vascular uterina y que se correlaciona con marcadores de producción incrementada de NO (25).

El NO es un inhibidor potente de la activación plaquetaria. Las plaquetas expresan la NO sintetasa constitutiva y su actividad ha sido reportada como disminuida en la preeclampsia (26). La infusión de L-arginina en mujeres embarazadas disminuye la agregación plaquetaria, pero no cuando la mujer estaba afectada por preeclampsia (27). A pesar de que la L-arginina no reduce la agregación plaquetaria en el estudio mencionado, otros autores han propuesto la utilización de donadores de óxido nítrico para el tratamiento del síndrome HELLP, que es la complicación clínica más temida de la preeclampsia, en la que de modo característica existe plaquetopenia (28).

El bloqueo farmacológico de la síntesis de óxido nítrico en ratas preñadas, produce un cuadro parecido a la preeclampsia incluyendo hipertensión, proteinuria, trombocitopenia y retraso en el crecimiento intrauterino (29,30,31,32,33). Estos resultados también se han obtenido en simios (34).

La suplementación con L-arginina en la rata embarazada, normaliza los efectos de la inhibición de síntesis de NO por N-omega-nitro-L-arginina metil ester (L-NAME) sobre la presión arterial, proteinuria y restricción de crecimiento (34b).

Papel fisiológico de la L-arginina

La L-arginina es necesaria en el ciclo de la urea, para eliminar el amonio derivado del metabolismo de aminoácidos. También es precursor de diferentes poliaminas y es el donador del grupo amido para la síntesis de creatina en el músculo. De manera adicional, la L-arginina es el sustrato de la óxido nítrico sintetasa (NOS) (35). Se conocen al menos tres diferentes isoformas de la NOS e incluye a las formas constitutivas del endotelio (eNOS) y de las neuronas (nNOS) y a la forma inducible (iNOS), que se expresa en macrófagos y músculo liso (36,37). La isoforma que resulta de interés para este estudio es la eNOS. Sin embargo, la L-arginina puede contribuir a la producción de NO por cualquiera de las isoformas de la NOS, incluyendo las isoformas constitutivas presentes en las plaquetas y las isoformas inducibles presentes en las células mencionadas. La relevancia de la eNOS para explicar la hipertensión asociada al embarazo, se ha reforzado con el estudio del ratón knockout para eNOS y que se caracteriza por presencia de hipertensión y ausencia del factor endotelial de relajación (38). En este proyecto, se refiere a la NOS de manera genérica, dado que la L-arginina puede actuar como sustrato de cualquiera de las isoformas mencionadas.

La NO sintetasa endotelial tiene un Km para la L-arginina en el rango micromolar en condiciones in vitro, en donde se suplementa calcio y otros cofactores en condiciones fisiológicas. La concentración de L-arginina en plasma es suficiente para servir como sustrato de la NOS endotelial. La concentración normal de L-arginina en plasma se encuentra en el rango de 30 a 100 μM y la concentración intracelular, se eleva al rango mM en el endotelio. De este modo, es una conclusión que la concentración del aminoácido no es un factor limitante en la síntesis de NO. Esta conclusión se encuentra documentada en diferentes estudios de cinética enzimática in vitro y no toma en

cuenta la presencia de diferentes inhibidores competitivos endógenos de la NOS. Otros factores que pueden modificar la actividad enzimática están relacionados con patologías específicas o condiciones fisiológicas en las que de modo característico, la demanda por el aminoácido se encuentra aumentada. Lo anterior podría ser ejemplificado en condiciones de deficiencia en el consumo de proteína o en la desnutrición crónica, que se manifiestan en retraso en cicatrización de heridas o con impacto en el crecimiento (39). Tal y como se menciona abajo, el embarazo puede ser catalogado como una condición en la que podría presentarse un estado de deficiencia de arginina.

Inhibidores endógenos de la NOS

La dimetil arginina asimétrica (ADMA) es un inhibidor competitivo de la NOS (40). El ADMA se deriva del catabolismo de proteínas que contienen residuos de arginina metilada, que se encuentra especialmente en abundancia en las proteínas nucleares. La arginina metilada es excretada en la orina, pero también puede ser metabolizada por las dimetilarginina dimetilalmino hidrolasas (DDAH). La infusión de ADMA en la circulación periférica provoca vasoconstricción y su mecanismo de acción es indistinguible del de los inhibidores de la NOS mencionados arriba (por ejemplo L-NAME). La concentración normal de ADMA en plasma es de 1 μM , pero pueden encontrarse concentraciones de hasta 2 a 10 veces este valor en condiciones como la aterosclerosis, la hipertensión asociada a consumo de sal y la insuficiencia cardíaca congestiva. Estas tres condiciones patológicas han sido relacionadas con trastornos en la vasodilatación mediada por endotelio. Fickling, Chen, Holden y Pettersson et al.(41,42,43,44) han encontrado concentraciones incrementadas de ADMA en mujeres con preeclampsia. Los mecanismos que explican el incremento de ADMA en la circulación periférica de las mujeres con eclampsia no ha sido dilucidada, sin embargo, se ha sugerido que pueden estar relacionadas con actividad disminuida de la DDAH, que se afecta con el estrés oxidativo. De esta

manera, la concentración elevada de ADMA en la preeclampsia bien podría explicar la necesidad incrementada de L-arginina necesaria para mantener la síntesis normal de NO.

¿Es el embarazo una condición de deficiencia de arginina?

Durante años se ha supuesto que la demanda de arginina en el adulto puede ser cubierta por la síntesis endógena de éste aminoácido, que se encuentra a cargo del riñón. Sin embargo, este concepto se ha puesto en entredicho y se ha señalado que este aminoácido debería ser clasificado como semindispensable ya que su biodisponibilidad puede verse afectada por el estado metabólico (45,46). Visek en 1986(46) calculó que la dieta americana estándar (5400 mg de arginina/día) apenas alcanza para compensar las pérdidas metabólicas del aminoácido. De hecho, las dietas libres de arginina resultan en la caída abrupta en las concentraciones de arginina sérica. Es un hecho que las concentraciones séricas de arginina en el adulto dependen de manera directa del consumo en la dieta, así como de la modulación de las rutas metabólicas en las que se encuentra involucrada (47).

El embarazo puede inducir un estado de deficiencia relativa de arginina, lo que podría obedecer a diferentes factores, tales como la síntesis incrementada de NO, que contribuye a la vasodilatación sistémica observada en el embarazo(12). Esta síntesis incrementada de NO necesariamente condiciona incremento en el consumo del aminoácido, que se agregarán a la demanda específica del producto en crecimiento. El embarazo se caracteriza también por eliminación aumentada de ácido orótico en la orina, lo que constituye un indicador metabólico de deficiencia de ornitina y arginina en esta condición (48). De manera consistente con ésta observación, la concentración sérica de arginina se incrementa en el postparto inmediato (44). Anumba et al. (49), Todo lo anterior apunta a la posibilidad de que las limitaciones en la disponibilidad de la L-arginina durante el embarazo podrían estar relacionadas con producción disminuida de NO en la preeclampsia.

La arginina es indispensable para el desarrollo de la glándula mamaria y la lactación, en modelos animales experimentales (50,51). Por esta razón, es teóricamente posible que la deficiencia de arginina durante el embarazo pueda resultar en lactación inadecuada, que se puede remediar de manera muy sencilla, administrando arginina como suplemento (50).

Es posible encontrar literatura abundante sobre el papel que desempeña el estado de nutrición con el desarrollo de la preeclampsia. Mucha de esta literatura, que estableció asociaciones entre la calidad de la dieta y la enfermedad hipertensiva del embarazo, ha demostrado ser errónea, sin embargo, es muy común escuchar a los clínicos decir que la preeclampsia es una patología asociada a estados de malnutrición y es común también observar indicaciones de suplementación de la dieta de la embarazada, en especial en relación a las concentraciones disminuidas de proteína circulante (52). A pesar de que existen pocas evidencias de que soporten prevención del desarrollo de preeclampsia mediante manipulaciones de la dieta, algunos autores han enfatizado la utilidad del ajuste de la dieta para aliviar algunas de las manifestaciones secundarias de la enfermedad (Fraser, 1998). Hasta el momento, no existe ningún estudio clínico controlado, con poder estadístico suficiente, que examine el impacto de la suplementación de L-arginina en la incidencia de preeclampsia o sus complicaciones.

Efectos de la L-arginina en la hipertensión y la enfermedad renal

Existe suficiente información en modelos animales y en humanos que soporta el concepto de que la L-arginina podría tener un efecto benéfico en la hemodinamia y en la función renal de mujeres en riesgo de desarrollar preeclampsia o en aquellas que ya tienen instalada la enfermedad. La L-arginina tienen efectos modestos sobre la presión arterial o en la hemodinámica renal de sujetos (53). La infusión de L-arginina reduce la presión arterial y reduce la resistencia vascular renal (54,55). La administración oral de L-arginina (2 g) produce disminución en la presión arterial en sujetos con hipertensión leve de reciente diagnóstico en la primera semana de tratamiento (56). Estudios realizados en animales han mostrado que la L-arginina produce mejora en la hipertensión

capilar glomerular y normaliza la depuración de creatinina en modelos de uremia, insuficiencia renal inducida por mioglobina y en disfunción renal asociada al envejecimiento (57,58,59).

Administración de L-arginina a mujeres embarazadas

Existen varios reportes en la literatura en los que se ha administrado infusiones intravenosas de L-arginina (30 g) en mujeres embarazadas examinadas en ensayos clínicos endocrinológicos (60) y existen también algunas publicaciones que describen el uso de infusiones de L-arginina en ensayos clínicos relacionados con el parto pretérmino y la preeclampsia (25,61,22,27). Facchinetti et al. (61) demostraron que la infusión intravenosa de L-arginina reduce las contracciones uterinas que aparecen asociadas al parto pretérmino. Estos investigadores también utilizaron infusiones de L-arginina en mujeres con preeclampsia y en mujeres normales, en ambos casos lograron reducir la presión arterial materna y el efecto fue mayor en aquellas mujeres afectadas con eclampsia. Neri et al. (25) infundieron L-arginina en mujeres embarazadas complicadas con retraso en el crecimiento intrauterino y lograron incrementar la resistencia vascular uterina, con mejora de algunos parámetros hemodinámicos.

Los estudios de farmacocinética han mostrado que la administración de L-arginina a 0.1 g/kg por vía oral incrementa la cantidad de NO eliminado por vía respiratoria y de manera simultánea, se incrementa la concentración plasmática de L-arginina y nitrato (62). La biodisponibilidad de la L-arginina administrada por vía oral (6 g) es de 68% y la vida media de eliminación es de 80 minutos (63). Solamente del 30-44% de la L-arginina administrada es removida por la circulación esplácnica, dejando su metabolismo a otros tejidos (47).

Suplemento de L-arginina y el feto

En modelos animales y en un estudio clínico pequeño, se ha demostrado que los suplementos de L-arginina benefician al feto con riesgo de presentar restricción del crecimiento. Vosatka et. al. (64) reportó que el suplemento de L-arginina y no el de L-glicina, al ser administrado en el agua para

beber, previno la restricción del crecimiento fetal en ratas sujetas a hipoxia hipobárica. Lampariello y cols. (65) suministraron L-arginina en forma oral (6 g/día) a mujeres embarazadas que portaban fetos con retardo en el crecimiento de 30 semanas de gestación, y encontraron que éste retardo en crecimiento se corrigió en 32 de 43 mujeres tratadas.

Perfil de seguridad de la suplementación oral de la L-arginina.

La L-arginina es considerado como uno de los aminoácidos menos tóxicos y existe literatura relevante relacionada a la infusión intravenosa de L-arginina y de la administración oral de L-arginina a individuos normales, individuos con enfermedad cardiovascular e individuos con errores congénitos del metabolismo manifestados con citrulinemia. Las cantidades de L-arginina que se han utilizado son de entre 4-8 g/día a personas de la tercera edad y a niños de talla pequeña (66,67,68). Estas dosis fueron bien toleradas por niños hasta por un período de 6 meses. Es importante mencionar, que la literatura documenta que la L-arginina administrada en forma oral mejora la función vascular en individuos con aterosclerosis y enfermedad vascular periférica (69-75). La administración oral de L-arginina a sujetos con enfermedad cardiovascular no se ha asociado a ningún efecto secundario adverso, y se han reportado mejorías, tanto en la función celular endotelial, como en el desarrollo cardiovascular. Mientras que las infusiones intravenosas de arginina estimulan la liberación de insulina, glucagon y la hormona de crecimiento, la suplementación oral con 14 g de L-arginina/día por 12 semanas no tiene ningún efecto en las concentraciones de éstas hormonas (45).

La barra "HeartBar" como un vehículo para la suplementación de L-arginina.

En el presente estudio se suplementó la L-arginina en forma de un alimento médico conocido como "HeartBar." Un alimento médico puede definirse como un alimento formulado para el manejo dietético de una enfermedad o una condición para la cual se establecen requerimientos nutricionales

especiales. En los Estados Unidos, no se requiere de una prescripción médica para éste tipo de alimentos, pero la intención es que su uso sea bajo la supervisión de un médico. Cada "HeartBar" contiene 3.3 g de L-arginina, 10 g de proteína de soya, 25 g de hidratos de carbono, 2.5 g de grasa, lo cual resulta en un contenido energético de 180 calorías, y vitaminas (250 mg de vitamina C; 200 UI de vitamina E; 25 mg de niacina; 2 mg de vitamina B6; 4.8 µg de folato) (Tabla 1). Estudios realizados por el productor del alimento, Cooke Pharma, revelaron que las concentraciones plasmáticas de arginina alcanzan un pico 1 h después de la ingestión de una barra que contenía 3.3 g. de L-arginina. Algunos estudios recientes han establecido la eficacia de la L-arginina liberada de la "HeartBar" en mejorar la función celular endotelial y la capacidad cardiovascular en aterosclerosis y enfermedad arterial periférica (76a-d).

Datos de los archivos de Cooke Pharma demuestran que los adultos de edad intermedia con o sin diagnóstico de enfermedad coronaria, al ingerir dos barras "HeartBar" por día, usualmente experimentan una disminución de 5 a 10 mmHg en la presión arterial sistólica y diastólica.

Los investigadores del proyecto presente identificamos a estas barras "HeartBar" como el vehículo más adecuado para la suplementación de L-arginina en la propuesta de intervención por varias razones: 1) la disponibilidad de datos provenientes de ensayos clínicos demuestran una mejoría en la función endotelial y en la capacidad cardiovascular en individuos con aterosclerosis y enfermedad vascular periférica como se mencionó antes. 2) Estudios clínicos realizados durante los tres últimos años demuestran que la barra es muy segura. El efecto secundario mayor que fue reportado es el ablandamiento de las heces, lo cual se relaciona al contenido de fibra de las barras.

3) La barra está formulada con proteína de soya, que está enriquecida con arginina, así como con isoflavonas, las cuales tienen efectos benéficos potenciales sobre la salud cardiovascular. El componente nutrimental de la barra "HeartBar" es importante para la población del estudio, la cual

consume una dieta que es relativamente baja en proteínas pero alta en hidratos de carbono y grasa.

4) Las barras tienen un sabor agradable en contraste a la L-arginina que se toma en cápsulas, la cual suele causar irritación gástrica. 5) Las barras se almacenan a temperatura ambiente y no requieren condiciones ambientales especiales, con la excepción de evitar temperaturas extremas. 6) La fórmula de la barra es relativamente barata para producir. Esto puede resultar en que un producto como "HeartBar" pueda ser ampliamente utilizado en países en vías de desarrollo. 7) CookePharma ha aceptado preparar las barras "control" para el estudio propuesto, de acuerdo a las especificaciones del investigador, para que éstas tengan el mismo contenido de nutrimentos que la barra "activa.". El color, la consistencia, el sabor, y el empaque de las barras "control" fueron idénticos a los de la barra "activa."

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1

Contenido de la barra "HeartBar"

HeartBar™		
Porción	50 g	
Calorías	190	
Ingredientes	Cantidad	(%RD)
Grasa Total	2.5 g	
Saturada	0 g	
Polinsaturada	1.5 g	
Monoinsaturada	0.5 g	
Colesterol	0 mg	
Carbohidratos	25 g	
Totales		
Fibra Dietética	3 g	
Azúcares	15 g	
Sacarosa	5 g	
Proteína	10 g	
L-arginina	3.3 g	
Vitamina C	250 mg	420 %
Vitamina E	200 UI	670 %
Niacina	25 mg	130 %
Vitamina B6	2 mg	100%
Vitamina B12	4.8 µg	80 %
Folato	200 µg	50 %

%RD= % de la recomendación diaria basada en dieta de 2,000 calorías

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

Contraindicaciones teóricas a la suplementación oral de L-arginina

Hay varias condiciones en donde la suplementación con L-arginina pudiera ser contraindicada, incluyendo el choque séptico, la enfermedad autoinmune activa, la retinopatía diabética y el cáncer. No existe información publicada que pruebe que la L-arginina pueda ser peligrosa en estas condiciones por lo que estas contraindicaciones potenciales se basan principalmente en la teoría. Se piensa que el NO medía la hipotensión asociada al choque séptico, por lo que brindar un sustrato adicional para la NO sintetasa pudiera exacerbar la hipotensión asociada. Los peroxinitratos han sido implicados en la patogénesis de la enfermedad autoinmune y, por lo tanto, la presencia de sustrato adicional pudiera provocar un mayor daño en el tejido. Las acciones angiogénicas del factor de crecimiento endotelial vascular parece que son mediadas en parte por el NO, y la facilitación de la angiogénesis pudiera empeorar la retinopatía en diabéticos o promover crecimiento tumoral en sujetos con cáncer. La mayoría de los estudios preclínicos y clínicos reportan efectos benéficos de la L-arginina sobre el sistema inmune con aumento en la actividad y en el número de células T citotóxicas (39). El interés reciente en el uso de L-arginina como una terapia para enfermedades en donde el aumento de la producción de NO parece ser benéfico ha suscitado conflictos sobre las consecuencias a largo plazo de la suplementación de la L-arginina en la carcinogénesis. Sin embargo, no se han publicado estudios a largo plazo sobre los efectos del uso de L-arginina en la carcinogénesis. Estudios a corto plazo sobre el uso de L-arginina y el crecimiento celular de tumores han demostrado, en su mayoría, un efecto benéfico en modelos animales, así como en cánceres humanos (77,78,79). Sin embargo, en un estudio sobre cáncer de mama humano se encontró aumento en la tasa de la captación de leucina por células tumorales a los 3 días siguientes de una alta dosis oral de L-arginina (80). Este estudio da lugar a preocupación sobre el uso a largo plazo de la L-arginina porque una de las interpretaciones de estos resultados es que el aumento de la captación de leucina refleja un aumento en la velocidad de crecimiento de las células de tumor.

Debido a la falta de evidencia sobre los efectos que la L-arginina tiene en el crecimiento tumoral, sujetos con historia de cáncer o con historia familiar en rama directa de cáncer serán excluidos del ensayo propuesto.

JUSTIFICACION

La preeclampsia usualmente se desarrolla de manera progresiva, aunque su curso clínico puede ser muy variable. La detección de proteinuria, que generalmente refleja el grado de daño al producto, solamente es posible detectarla en la mayoría de los casos una vez que la hipertensión se ha establecido. La mortalidad perinatal se triplica cuando la proteinuria se suma a la hipertensión y la cantidad de proteína excretada se correlaciona de manera directa con la mortalidad perinatal y con el grado de afectación del crecimiento fetal (81,82,83). Las mujeres que desarrollan hipertensión después de la semana 20 de gestación, sin proteinuria tienen riesgo incrementado para desarrollar preeclampsia, sin embargo, son usualmente tratadas de modo expectante (84,85).

El estudio fue diseñado para probar la suplementación de L-arginina en una formulación que incluye vitaminas en una cantidad que se usa comúnmente en la práctica y que ya están incluidas en esa proporción en la barra HeartBar. Como se mencionó arriba, el uso de esta barra de alimento ha mostrado mejorar la función endotelial y de modo asociado, la función cardiovascular. Este efecto protector no ha sido demostrado para preparados que incluyen solamente las vitaminas.

Es importante señalar que no esperamos que la presencia de la L-arginina modifique el mecanismo central que conduce a la preeclampsia, sino que esperamos que estos compuestos modifiquen la gravedad del impacto del proceso patológico sobre la salud de la madre y el feto.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

OBJETIVOS E HIPOTESIS

Objetivo:

Evaluar la eficacia de la suplementación con L-arginina administradas en una barra alimenticia, en la incidencia de preeclampsia en una población de alto riesgo.

Hipótesis:

El estudio que se propone midió la **HIPOTESIS PRIMARIA** de que la suplementación con L-arginina en primigrávidas diagnosticadas con hipertensión, reducirá la progresión a la preeclampsia, definida como hipertensión y proteinuria, en 50%, utilizando un estudio doble ciego, controlado con placebo. La reducción de 50% de los casos que desarrollarán preeclampsia representará mejora sustancial de la salud materno infantil y considerando la perspectiva de salud pública, podría representar la identificación de una medida preventiva que podría usarse de manera diseminada en la población de mujeres embarazadas. La L-arginina será administrada en una barra alimentaria denominada HeartBar y que se describe en la sección de antecedentes. La **HIPOTESIS SECUNDARIA** que será probada es: La preeclampsia se correlaciona de manera inversa con las concentraciones séricas de L-arginina.

METODOLOGIA

LUGAR Y DURACION

Se realizó en el Instituto Nacional de Perinatología y tendrá duración de 5 años. Para el propósito de la presente Tesis, se aceptará un corte del estudio que se realizó en el mes de Julio de 2003.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

UNIVERSO

Mujeres embarazadas primigestas con ≥ 20 semanas de gestación y con producto único.

CRITERIOS DE INCLUSION Y DE NO INCLUSION

La cohorte de pacientes se estableció en el INPer haciendo tamizaje dirigido a mujeres embarazadas primigestas con ≥ 20 semanas de gestación y con producto único. Todas las mujeres enroladas debieron continuar y terminar su embarazo en el INPer. La edad gestacional máxima para admitir a una mujer en el estudio fue de 34 semanas. La mujeres que se integraron a la cohorte debieron tener antecedente de un embarazo complicado con enfermedad hipertensiva ó presión arterial sistólica ≥ 140 mm Hg pero < 160 mm Hg, y presión diastólica de ≥ 90 mm Hg pero < 110 mm Hg, conforme a los métodos descritos abajo, en dos lecturas separadas por un lapso de 4 a 6 h (86,87). No debieron presentar proteinuria (< 300 mg/día) conforme a la determinación de 24h (88).

Criterios de no inclusión

- Gestación múltiple
- Malformación fetal mayor
- Hipertensión preexistente
- Enfermedad renal preexistente
- Diabetes Mellitus
- Enfermedad autoinmune
- Cáncer de cualquier tipo o historia de cáncer en parientes en primer grado
- Enfermedad materna preexistente que requirió medicación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VARIABLES EN ESTUDIO

La variable primaria en estudio fue el desarrollo de preeclampsia (presión arterial sistólica ≥ 140 mm Hg, diastólica ≥ 90 mm Hg y proteinuria (≥ 300 mg de proteína en orina de 24 h).

Las variables secundarias en estudio incluyen el desarrollo de enfermedad hipertensiva inducida por el embarazo, en cualquiera de sus variedades clínicas: preeclampsia severa, eclampsia,

Las variables bioquímicas en seguimiento incluyeron arginina plasmática, ácido úrico, y creatinina sérica al ingreso.

VARIABLES EN ESTUDIO

Maternas

Preeclampsia

Bioquímicas:

L-arginina en plasma

Acido úrico en plasma

Preeclampsia.

La variable primaria en estudio es la prevención de preeclampsia, definida como hipertensión más proteinuria. Las cifras para definir la hipertensión fueron presión sistólica $< 160 \geq 140$ mm Hg y presión diastólica ≥ 90 mm.Hg. La concentración de proteína para calificar proteinuria fue ≥ 300 mg proteína excretada por día. Se consideró preeclampsia severa cuando se encuentran dos o más de los siguientes datos: TA sistólica ≥ 160 mm Hg, TA diastólica de 110 mmHg, proteinuria de mas de 3 g/litro

Arginina en plasma

La L-arginina es sustrato de la óxido nítrico sintetasa, como fue descrito arriba. La concentración de arginina en plasma fue determinada de acuerdo al método que se menciona adelante.

Acido úrico en plasma.

La concentración aumentada de ácido úrico en el plasma es un indicador sensible del desarrollo de preeclampsia. Al mismo tiempo, las concentraciones de ácido úrico se correlacionan con el resultado perinatal (89). La hiperuricemia que se observa en la preeclampsia obedece muy probablemente a la hemodinámica distorsionada en el riñón, así como a hipovolemia, ambas condiciones son el resultado de la vasoconstricción sistémica (90,91).

VARIABLES CONFUSORIAS.

A continuación se describen aquellas variables que constituyen elementos confusores en el momento de analizar las variables en estudio. A pesar de su valor, no consideramos que ninguna de ellas modifique la interpretación del estudio, dado su diseño aleatorizado.

Edad

Los desordenes hipertensivos del embarazo son más comunes en mujeres añasas. El riesgo para desarrollar preeclampsia se incrementa 3 a 4 veces por arriba en mujeres embarazadas de más de 35 años de edad (92). Para los objetivos de este estudio no se marcó un límite de edad en las pacientes.

Estado de nutrición

La dieta y el uso pregestacional de suplementos vitamínicos podría influenciar el desarrollo del embarazo y modificar las variables en estudio, incluyendo la concentración sérica de arginina, y excreción urinaria de metabolitos de NO. Al momento de ingreso de la paciente al estudio, se realizó encuesta alimentaria, en la que se enfatizó la búsqueda de consumo de alimentos ricos en nitratos, así como alimentos enriquecidos en L-arginina.

Índice de masa corporal

El índice de masa corporal también fue obtenido en la evaluación del estado de nutrición al ingreso de la paciente al estudio. El índice de masa corporal aumentado constituye un factor de riesgo para el desarrollo de preeclampsia (93,94). Esta observación ha sido confirmada por el N.I.C.H.D. Network of Maternal-Fetal Medicine Units (85).

Historia familiar de preeclampsia.

Se interrogó de manera dirigida a las pacientes para identificar casos en los que exista antecedente familiar en rama directa de preeclampsia. Es bien sabido que la preeclampsia es más común en familiares directos de un caso que desarrolló hipertensión asociada al embarazo(72,95). La incidencia de preeclampsia entre hermanas de mujeres que desarrollaron la enfermedad en el primer embarazo se ha reportado de hasta 4 veces más grande que en poblaciones comparables. La incidencia de preeclampsia es mayor en hermanas, hijas y nietas de mujeres que desarrollaron eclampsia, en comparación con las sobrinas.

Historia de abortos previos

Se interrogó de manera dirigida la presencia de abortos previos. Esto obedece a que se ha identificado que aquellas mujeres que han experimentado un aborto inducido, tienen un riesgo menor para desarrollar preeclampsia (96,97).

Uso de anticonceptivos de barrera.

Se interrogó a las pacientes a su ingreso acerca de sus prácticas anticonceptivas. Es conocido que aquellas pacientes que utilizan dispositivos de barrera, tienen riesgo incrementado para desarrollar preeclampsia. (98,99).

Tabaquismo

El tabaquismo también fue considerado, dado que algunos estudios han mostrado que esta práctica confiere protección para el desarrollo de preeclampsia por un mecanismo desconocido (100-104).El tabaquismo no fue utilizado para incluir o excluir a las pacientes en este estudio.

Cálculo de la muestra

En un estudio previo realizado en el INPer, encontramos que el 37% de las mujeres en las que se detectó hipertensión después de la semana 20 de gestación y en las que no demostró proteinuria, progresaron a la preeclampsia. Tomando este dato de la incidencia de la enfermedad, hemos considerado que el objetivo fue disminuir en 50% la incidencia de la preeclampsia en aquellas mujeres sujetas a la suplementación con la barra alimenticia. Hemos tomado este impacto estimado de otros diseños en los que se ha buscado disminuir la incidencia de preeclampsia en poblaciones de riesgo alto (105). Dado que estaremos probando al menos dos combinaciones de tratamiento (placebo vs arginina), tuvimos que ajustar nuestro error específico de la prueba de manera que aseguremos error de tipo I de 5 por ciento. Para poder asegurarnos de esto, utilizamos la corrección de Bonferroni de manera que el cálculo del error alfa de 0.5, será dividido entre 3 ($0.5/3 = 0.016$), cifra que fue utilizada para la significancia de las pruebas, así como para el cálculo de la muestra (ver abajo). De manera adicional, hemos considerado un poder de la prueba de 80%, para detectar la reducción de 50% mencionada.

Cálculo de la muestra

Prevalencia de preeclampsia en la población estudiada

	0.2	0.3	0.4	0.5
Sujetos por grupo	263	160	109	78
+10% por pérdida durante seguimiento	290	176	120	86

De acuerdo a estos números, requerimos 160 sujetos por grupo para llevar a cabo el estudio. Para asegurarnos de llegar con el número de sujetos adecuado, hemos añadido 10% para ajustar por pérdidas y de este modo la cifra es de 176 sujetos por grupo, es decir requeriremos un total de 528 pacientes.

Según cifras del INPer, se reciben 4,200 embarazos, de los cuales en 1999 se identificaron más de 700 casos con preeclampsia. Más de 400 de esos casos fueron diagnosticadas durante su vigilancia prenatal en el INPer. Conforme a estos datos, la factibilidad del estudio se encuentra asegurada con la población vista en el INPer, considerando que el estudio se encuentra planteado para ser desarrollado en un período de 4 a 5 años.

Métodos analíticos

Los exámenes de laboratorio fueron procesados por los laboratorios centrales del INPer y de la Universidad Iberoamericana (proteína en orina, creatinina, ácido úrico en plasma, gasometría) conforme a sus procedimientos rutinarios.

Arginina en plasma

La concentración de arginina fue determinada por cromatografía de intercambio iónico, utilizando un analizador de aminoácidos automático marca Beckman, con un sistema de citrato de litio (106,107). Los coeficientes de variación para este método son <6% y <9%.

Acido úrico en plasma.

La concentración de este compuesto en plasma fue cuantificada por ensayo enzimático con el kit de Vitros (Johnson & Johnson Clinical Diagnostics, Rochester, N.Y.) para analizadores automáticos. El coeficiente de variación intra e interensayo es <3% y 8%, respectivamente.

MATERIAL Y METODOS

Reclutamiento de pacientes.

Los médicos participantes revisaron los expedientes clínicos de las pacientes de acuerdo al Manual de procedimiento que se desarrolló para el propósito del estudio e invitaron a las pacientes a participar en el estudio. Todos los participantes fueron preestandarizados en todas las maniobras y tuvimos la responsabilidad de identificar los criterios que permitan la inclusión de las pacientes en el estudio. Por otro lado, fuimos los responsables de informar a las pacientes de todos los detalles del estudio, de acuerdo a los lineamientos éticos. Todas aquellas pacientes que aceptaron participar en el estudio, recibieron una copia de la carta de consentimiento que firmaron para su ingreso al estudio.

Aleatorización.

La asignación aleatoria de las pacientes ocurrió en la primera consulta y fueron colocadas en cualquiera de los tres grupos en estudio. Se utilizaron tablas de números aleatorios de manera de asignar un número igual de pacientes a cada grupo. Para este efecto, se utilizó la asignación por bloques y el tamaño de cada uno fue de 12, el índice de acomodo dentro de cada unidad fue de 1. Se utilizó una computadora para asignar los números aleatorios de 0 a 9. Esta lista fue transformada a una agenda aleatorizada. Por otro lado, las barras alimenticias estuvieron empacadas en papel del mismo color y numeradas de acuerdo al mismo código generado por la computadora (0 a 9). Las barras se empacaron en cajas de 14 unidades marcadas con el número de aleatorización. Las pacientes recibieron una caja de barras que fue suficiente para cubrir el lapso hasta la siguiente consulta, además se les entregó un frasco para que en su siguiente consulta trajeran consigo orina colectada en 24 h. Se otorgó a cada paciente de una caja extra de barras, para cubrir la eventualidad de que no acudiera a su siguiente visita y de ese modo cubrir dos semanas.

Intervenciones.

La composición de las barras activas y del placebo (HeartBar; HeartBar -L-arginina) ya se describió antes. Las barras fueron preparadas y empaçadas por Cooke Pharma Inc. (Belmont, CA). Las pacientes consumieron dos barras al día, una en el transcurso de la mañana y otra por la tarde, empezando el día que ingresaron al estudio. Las pacientes consumieron las barras hasta una semana después de terminar el embarazo o cuando su consumo fuera terminado por razones médicas. Los médicos participantes fuimos responsables de explicar el protocolo de estudio a las pacientes e instruir las en el modo en como se colectaría la muestra de orina de 24 h. El régimen de dos barras al día fue seleccionado conforme a los ensayos clínicos realizados por la compañía que fabrica las barras. Las dos barras de HeartBar proporcionan 6.6 g de L-arginina. Maxwell et al. (76a) demostraron que el consumo de esta cantidad de suplemento permitía la recuperación de la disfunción endotelial en sujetos con hipercolesterolemia. El consumo de cantidades adicionales de barras no modificó la mejoría en el curso clínico en esos pacientes. Aquellas mujeres que desarrollaron preeclampsia durante el estudio fueron manejadas conforme a la Norma de manejo del INPer, y que incluye evaluaciones dos veces a la semana, ultrasonido, estudios Doppler de placenta y otros estudios de laboratorio y gabinete. Es importante enfatizar que el tratamiento, incluso medicamentoso, no fue modificado por el protocolo presente. Todas las manifestaciones clínicas de estas pacientes, fueron recabadas en el expediente correspondiente del estudio.

Vigilancia

Se elaboró un expediente clínico paralelo al que se maneja normalmente en el INPer para cada paciente. Cada expediente contiene toda la información relativa al comportamiento clínico de las

pacientes, copia de todos los estudios de laboratorio y gabinete, datos de su ingreso para resolución del embarazo, e información relativa a la evolución del neonato.

Se tomó una muestra de sangre al ingreso de la paciente al estudio, que sirvió para controlar las concentraciones de L-arginina. También se colectó orina de 24 h al ingreso de la paciente al estudio, para cuantificar proteína y creatinina.

Las pacientes del estudio fueron citadas para su vigilancia una vez a la semana a partir del momento en que eran incluidas. En cada visita se tomó al menos presión arterial, muestra de sangre para medir los compuestos señalados arriba y proteína en orina.

La presión arterial fue medida en la arteria braquial del brazo derecho, en posición sentada, utilizando esfigmomanómetro de mercurio por un operador prestandarizado de acuerdo a la técnica habitual. El brazo derecho debió estar en posición horizontal, el equipo se colocó a la altura de la zona cardíaca y debió dejarse en posición por espacio de 5 minutos, antes de tomar la lectura. Los esfigmomanómetros fueron calibrados cada semana. Durante el embarazo, la presión arterial tomada en la arteria braquial, es más alta cuando los sujetos están en la posición sentada (108,109). Los sonidos Korotkoff fase IV y V se tomaron como referencia para la cuantificación de la presión diastólica. Desafortunadamente no existe consenso para definir el mejor ruido de Korotkoff que marque la presión diastólica durante el embarazo (110-114). A pesar de que los sonidos Korotkoff IV y V fueron registrados, tomamos al V como el indicador de la presión diastólica, conforme a la recomendación realizada por el National High Blood Pressure Education Program (115) dado que este sonido refleja de manera más directa la verdadera presión intraarterial diastólica. En aquellos casos en los que el sonido V diera lectura de cero, se utilizó el sonido IV para el cálculo de la presión diastólica.

La concentración de proteína en orina fue cuantificada mediante tira reactiva, utilizando orina de media micción y que fue seguido por determinación cuantitativa en orina de 24 h, además, se cuantificó creatinina. Se tomó una muestra de sangre de 3.0 mL el día de ingreso al estudio y una

muestra igual cada semana, mientras se encuentre en seguimiento, para determinación de arginina plasmática y ácido úrico. El análisis con tira reactiva de la orina se realizó en cada visita, así como la determinación de proteína en orina de 24 h. Todas las muestras de sangre fueron tomadas en el mismo horario, para corregir para posibles ritmos circádicos. También se tomó una muestra de sangre materna y otra de cordón al momento de la resolución del evento obstétrico, ya sea ésta por parto o cesárea, para determinar los mismos compuestos señalados antes. Aquellas mujeres que no acudían a su seguimiento, fueron seguidas por un asistente clínico que las visitó en su domicilio para documentar su estado de salud y cualquier cambio relevante a su embarazo. En caso de que la mujer sea vista en otra institución de salud, se evaluó la pertinencia de las observaciones médicas que se hayan realizado en ese lugar.

La base de datos electrónica fué construida en inglés por personal capacitado y bilingüe.

Aseguramiento de adherencia al tratamiento

Para poder evaluar la adherencia al consumo de las barras alimenticias, se le pidió a la paciente que en cada consulta consecutiva, trajera consigo la caja que contenía las barras administradas en la sesión previa. La adherencia fue calculada dividiendo el número de barras removidas entre el número de barras totales suministradas en la sesión previa. El verdadero estándar de cumplimiento con adherencia al tratamiento indicado, fue la cuantificación de los diferentes compuestos en el plasma.

PRUEBA PILOTO

Durante los primeros tres meses del estudio se desarrolló el manual de procedimientos, los protocolos para captura de datos y la estandarización de los procedimientos por el personal participante. Se definió un comité de vigilancia, que estuvo encargado de la monitorización y

auditorías a todos los procedimientos. Este comité se reunió dos veces al año para analizar los avances.

PLAN DE ANÁLISIS

Análisis estadístico.

Estadística descriptiva: Se utilizó para realizar la descripción de las características de ingreso y seguimiento de las pacientes de cada grupo y en su conjunto. Se reportaron datos como media, medianas, rangos, para todas las variables cuantificadas (edad, índice de masa corporal, arginina en plasma, etc). Las variables categóricas (historia familiar de preeclampsia, abortos previos, preeclampsia previa, síndrome de HELLP, etc) y las variables ordinales (grupos de índice de masa corporal, retraso en crecimiento intrauterino, categorías de tabaquismo, etc), fueron representados como frecuencias. Todos los datos se analizaron en forma gráfica (diagramas, barras, etc.). Los valores de cambios de las distintas variables en las pacientes, entre el estado basal y durante el seguimiento, fueron analizadas con pruebas apropiadas como análisis de varianza (ANOVA) y Chi cuadrada, para examinar las diferencias entre los distintos grupos (116).

Análisis bivariado. Cada variable fue primero analizada como un elemento único y aislado de predicción de preeclampsia. La prevalencia de las distintas categorías de preeclampsia entre grupos fue evaluada en una tabla de contingencia y comparado con prueba de chi cuadrada y prueba exacta de Fisher, cuando resultó apropiado. Si la prueba arrojara resultados de diferencias generales en la distribución de las categorías de preeclampsia, se realizaron comparaciones por pares con los grupos tratados, considerando error conservador para el estimado de la significancia estadística. Las variables de exposición ordinal fueron comparadas con la prueba de rangos de

Wilcoxon y analizadas para tendencia. Las variables continuas fueron comparadas usando la prueba de t o bien la prueba de Wilcoxon en los casos en que no se ajuste a una muestra con distribución normal. Las asociaciones entre las exposiciones y los resultados fueron analizadas con odds ratios y intervalos de confianza de 95%, utilizando métodos exactos cuando se cuente con pocas muestras (117). Se utilizó análisis estratificado para identificar variables confusoras potenciales del desarrollo de preeclampsia, de las asociaciones de tratamientos (edad, índice de masa corporal, historia familiar de preeclampsia, tabaquismo) y sirvió como prueba inicial para evaluar las interacciones entre los factores de riesgo y las exposiciones de interés, que fueron estudiados de manera posterior con análisis de regresión logística. Cuando fue apropiado, se utilizó la prueba de Mantel-Haenszel para calcular odds ratios ajustados para confusores individuales (118,119). Se define como variable confusora a aquella que al ser usada como factor de estratificación, produzca un cambio en el odds ratio de interés de 15% o más (117,120). Dado que este tipo de análisis solamente está pensado para identificar las variables que son candidatos para inclusión en el análisis duro con pruebas multivariadas, se aceptó nivel de significancia con $p < 0.15$ (121).

Comparación de tratamientos.

Las comparaciones entre tratamientos fueron evaluadas con estrategia de ensayo/error para lo que la información de todos los sujetos que ingresaron al estudio fue utilizada, incluso la de aquellos que no completaron el protocolo en su totalidad. Se estimó la proporción de sujetos que desarrollaron preeclampsia en cada grupo de tratamiento y se calculó la equivalencia de estas proporciones, usando chi cuadrada de Pearson. Si el resultado arrojó diferencias en las proporciones de preeclampsia en los grupos, se realizaron comparaciones pareadas de los grupos con tratamiento, utilizando nivel de error conservador para efectos de la significancia. Se desarrollaron modelos multivariados utilizando regresión logística con objeto de evaluar el tratamiento sobre el desarrollo de

preeclampsia, después de ajustar para todas las variables confusoras potenciales. Cualquier variable adicional que fue detectada en el análisis inicial se incluyó en el análisis de regresión logística múltiple (122).

Análisis secundarios.

Se utilizó regresión logística para evaluar la influencia de la concentraciones plasmáticas de arginina y ácido úrico sobre el desarrollo de preeclampsia. La transformación de esta variables fue considerada, así como la interacción entre estratos y tratamientos. Se consideró la última muestra de sangre y orina antes del parto como la medida primaria para estos análisis. De manera adicional se exploró el impacto del error del operador de acuerdo al método de Rosner et al. (1992).

Resultados anticipados y errores potenciales.

Si nos basamos en la información de la literatura y que se ha descrito a lo largo de la sección de antecedentes, esperamos que la suplementación con L-arginina, redujera de manera significativa la progresión del cuadro clínico de las mujeres diagnosticadas con hipertensión antes de la semana 20 de la gestación hacia la preeclampsia. Confirmamos la asociación entre concentraciones plasmáticas elevadas de ADMA y ácido úrico con el desarrollo de preeclampsia y anticipamos correlación inversa entre la concentración plasmática de arginina y los metabolitos urinarios de NO con respecto al desarrollo de la enfermedad hipertensiva.

La población de pacientes que es vista en el INPer fue suficiente para conformar la cohorte de estudio en el período de cuatro años. El cálculo del tamaño de la muestra estuvo basado en cifras reales reportadas en un estudio preliminar realizado por los coautores en la misma institución, en el que se calculó el número de paciente que desarrollaron hipertensión antes de la semana 20 de gestación y que evolucionaron a la preeclampsia. Con base en esto, esperamos completar la captura de pacientes para poder analizar con el poder adecuado la hipótesis primaria.

ASPECTOS ETICOS

Este estudio fue diseñado de acuerdo a las recomendaciones emitidas por el American College of Obstetrician and Gynecologists (123).

El riesgo de la suplementación oral de L-arginina a mujeres embarazadas y sus productos parece ser inexistente. La literatura publicada al respecto no reporta efectos tóxicos o indeseables aún con cantidades de L-arginina más altas que las que fueron utilizadas en este estudio por espacio de más de seis meses. Los estudios publicados sobre el efecto de la infusión intravenosa de L-arginina no reportan ningún efecto colateral, excepto que disminuyen la presión arterial sistémica. El único efecto no deseado del consumo de las barras que fueron utilizadas e su efecto sobre la solidez de las heces, sin que lleguen a ser semilíquidas y obedece a su contenido en fibra. Las mujeres fueron estudiadas en un período en el que la embriogénesis ya se encuentra terminado, razón por la que cualquier efecto teratogénico tampoco es probable.

Se utilizaron todos los procedimientos disponibles para proteger o minimizar los riesgos potenciales a las pacientes en seguimiento. Se puso especial énfasis en la confidencialidad de la información. A cada paciente se le asignó un código que fue utilizado en todas formas de captura y la lista de apertura de códigos fue mantenida aparte por uno de los investigadores involucrados. Todas las pacientes continuaron bajo la vigilancia de su médico Obstetra a lo largo de la gestación y el estudio. El Comité de Etica Institucional designó a un monitor externo que tuvo acceso a los códigos y resultados. Su función fue exclusivamente determinar en diferentes cortes del estudio, si alguna de las maniobras estuviese resultando de beneficio para las pacientes, y así, interrumpir el proyecto y asignar a todas las pacientes a ese tratamiento.

Es importante enfatizar también, que la compañía que fabrica la barra HeartBar no participó de ninguna manera distinta a la fabricación de las distintas barras que utilizamos en el estudio y no aportó ningún soporte económico para el mismo.

TESIS CON FALTA DE ORIGEN

MANEJO DE DATOS

El personal involucrado en la captura de datos, utilizó computadoras con contraseña. Todos los participantes estuvieron entrenados para el uso de los equipos, software y formas clínicas. Todos los datos fueron registrados mediante un sistema que requiere confirmación de la información capturada y que cuenta con alertas automáticas para detección de errores. Se realizaron varias copias de la base de datos en sistemas de CD-ROM, que se mantuvieron en lugares seguros. Se realizaron auditorías de los datos de manera periódica, seleccionando expedientes al azar y también se auditaron los criterios diagnósticos que se están utilizando con auxilio de diferentes expertos de cada área involucrada. En promedio se planeó vigilar al 10% de todos los expedientes.

Con objeto de determinar la eficacia del proceso de tamizaje y reclutamiento de las pacientes, todos los expedientes de las mujeres que desarrollen enfermedad hipertensiva del embarazo fueron corroborados para verificar que fueron detectados a su ingreso al INPer.

COMPENSACIÓN

Las mujeres incluidas en este estudio no fueron compensadas por su participación en el estudio, pero se contempló incentivar su participación pagando el costo del transporte de sus hogares al instituto en cada visita de seguimiento. Las barras fueron proporcionadas sin costo alguno. Tampoco se cargó el costo de los exámenes de laboratorio relacionados con este estudio.

CONTROL DE CALIDAD

Composición de las barras. La composición de las barras que fueron utilizadas es vigilada por una compañía independiente (Convansa), que reporta el contenido de arginina, carbohidratos, proteína, grasa y vitaminas para cada lote producido por la compañía fabricante. La compañía que fabrica las barras (Cooke Pharma) también realiza prueba de envejecimiento inducido de las barras e incluye el análisis de sus características organolépticas.

Pruebas de laboratorio. Todas las pruebas que se mencionaron arriba estuvieron sujetas a un programa de control de calidad en los laboratorios mencionados e incluyen el ensayo periódico de estándares internos. Los resultados se aceptaron solamente si cayeron dentro del rango de aceptación mencionado.

RESULTADOS

Durante la fase inicial del estudio, se reunieron en total 109 pacientes, de las cuales 47 han resuelto su embarazo en el Instituto, dichas pacientes han quedado asignadas en tres grupos de acuerdo a aleatorización por computadora, para asegurar que las características de las pacientes son similares, se compararon criterios clínicos y de laboratorio entre las pacientes que recibieron placebo (Grupo 1), arginina con vitaminas E y C antioxidantes (Grupo 2) y aquellas que recibieron únicamente vitaminas antioxidantes (Grupo 3). Los resultados de dichas variables al ingreso de las pacientes se resumen en las siguientes tablas:

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad	16	20	41	29.75	5.76
Gesta Para	16	1	6	2.63	1.2
Cesáreas	16	0	5	0.63	1.41
Abortos	16	0	2	0.81	0.65
Edad gestacional al ingreso	16	0	1	0.19	0.4
TA sistólica media al ingreso	18	16	34.5	25.38	5.57
TA diastólica media al ingreso	18	78	130	107.83	15.4
TA diastólica media al ingreso	18	52	97	74.44	13.35

Tabla 1: Características al ingreso de las pacientes asignadas de manera aleatoria en el grupo 1 (Grupo control).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad	12	18	40	27.58	7.18
Gesta	12	1	6	2.33	1.5
Para	12	0	2	0.50	0.80
Cesáreas	12	0	2	0.58	0.79
Abortos	12	0	3	0.25	0.87
Edad gestacional al ingreso	13	20.1	31.4	25.41	3.96
TA sistólica media al ingreso	13	91	125	107.54	11.28
TA diastólica media al ingreso	13	60	90	70.54	8.97

Tabla 2: Características al ingreso de las pacientes asignadas de manera aleatoria en el grupo 2 (Grupo con arginina y vitaminas antioxidantes).

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad	16	15	41	29.13	7.17
Gesta	16	1	4	2.81	0.98
Para	16	0	3	0.69	1.01
Cesáreas	16	0	2	0.81	0.91
Abortos	16	0	3	0.31	0.79
Edad gestacional al ingreso	16	14	36.6	26.156	7.81
TA sistólica media al ingreso	16	0	117	96.06	26.7
TA diastólica media al ingreso	16	0	90	68.38	20.6

Tabla 3: Características al ingreso de las pacientes asignadas de manera aleatoria en el grupo 3 (Grupo control).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En lo referente a lo reportado en las muestras de sangre tomadas al ingreso, se midió nitrógeno de urea en sangre (BUN), glucosa sérica, creatinina sérica, ácido úrico, lipoproteínas de alta densidad (HDL), colesterol total, triglicéridos y proteínas séricas totales, encontrando lo siguiente por grupos:

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Nitrógeno de urea (BUN)	14	3.15	13.81	6.88	2.68
Glucosa	14	33.77	130.89	79.75	24.47
Creatinina	14	0.43	1.07	0.67	0.16
Acido úrico	14	1.95	5.39	3.36	0.82
HDL	13	38.62	92.53	66.51	20.45
Colesterol total	14	153.62	364	257.30	57.94
Triglicéridos	14	91.25	486.22	260.45	122.91
Proteínas totales	14	5.95	7.62	6.57	0.49

Tabla 4: Variables bioquímicas al ingreso correspondientes al grupo 1 (Control).

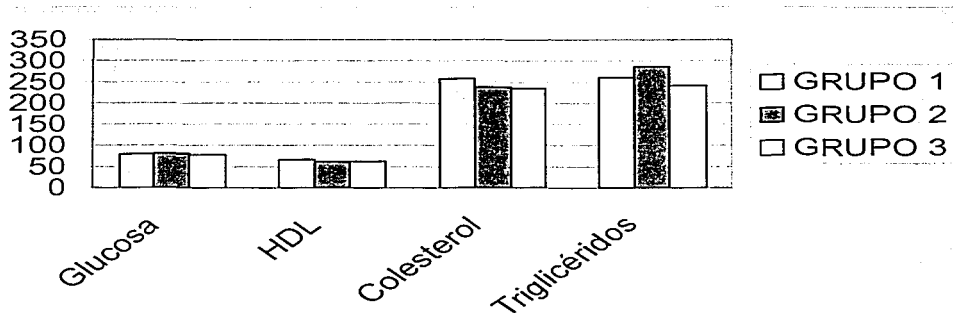
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Nitrógeno de urea (BUN)	11	4.22	11.18	6.65	2.30
Glucosa	11	28.72	123.65	81.08	22.79
Creatinina	11	0.34	0.76	0.56	0.14
Acido úrico	11	2.94	4.92	3.66	0.63
HDL	10	6.27	121.32	61.41	30.9
Colesterol total	11	178.95	348.41	238.06	42.71
Triglicéridos	11	183.9	576.99	286.59	110.94
Proteínas totales	11	5.79	7.77	7.05	0.65

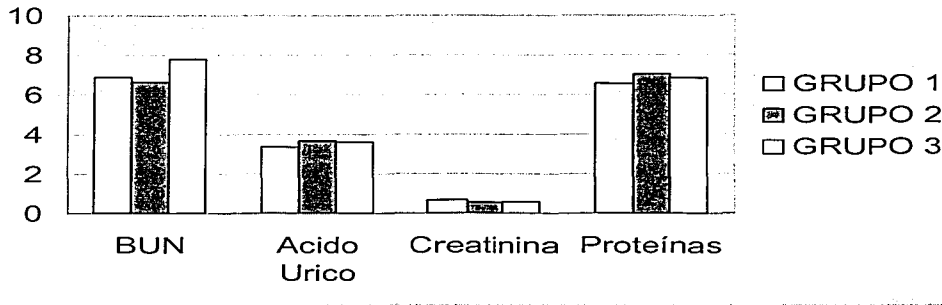
Tabla 5: Variables bioquímicas al ingreso correspondientes al grupo 2 (Arginina + vitaminas antioxidantes).

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Nitrógeno de urea (BUN)	16	4.01	11.77	7.79	2.26
Glucosa	16	24.9	116.29	78.22	24.70
Creatinina	16	0.39	0.83	0.58	0.12
Acido úrico	16	2.37	4.90	3.60	0.87
HDL	15	47.20	97.36	62.17	14.35
Colesterol total	16	178.12	304.63	233.82	37.82
Triglicéridos	16	54.87	370.09	241.65	81.76
Proteínas totales	16	6.33	7.75	6.86	0.48

Tabla 6: Variables bioquímicas al ingreso correspondientes al grupo 3 (Vitaminas antioxidantes).

Graficando las variables reportadas anteriormente, encontramos lo siguiente comparando los tres grupos de estudio:





Los resultados obtenidos aplicando la aleatorización en los grupos de ingreso, fueron analizados aplicando prueba de T para la igualdad de medias y Prueba de Levene para determinar la igualdad de varianzas, mismos que se presentan en las siguientes tablas:

Prueba de T para varianzas iguales:

	Grupos 1 vs 2 (valor de P)	Grupos 2 vs 3 (valor de P)	Grupos 1 vs 3 (Valor de P)
Edad	0.383	0.578	0.787
Gesta Para	0.572	0.316	0.633
Cesareas	0.785	0.602	0.886
Abortos	0.41	0.493	1
Edad gestacional	0.801	0.844	0.578
Presión sistólica media	0.989	0.759	0.745
Presión diastólica media	0.954	0.166	0.12
	0.368	0.727	0.306

La prueba de Levene aplicada para la igualdad de varianzas, concluyó de igual manera que el valor de P para cada una de las variables es mayor a 0.05, con excepción de la edad gestacional para el grupo 2 vs 3, debido al amplio rango de dispersión de valores, por lo que la prueba en este caso no es útil.

Se analizaron además los niveles de Arginina en sangre que presentaban las pacientes de los tres grupos, tanto al ingreso como el final del estudio, encontrando los siguientes valores por grupo:

Concentración de arginina en suero al ingreso por grupo (mcg/ml):

	N	Minimo	Máximo	Media	Desv estándar
Grupo 1	17	12	40	23.7	7.67
Grupo 2	17	12	45	26.35	9.12
Grupo 3	11	11	40	26.27	9.92

Además se aplicaron la prueba de T y de Levene para el análisis de varianzas, las cuales reportan:

Prueba de T para igualdad de medias en niveles de arginina al ingreso por grupo:

Grupo 1 vs 2		
	Media	Desviación estándar
Grupo 1	23.7	7.67
Grupo 2	26.35	9.12

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Grupo 1 vs 3		
	Media	Desviacion estándar
Grupo 1	23.7	7.67
Grupo 3	26.27	9.92

Grupo 2 vs 3		
	Media	Desviacion estándar
Grupo 2	26.35	9.12
Grupo 3	26.27	9.92

El valor de P comparando los tres grupos, fue de 0.36 para los grupo 1 vs 2, 0.44 para los grupos 1 vs 3 y de 0.98 para los grupos 2 vs 3, encontrando que en ninguno de ellos, hay diferencias significativas, sin embargo cabe mencionar que no es posible contar con desviaciones estándar en los casos en los que N es igual a 1.

La prueba de Levene aplicada para la igualdad de varianzas en niveles de arginina al ingreso, reportó lo siguiente:

Grupo 1 vs 2	0.37
Grupo 1 vs 3	0.29
Grupo 2 vs 3	0.78

Demostrando de igual manera, que no existen diferencias significativas en los niveles de arginina en suero por grupo, al ingreso del estudio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Se evaluaron los diagnósticos finales, de cada uno de los grupos en relación al desarrollo o no de preeclampsia en cualquiera de sus variedades clínicas, encontrando los siguientes resultados:

	<i>N</i>	<i>Sanas</i>	<i>EHIE</i>	<i>Prevalencia</i>
Grupo 1	17	13	4	23%
Grupo 2	16	15	1	6%
Grupo 3	11	6	5	45%

Aplicamos la prueba de Chi cuadrada, con prueba de Fisher (debido al tamaño de las muestras) para las categorías no paramétricas, comparando las proporciones de las pacientes que desarrollaron enfermedad hipertensiva en los tres grupos, encontrado un valor de P de 0.16, por el momento no es significativo pero confiamos, basados en los resultados de prevalencia, que a lo largo del estudio, y conforme se obtengan más resultados a la resolución de las pacientes que ya se encuentran incluidas en el estudio, el valor de P tenga una tendencia a disminuir.

El riesgo relativo que se obtuvo para el grupo de Arginina fue de 0.26 con un intervalo de confianza (95%) de 0.3 a 2.13, observando que el mismo cruza el valor de la unidad, sin embargo esto es debido al tamaño de la muestra que tenemos hasta el momento. Con estos datos, entendemos que el tamaño de la muestra calculada para el estudio, con una incidencia real, el cual corresponde a 104 pacientes por grupo, con 312 pacientes en total, disminuyendo aproximadamente hasta en un 40%.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Se compararon en los tres grupos la vía de resolución del embarazo, con Chi cuadrada complementada con prueba de Fisher encontrando lo siguiente:

	Parto	Cesárea
Grupo 1	4	13
Grupo 2	4	12
Grupo 3	5	6

El valor de P calculado para la vía de resolución, comparando los tres grupos se reporta como sigue:

Gpo1 vs 3	0.15
Gpo 1 vs 2	0.31
Gpo 2 vs 3	0.17

En ninguno de los tres grupos el valor de P es >0.05 , por lo tanto, no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la vía de resolución.

Al comparar las semanas de gestación a la resolución con análisis bivariado (Prueba de T), en los tres grupos, obtuvimos los siguientes resultados:

Grupo 1 vs 2

	Media	D. Estándar
Grupo 1	38.06	2.29
Grupo 2	38.3	2.15

Grupo 1 vs 3

	Media	D. Estándar
Grupo 1	38.06	2.28
Grupo 3	38.41	1.11

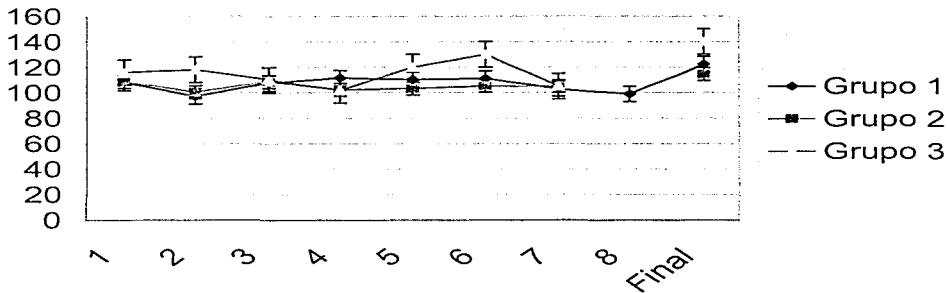
Grupo 2 vs 3

	Media	D. Estándar
Grupo 2	38.3	2.14
Grupo 3	38.41	1.11

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Encontrando que los valores de P fueron 0.75 para los grupos 1 vs 2, 0.63 para los grupos 2 vs 3 y de 0.86 para los grupos 1 vs 3, ninguno de ellos inferior a 0.05, es decir sin diferencias significativas.

La presión arterial se fue cuantificada en cada una de las visitas, de manera seriada, los resultados al graficar el valor de la media con sus respectivas desviaciones estándar son los que aparecen a continuación:

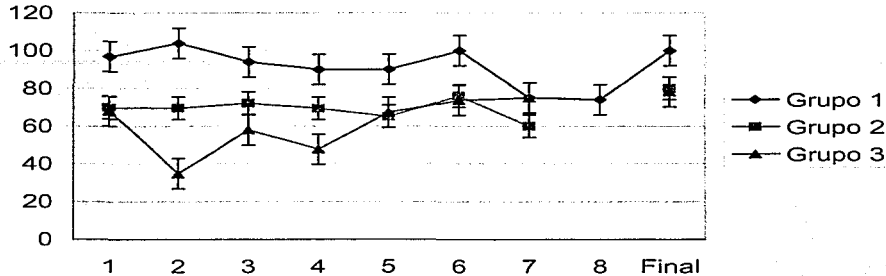


Gráfica # 3: Valores de la media, de la presión arterial sistólica, seguimiento por visita con desviación estándar de cada uno de los valores:

En este caso el valor de N fue modificándose a lo largo del estudio, teniendo que para cada valor de presión arterial sistólica en cada una de las visitas, el valor de N por grupo se reporta como sigue:

Visita	1	2	3	4	5	6	7	8
Grupo 1	17	17	12	8	4	2	1	1
Grupo 2	17	17	14	7	5	4	1	0
Grupo 3	11	11	7	4	4	3	2	0

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

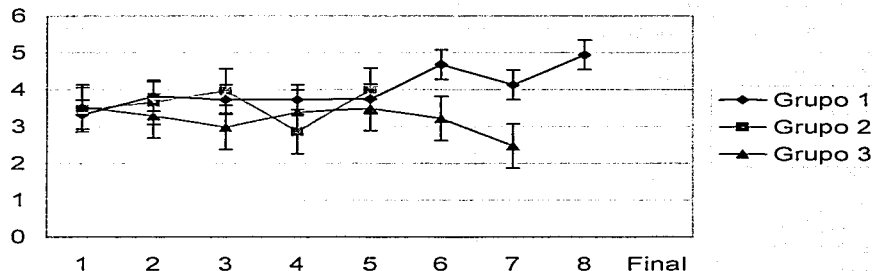


Grafica # 4: Valores de la media, de la presión arterial diastólica, seguimiento por visita con desviación estándar de cada uno de los valores.

En este caso, como en el anterior, el valor de N fue modificándose a lo largo del estudio, teniendo que para cada valor de presión arterial diastólica en cada una de las visitas, el valor de N por grupo se reporta como sigue:

Visita	1	2	3	4	5	6	7	8
Grupo 1	17	17	12	8	4	2	1	1
Grupo 2	17	17	14	7	5	3	1	0
Grupo 3	11	11	7	4	4	3	2	0

Se realizaron cuantificaciones de ácido úrico en sangre en cada una de las visitas, de manera seriada, los resultados al graficar el valor de la media con sus respectivas desviaciones estándar son los que aparecen a continuación:



El valor de N fue modificándose a lo largo del estudio, teniendo que para cada valor de ácido úrico en cada una de las visitas, el valor de N por grupo se reporta como sigue:

Visita	1	2	3	4	5	6	7	8
Grupo 1	13	11	7	5	2	2	1	1
Grupo 2	12	7	6	3	2	0	0	0
Grupo 3	11	11	7	4	4	3	1	0

Se cuantificaron además los niveles de arginina en sangre por grupo y por visita, con un modelo de análisis de muestras repetidas (Esfericidad asumida), para comparar los resultados entre los sujetos del mismo grupo (efectos intrasujetos) y de cada uno de los grupos (efecto intersujetos),

encontrando que para los sujetos del grupo 1 el valor de P es de 0.52, para los del grupo 2 es de 0.002 y para el grupo 3 se reporta en 0.39, observando que entre los sujetos del grupo 2 existen diferencias significativas entre cada una de las variables, hecho que se puede explicar mencionando que en este grupo los niveles de arginina fueron ascendiendo a lo largo del estudio, debido a la suplementación con arginina, mencionando además que los resultados reportan que las concentraciones en arginina en los grupos 1 y 3 no mostraron diferencias a lo largo del estudio.

Al aplicar la misma prueba intersujeto, es decir comparando todas las variables en los tres grupos, se obtiene que el valor de P para el grupo 1 es de 0.006, para el grupo 2 es de 0 y para el grupo 3 es de 0.012, demostrando una vez más que los grupos son diferentes entre sí.

De la misma manera se aplicaron análisis de muestras repetidas para las variables de presión arterial, obteniendo que para la presión arterial sistólica el valor de P entre los sujetos del mismo grupo fueron de 0.68 para los sujetos del grupo 1, 0.63 para el grupo 2 y de 0 para el grupo 3, sin diferencias significativas entre cada uno de los sujetos por grupo. En la prueba intersujetos el valor de P para cada grupo fue de .003 para el grupo 1, de 0.001 para el grupo 2 y 0 para el grupo 3, poniendo en evidencia diferencias significativas en la presión arterial sistólica a lo largo del estudio entre cada uno de los grupos.

La presión arterial diastólica también analizada con esfericidad asumida, obtuvo un valor de P de 0.317 para los sujetos del grupo 1, de 0.89 para los sujetos del grupo 2 y de 0 para los sujetos del grupo 3, es decir, sin diferencias significativas entre cada uno de los sujetos. Sin embargo, comparando los tres grupos bajo la misma prueba, se obtienen valores de P correspondientes a 0.010 para el grupo 1, 0.04 para el grupo 2 y de 0 para el grupo 3, demostrando que en este caso las cifras de presión arterial diastólica fueron diferentes entre cada uno de los grupos.

Al aplicar el mismo modelo de prueba para las concentraciones de ácido úrico en sangre, entre cada sujeto se obtuvo un valor de P de 0.225 para los sujetos del grupo 1, 0.365 para los del grupo 2 y 0.507 para los sujetos del grupo 3, es decir, no hubo variaciones significativas entre cada uno de los

sujetos de cada uno de los grupos, sin embargo, la prueba entre cada uno de los grupos demostró un valor de $P < 0.05$ entre cada uno de ellos, lo cual demuestra que sí existieron diferencias entre los grupos 1-3 en las concentraciones de ácido úrico a lo largo del estudio.

DISCUSIÓN

La preeclampsia es una enfermedad que complica gran número de embarazos y causante de un importante incremento en la morbilidad perinatal de países en vías de desarrollo, existen muchas teorías respecto a su fisiopatogenia, sin embargo aún hacen falta estudios subsiguientes para determinar la misma de manera certera.

La prevención de la preeclampsia se ha limitado a identificar pacientes de alto riesgo seguidas muy de cerca con exámenes de laboratorio para reconocer la enfermedad en estadios tempranos de la enfermedad. (115) A pesar de que éstas medidas no previenen la preeclampsia, pueden ser de gran ayuda en la prevención de secuelas maternas y fetales.

Hemos identificado diversas líneas de investigación, en relación a la prevención, algunos de los cuales comprenden:

Uso de ácido acetil salicílico en bajas dosis: Esta no ha demostrado gran beneficio en mujeres de bajo riesgo, a pesar de que algunos estudios han demostrado que su uso reduce la incidencia de preeclampsia. Existen grandes series de estudios que demuestran reducción mínima o nula en la incidencia de EHIE con el uso de ácido acetil salicílico a dosis bajas, mostrando la misma incidencia de complicaciones en éste grupo en relación a grupos controles manejados con placebo.(115)

Suplementación con Calcio: No existe evidencia de que las pacientes con bajo riesgo de EHIE resulten beneficiadas con suplementación de calcio, en grandes series de estudios clínicos, no se ha demostrado su beneficio, tanto en la incidencia como en la severidad de la enfermedad. (115)

Otros suplementos dietéticos: La suplementación con magnesio, no ha demostrado beneficios en el desarrollo de EHIE, existen estudios recientes acerca del uso de vitamina C y E (115), sin embargo, los resultados que nosotros hemos obtenido en el presente estudio no demuestran que se modifique de manera significativa la historia natural de la enfermedad, en relación a los resultados obtenidos con el grupo control.

Los estudios referentes al uso de arginina, plantean una base teórica sustentable, para considerar la suplementación con la misma, un hallazgo importante, para la prevención del desarrollo de la preeclampsia en edades gestacionales no viables o cercanas a la misma. Si bien lo que hemos encontrado constituye un resultado alentador, es importante considerar que el manejo de la preeclampsia una vez establecida, debe seguir las guías establecidas para su manejo y control, dependiendo de la severidad de la misma.

La L-arginina, como precursor del óxido nítrico, ha resultado ser mediador significativo, que retarda el desarrollo de la preeclampsia, mejorando con esto el pronóstico perinatal, considerando que el manejo es susceptible de ser utilizado aún en países en vías de desarrollo, donde su incidencia y prevalencia se encuentran especialmente incrementados.

Durante mucho tiempo, existió poca evidencia que demostrara que el manejo altere la fisiopatología y progresión de la enfermedad, los cuales han demostrado un efecto paliativo, mas no regresivo en la misma. (115) Este es el mismo caso que nosotros hemos encontrado con la arginina, en cuanto a la fisiopatología, sin embargo, la progresión de la enfermedad aparentemente es más lenta,

permitiendo con esto llegar a una edad gestacional mayor, disminuyendo las tasas de morbilidad neonatal por prematuridad.

Es importante mencionar que el presente estudio no pretendió, bajo ningún motivo, interponerse con el tratamiento que ya ha quedado establecido en la literatura mundial y que es parte de consensos internacionales, ya que estamos concientes que una vez desarrollada la preeclampsia, ésta debe ser manejada de acuerdo a lo ya establecido.

En el presente trabajo, los resultados reportados, en cuanto a las características de ingreso de los tres grupos de pacientes, comparando las variables clínicas (como edad, gesta, para abortos, cesáreas, edad gestacional al ingreso y la media de las presiones arteriales sistólica y diastólica); así como las variables bioquímicas al ingreso (glucosa, BUN, Acido úrico, Creatinina, HDL, Colesterol total, triglicéridos y proteínas totales) al hacer el análisis bivariado, en cada grupo, y aplicando la prueba de T y Levene, en todas ellas el valor de P fue mayor de 0.05, confirmando con esto la homogeneidad de los tres grupos, sin embargo en el caso de la comparación de los grupos 2 vs 3, el valor de P es 0 para la edad gestacional al ingreso, debido al amplio rango de dispersión de valores en esta variable, por lo que la prueba en este caso en particular no es de gran utilidad.

Las concentraciones de arginina en sangre al ingreso por grupo, no demostraron diferencias significativas entre cada uno de ellos, sin embargo, cabe mencionar, que basados en el diagnóstico nutricional aplicado al inicio del estudio, los niveles de arginina en sangre que esperábamos encontrar eran de al menos el doble de los obtenidos, sin embargo, tomamos los valores reportados en el análisis sérico, por ser éste más confiable que los valores estimados por diagnóstico nutricional.

La prevalencia de preeclampsia en cualquiera de sus variantes clínicas encontrada por grupo, fue notablemente menor en el grupo suplementado con arginina (grupo 2), sin embargo al aplicar la prueba de Chi cuadrada con Prueba de Fisher el valor de P obtenido es de 0.16, es decir por el momento la diferencia no es significativa en relación a los otros dos grupos, el riesgo relativo para el grupo de arginina fue de 0.26 con un intervalo de confianza de 0.3 a 2.13, observamos que en este caso, el valor es mayor a la unidad, sin embargo consideramos con un nuevo cálculo de la muestra, basados en la incidencia real encontrada en el presente estudio, ésta podría disminuir incluso hasta un 40%, haciendo más grandes las diferencias por grupo, considerando que los datos obtenidos hasta el momento corresponden a grupos de estudio pequeños, debido a que los resultados reportados corresponden a un corte y que el mismo se encuentra planeado a 5 años.

Al comparar la vías de resolución por grupo, encontramos que en los tres, el valor de P es >0.05 , sin diferencias entre las cesáreas o los partos en cada uno de los grupos.

Al hacer el análisis de la edad gestacional a la resolución del embarazo, no encontramos diferencias entre cada uno de los grupos ($P > 0.05$), destacando, que la media de cada uno, es de alrededor de 38 semanas, la mayoría de término y con morbimortalidad perinatal igual o inferior a la reportada mundialmente, posiblemente sea necesario recabar más resultados, conforme las pacientes incluídas en el estudio (que aún se encuentran en control prenatal) resuelvan sus embarazos.

La curva de TA por visita y por grupo fue graficada, no encontrando diferencias en las curvas de la presión media sistólica en los tres grupos, sin embargo, en lo referente a la presión diastólica media, encontramos una tendencia a incrementarse conforme avanzaba el estudio, en el grupo 1 (grupo control), lo cual es probable que se haya debido a que en este grupo en particular, las barras de complemento únicamente contenían placebo.

Los niveles de ácido úrico por grupo y por visita, también mostraron una tendencia notable a incrementarse conforme avanzaba el estudio, en el grupo control, permaneciendo sin cambios aparentes en los otros dos grupos, probablemente debido al efecto protector de las vitaminas antioxidantes y de la arginina, que ya se ha mencionado en el marco teórico.

Al realizar el análisis con modelo de muestras repetidas, se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos, como era esperado ya que el grupo 2 fue aquel que recibió suplementación con arginina, incluso los niveles de la misma en sangre fueron de casi el doble en relación a los otros dos grupos desde la segunda consulta, como se observa en la gráfica, analizando los niveles de arginina entre cada sujeto por grupo, las diferencias no fueron significativas, hecho que también esperábamos, debido a que los sujetos de cada grupo no mostraron diferencias significativas entre sí desde el inicio del estudio, y a lo largo del mismo, cada uno fue suplementado de acuerdo al grupo que perteneciera.

Como se observa en las gráficas de curva de presión arterial sistólica y diastólica, al hacer la comparación de las variables con análisis de muestras repetidas, se observaron diferencias de la presión arterial, sobre todo la diastólica, en el grupo suplementado con arginina, hecho que se puede explicar basados en los antecedentes, considerando que la arginina es precursor del óxido nítrico, un importante vasodilatador endógeno, cuyo efecto queda de manifiesto en el grupo complementado con dicho aminoácido.

Encontramos una tendencia a la disminución del ácido úrico en el grupo suplementado con arginina, tomando en cuenta que el ácido úrico es un importante marcador con valor pronóstico para el desarrollo de enfermedad hipertensiva asociada al embarazo, este hecho puede relacionarse con la

disminución en la prevalencia de la misma observada en el grupo suplementado con arginina, en relación a los demás grupos, es decir, existe efectivamente un asociación entre los niveles de ácido úrico y el desarrollo de preeclampsia-eclampsia, será necesario al finalizar este estudio, realizar una correlación estratificada para comparar la severidad de la enfermedad, con los niveles de ácido úrico y arginina en sangre.

CONCLUSIONES:

La preeclampsia es una enfermedad que complica gran número de embarazos y es causante de un importante incremento en la morbilidad perinatal de países en vías de desarrollo, existen muchas teorías respecto a su fisiopatogenia, sin embargo aún hacen falta estudios subsiguientes para determinar la misma de manera certera.

En el presente estudio, hemos encontrado, que por principio, las pacientes incluídas en el mismo fueron aleatorizadas de manera correcta, y sus características al ingreso fueron prácticamente idénticas.

Conforme el estudio fue desarrollándose fueron poniéndose de manifiesto diferencias entre los tres grupos, sobre todo en lo referente a los niveles de arginina, como era esperado, por la suplementación con arginina en uno ellos, Una vez analizados los resultados podemos concluir lo siguiente:

1.- La incidencia de preeclampsia en cualquiera de sus variantes clínicas en grupos de riesgo de ha visto disminuída de manera significativa con la ingesta de arginina, hecho que podemos corroborar

al hacer la correlación de los niveles de arginina con el desarrollo de la enfermedad en los diferentes grupos.

2.- La concentración sérica de arginina es inversamente proporcional al desarrollo de la preeclampsia.

3.- Queda documentado que la concentración de ácido úrico en sangre guarda una relación inversamente proporcional a los niveles séricos de arginina, hecho que puede estar asociado a lo ya reportado en la literatura mundial, en relación al valor pronóstico que guardan los niveles del mismo con el desarrollo de la preeclampsia.

4.- No encontramos diferencias significativas en la curva de presión arterial sistólica en los tres grupos de estudio, sin embargo, la tendencia observada en las gráficas de la misma por visita, sugiere que existe una tendencia a la elevación de la misma en los grupos no suplementados con arginina.

5.- Existe una diferencia significativa en la curva de presión arterial diastólica en el grupo suplementado con arginina, en relación a los grupos no suplementados, los cuales mostraron una tendencia a elevarse a lo largo del estudio, hecho demostrado con el análisis de muestras repetidas a lo largo del estudio.

6.- Al realizar análisis de muestras repetidas, se puso de manifiesto, el papel que puede representar la arginina en el desarrollo de la preeclampsia, sin embargo, es importante mencionar que se necesita reunir a un grupo de estudio más grande para dar mayor significancia estadística a los

resultados preliminares reportados hasta este momento, confiamos que a lo largo del mismo éstos guarden relación con los resultados obtenidos hasta este punto de corte.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Centers for Disease Control and Prevention Maternal Mortality-United States, 1982-1996. Morbidity and Mortality Weekly Report. 1995; 47:705-708.
- 2.- Berg, C.J., Atrash, H.K., Koonin, L.M., Tucker, M. Pregnancy-related mortality in the United States, 1987-1990. Obstet. Gynecol. 1996; 88: 161-167.
- 3.- Angulo-Vazquez, J., Ornelas Alcantar, J., Rodriguez Aria, E.A., Inigo Riesgo, C.A., Torres Gomez, L.G. Maternal mortality at the gynecologic-obstetric hospital of the western national medical center, Mexico. A 12-year review. Ginecol. y Obstet. De México. 1999; 67: 419-424. [in Spanish]
- 4.- Meekins, J.W., Pijenburg, R., Hanssens, M., McFadyen, I.R., Van Asshe, A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. Br. J. Obstet. Gynecol. 1994; 101: 669-674.
- 5.- Roberts, J.M., Redman, C.W. Pre-eclampsia: more than pregnancy induced hypertension. Lancet. 1993; 341: 1447-1451.
- 6.- Page, N.M., Woods, R.J., Gardiner, S.U. et al. Excessive placental secretion of neurokinin B during the third trimester causes pre-eclampsia. Nature. 2000; 405: 797-800.
- 7.- Halligan, A., Bonnar, J., Sheppard, B., Darling, M. Walshe, J. Haemostatic, fibrinolytic and endothelial cell variables in normal pregnancies and preeclampsia. Br. J. Obstet. Gynaecol. 1994;101: 488-492.

- 8.- Reith, A., Booth, N.A., Moore, N.R., Cruickshank, D.J., Bennett, B. Plasminogen activator inhibitors (PAI-1 and PAI-2) in normal pregnancies, pre-eclampsia and hydatiform mole. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1993; 100: 370-374.
- 9.- Davidge, S.T., Stranko, C.P., Roberts, J.M. Urine but not plasma nitric oxide metabolites are decreased in women with preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1996; 174: 1008-1013.
- 10.- Hubel, C.A., McLaughlin, M.K., Evans, R.W., Hauth, B.A., Sims, C.J., Roberts, J.M. Fasting serum triglycerides, free fatty acids, and malondialdehyde are increased in preeclampsia, are positively correlated and decrease within 48 hours post partum. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1996; 174: 975-982.
- 11.- Moncada, S., Palmer, R.M.J., Higgs, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacologic Reviews.* 1991; 43: 109-142.
- 12.- Conrad, K.P., Joffe, G.M., Kruszyna, H., Kruszyna, R., Rochelle, L.G., Smith, R.P., Chavez, J.E., Mosher, M.D. Identification of increased nitric oxide biosynthesis during pregnancy in rats. *FASEB J.* 1993; 7: 566-571.
- 13.- Ni, Y., Meyer, M., Osol, G. Gestation increases nitric oxide-mediated vasodilatation in rat uterine arteries. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1997; 176: 856-864.

- 14.- Ashworth, J.R., Barker, P.N., Warren, A.Y., Johnson, I.R. Mechanisms of endothelium-derived relaxation in myometrial resistance vessels and their alteration in preeclampsia. *Hypertension in Pregnancy*. 1999; 18: 57-71.
- 15.- Kublickiene, K.I., Nisell, H., Poston, L., Kruger, K., Lindblom, G. Modulation of vascular tone by nitric oxide and endothelin 1 in myometrial resistance arteries from pregnant women at term. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000; 182: 87-93.
- 16.- Boccardo, P., Soregaroli, M., Aiello, S., Noris, M., Donadelli, R., Lojcono, A., Benigni, A. Systemic and fetal-maternal nitric oxide synthesis in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1996; 103: 879-886.
- 17.- Lopez-Jaramillo, P., Narvaez, M., Calle, A., Rivera, J., Jacome, P., Ruano, C., Nava, E. Cyclic guanosine 3',5' monophosphate concentrations in pre-eclampsia: effect of hydralazine. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1996; 103: 33-38.
- 18.- Cockell, A.P., Poston, L. Flow-mediated vasodilatation is enhanced in normal pregnancy but reduced in preeclampsia. *Hypertension*. 1998; 30: 247-251.
- 19.- Cameron, I.T., Van Papendorf, C.L., Palmer, R.M.J. et al. Relationship between nitric oxide synthesis and increase in systolic blood pressure in women with hypertension in pregnancy. *Hypertens. Pregnancy*. 1993; 12: 85-97.
- 20.- Seligman, S.P., Buyon, J.P., Clancy, R.M., Young, B.K., Abramson, S.B. The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1994; 171: 944-948.

- 21.- Facchinetti, F., Longo, M., Piccinini, F., Neri, I., Volpe, A. L-arginine infusion reduces blood pressure in preeclamptic women through nitric oxide release. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 1999; 6: 202-207.
- 22.- Grunewald, C., Carlstrom, K., Kumlien, G., Ringqvist, A., Lundberg, J. Exhaled oral and nasal nitric oxide during L-arginine infusion in preeclampsia. *Gynecol. Obstet. Investig.* 1998; 46: 232-237.
- 23.- Anumba, D.O.C., Ford, G.A., Boy, R.J., Robson, S.C. Stimulated nitric oxide release and nitric oxide sensitivity in forearm arterial vasculature during normotensive and preeclamptic pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1999; 181: 1479-1485.
- 24.- Byrne, B.M., Howard, R.B., Morrow, R.J., Whiteley, K.J., Adamson, S.L. Role of the L-arginine nitric oxide pathway in hypoxic fetoplacental vasoconstriction. *Placenta.* 1997; 18: 627-634.
- 25.- Neri, I., Mazza, V., Galassi, M.C., Volpe, A., Facchinetti, F. Effects of L-arginine on utero-placental circulation in growth-retarded fetuses. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 1996; 75: 208-212.
- 26.- Delacretaz, E., de Quay, N., Waeber, B. et al. Differential nitric oxide synthase activity in human platelets during normal pregnancy and pre-eclampsia. *Clin. Sci.* 1995; 88: 607-610.
- 27.- Facchinetti, F., Neri, I., Piccinini, F., Marietta, M., Torelli, U., Bruschetti, P.L., Volpe, A. Effect of L-arginine load on platelet aggregation: a comparison between normotensive and preeclamptic pregnant women. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 1999; 78: 515-519.

28.- deBelder, A., Lees, C., Martin, J. et al. Treatment of HELLP syndrome with nitric oxide donors. Lancet. 1995; 345: 124-125.

29.- Yallampalli, C., Garfield, R.E. Inhibition of nitric oxide synthesis in rats during pregnancy produces signs similar to those of preeclampsia. Am. J. Obstet. Gynecol. 1993; 169: 1316-1320.

30.- Diket, A.L., Pierce, M.R., Munshi, U.K., Voelker, C.A., Eloby-Childress, S., Greenberg, S.S., Zhang, X.J., Clark, D.A., Miller, M.J. Nitric oxide inhibition causes intrauterine growth retardation and hind-limb disruptions in rats. Am. J. Obstet. Gynecol. 1995; 172: 1943-1950.

31.- Buhimschi, I., Yallampalli, C., Chwalisz, K., Garfield, R.E. Pre-eclampsia-like conditions produced by nitric oxide inhibition: effects of L-arginine, D-arginine and steroid hormones. Human Reprod. 1995; 10:2723-2730.

32.- Molnar, M., Suto, T., Toth, T., Hertelendy, F. Prolonged blockade of nitric oxide synthesis in gravid rats produces sustained hypertension, proteinuria, thrombocytopenia, and intrauterine growth retardation. Am. J. Obstet. Gynecol. 1994; 170: 1458-1466.

33.- Edwards, P.D., Topping, D., Kontaridis, M.I., Moldawer, L.L., Copeland, E.M., III, Lind, D.S. Arginine-enhanced enteral nutrition augments growth of a nitric oxide-producing tumor. Jpen: J. Parenteral Enteral Nutr. 1997; 21: 215-219.

34a.- Hennessy, A., Gillen, A.G., Duggin, G.G., Horvath, J.S., Tiller, D.J. Clin. Experimen. Pharm. Physiol. 1999; 26: 849-852.

- 34b.- Helmbrecht, G.D., Farhat, M.Y., Lochbaum, L., Brown, H.E., Yadgarova, K.T., Eglinton, G.S., Ramwell, P.W. L-arginine reverses the adverse pregnancy changes induced by nitric oxide synthase inhibition in the rat. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1996; 175: 800-805.
- 35.- Palmer, R.M.J., Ferrige, A.G., Moncada, S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.* 1988; 333: 664-666.s
- 36.- Andrew, P.J., Mayer, B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardvasc. Res.* 1999; 43: 521-531.
- 37.- Bredt, D.S. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free Radical Res.* 1999; 31: 577-596.
- 38.- Huang, P.L. Lessons learned from nitric oxide synthase knockout animals. *Sem. Perinatol.* 2000; 24: 87-90.
- 39.- Barbul, A. Arginine and immune function. *Nutrition* 1990; 6: 59-62.
- 40.- Vallance, P., Leone, A., Calver, A., Collier, J., Moncada, S. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J. Cardiovascular Pharm.* 1992; 20 (Suppl. 12) S60-62.
- 41.- Fickling, S.A., Williams, D., Vallance, P., Nussey, S.S., Whitley, G. St. J. Plasma concentrations of endogenous inhibitor of nitric oxide synthase in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Lancet.* 1993; 342: 242-243.

- 42.- Chen, B.M., Xia, L.W., Zhao, R.O. Determination of N(G),N(G)-dimethylarginine in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatography B. Biomed. Sci. Applic.* 1997; 692: 467-471.
- 43.- Holden, D.P., Fickling, S.A., Whitley, G.S., Nussey, S.S. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine, a natural inhibitor of nitric oxide synthase, in normal pregnancy and preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1998; 178: 551-556.
- 44.- Pettersson, A., Hedner, T., Millsom, I. Increased circulating concentrations of asymmetric dimethyl arginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia. *Acta Obstet. Gynec. Scand.* 1998; 77: 808-813.
- 45.- Visek, W.J. Arginine needs, physiological state and usual diets. A reevaluation. *J. Nutr.* 1986;116: 36-46.
- 46.- Castillo, L., Chapman, T.E., Sanchez, M., Yu, Y.-M., Burke, J.F., Ajami, A.M., Vogt, J., Young, V.R. Plasma arginine and citrulline kinetics in adults given adequate arginine-free diets. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1993; 90: 7749-7753.
- 47.- Castillo, L., de Rojas, T.C., Champman, T.E., Vogt, J., Burke, J.F., Tannenbaum, S.R., Young, V.R. Splanchnic metabolism of dietary arginine in relation to nitric oxide synthesis in normal adult men. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1993; 90: 193-197.
- 48.- Zieve, L. Conditional deficiencies of ornithine or arginine. *J. Am. Coll. Nutr.* 1986; 5: 167-176.

- 49.- Anumba, D.O.C., Robson, S.C., Boys, R.J., Ford, G.A. Nitric oxide activity in the peripheral vasculature during normotensive and preeclamptic pregnancy. *Am. J. Physiol.* 1999; 277: H848-854.
- 50.- Pau, M.Y., Milner, J.A. Arginine deficiency during gestation and lactation in the rat. *J. Nutr.* 1981; 111: 184-193.
- 51.- Pau, M.Y., Milner, J.A. Effect of arginine deficiency on mammary gland development in the rat. *J. Nutr.* 1982; 112: 1827-1833.
- 52.- Fraser, R. Pre-eclampsia and Diet. In *The Encyclopedia of Nutrition*. Academic Press, San Diego, CA., 1998. pp. 1620-1626.
- 53.- Hishikawa, K., Nakaki, T., Tsuda, M., Esumi, H., Ohshima, H., Suzuki, H., Saruta, T., Kato, R. Effects of systemic L-arginine administration on hemodynamics and nitric oxide release in man. *Jpn. Heart J.* 1992; 33: 41-48.
- 54.- Higashi, Y., Oshima, T., Sasaki, N., Ishioka, N., Nakano, Y., Ozono, R., Yoshimura, M., Ishibashi, K., Matsuura, H., Kajiyama, G. Relationship between insulin resistance and endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *Hypertension.* 1997; 29: 280-285.
- 55.- Campese, V.M., Amar, M., Anjali, C., Medhat, T., Wurgraft, A. Effects of L-arginine on systemic and renal haemodynamics in salt-sensitive patients with essential hypertension. *J. Hum. Hypertens.* 1997; 11: 527-532.

- 56.- Rosano, G.M.C., Panina, G., Cerquetani, E., Leonardo, F., Pelliccia, F., Bonfigli, B., Chierchia, S.L. L-arginine improves endothelial function in newly diagnosed hypertensives. *J. Am. Coll. Card.* 1998; 31: 262A.
- 57.- Katoh, T., Takahashi, K., Klahr, S., Reyes, A.A., Badr, K.F. Dietary supplementation with L-arginine ameliorates glomerular hypertension in rats with subtotal nephrectomy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1994; 4: 1690-1694.
- 58.- Ashab, I., Peer, G., Blum, M., Wollman, Y., Chernihovsky, T., Hassner, A., Schwartz, D., Cabili, S., Silverberg, D., Iaina, A. Oral administration of L-arginine and captopril in rats prevents chronic renal failure by nitric oxide production. *Kidney Int.* 1995; 47: 1515-1521.
- 59.- Reckelhoff, J.F., Kellum, J.A., Blanchard, E.J., Bacon, E.E., Wesley, A.J., Kruckeberg, W.C. Changes in nitric oxide precursor, L-arginine, and metabolites, nitrate and nitrite, with aging. *Life Sci.* 1994; 55: 1895-1902.
- 60.- Tyson, J.E., Fiedler, A.J., Merimee, T.J. Amino acid infusion during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1969; 104: 429-432.
- 61.- Facchinetti, F., Neri, I., Genazzani, A.R. L-arginine infusion reduces preterm uterine contractions. *J. Perinatal Med.* 1996; 24: 383-385.
- 62.- Kharitonov, S.A., Lubec, G., Lubec, C., Hjelm, M., Barnes, P.J. L-arginine increases exhaled nitric oxide in normal human subjects. *Clin. Sci.* 1995; 88: 135-139.

- 63.- Bode-Boger, S.M., Boger, R.H., Galland, A., Tsikas, D., Frolich, J.C. L-arginine-induced vasodilatation in healthy humans: pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship. *Br. J. Clin. Pharm.* 1998; 46: 489-497.
- 64.- Vosatka, R.J., Hassoun, P.M., Harvey-Wilkes, K.B. Dietary L-arginine prevents fetal growth restriction in rats. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1998; 178: 242-246.
- 65.- Lampariello, C., De Blasio, A., Merenda, A., Graziano, E., Michalopoulou, A., Bruno, P. Use of arginine in intrauterine growth retardation (IUGR). Authors experience. *Minerva Gynecologica.* 1997; 49: 577-581.
- 66.- Ghigo, E., Arvat, E., Rizzi, G., Bellone, J., Nicolosi, M., Boffano, G.M., Mucci, M., Boghen, M.F., Camanni, F. Arginine enhances the growth hormone-releasing activity of synthetic hexapeptide (GHRP-6) in elderly but not in young subjects after oral administration. *J. Endocrinol. Investig.* 1994; 17: 157-162.
- 67.- Bellone, J., Bertolotta, E., Cardinale, G., Arvat, E., Cherubini, V., Aimaretti, G., Maccario, M., Mucci, M., Camanni, F., Ghigo, E. Low dose orally administered arginine is able to enhance both basal and growth hormone-releasing hormone-induced growth hormone secretion in normal short children. *J. Endocrinol. Investig.* 1993; 16: 521-525.
- 68.- Pittari, A.M., Becherucci, P., La Cauza, F., Seminara, S. Therapy with arginine chlorohydrate in children with short constitutional stature. *Minerva Pediatrica.* 1993; 45: 61-65.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

- 69.- Dubois-Rande, J.L., Zelinsky, R., Roudot, F., Chabrier, P.E., Castaigne, A., Geschwind, H. et al. Effects of infusion of L-arginine into the left anterior descending coronary artery on acetylcholine-induced vasoconstriction of human atheromatous coronary arteries. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1992; 29: 479-485.
- 70.- Creager, M.A., Gallagher, S.J., Girerd, X.J., Coleman, S.M., Dzau, V.J., Cooke, J.P. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Investig.* 1992; 90: 1248-1253.
- 71.- Clarkson, P., Adams, M.R., Powe, A.J., Donald, A.E., McCredie, R., Robinson, J. et al. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J. Clin. Investig.* 1996; 97: 1989-1994.
- 72.- Adams, M.R., McCredie, R., Jessup, W., Robinson, J., Sullivan, D., Celermajer, D.S. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilatation and reduces monocyte adhesion to endothelial cells in young men with coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 1997; 129: 261-269.
- 73.- Rector, T.S., Bank, A.J., Mullen, K.A., Tschumperlin, L.K., Sih, R., Pillai, K., Kubo, S.H. Randomized, double-blind placebo-controlled study of supplemental oral L-arginine in patients with heart failure. *Circulation.* 1996; 93: 2135-2141.
- 74.- Bode-Boger, S.M., Boger, R.H., Alfkje, H., Heinzl, D., Tsikas, D., Creutzig, A., et al. L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilation in patients with critical limb ischemia. A randomized, controlled study. *Circulation.* 1996; 93: 85-90.

- 75.- Lerman, A., Burnett, Jr., J.C., Higano, S.T., McKinley, L.J., Holmes, Jr., D.R. L-arginine supplementation improves small-vessel coronary endothelial function in humans. *Circulation*. 1998; 97: 2123-2128.
- 76a.- Maxwell, A.J., Anderson, B.A., Cooke, J.P. Nutritional therapy for peripheral arterial disease: A double blind, placebo-controlled, randomized trial of HeartBar. *Vascular Med*. 2000; 5:11-19.
- 76b.- Maxwell, A.J., Anderson, B.A., Zapien, M.P., Cooke, J.P. Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is reversed by a nutritional product designed to enhance nitric oxide activity. *CV Drugs & Therapy*. 2000; 14: 357-365.
- 76c.- Maxwell, A.J., Zapien, M.P., Stone, P.H. Improvement in exercise capacity and quality of life in patients with stable angina by a medical food. *Vascular Medicine*, in Press. 2000.
- 76d.- Maxwell, A.J., Zapien, M.P., Anderson, B.A., Stone, P.F. Improvement in endothelium-dependent function in patients with class II & III angina by a medical food. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2000, submitted for publication.
- 77.- Ma, Q., Hoper, M., Anderson, N., Rowlands, B.J. Effects of supplemental L-arginine in a chemical-induced model of colorectal cancer. *World J. Surg*. 1996; 20: 1087-1091.
- 78.- Ma, Q., Williamson, K.E., O'rouke, D., Rowlands, B.J. The effects of L-arginine on crypt cell hyperproliferation in colorectal cancer. *J. Surgical Res*. 1999; 81: 181-188.

- 79.- Brittenden, J., Park, K.G., Heys, S.D., Ross, C., Ashby, J., Ah-See, A.-K., Eremin, O. L-arginine stimulates host defense in patients with breast cancer. *Surgery*. 1994; 115: 205-212.
- 80.- Park, K.G., Heys, S.D., Blessing, K., Kelly, P., McNurlan, M.A., Eremin, O., Garlick, P.J. Stimulation of human breast cancers by dietary arginine. *Clinical Sci*. 1992; 82: 413-417.
- 81.- MacGillivray, I. Some observations on the incidence of preeclampsia. *J. Obstet. Gynecol*. 1953; 65: 536-542.
- 82.- Tervila, L., Goecke, C., Timonen, S. Estimation of gestosis of pregnancy (EPH-gestosis) *Acta Obstet. Gynecol. Scand*. 1973; 52: 235-245.
- 83.- Friedman, E.A., Neff, R.K. Pregnancy outcome as related to hypertension, edema, and proteinuria. In *Hypertension in Pregnancy* M.D. Lindheimer, A.I. Katz, F.P. Zuspan, eds). John Wiley, New York. 1977.
- 84.- Dekker, G.A., Sibai, B.M. Early detection of preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 1991; 165: 160-172.
- 85.- Sibai, B.M., Gordon, T., Thom, E. et al. Risk factors for preeclampsia in healthy nulliparous women. A prospective multicenter study. The National Institutes of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 1995; 172: 642-648.

- 86.- Sibai, B.M., McCubbin, J.H., Anderson, G.D. et al. Eclampsia I. Observations from 67 recent cases. *Obstet. Gynecol.* 1981; 58: 609.
- 87.- Sibai, B.M., Anderson, D.G., Abdella, T.N. et al. Eclampsia III. Neonatal outcome, growth, and development. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1983; 146: 307-315.
- 88.- Dekker, G.A., Walker, J.J. Maternal assessment in pregnancy-induced hypertensive disorders: special investigations and their pathophysiological basis In *Hypertension in Pregnancy* (J.J. Walker & N.F. Gant, eds), Chapman & Hall, London. 1997. pp. 107-161.
- 89.- Redman, C.W.G., Beilin, L.J., Bonnar, J., Wilkinson, R.H. Plasma urate measurements in predicting fetal death in hypertensive pregnancy. *Lancet.* 1976; 1: 1370-1374.
- 90.- Fadel, H.E., Northrop, G., Misenhimer, H.R. Hyperuricemia in pre-eclampsia: a reappraisal. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1976; 125: 640-647.
- 91.- Dekker, G.A., Sibai, B.M. Pathophysiology of hypertensive disorders. In *Principles and Practices of Medical Therapy in Pregnancy*, 2nd edition (N. Gleicher, ed) Appleton & Lange, Norwalk, CT. 1992. pp. 845-852.
- 92.- Saftlas, A.F., Olson, D.R., Franks, A.L. et al. Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States, 1979-1986. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1990; 163: 460-465.
- 93.- Wolfe, H.M., Zador, I., Gross, T. et al. The clinical utility of body mass index in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1991; 164: 1306-1309.

- 94.- Eskanazi, B., Fenster, L., Sidney, S. A multivariate analysis of risk factors for preeclampsia. JAMA. 1991; 266: 237-241.
- 95.- Chesley, A.B., Cooper, W.T. Temporal relationships between hormonal and hemodynamic changes in early human pregnancy. Kidney Int. 1986; 54: 206-213.
- 96.- Strickland, D.M., Guzick, D.S., Cox, K. et al. The relationship between abortion in the first pregnancy and the development of pregnancy-induced hypertension in subsequent pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 1986; 154: 146-148.
- 97.- Seidman, D.S., Ever-Hadani, P., Stevenson, D.K. et al. The effect of abortion on the incidence of pre-eclampsia. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 1989; 33: 109-114.
- 98.- Marti, J.J., Herrman, U. Immunogestosis. A new concept of "essential" EPH gestosis, with special consideration of the primigravid patient. Am. J. Obstet. Gynecol. 1977; 128: 489-493.
- 99.- Klonoff-Cohen, H.S., Savitz, D.A., Cefalo, R.C., McCann, M.F. An epidemiologic study of contraception and preeclampsia. JAMA. 1989; 262: 3143-3147.
- 100.- Klonoff-Cohen, H., Edelstein, S., Savitz, D. Cigarette smoking and preeclampsia. Obstet. Gynecol. 1993; 81: 541-544.
- 101.- Underwood, P., Kesler, K., O'Lane, J., Callagan, D.A. Parental smoking empirically related to pregnancy outcome. Obstet. Gynecol. 1967; 29: 1-8.

- 102.- Russell, C., Taylor, R., Law, C. Smoking in pregnancy, maternal blood pressure, pregnancy outcome, baby weight and growth, and other related factors: A prospective study. *Br. J. Prev. Soc. Med.* 1968; 22: 119-126.
- 103.- Marcoux, S., Brisson, J., Fabia, J. The effect of cigarette smoking on the risk of preeclampsia and gestational hypertension. *Am. J. Epidemiol.* 1989; 130: 950-957.
- 104.- Duffus, G., MacGillivray, I. The incidence of preeclamptic toxemia in smokers and non-smokers. *Lancet.* 1968; 1: 994-995.
- 105.- Caritis, S., Sibai, B., Hauth, J., Lindheimer, M.D., Klebanoff, M., Thom, E. et al. Low-dose aspirin to prevent preeclampsia in women at high risk. *New Eng. J. of Med.* 1998; 338: 701-705.
- 106.- Stein, W.H., Morre, S. The free amino acids of human blood plasma. *J. Biol. Chem.* 1954; 211: 915-959.
- 107.- Lee, P.L.Y. Single column system for accelerated amino acid analysis of physiological fluids using five lithium buffers. *Biochem. Med.* 1974; 10: 107-121.
- 108.- Wichman, K., Ryden, G., Wichman, M. The influence of different positions on Korotkoff sounds on the blood pressure measurements in pregnancy. *Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.* 1984; 118: 25-28.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 109.- Villar, J., Repke, J., Markush, L., Calvert, W., Rhoads, G. The measuring of blood pressure during pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 1989; 161: 1019-1024.
- 110.- Johenning, A.R., Barron, W.M. Indirect blood pressure measurement in pregnancy Korotokoff phase 4 versus phase 5. Am. J. Obstet. Gynecol. 1992; 167: 577-580.
- 111.- Brown, M.A., Reiter, L., Smith, B., Buddle, M.L., Morris, R., Whitworth, J.A. Measuring blood pressure in pregnant women: a comparison of direct and indirect methods. Am. J. Obstet. Gynecol. 1994; 171: 661-667.
- 112.- Lopez, M.C., Belizan, J.M., Villar, J., Bergel, E. The measurement of diastolic blood pressure during pregnancy: Which Korotkoff phase should be used. Am. J. Obstet. Gynecol. 1994; 170: 574-578.
- 113.- Davey, D.A., MacGillivray, I. The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy. Clin. Exp. Hypertens. 1986; 5: 97-133.
- 114.- Helewa, M.E., Burrows, R.F., Smith, J., Williams, K., Brain, P., Rabkin, S. Report of the Canadian Hypertension Society Consensus Conference: 1. Definitions, evaluation and classification of hypertensive disorders in pregnancy. Can. Med. Assoc. J. 1997; 15: 715-725.
- 115.- National High Blood Pressure Education Program Working Group Consensus Report on high blood pressure in pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 1990; 163: 1689-1712.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 116.- Draper N.R., Smith H. Applied Regression Analysis, 2nd edition. John Wiley & Sons. New York. 1981.
- 117.- Schelsseman JJ. Case Control Studies: Design, Conduct, and analyses. Oxford University Press. New York. 1982.
- 118.- Rothman K.J. (1986) Modern Epidemiology. Little, Brown and Co. Boston, MA.1986.
- 119.- Mickey, R.M., Greenland S. The impact of confounder selection criteria on effect estimation. Am. J. of Epidemiology. 1989; 129:125-137.
- 120.- Maldonado G., Greenland S. Simulation study of confounder-selection strategies. Am J of Epidemiology. 1993; 138:923-936.
- 121.- Ruttimann,U.E. Statistical approaches to development and validation of predictive instruments. Crit Care Clin. 1994; 10:19-35.
- 122.- Hosmer, D.W. Lemeshow, S. Applied Logistic Regression. Wiley and Sons. New York. 1989.
- 123.- ACOG Committee Opinion. Ethical considerations in research involving pregnant women. 1998; Number 213.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN