

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO**

**TERAPIA ANTIOXIDANTE ORAL PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA PRÉ-
ECLÂMPSIA: METANÁLISE DE ENSAIOS CLÍNICOS ALEATÓRIOS**

MARILENE BRANDÃO TENÓRIO

MACEIÓ-2018

MARILENE BRANDÃO TENÓRIO

**TERAPIA ANTIOXIDANTE ORAL PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA
PRÉ- ECLÂMPsia: METANÁLISE DE ENSAIOS CLÍNICOS ALEATÓRIOS**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Nutrição da
Universidade Federal de Alagoas
como requisito à obtenção do título
de Mestre em Nutrição.

Orientadora: **Prof^a. Dr^a. Alane Cabral Menezes de Oliveira**

Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientador: **Prof^o. Dr^o. Nassib Bezerra Bueno**

Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

MACEIÓ-2018

**MESTRADO EM NUTRIÇÃO
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**



Campus A. C. Simões
BR 104, km 14, Tabuleiro dos Martins
Maceió-AL 57072-970
Fone/fax: 81 3214-1160

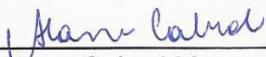
**PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO**

**“TERAPIA ANTIOXIDANTE ORAL PARA PREVENÇÃO E
TRATAMENTO DA PRÉ- ECLÂMPSIA: METANÁLISE DE
ENSAIOS CLÍNICOS ALEATÓRIOS”**

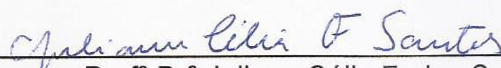
por

MARILENE BRANDÃO TENÓRIO

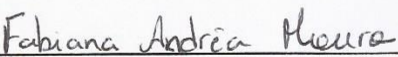
A Banca Examinadora, reunida aos 13/03/2018, considera a
candidata **APROVADA**.



Profª Drª Marlene Cabral Menezes de Oliveira
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas
(Orientadora)



Profª Drª Juliana Célia Farias Santos
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas
(Examinadora)



Profª Drª Fabiana Andréa Moura
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas
(Examinadora)

DEDICATÓRIA

Eu dedico esta dissertação à minha mãe, minha companheira da vida inteira. Obrigada por sempre me incentivar e apoiar incondicionalmente na realização dos meus sonhos. Você me ensinou a acreditar que eles poderiam se tornar realidade se eu tivesse fé e força para batalhar. Te amo muito!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, eu gostaria de agradecer a Deus por me fazer sentir sua presença ao meu lado em todos os momentos; por me guiar, fortalecer e orientar sempre.

À minha mãe, por estar ao meu lado em todas as ocasiões e por não medir esforços para me ajudar, compreender, dar amor e carinho.

Aos meus familiares, que acreditaram em mim e estiveram ao meu lado.

Ao meu esposo, por toda paciência, amor, compreensão e abdicção.

À minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Alane Cabral, pelo acolhimento, por todas as instruções, paciência e carinho; por acreditar na minha capacidade e me estimular a buscar sempre mais.

Ao meu co-orientador, Prof^º. Dr^º. Nassib Bueno, por todos os ensinamentos, diálogos produtivos e incentivadores.

À banca examinadora, pelo aceite do convite e por todas as contribuições fornecidas, incluindo-se os respectivos suplentes.

Aos professores e funcionários da Faculdade de Nutrição- FANUT/UFAL, por todas as disciplinas ministradas e pela contribuição na construção desta dissertação.

À Prof^ª. Dr^ª. Fabiana Moura, que abraçou o desenvolvimento deste trabalho, junto aos meus orientadores, com muito carinho.

À coordenação do Programa de Pós- Graduação em Nutrição- PPGNUT/FANUT/UFAL, em especial à Amanda, por todo seu empenho e disponibilidade em ajudar.

À Prof^a. Dr^a. Marília Goulart, que abriu as portas do Laboratório de Eletroquímica e Estresse Oxidativo- LEEO/UFAL, sempre incentivando o desenvolvimento da pesquisa.

À equipe do LEEO/UFAL, em especial Amylly, Orlando, Kivia, Jamerson e Glen, por toda força e parceria.

Ao grupo de pesquisa em pré-eclâmpsia (PPSUS), pela parceria e ensinamentos.

Ao trio que foi unido pelo amor à nutrição materno-infantil e à pesquisa, com Raphaela Costa e Micaely Tenório. Com vocês a parceria foi firmada e as dificuldades eram superadas de forma mais leve e divertida.

Ao trio que foi formado antes mesmo da aprovação no mestrado, com Patrícia Marinho e Laís Navarro, onde a amizade e o apoio foram incondicionais e me fizeram mais forte.

Aos meus amigos de faculdade, da escola, pessoais... todos contribuíram com a realização deste sonho.

Ao Hospital Universitário Professor Alberto Antunes- HUPAA, por abrir as portas aos alunos e ser essencial na formação e crescimento profissional, bem como aos colaboradores.

À Capes, pelo fornecimento de bolsa de auxílio financeiro.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para o alcance desta conquista, meu muito obrigada!

RESUMO

As síndromes hipertensivas que acometem as gestantes acarretam elevados índices de morbidade e mortalidade, tanto materna quanto fetal. Dentre elas, destaca-se a pré-eclâmpsia (PE), conhecida como a doença das teorias, é clinicamente caracterizada por pressão arterial sistólica $\geq 140\text{mmHg}$ ou pressão arterial diastólica $\geq 90\text{mmHg}$ associada à proteinúria ($>300\text{mg}/24\text{horas}$), após a 20ª semana de gestação.

Apesar de sua etiologia ainda não ter sido bem estabelecida, sabe-se que a fisiopatologia da doença é fortemente influenciada pela placenta, onde no processo inicial da gestação ocorrem alterações de placentação, associadas a um aumento do estresse oxidativo placentário. Ocorre ainda um processo inflamatório generalizado, bem como a presença de dano endotelial vascular progressivo, levando assim a disfunção deste órgão.

Assim, estes processos podem acarretar desfechos adversos à gestação, como restrição do crescimento intrauterino, ruptura placentária, parto prematuro, recém-nascidos pequenos para idade gestacional, morte fetal, entre outras. Por outro lado, não há consenso na literatura sobre as melhores estratégias de prevenção e tratamento da doença, especialmente voltadas para a nutrição. Entretanto, a suplementação com antioxidantes vem sendo utilizada sem confirmação, visando minimizar os danos causados pelo estresse oxidativo presente na fisiopatologia.

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo determinar se as terapias antioxidantes orais, de vários tipos e doses, são capazes de prevenir ou tratar mulheres com PE e os desfechos adversos associados. Além disso, estes achados podem auxiliar condutas clínicas e nutricionais, assim como, fornecer subsídios para a formulação de estratégias clínicas nesse âmbito, e consequentemente, melhorar a saúde materno- fetal em curto e longo prazo.

Palavras-chave: Gestantes, Pré-Eclâmpsia, Estresse Oxidativo, Antioxidante.

ABSTRACT

Hypertensive syndromes that affect pregnant women entail high rates of morbidity and mortality, both maternal and fetal. Among them, preeclampsia (PE), known as the theories disease, is clinically characterized by systolic blood pressure ≥ 140 mmHg or diastolic blood pressure ≥ 90 mmHg associated with proteinuria (> 300 mg / 24 hours), after the 20th week gestation.

Although its etiology has not yet been well established, it is known that the pathophysiology of the disease is strongly influenced by the placenta, where placentation changes associated with an increase in placental oxidative stress occur in the initial gestation process. There is also a generalized inflammatory process, as well as the presence of progressive vascular endothelial damage, leading to this organ dysfunction.

Thus, these processes can lead to adverse pregnancy outcomes such as intrauterine growth restriction, placental rupture, preterm delivery, small newborns for gestational age, fetal death, among others. On the other hand, there is no consensus in the literature on the best strategies for prevention and treatment of the disease, especially for nutrition. However, supplementation with antioxidants has been considered in order to minimize the damage caused by oxidative stress present in pathophysiology.

In view of the above, this study aims to determine if oral antioxidant therapies, of various types and doses, are able to prevent or treat women with PE and the associated adverse outcomes. In addition, these findings may help clinical and nutritional behaviors, as well as provide subsidies for the formulation of health policies in this scope, and consequently, improve maternal and fetal health in the short and long term.

Key words: Pregnant Women, Preeclampsia, Oxidative Stress, Antioxidant.

LISTA DE FIGURAS

	Página
1º artigo: artigo de revisão	
Figura 1	Produção mitocondrial de algumas espécies reativas de oxigênio..... 63
Figura 2	Mecanismos sugeridos na fisiopatologia da pré-eclâmpsia..... 64
Figura 3	Vias através das quais ocorre a redução da biodisponibilidade do óxido nítrico na pré-eclâmpsia..... 65
2º artigo: artigo de resultados	
Figura 1	Forest plot for the preeclampsia analysis..... 99
Figura 1 (Suplem.)	Flow diagram of study selection..... 100
Figura 2 (Suplem.)	Funnel Scatterplot from the primary outcome analysis..... 101

LISTA DE QUADROS E TABELAS

1º artigo: artigo de revisão		Página
Quadro 1	Espécies reativas relacionadas com a pré-eclâmpsia e suas principais funções.....	50
Quadro 2	Fatores inflamatórios envolvidas na fisiopatologia da pré-eclâmpsia.....	51
Quadro 3	Principais biomarcadores de estresse oxidativo e compostos antioxidantes envolvidos na fisiopatologia da pré-eclâmpsia.....	53
Quadro 4	Estudos de associação da pré-eclâmpsia e seus desfechos com os níveis de biomarcadores de estresse oxidativo, enzimas antioxidantes, associados ou não à análise de outros biomarcadores.....	55
Quadro 5	Estudos que associaram a pré-eclâmpsia e seus desfechos com os níveis de marcadores de inflamação em seres humanos e animais.....	57
Quadro 6	Pesquisas em humanos envolvendo a suplementação oral de antioxidantes para a prevenção e tratamento da pré-eclâmpsia.	59
Quadro 7	Pesquisas em humanos envolvendo a suplementação oral de nutrientes anti-inflamatórios para prevenção e tratamento da pré-eclâmpsia.	61
2º artigo: artigo de resultados		
Tabela 1	Oral therapy with antioxidants used in the prevention of preeclampsia: articles published until April 2017.....	91
Tabela 2	Oral therapy with antioxidants used in the prevention of preeclampsia: articles published until April 2017.....	94
Tabela 3	Secondary outcomes analyzed in prevention of preeclampsia...	97
Tabela 1 (Suplem.)	Risk of bias of included studies.....	102

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	14
2. COLETÂNEA DE ARTIGOS.....	18
2.1. 1º artigo: artigo de revisão	
Estresse oxidativo e inflamação na pré-eclâmpsia: o elo perdido?.....	19
2.2. 2º artigo: artigo de resultados	
Oral antioxidant therapy for prevention and treatment of preeclampsia: meta-analysis of randomized controlled trials.....	66
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	104
4. REFERÊNCIAS	106
5. ANEXOS.....	110

1 INTRODUÇÃO GERAL

As síndromes hipertensivas que acometem as gestantes acarretam elevados índices de morbidade e mortalidade, tanto materna quanto fetal. Dentre elas, destaca-se a pré-eclâmpsia (PE), conhecida como a doença das teorias, é clinicamente caracterizada por pressão arterial sistólica (PAS) ≥ 140 mmHg ou pressão arterial diastólica (PAD) ≥ 90 mmHg associada à proteinúria (>300 mg/24horas), após a 20^a semana de gestação. Pode haver ainda outros sintomas, incluindo cefaleia, turvação visual, dor abdominal, plaquetopenia (menos que $100.000/\text{mm}^3$), elevação de enzimas hepáticas, bem como o comprometimento de outros órgãos, levando à disfunção renal, edema pulmonar, distúrbios visuais ou cerebrais, escotomas ou convulsão. Vale ressaltar que existem outras definições para a PE, variando entre os países. Contudo, a mais aceita é a proposta pela World Health Organization, citada acima (WHO, 2013; MOL et al., 2015; LO et al., 2013; MALACHIAS et al., 2016).

Na Ásia e África, cerca de um décimo das mortes maternas está associado às desordens hipertensivas da gestação, comparado a um quarto das mortes na América Latina. Dentre estas, a PE e a eclâmpsia são as mais frequentemente encontradas, acarretando maiores índices de morbidade e mortalidade materna e fetal (WHO, 2011).

Considerando as importantes repercussões na saúde do público acometido, Abalos *et al.* (2013) realizaram um estudo visando determinar a incidência global de PE entre os anos de 2002 e 2010, e observaram uma taxa de 1,5% no Brasil, comparado a 2,3% nos Estados Unidos, e 10% na Argentina. Entretanto, esses autores constataram ainda ausência e/ ou baixa qualidade no registro desses dados em vários países, incluindo o Brasil, o que dificulta estimar a real prevalência desta comorbidade. Assim, não existem informações precisas sobre a incidência de PE no Brasil (MALACHIAS et al., 2016).

Adicionalmente, alguns fatores são apontados na epidemiologia da doença como de risco para seu desenvolvimento, dentre os quais se destacam: mulheres nulíparas, primigestas, gestações múltiplas, idade nos extremos da fase reprodutiva, diabetes, hipertensão, nefropatias, história familiar ou pessoal de PE ou eclâmpsia (DEKKER et al., 2001; WALSH et al., 2007), considerando relação importante entre o excesso de peso e a resistência à insulina, que é um fator de

risco para a PE, cor da pele negra (OLIVEIRA et al., 2016), baixo nível de escolaridade, baixa renda familiar, dietas hipoprotéicas e hipersódicas, (BOGGES et al., 2003), atividade profissional fora do domicílio, grupo sanguíneo AB e hidropsia fetal (DEKKER et al., 2001).

Entretanto, apesar de sua etiologia ainda não ter sido bem estabelecida, sabe-se que a fisiopatologia da doença é fortemente influenciada pela placenta, onde no processo inicial da gestação ocorrem alterações de placentação, associadas a um aumento do estresse oxidativo placentário. Em adição, ocorre também um processo inflamatório generalizado, bem como a presença de dano endotelial vascular progressivo, levando assim a disfunção deste órgão (SANCHEZ-ARAGUREN et al., 2014; WILLIAMSON et al., 2017). Apesar disso, ainda não é bem estabelecido se o estresse é resultante de dano celular oxidativo generalizado, causado pela doença já estabelecida, ou se precede as suas manifestações clínicas, estando envolvido na patogênese da comorbidade, assim como a relação deste com a inflamação e a origem da PE (HSIEH et al., 2012; TURPIN et al., 2015).

De modo suplementar, estes processos podem acarretar desfechos adversos à gestação, como restrição do crescimento intrauterino (RCIU), ruptura placentária, parto prematuro, recém-nascidos pequenos para idade gestacional (PIG), morte fetal, entre outras. Além disso, crianças acometidas por RCIU apresentam risco aumentado de desenvolver doenças cardiovasculares, como hipertensão, diabetes mellitus e doença renal crônica na vida adulta (TURPIN et al., 2015; ZHONG, ZHU, DING, 2015).

Por outro lado, não há consenso na literatura sobre as melhores estratégias de prevenção e tratamento da doença, especialmente voltadas para a nutrição. Entretanto, a suplementação com antioxidantes vem sendo considerada, visando minimizar os danos causados pelo estresse oxidativo presente na fisiopatologia. Apesar dos resultados ainda serem controversos na PE, estudos realizados em outras enfermidades que envolvem um aumento do estresse oxidativo, como hipertensão (XU et al., 2014), doença inflamatória intestinal (MOURA et al., 2015; LANGMEAD, RAMPTON, 2006) e doença renal crônica (GENSER et al., 1999), vem sendo conduzidos com resultados positivos.

Atualmente, o tratamento conservador da doença inclui a restrição dietética de sal e o uso de drogas anti-hipertensivas, porém, a recomendação mais forte é

a interrupção da gestação o quanto antes seja possível ou de acordo com a severidade da doença. Assim, com a retirada da placenta, também ocorre a eliminação da enfermidade (WHO, 2011; STEEGERS et al., 2010; MALACHIAS et al., 2016).

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo determinar se as terapias antioxidantes orais, de vários tipos e doses, são capazes de prevenir ou tratar mulheres com PE e os desfechos adversos associados. Além disso, estes achados podem auxiliar condutas clínicas e nutricionais, assim como, fornecer subsídios para a formulação de políticas de saúde nesse âmbito, e consequentemente, melhorar a saúde materno- fetal em curto e longo prazo.

Esta dissertação é composta por um artigo científico de revisão narrativa, e um artigo científico principal, que consiste em uma revisão sistemática com metanálise. O primeiro tem como objetivo descrever a relação entre o estresse oxidativo e a inflamação na PE, visando reforçar sua importância no contexto da doença e discutir perspectivas sobre o tratamento clínico e nutricional nessa linha de investigação. O artigo principal teve por objetivo determinar se a terapia antioxidante oral, de vários tipos e doses, são capazes de prevenir ou tratar mulheres com PE.

2 COLETÂNEA DE ARTIGOS

1º artigo: artigo de revisão

TENÓRIO, MB; FERREIRA, RC; MOURA, FA; BUENO, NB; GOULART, MOF; OLIVEIRA, ACM. **Estresse oxidativo e inflamação na pré-eclâmpsia: o elo perdido?** Revista Científica para a qual será submetido: Revista Portuguesa de Cardiologia (Classificação B2, segundo os critérios do sistema *Qualis* da CAPES/Área de Nutrição).

Estresse oxidativo e inflamação na pré-eclâmpsia: o elo perdido?
Oxidative stress and inflammation in preeclampsia: the missing link?

Marilene B Tenório¹; Raphaela C Ferreira²; Fabiana A Moura¹; Nassib B Bueno¹; Marília O F Goulart^{2,3}; Alane C M de Oliveira¹.

¹Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas. Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins. CEP 57.072-970. Maceió, Alagoas, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, ICBS, Universidade Federal de Alagoas. Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins. CEP 57.072-970. Maceió, Alagoas, Brasil.

³Instituto de Química e Biotecnologia (IQB/UFAL); Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO); Universidade Federal de Alagoas. Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins. CEP 57.072-970. Maceió, Alagoas, Brasil.

Autor para correspondência: Alane Cabral Menezes de Oliveira. Faculdade de Nutrição. Universidade Federal de Alagoas. Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins. CEP 57.072-970. Maceió, Alagoas, Brasil. Telefone: (82) 99153-5740. Email: alanecabral@gmail.com.

Número total de palavras do manuscrito: 2940

Conflito de interesse: Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Resumo

A ocorrência das síndromes hipertensivas na gestação acarreta elevados índices de morbimortalidade materno-fetal. Dentre estas alterações, a pré-eclâmpsia (PE) é uma das mais comuns. Esta revisão tem como objetivo descrever a relação entre o estresse oxidativo e a inflamação na PE, visando reforçar sua importância no contexto da doença e discutir perspectivas sobre o tratamento clínico e nutricional nessa linha de investigação. Apesar da fisiopatologia da PE estar pouco esclarecida, sabe-se que inicialmente na gravidez há alterações de placentação, associadas a um desequilíbrio entre a produção das espécies reativas de oxigênio e o sistema de defesa antioxidante, caracterizando o estresse oxidativo placentário que conduz a um aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias. Com isso, ocorre também um processo inflamatório generalizado, além da presença de dano endotelial vascular progressivo, levando assim à disfunção deste órgão. Não há consenso na literatura sobre as melhores estratégias de prevenção e tratamento da doença, especialmente voltadas para o controle do estresse oxidativo e da inflamação. Entretanto, a suplementação com nutrientes e outros compostos alimentares com propriedades antioxidantes e/ou anti-inflamatórias vem sendo considerada, apesar dos resultados ainda serem controversos. Diante do exposto, torna-se evidente a importante conexão existente entre o estresse oxidativo e o processo inflamatório na patogênese da PE, atuando ambos interligados nos mecanismos envolvidos na doença, podendo levar a sérias implicações na saúde materna e dos conceptos.

Palavras- chave: Gestantes, Hipertensão, antioxidantes, citocinas.

Abstract

The occurrence of hypertensive syndromes during pregnancy leads to high rates of maternal-fetal morbidity and mortality. Among these changes, pre-eclampsia (PE) is one of the most common. This review aims to describe the relationship between oxidative stress and inflammation in PE, aiming to reinforce its importance in the context of the disease and discuss perspectives on clinical and nutritional treatment in this line of research. Despite the poor understanding of the pathophysiology of PE, it is well accepted that there are placental changes in pregnancy, associated with an imbalance between the production of reactive oxygen species and the antioxidant defense system, characterizing the placental oxidative stress that leads to an increase in the production of pro-inflammatory cytokines. With this, a generalized inflammatory process occurs, besides the presence of progressive vascular endothelial damage, leading to the dysfunction of this organ. There is no *consensus* in the literature on the best strategies for prevention and treatment of the disease, especially for the control of oxidative stress and inflammation. However, supplementation with nutrients and other food components with antioxidant and / or anti-inflammatory properties has been considered, although the results are still controversial. In view of the above, it is evident the important connection between oxidative stress and inflammatory process in the pathogenesis of PE, both of which are interconnected on the mechanisms involved in the disease, and can lead to serious implications on maternal health and concepts.

Keywords: Pregnant women, Hypertension, antioxidants, cytokines.

Quadro de Abreviaturas

Designação	Português	Inglês
ADA	Adenosina deaminase	Adenosine deaminase
ADMA	Dimetilarginina	Dimethylarginine
ADP	Adenosina difosfato	Adenosine diphosphate
AMP	Adenosina monofosfato	Adenosine monophosphate
Ang II	Angiotensina II	Angiotensin II
AT1	Receptor de auto anticorpos contra o Ang II tipo 1	Receptor for autoantibodies against Ang II type 1
AT1-AA	Receptor da angiotensina II tipo 1	Receptor of angiotensin II type 1
ATP	Adenosina trifosfato	Adenosine triphosphate
Ca ²⁺	Íons cálcio	Calcium ions
CAT	Catalase	Catalase
COX-2	Ciclo-oxigenase-2	Cyclooxygenase-2
CuZnSOD	Superóxido dismutase de cobre e zinco	Copper and zinc superoxide dismutase
DHA	Ácido docosa-hexaenoico	Docosahexaenoic acid
DMG	Diabetes mellitus gestacional	Gestational diabetes mellitus
DNA	Ácido desoxirribonucleico	Deoxyribonucleic acid
eNOS	Óxido nítrico sintase	Nitric oxide synthase
EPA	Ácido eicosapentaenoico	Eicosapentaenoic acid
ERO	Espécies reativas de oxigênio	Reactive oxygen species
GC	Gestante controle	Pregnant control
GDH	Gestante com distúrbio hipertensivo	Pregnant woman with hypertensive disorder
GI	Grupo intervenção	Intervention group
GLA	Ácido gama-linolênico	Gamma-linolenic acid
GLUT-4	Transportador de glicose tipo 4	Conveyor of glucose type 4
GPx	Glutaciona peroxidase	Glutathione peroxidase
GPx-Se	Glutaciona peroxidase de selênio	Glutathione selenium peroxidase
GSH	Glutaciona reduzida	Reduced glutathione
GSSG	Glutaciona oxidada	Oxidized glutathione
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio	Hydrogen peroxide
HCG	Hormônio gonadotrofina coriônica humana	Human chorionic gonadotropin hormone
ICAM-1	Molécula de adesão intracelular 1	Intracellular adhesion molecule 1
IFN γ	Interferon gama	Interferon gamma
I κ B	Proteína kappa B inibitória	Inhibitory kappa B protein
IL	Interleucina	Interleukin
IL-1R	Receptor de interleucina 1	Interleukin Receptor 1
IL-2R	Receptor de interleucina 2	Interleukin Receptor 2
JAK/STAT	Família Janus de tirosinoquinas/fatores de transcrição	Janus family of tyrosinoquinas / transcription factors
MDA	Malonaldeído	Malonaldehyde

MnSOD	Superóxido dismutase de manganês	Manganese superoxide dismutase
NADPH-oxidase	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidase	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase
NAP-1	Proteína ativadora de neutrófilos-1	Neutrophil-1 activating protein
NF-κB	Fator nuclear kappa B	Nuclear factor kappa B
NG	Não grávidas	Not pregnant
NK	Células natural killer	Natural killer cells
NO [•]	Óxido nítrico	Nitric oxide
NT	Normotensas	Normotenses
O ₂ ^{•-}	Radical superóxido	Superoxide radical
[•] OH	Radical hidroxila	Hydroxyl Radical
ONOO ⁻	Peroxinitrito	Peroxynitrite
PAD	Pressão arterial diastólica	Diastolic blood pressure
PAI-1	Inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1	Inhibitor of plasminogen activator type 1
PAS	Pressão arterial sistólica	Systolic blood pressure
PE	Pré-eclâmpsia	Pre-eclampsia
PGE2	Prostaglandina E2	Prostaglandin E2
PIGF	Fator de crescimento placentário	Placental growth factor
PL	Peroxidação lipídica	Lipid peroxidation
PPT	Parto pré-termo	Preterm birth
Pro-IL-1β	Proteína precursora da interleucina 1 beta	Interleukin 1 beta precursor protein
PT	Parto a termo	Term birth
RCIU	Restrição de crescimento intrauterino	Intrauterine growth restriction
sEndoglina	Endoglina solúvel	Soluble endoglin
sFlt-1	Receptor Fms-like de tirosina quinase solúvel	Soluble Fms-like receptor tyrosine kinase
SOD	Superóxido dismutase	Superoxide dismutase
SP	Substância P	Substance P
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico	Substances reactive to thiobarbituric acid
TGFβ1	Fator transformador de crescimento beta 1	Transforming growth factor beta 1
Th17	Células T-helper	T-helper cells
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa	Tumor necrosis factor alpha
Treg	Células T regulatórias	Regulatory T cells
VCAM-1	Molécula de adesão de células vasculares 1	Adhesion molecule of vascular cells 1
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular	Vascular endothelial growth factor
Vit.C	Vitamina C	Vitamin C
Vit.E	Vitamina E	Vitamin E

Introdução

A gestação cursa, na maioria das vezes, sem intercorrências, no entanto, algumas complicações, tais como as síndromes hipertensivas, podem aparecer nesse período elevando a morbimortalidade do binômio mãe-filho^{1, 2}. Dentre elas, a pré-eclâmpsia (PE) é uma das mais comuns, sendo clinicamente caracterizada por pressão arterial sistólica (PAS) ≥ 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica (PAD) ≥ 90 mmHg associada à proteinúria (> 300 mg/24 horas), com início após a 20ª semana de gestação. Adicionalmente, podem ocorrer outros sintomas, incluindo cefaleia, turvação visual, dor abdominal, plaquetopenia ($< 100.000/\text{mm}^3$), elevação de enzimas hepáticas, disfunção renal, edema pulmonar, distúrbios visuais ou cerebrais, escotomas ou convulsão³⁻⁵.

Apesar dos mecanismos fisiopatológicos da PE permanecerem obscuros, sabe-se que inicialmente na gravidez ocorrem alterações de placentação, associadas a um desequilíbrio entre a produção das espécies reativas de oxigênio (ERO) e o sistema de defesa antioxidante, caracterizando o estresse oxidativo. Somado a isso, ocorre também um processo inflamatório generalizado, bem como a presença de dano endotelial vascular progressivo, que culmina na disfunção deste órgão⁶. Apesar disto, não está bem estabelecido se o estresse oxidativo é resultante do dano celular oxidativo generalizado, que pode acometer proteínas, membrana lipídica ou ácido desoxirribonucleico (DNA) causado pela doença já estabelecida, ou se este antecede a instalação clínica da PE, estando envolvido na sua patogênese. Outro ponto que permanece incerto é a relação do estresse oxidativo com o processo inflamatório e o surgimento da PE^{7,8}.

Considerando o exposto, esta revisão tem como objetivo descrever a relação entre o estresse oxidativo e a inflamação na PE, visando reforçar a

importância dos mesmos no contexto da doença e discutir perspectivas sobre o tratamento clínico e nutricional nessa linha de investigação.

Fisiopatologia da PE (invasão trofoblástica - estresse oxidativo - processo inflamatório - dano endotelial)

Invasão trofoblástica e placenta: gestação normal vs gestação com PE

A placenta, órgão vascular membranoso de alta complexidade, é desenvolvida durante a gestação sendo responsável pela interação metabólica entre mãe e feto. Possui diâmetro de 15 a 17 cm e peso aproximado de 500 g em uma gestação a termo, sendo seu aumento proporcional ao período gestacional⁹.

As principais funções da placenta incluem o transporte de oxigênio e nutrientes da mãe para o feto; a eliminação dos metabólitos fetais; e a produção de hormônios essenciais à manutenção e desenvolvimento da gravidez, como o hormônio gonadotrofina coriônica humana (HCG), o estrógeno, a progesterona e o lactogênio placentário humano^{10,11}.

Entretanto, apesar de desenvolver importante papel no crescimento fetal, algumas condições patológicas podem desencadear insuficiência placentária, tais como hipertensão, vasculopatia diabética e desordens anatômicas. Dessa forma, alterações na homeostase materna podem modificar a estrutura e a função placentárias, e com isso, afetar o crescimento fetal⁹.

No desenvolvimento de uma gestação saudável, as células trofoblásticas têm como atribuição invadir o endométrio materno e causar remodelamento das artérias espiraladas, objetivando aumentar seu calibre, e conseqüentemente, fornecer sangue oxigenado e nutrientes para a placenta^{12, 13}.

Em mulheres que desenvolvem PE, ocorre inicialmente na gravidez, uma invasão trofoblástica anormal, o que implica em má oxigenação do espaço

interviloso e a persistência das características primárias das artérias espiraladas uterinas, que mantêm sua alta resistência. Assim, por não haver o remodelamento dessas artérias, há um menor aporte sanguíneo oxigenado e de nutrientes, fazendo com que a placenta apresente tamanho reduzido. Este tipo de injúria é marcado por uma produção exacerbada de ERO, sempre que as moléculas de oxigênio são reintroduzidas ao tecido após ter ocorrido a hipóxia, já que essa, associada às alterações placentárias decorrentes da má perfusão, bem como à presença do estresse oxidativo, acarreta disfunção endotelial através de diferentes mecanismos^{14, 15}.

Dentre os mecanismos propostos para explicar a relação entre a hipóxia e a presença de ERO, inclui-se inicialmente a respiração celular aeróbia. Assim, à medida que acontece redução da concentração de oxigênio (O₂) dentro da célula, ocorre também decréscimo da fosforilação oxidativa e menor formação de adenosina trifosfato (ATP), o que provoca ação disseminada sobre vários sistemas intracelulares¹⁶. Com isso, ocorre um aumento na produção de radicais livres pela mitocôndria, podendo acarretar em lesão e/ou morte celular^{17,18}.

Ademais, o excesso de cálcio no citosol, causado pelo processo de isquemia/ reperfusão, leva à ativação da protease calpaína, capaz de promover a quebra de uma ponte peptídica da enzima xantina desidrogenase, conduzindo à formação da enzima xantina oxidase, que por sua vez, necessita de oxigênio para realizar a transformação de hipoxantina em xantina. Na fase de isquemia, por conseguinte, ocorre acúmulo dessas duas substâncias. Já com a reperfusão, a hipoxantina é oxidada em xantina e esta em ácido úrico, tendo como subproduto dessa reação a formação do ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e na presença de íons divalentes, como ferro e cobre, e radicais hidroxila¹⁷.

A produção de radicais superóxido por captura de elétrons no sistema de transporte dentro da mitocôndria ou via ciclooxigenase no metabolismo do ácido araquidônico^{19,20}, constituem fontes alternativas de ERO. Por tal via, ocorre ativação de proteases e fosfolipases inespecíficas, alterada pelo acúmulo de Ca^{2+} (cálcio) intracelular durante a reperfusão, acarretando na síntese de mediadores pró-inflamatórios como o fator ativador plaquetário, leucotrienos, tromboxanos e prostaglandinas²¹.

Deste modo, a presença do trofoblasto e da placenta, e não necessariamente do feto, são essenciais para o desenvolvimento da PE, já que a doença também afeta gestações molares (onde tecido placentário geneticamente anormal se prolifera na ausência de feto, dando origem a tumores trofoblásticos gestacionais). Ademais, quanto maior a massa placentária, como em gestações múltiplas, maior o risco de desenvolvimento desta doença, porque a placenta é coberta por sinciotrofoblasto, um tipo de célula multinucleada com elevado potencial invasivo que auxiliará na implantação do embrião no endométrio materno. Quando há algum tipo de dano nestas células, fragmentos trofoblásticos são lançados na circulação materna, havendo sinalização para as células endoteliais, que os fagocitam em situações normais. Entretanto, na PE, também há um comprometimento na atividade das células endoteliais, o que dificulta a remoção desses fragmentos, e apesar de não ser esclarecido qual fator placentário é responsável por desencadear a PE, sabe-se que o aumento de fragmentos trofoblásticos na circulação materna está relacionado com o surgimento da doença²².

No que concerne às alterações na arquitetura da placenta, considerando as características morfológicas e funcionais, as placentas oriundas de gestantes

com PE apresentam diâmetro, espessura, peso, volume, tamanho do cordão e número de cotilédones menores; além de áreas com hematoma, infarto e presença de coágulo, tendo ainda inserção de cordão marginal e paracentral, em comparação com as placentas de gestantes normais, que apresentam inserção do cordão central²³⁻²⁵.

PE vs estresse oxidativo

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, causando a disfunção da sinalização redox e dos mecanismos de controle, com consequentes danos a macromoléculas biológicas, sendo, alguns deles, irreversíveis²⁶. A gravidez normal é caracterizada como sendo um período pró-oxidante, onde ocorre uma exacerbada produção de ERO, caracterizando o estresse oxidativo, sendo que esse geralmente ocorre de forma excessiva em muitos distúrbios relacionados à gestação, caso da PE²⁷.

Assim, evidências científicas sugerem que a perfusão reduzida devido à invasão trofoblástica prejudicada, e à placentação aberrante, desencadeiam uma condição de estresse oxidativo na placenta pelos seguintes mecanismos: (a) a perfusão que pode levar a uma hipóxia/reoxigenação repetida, estímulo potente para a ativação das enzimas xantina oxidase e nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidase (NADPH oxidase) que são importantes precursoras na formação do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$)²⁸⁻³⁰; b) a hipóxia/reperfusão também estimula a cadeia transportadora de elétrons, especificamente os complexos I e III³¹, o que eleva a produção de $O_2^{\cdot-}$ ²⁸. Na matriz mitocondrial, a superóxido dismutase de manganês (MnSOD) ou a superóxido dismutase de cobre e zinco (CuZnSOD), no espaço intermembranar, catalisam a conversão do $O_2^{\cdot-}$ em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2 pode então ser totalmente reduzido à água por enzimas antioxidantes,

tais como glutathiona peroxidase (GPx) ou catalase (CAT)^{32,33}. A Figura 1 ilustra esse processo na matriz mitocondrial e o Quadro 1 sumariza as principais espécies reativas relacionadas com a PE e suas principais funções.

PE vs inflamação e disfunção endotelial

Com o aumento do estresse oxidativo na PE, a elevação das ERO conduz a um aumento da resposta inflamatória através da produção de citocinas, tais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6), as quais levam a uma redução na produção de citocinas anti-inflamatórias, como interleucina 10 (IL-10), e, conseqüentemente, a danos celulares^{15, 35}.

Na resposta inflamatória, há o envolvimento de genes relacionados ao estresse oxidativo, destacando-se o fator nuclear kappa B (NF- κ B), localizado no citoplasma celular. As ERO são capazes de oxidar o complexo IKK, acarretando na liberação de NF- κ B, o qual é formado por subunidades p50 e p65. Por se tratar de um fator nuclear, a molécula de NF- κ B entra no núcleo celular e promove transcrição de vários mediadores pró-inflamatórios, como a molécula de adesão intracelular 1 (ICAM-1) e a molécula de adesão de células vasculares 1 (VCAM-1); além de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- α . Esse processo ocorre naturalmente durante a gestação, porém na PE, tem sua ação exacerbada^{36, 37} (Figura 2).

Além do mecanismo supracitado, durante a própria invasão trofoblástica, a decídua, que é o revestimento do útero responsável pela formação da porção materna da placenta, contém um grande número de células imunes, tais como macrófagos, células natural killer (NK), células T e células T regulatórias (Treg), necessárias para promover a migração do trofoblasto. Na PE é observado um desequilíbrio imunológico, que resulta na secreção de citocinas pró-inflamatórias

e diminuição de células Treg, sendo esse desequilíbrio responsável pela ativação de uma resposta inflamatória crônica no sistema imunológico^{35, 38}.

Durante a PE, as células do sistema imune do tipo Th17 (células T-helper) estão com os níveis elevados, e secretam interleucina 17 (IL-17), que por sua vez, estimula a migração de outras citocinas que auxiliam a comunicação celular, como TNF- α e IL-6, as quais induzem a secreção de macrófagos e neutrófilos, que serão responsáveis por liberar substâncias antimicrobianas (capazes de matar ou inibir o desenvolvimento de microrganismos) e por fagocitar microrganismos e tecidos mortos. Os macrófagos, neutrófilos e células T pró-inflamatórias também são capazes de converter o oxigênio molecular em $O_2^{\cdot-}$ pelo sistema de fagócito oxidase, catalisado pela enzima NADPH oxidase. Uma vez ativados, os neutrófilos podem causar danos à placenta pela liberação de enzimas lisossômicas e ERO^{\cdot} ³⁸. Assim, a ativação da enzima NADPH oxidase pode ser induzida por lipoproteínas e citocinas, como interleucinas pró-inflamatórias e TNF- α ³⁹.

Além do processo inflamatório, na PE também ocorre disfunção endotelial devido à redução na biodisponibilidade de óxido nítrico (NO^{\cdot}) e maior produção de fatores anti-angiogênicos placentários, tais como a dimetilarginina (ADMA), sEndogлина (endogлина solúvel) e *Fms-like receptor* tirosina quinase solúvel (sFlt- 1)⁴⁰. O NO^{\cdot} é um agente vasodilatador, capaz de promover relaxamento da musculatura lisa, de regular a função endotelial, a agregação plaquetária e o desenvolvimento de células musculares⁴¹. A Figura 3 mostra três vias capazes de explicar a menor biodisponibilidade do NO^{\cdot} na PE.

De modo suplementar, a disfunção endotelial que existe na PE é decorrente da hipóxia, que ao desencadear o estresse oxidativo, leva à produção

placentária de um grande número de fatores antiangiogênicos, como o sFlt-1 e sEndogлина, que é um receptor solúvel formado por *splicing* alternativo, levando à perda da porção transmembranar de Flt-1, um receptor comum para fatores angiogênicos, o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e fator de crescimento placentário (PlGF). Dessa forma, sFlt-1 se liga a estas moléculas circulantes e evita que esses fatores angiogênicos se conectem aos seus receptores comuns na membrana celular, causando disfunção no reparo do endotélio vascular⁴⁶. O mesmo ocorre com a sEndogлина, um fator antiangiogênico que associado ao fator transformador de crescimento beta 1 (TGFβ1), impede que a endogлина exerça tal função, levando também à disfunção endotelial vascular¹³.

Além do mais, a disfunção endotelial também ocorre devido a um aumento na expressão de endotelina-1⁴⁷, e estímulo da expressão de auto-anticorpos para o receptor da angiotensina II tipo 1 (AT1-AA). Apesar de em gestações normais ocorrer desregulação na concentração plasmática de renina e diminuição da capacidade de resposta da angiotensina II (Ang II), na PE, mesmo este vasoconstritor estando com seus níveis reduzidos, sua atividade está aumentada. Assim, o estímulo de AT1-AA está também elevado na doença. Logo, este anticorpo agonista é capaz de ativar o receptor de auto-anticorpos contra o Ang II tipo 1 (AT1), similar à Ang II, dificultando a ação desta última. Associadas, todas essas alterações conduzem ao aumento da pressão arterial na gravidez⁴⁸. O Quadro 2 resume os principais fatores inflamatórios envolvidos na fisiopatologia da PE, bem como suas formas de atuação.

Adicionalmente, por ser uma doença que cursa com disfunção endotelial sistêmica e produção elevada de citocinas pró-inflamatórias, a PE pode assim

acometer diversos sistemas orgânicos maternos, incluindo alterações no fígado, rins, pulmão, entre outras, bem como causar efeitos importantes na saúde do feto^{54, 55}.

PE vs biomarcadores de estresse oxidativo

Alguns biomarcadores de estresse oxidativo são comumente avaliados em estudos envolvendo gestantes com PE, incluindo enzimas e compostos antioxidantes, tais como MDA, CAT, SOD, glutathiona reduzida (GSH), Vitamina C e E⁵⁶. O Quadro 3 apresenta os principais marcadores de estresse oxidativo, enzimas e antioxidantes, envolvidos na fisiopatologia da doença.

Um dano oxidativo amplamente avaliado é a PL que exerce um importante papel na fisiopatologia da PE. Os lipídios oxidados (produtos da PL tais como TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico-, F2-isoprostano), afetam a funcionalidade das enzimas antioxidantes (GPx e SOD), bem como antioxidantes não-enzimáticos (vitaminas A, C e E) causando, consequentemente, dano oxidativo⁶². Esses produtos são transportados para diferentes partes da circulação materna, causando aumento na resposta inflamatória e disfunção endotelial sistêmica, contribuindo para o aparecimento das complicações da PE. Sistemas enzimáticos antioxidantes, como SOD, CAT, glutathiona S-transferase e glucose 6-fosfato desidrogenase, e biotióis de baixa massa molecular, como GSH, presentes na placenta, apresentam redução da atividade placentária durante a PE, em decorrência do prejuízo funcional causado pelo aumento da PL e seus produtos, devido ao estresse oxidativo^{62, 63}. A relação da PE e seus desfechos com alguns biomarcadores de estresse oxidativo e enzimas antioxidantes é resumida no Quadro 4.

PE vs biomarcadores inflamatórios

É sabido que mulheres com PE apresentam aumento nos níveis de biomarcadores inflamatórios, quando comparadas àquelas sem a doença^{55,74}. No entanto, a literatura é escassa no que se refere a pesquisas que avaliaram biomarcadores inflamatórios na PE em humanos, sendo mais comuns dados obtidos em modelos animais, como pode ser visto no Quadro 5.

Diante do exposto, é possível observar que ocorre uma elevação importante dos marcadores de inflamação no desenvolvimento da PE, bem como, atuação evidente destes na fisiopatologia da doença, mesmo antes de seu diagnóstico, reforçando a necessidade de maior entendimento do processo inflamatório, possibilitando um melhor controle e prevenção da doença.

PE vs terapia antioxidante

O uso de suplementação com compostos antioxidantes em diversos contextos clínicos e patológicos vem sendo amplamente discutida e realizada, contudo na PE, seu uso apresenta resultados controversos, tanto na prevenção quanto no seu tratamento⁷⁷ (Quadro 6).

Dentre as substâncias antioxidantes naturais testadas na PE, o licopeno parece desempenhar um papel crucial nos desfechos neonatais, incluindo maior peso médio do recém-nascido ao nascer, redução nos índices de restrição de crescimento intra-uterino (RCIU), e na própria prevenção da PE^{78, 87}.

Outros compostos antioxidantes, como selênio⁸², alicina⁸³, coenzima Q10⁸¹, N-acetilcisteína⁸⁴, L-arginina^{79,80}, vitaminas C e E⁸⁵, também já foram testados na prevenção e/ou tratamento da PE. Contudo, os resultados são controversos, com evidências de influência nula⁸³⁻⁸⁵ e ação benéfica⁷⁹⁻⁸ dos antioxidantes (Quadro 6). No entanto, ainda não há comprovação suficiente para recomendar sua utilização^{90,91}.

PE vs terapia com nutrientes anti-inflamatórios

A utilização oral de nutrientes anti-inflamatórios na prevenção e tratamento da PE vem sendo abordada pela comunidade científica⁷⁷ (Quadro 7), com destaque para o ômega 3. Contudo, revisões sistemáticas concluíram que a suplementação de ômega-3 na gestação com PE não apresenta efeitos benéficos na prevenção, tampouco no controle dos níveis pressóricos na doença^{97,98}.

Vale destacar que a PE tem sua origem no período inicial da gravidez, ainda durante o processo de placentação, devendo, portanto, sua prevenção ser realizada antes mesmo da gestação ter sido estabelecida, o que poderia justificar os escassos resultados encontrados na literatura^{6,13}.

Por fim, ainda não há consenso sobre as melhores estratégias de prevenção e tratamento da doença, especialmente voltadas para o tratamento do estresse oxidativo e da inflamação, que são característicos da doença. Entretanto, a suplementação com compostos e nutrientes antioxidantes e anti-inflamatórios vem sendo considerada, visando minimizar os danos causados pelo estresse oxidativo e inflamação presentes na fisiopatologia, apesar dos resultados ainda serem controversos.

O tratamento conservador da doença inclui a restrição dietética de sal e o uso de fármacos anti-hipertensivos, porém, a recomendação mais forte é a interrupção da gestação o quanto antes seja possível ou de acordo com a severidade da doença. Assim, com a retirada da placenta, também ocorre a eliminação da enfermidade. Contudo, é importante ressaltar que a interrupção da gestação de forma precoce pode trazer consequências negativas para a saúde materno-fetal. Logo, uma adequada prevenção e tratamento da PE podem

proporcionar o prolongamento da gestação, e com isso, evitar tais desfechos adversos^{1,5,12}.

Conclusão

Diante do exposto, é possível estabelecer relação importante entre o estresse oxidativo e o processo inflamatório na patogênese da PE, considerando que estes se encontram interligados, atuando sobre os diversos mecanismos envolvidos na doença.

Por outro lado, apesar desta relação, o tratamento clínico e nutricional descrito na literatura não tem surtido efeito, pois não atua sobre a causa da doença, mas no sentido de amenizar suas consequências, não sendo suficiente para impedir a sua progressão. Assim, é necessária a realização de pesquisas mais aprofundadas, visando elucidar a fisiopatologia desta enfermidade, de modo a respaldar condutas dos profissionais de saúde, e ainda contribuir para amenizar suas graves repercussões na saúde do binômio mãe- feto.

Referências

1. World Health Organization (WHO). WHO recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclampsia. Geneva: WHO; 2011. 48p.
2. U.S. Department Of Health And Human Services. National Institutes of Health. The seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. NIH Publication No. 04-5230;2004.140p.
3. World Health Organization (WHO). Recomendações da OMS para a prevenção e tratamento da pré-eclâmpsia e da eclâmpsia- Implicações e ações. Geneva: WHO; 2013.5p.

4. Lo JO, Mission JF, Caughey AB. Hypertensive disease of pregnancy and maternal mortality, *Current opinion in obstetrics & gynecology*. 2013;25:124-32.
5. Malachias MVB, Souza WKS, Plavnik FL et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2016;107(3):1-83.
6. Williamson RD, McCarthy C, McCarthy FP et al. Oxidative stress in pre-eclampsia; have we been looking in the wrong place? *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health*, 2017 [in press].
7. Hsieh TT, Chen SF, Lo LM et al. The Association between maternal oxidative stress at mid-gestation and subsequent pregnancy complications. *Reproductive Sciences*, 2012; 19(5):505-12.
8. Turpin CA, Sakyi SA, Owiredu WA et al. Association between adverse pregnancy outcome and imbalance in angiogenic regulators and oxidative stress biomarkers in gestational hypertension and preeclampsia. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 2015; 15(189):1-10.
9. Institute of Medicine (US) and National Research Council (US) Committee to Reexamine IOM Pregnancy Weight Guidelines. *Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines*. Washington (DC): National Academies Press (US), 2009.
10. Fournier T, Guibourdenche J, Evain-Brion D. Review: hCGs: Different sources of production, different glycoforms and functions. *Placenta*, 2015;29(36):60-5.

11. Sadler TW. Langman: Embriologia médica. 9° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.335p.
12. Steegers EAP, Dadelszen P, Duvekot JJ et al. Pre- eclampsia. *The Lancet*, 2010; 376:631-44.
13. Mol BWJ, Roberts CT, Thangaratinam S et al. Pre- eclampsia. *The Lancet*, 2015; 6736(15):70-7.
14. Sankaralingam S, Arenas IA, Lalu MM et al. Preeclampsia: current understanding of the molecular basis of vascular dysfunction. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 2006; 268(3):1-20.
15. Sánchez- Araguren LC, Prada CE, Riaño-Medina CE et al. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Frontiers I Physiology*, 2014; (372):1-11.
16. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins: Patologia estrutural e funcional. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2000,1251p.
17. Silva Jr OC, Centurion S, Pacheco EG et al. Aspectos básicos da lesão de isquemia e reperfusão e do précondicionamento isquêmico. *Acta Cirurgica Brasileira*, 2002; 17(3): 96-100.
18. Tardini DMS, Yoshida WB. Lesões cerebrais decorrentes de isquemia e reperfusão na cirurgia de endarterectomia de carótida. *Jornal Vascular Brasileiro*, 2003; 2(2):119-28.
19. White BC, Sullivan JM, Degracia DJ et al. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *Journal of the Neurological Sciences*, Amsterdam, 2000; 179:1–33.

20. Kunz A, Dirnagl U, Mergenthaler P. Acute pathophysiological processes after ischaemic and traumatic brain injury. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 2010; 24:495-509.
21. Campos EBP, Yoshida WB. O papel dos radicais livres na fisiopatologia da isquemia e reperfusão em retalhos cutâneos: modelos experimentais e estratégias de tratamento. *Jornal Vascular Brasileiro*, 2004; 3(4):357-66.
22. Zhao M, Yin Y, Wei J et al. Trophoblastic debris extruded from hydatidiform molar placentae activates endothelial cells: Possible relevance to the pathogenesis of preeclampsia. *Placenta*, 2016; 29(15):2389-97.
23. Ártico LG, Madi JM, Godoy AEG et al. Alterações histopatológicas em placentas humanas relacionadas às síndromes hipertensivas. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 2009; 31(1):10-6.
24. Shevade S, Arole V, Bharambe V et al. Placental morphology and fetal outcome in preeclampsia and normotense pregnancies. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 2015; 14(4):11-5.
25. Sankar KD, Bhanu BS, Ramalingam K et al. Histomorphological and morphometrical changes of placental terminal villi of normotense and preeclamptic mothers. *Anatomy and Cell Biology*, 2013; 46:285-90.
26. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative stress. *Annual Review of Biochemistry*, 2017; 86(1):715-48.
27. Rogers MS, Wang CC, Tam WH et al. Oxidative stress in midpregnancy as a predictor of gestational hypertension and pre-eclampsia. *BJOG: An international Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2006; 113:10539.

28. Yiyenoçglu ÖB, Uçgur MG, Özcan HSC et al. Assessment of oxidative stress markers in recurrent pregnancy loss: a prospective study. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2013; 289:337–40.
29. Redman CW. Current topic: pre-eclampsia and the placenta. *Placenta*, 1991; 12(4):301–8.
30. Poston L, Igosheva N, Mistry HD et al. Role of oxidative stress and antioxidant supplementation in pregnancy disorders. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2011; 94:1980-5.
31. Quinlan CL, Goncalves RL, Hey-Mogensen M et al. The 2-oxo acid dehydrogenase complexes in mitochondria can produce superoxide/hydrogen peroxide at much higher rates than complex I. *The Journal of Biological Chemistry*, 2014; 289(12):8312-25.
32. Chamy V, Lepe J, Catalan A et al. Oxidative stress is closely related to clinical severity of pre-eclampsia. *Biological Research*, 2006; 39(2):229–36.
33. Raijmakers M, Dechend R, Poston L. Oxidative stress and preeclampsia: rationale for antioxidant clinical trials. *Hypertension*, 2004; 44(4):374–80.
34. Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quím. Nova* [online], 2007; 30(5): 1323-1338.
35. Harmon AC, Cornelius DC, Amaral LM et al. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. *Clinical Science (Lond)*, 2016; 130(6):409-19.
36. Rayman MP, Searle E, Kelly L et al. Effect of selenium on markers of risk of pre-eclampsia in UK pregnant women: a randomised, controlled pilot trial. *British Journal of Nutrition*, 2014; 112(1):99-111.

37. Striz I, Brabcova E, Kolesar L et al. Epithelial cells modulate genes associated with NF kappa B activation in co-cultured human macrophages. *Immunobiology*, 2011; 216(10):1110-6.
38. Dhillon P, Wallace K, Herse F et al. IL-17-mediated oxidative stress is an important stimulator of AT1-AA and hypertension during pregnancy. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2012; 303(4):R353-8.
39. Filippin, LI, Vercelino R, Marroni NAP et al. Influência de processos redox na resposta inflamatória da artrite reumatóide. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 2008; 48(1): 1724.
40. Charnock- Jones DS. Placental hypoxia, endoplasmic reticulum stress and maternal endothelial sensitisation by sFLT1 in pre- eclampsia. *Journal of Reproductive Immunology*, 2016; 114:81-5.
41. Qian, J, Fulton D. Post-translational regulation of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelium. *Frontiers in Physiology*, 2013; 4:347.
42. Takacs P, Kauma SW, Sholley MM et al. Increased circulating lipid peroxides in severe preeclampsia activate NF-kB and upregulate ICAM-1 in vascular endothelial cells. *The FASEB Journal*, 2001; 15(2):279-81.
43. Rabelo LA, Ferreira FO, Nunes-Souza V et al. Arginase as a critical prooxidant mediator in the binomial endothelial dysfunction-atherosclerosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015; 2015:924860.
44. Coman D, Yaplito-Lee J, Boneh A. New indications and controversies in arginine therapy. *Clinical Nutrition*, 2008; 27(4):489-96.
45. Morris SM, Jr. Enzymes of arginine metabolism. *The Journal of Nutrition*, 2004;134(10):2743S7S;

46. Maynard SE, Min JY, Merchan J et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *Journal of Clinical Investigation*, 2003;111(5):649-58.
47. Granger JP, Alexander BT, Llinas MT et al. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Hypertension*, 2001;38(2):718-22.
48. Herse F, LaMarca B. Angiotensin II type 1 receptor autoantibody (AT1-AA)-mediated pregnancy hypertension. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2013;69(4):413-8.
49. Oliveira CMB, Sakata RK, Issy AM et al. Citocinas e Dor. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 2011; 61(2): 255-65.
50. Curfs JH, Meis JF, Hoogkamp-Korstanje JA. A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *Clinical Microbiology Reviews*, 1997; 10:742-80.
51. Chavez AR, Buchser W, Basse PH et al. Pharmacologic administration of interleukin-2. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2009; 1182:14-27.
52. Palomino DCT, Marti LC. Quimiocinas e imunidade. *Einstein (São Paulo)* [online], 2015; 13(3):469-73.
53. Volp ACP, Alfenas RCG, Costa NMB et al. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em prever a síndrome metabólica: Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia* [online], 2008; 52(3):537-49.

54. Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of anti-angiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation*, 2011; 123(24):2856-69.
55. Cackovic M, Buhimschi CS, Zhao G et al. Fractional Excretion of Tumor Necrosis Factor- α in Women With Severe Preeclampsia. *Obstetrics and Gynecology*, 2008; 112(1):93–100.
56. Bilodeau JF. Review: maternal and placental antioxidant response to preeclampsia—Impact on vasoactive eicosanoids. *Placenta*, 2014; 35:S32-S38.
57. Halliwell, B, Gutteridge JMC. *Free Radical in Biology and Medicine*, 3rd ed., Oxford University Press: Oxford, 2002; 4th ed., 2007. 896p.
58. Petersen DR, Doorn JA. *Free Radical Biology and Medicine*, 2004; 37(7):937-45.
59. Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova* [online], 2006; 29(1):113-23.
60. Shils ME, Olson JÁ, Shike M et al. *Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença*. 9ª ed., Manole: São Paulo, 2002, vol. I, cap. 14.
61. Theriault A, Chao JT, Wang Q et al. Tocotrienol: a review of its therapeutic potential. *Clinical Biochemistry*, 1999; 32(5):309-19.
62. Gupta S, Agarwal A, Sharma RK. The role of placental oxidative stress and lipid peroxidation in preeclampsia. *Obstetrical and Gynecological Survey*, 2005; 60(12):807-16.
63. Redman CW, Sargent IL. Placental stress and pre-eclampsia: a revised view. *Placenta*, 2009;30(Suppl A):S38-42.

64. Atamer Y, Koçyigit Y, Yokus B et al. Lipid peroxidation, antioxidant defense, status of trace metals and leptin levels in preeclampsia. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 2005; 119:60–6.
65. Aydin S, Benian A, Madazli R et al. Plasma malondialdehyde, superoxide dismutase, sE-selectin, fibronectin, endothelin-1 and nitric oxide levels in women with preeclampsia. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 2004; 113:21–5.
66. Yoneyama Y, Sawa R, Suzuki S et al. Relationship between plasma malondialdehyde levels and adenosine deaminase activities in preeclampsia. *Clinica Chimica Acta*, 2002; 322:169–73.
67. Orhan H, Onderoglu L, Yucel A et al. Circulating biomarkers of oxidative stress in complicated pregnancies. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2003; 267:189-95.
68. Hubel CA, McLaughlin MK, Evans RW et al. Fasting serum triglycerides, free fatty acids, and malondialdehyde are increased in preeclampsia, are positively correlated, and decrease within 48 hours post partum. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1996; 174(3):975-82.
69. Serdar Z, Gür E, Colakoethullary M et al. Lipid and protein oxidation and antioxidant function in women with mild and severe preeclampsia. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2003; 268(1):19-25.
70. Siddiqui IA, Jaleel A, Al'Kadri HM et al. Biomarkers of oxidative stress in women with pre-eclampsia. *Biomarkers in Medicine*, 2013; 7(2):229–34.
71. Sahay AS, Sundrani DP, Wagh GN et al. Regional differences in the placental levels of oxidative stress markers in pre-eclampsia. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics: the official organ of the*

- International Federation of Gynaecology and Obstetrics, 2015; 129(3):213-8.
72. Yuvaci HU, Akdemir N, Bostanci MS et al. Evaluation of the level of thiol-disulphide homeostasis in patients with mild and severe preeclampsia. *Pregnancy Hypertension*, 2016; 6(4):394-9.
73. Lucca L, Rodrigues F, Jantsch LB et al. Delta-aminolevulinate dehydratase activity and oxidative stress markers in preeclampsia. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2016; 84:224-9.
74. Sandrim VC, Palei AC, Metzger IF et al. Nitric Oxide formation is inversely related to serum levels of antiangiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endogline in preeclampsia. *Hypertension*, 2008; 52(2):402-7.
75. LaMarca B, Speed J, Ray LF et al. Hypertension in response to IL-6 during pregnancy: role of AT1-receptor activation. *International Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research*, 2011; 3:65–70.
76. Lai Z, Kalkunte S, Sharma S. A critical role of interleukin-10 in modulating hypoxia-induced preeclampsia-like disease in mice. *Hypertension*, 2011; 57(3):505-14.
77. DoniAprialdi, HadiSusiarno, Setyorinilrianti S et al. The Effects of Combined Omega-3 and Vitamin E supplementation on preeclampsia cases in hasan sadikin hospital bandung. *International Journal of PharmTech Research*, 2016; 9(8):320-5.
78. Banerjee S, Jeyaseelan S, Guleria R. Trial of lycopene to prevent preeclampsia in healthy primigravidas: results show some adverse effects. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 2009; 35:477-82.

79. Pulido EEC, Benavides LG, Barón JGP et al. Efficacy of L-arginine for preventing preeclampsia in high-risk pregnancies: A double-blind, randomized, clinical trial. *Hypertension in Pregnancy*, 2016; 35:217-25.
80. Valdivia-Silva JE, López-Molina K, Macedo R. Efecto de la terapia temprana con L-arginina em el crecimiento intrauterino restringido en la preclampsia. Estudio aleatorizado em mujeres latino-americanas. *Progresos de Obstetricia y Ginecologia*, 2009; 52:89-98.
81. Teran E, Hernandez I, Nieto B et al. Coenzyme Q10 supplementation during pregnancy reduces the risk of pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 2009; 105: 43–5.
82. Tara F, Maamouri G, Rayman MP et al. Selenium supplementation and the incidence of preeclampsia in pregnant Iranian women: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2010; 49: 181-7.
83. Aalami- Harandi R, Karamali M, Asemi Z. The favorable effects of garlic intake on metabolic profiles, hs-CRP, biomarkers of oxidative stress and pregnancy outcomes in pregnant women at risk for pre-eclampsia: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 2014; 1-28.
84. Motawei SM, Attalla SM, Gouda HE et al. The effects of N-acetyl cysteine on oxidative stress among patients with pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 2016; 135:226-7.
85. Spinnato JA, Freire S, Pinto ESJL et al. Antioxidant therapy to prevent preeclampsia: a randomized controlled trial. *Obstetrics and Gynecology*, 2007; 110(6):13118.

86. Xu H, Perez- Cuevas R, Xiong X et al. An international trial of antioxidants in the prevention of preeclampsia (INTAPP). *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 2010; 239: e1-10.
87. Sharma JB, Kumar A, Kumar A et al. Effect of lycopene on pre-eclampsia and intra-uterine growth retardation in primigravidas. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics*, 2003; 81:257-62.
88. Rumbold A, Duley L, Crowther CA et al. Antioxidants for preventing preeclampsia. *Cochrane Database Systematic Reviews*, 2008; 23(1): CD004227.
89. Salles AMR, Galvao TF, Silva MT et al. Antioxidants for Preventing Preeclampsia: A Systematic Review. *The Scientific World Journal*, 2012; 1-10.
90. D'Almeida A, Carter JP, Anatol A et al. Effects of a combination of evening primrose oil (gamma linolenic acid) and fish oil (eicosapentaenoic + docosahexaenoic acid) versus magnesium, and versus placebo in preventing preeclampsia. *Women Health*, 1992; 19:117–31.
91. Herrera JA, Arevalo-Herrera M, Herrera S. Prevention of preeclampsia by linoleic acid and calcium supplementation: a randomized controlled trial. *Obstetrics and Gynecology*, 1998; 91:585–90.
92. Bulstra-Ramakers MTEW, Huisjes HJ, Visser GHA. The effects of 3g eicosapentaenoic acid daily on recurrence of intrauterine growth retardation and pregnancy induced hypertension. *BJOG: British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1994; 102:123–6.

93. Onwude JL, Lilford RJ, Hjartardottir H et al. A randomised double blind placebo controlled trial of fish oil in high risk pregnancy. *BJOG: British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1995; 102: 95–100.
94. Salving JD, Olsen SF, Secher NJ. Effects of fish oil supplementation in late pregnancy on blood pressure: a randomised controlled trial. *BJOG: British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1996; 103: 529–33.
95. Smuts CM, Huang M, Mundy D et al. A randomized trial of docosahexaenoic acid supplementation during the third trimester of pregnancy. *Obstetrics and Gynecology*, 2003; 101: 469–79.
96. Olsen SF, Secher NJ, Tabor A et al. Randomised clinical trials of fish oil supplementation in high risk pregnancies. *Fish Oil Trials in pregnancy (FOTIP)*. *BJOG: British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2000; 107: 382–95.
97. Imhoff-Kunsch B, Briggs V, Goldenberg T et al. Effect of n-3 Long-chain Polyunsaturated Fatty Acid Intake during Pregnancy on Maternal, Infant, and Child Health Outcomes: A Systematic Review ppe_1292 91..107. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 2012; 26(1):91–107.
98. Saccone G, Saccone I, Berghella V. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and fish oil supplementation during pregnancy: which evidence? *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, Early Online, 2015; 1–9.

Legendas das Figuras

Figura 1- Produção mitocondrial de algumas espécies reativas de oxigênio.

Figura 2- Mecanismos sugeridos na fisiopatologia da pré-eclâmpsia.

Figura 3- Vias através das quais ocorre a redução da biodisponibilidade do óxido nítrico na pré-eclâmpsia.

Quadros

Quadro 1- Espécies reativas relacionadas com a pré-eclâmpsia e suas principais funções.

ESPÉCIE REATIVA	FUNÇÃO
Peroxinitrito (ONOO ⁻)	Intermediário formado pela reação: $O_2^{\cdot-} + NO^{\cdot} \rightarrow ONOO^-$ Instável, tempo de vida curto, oxidante potente, propriedades semelhantes às do radical hidroxila, causa danos a muitas moléculas biológicas, inclusive a grupos S-H das proteínas, provoca hidroxilação e nitração de compostos aromáticos. Forma [•] OH independente da presença de metal de transição.
Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	Intermediário formado pela reação de dismutação de O ₂ ^{•-} catalisada pela enzima SOD, pela redução de dois elétrons na molécula de O ₂ e pela ação de diversas enzimas oxidases <i>in vivo</i> , localizadas nos peroxissomas. É muito difusível dentro e entre as células <i>in vivo</i> . Constitui um agente oxidante fraco e um agente redutor, também fraco, reagindo lentamente com tióis, com sais de ferro e cobre reduzidos, com proteínas heme e peroxidases para iniciar reações radicalares e peroxidações lipídicas. Em presença de metal de transição gera [•] OH, através da reação de Fenton: $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + \cdot OH + \cdot OH$
Ânion-radical superóxido (O ₂ ^{•-})	Gerado continuamente por diversos processos celulares (cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria, no microsomo, através enzimas como xantina oxidase e NADPH oxidase), ou pela redução monoelétrica de O ₂ . Rapidamente desaparece em solução aquosa por reação de dismutação: $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ Em solução aquosa é um agente redutor forte. Sua habilidade em reduzir Fe ³⁺ a Fe ²⁺ , pode acelerar a reação de Fenton: $O_2^{\cdot-} + Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$ Em solução aquosa é um oxidante fraco, porém pode formar ERN: O ₂ ^{•-} + NO [•] → ONOO ⁻ É permeável a membranas. Em fagócitos, como neutrófilos e macrófagos, é um dos microbicidas mais importantes.
Radical hidroxila ([•] OH)	É o mais reativo e mais lesivo radical conhecido e para o qual, uma vez formado, o organismo humano não dispõe de mecanismo de defesa. Capaz de reagir com uma série de endobióticos, causa modificação no DNA (com modificação das bases e quebras das fitas), danos nas proteínas e inativação enzimática, peroxidação lipídica. Contudo, possui âmbito limitado de ação (poucos diâmetros moleculares).

Fonte: Adaptado de Vasconcelos et al. (2007)³⁴.

Quadro 2- Fatores inflamatórios envolvidas na fisiopatologia da pré-eclâmpsia.

CITOCINA E FATOR DE TRANSCRIÇÃO	SUMÁRIO DAS FORMAS DE ATUAÇÃO
IL-1	<p>Produzida por macrófagos e monócitos, assim como por células não imunológicas, tais como fibroblastos e células endoteliais ativadas durante lesão celular, infecção, invasão e inflamação. Há dois tipos conhecidos: IL-1α e IL-1β. Estes atuam sobre os mesmos receptores, IL-1RI e IL-1RII. O IL-1RI é considerado o receptor ativo, enquanto o IL-1RII não possui uma molécula de transdução e é funcionalmente inativo. A IL-1α é marcadamente associada a membranas celulares e age através de contatos celulares. Já a IL-1β é sintetizada como uma proteína precursora (Pro-IL-1β), que não é secretada na forma ativa até ser metabolizada pela enzima caspase-1. Recentemente, descobriu-se que IL-1β é expressa em neurônios nociceptivos do gânglio da raiz dorsal. A IL-1β produz inflamação sistêmica através da ativação da COX-2, com a formação de PGE2 no hipotálamo anterior. Também produz SP, NO\cdot (ativando a enzima óxido nítrico sintase) e moléculas de adesão endotelial, como ICAM-1 e VCAM-1. Tem importante função no desenvolvimento e na manutenção da dor pós-operatória^{49,50}.</p>
IL-2	<p>Produzida principalmente por células-T-CD4 e em menor quantidade por células-TCD8+. Age através de receptores IL-2Rα, IL-2Rβ e IL-2Rγ, usando a via intracelular JAK/STAT para estimular o crescimento e a proliferação de linfócitos-T e células-B. Também induz a produção de outras citocinas, como, por exemplo, IFNγ e linfotóxina-α o que resulta na ativação de monócitos, neutrófilos e células natural killer. Desse modo, fica evidente que a IL-2 contribui para a geração e a propagação de respostas imunológicas específicas do antígeno^{50,51}.</p>
IL-6	<p>Secretada por muitos tipos de células, como macrófagos, monócitos, eosinófilos, hepatócitos e da glia, sendo TNFα e IL-1 potentes indutores. Promove maturação e ativação de neutrófilos, maturação de macrófagos e diferenciação/manutenção de linfócitos-Tcitotóxicos e células matadoras naturais. Além disso, ativa astrócitos e micróglia, e regula a expressão de neuropeptídeos após lesão neuronal, contribuindo para sua regeneração⁴⁹.</p>
IL-8	<p>A IL-8 já foi chamada de NAP-1, uma vez que estimula a liberação de grânulos neutrófilos, tendo um papel chave no acúmulo de leucócitos no local da inflamação. Assim como vários outros quimiotáticos, a IL-8 induz à reorganização do citoesqueleto, alterações nos níveis de Ca²⁺ intracelular, ativação de integrinas, exocitose de proteínas granulares e explosão respiratória⁵².</p>
TNF- α	<p>É uma citocina capaz de atuar de 3 formas diferentes: endócrina,</p>

	<p>autócrina e parácrina. Age no adipócito e desempenha papel regulador em relação ao acúmulo de gordura corporal, por meio do aumento da lipólise, inibição da lipogênese, a partir do bloqueio da ação da acetil-CoA sintase. Tem papel na biossíntese lipídica, com diminuição da expressão da lipase lipoprotéica e redução da síntese do transportador de glicose para a membrana GLUT-4, diminuindo a captação de glicose pelas células mediada pela ação da insulina. Essa redução de sensibilidade periférica à insulina ocasiona o aumento da glicogênese hepática, caracterizando um estado hiperinsulinêmico. Além disso, tem ação pleiotrópica, ou seja, é capaz de influenciar manifestações celulares diferentes. É envolvida ainda no processo de inflamação, desempenhando ação principal na cascata das citocinas e estimulando a síntese de outras delas. Consiste em um mediador central da resposta de fase aguda, pois também determina a produção e a elevação das concentrações plasmáticas de fibrinogênio, proteína amiloide sérica, PAI-1 e da proteína C reativa, através de estimulação hepática^{49, 53}.</p>
IL-17	<p>Glicoproteína homodimérica de 155 aminoácidos ligada a um grup dissulfeto, esta citocina é predominantemente produzida por linfócitos-T-CD4. É uma citocina com ação pró-inflamatória, levando à formação de IL-6 e IL-8 (quimiocina) e da molécula de adesão intercelular em fibroblastos humanos. É secretada a partir das células Th1 e Th17, as quais são ativadas durante os desafios imunológicos, com potencial citotóxico e de desencadear respostas inflamatórias através do recrutamento de células imunes, que liberam moléculas de estresse oxidativo, e conseqüentemente, favorece a lesão endotelial. Além disso, é estimulante da produção de células B de autoanticorpo agonista para o AT1-AA, sendo que esse receptor é produzido por células B estimuladas durante a PE, enquanto as gestantes normais têm pouco ou nenhum AT1-AA detectável^{49,35}.</p>

Legenda: AT1-AA: receptor de angiotensina II tipo 1; Ca²⁺: cálcio; COX-2: ciclooxigenase-2; GLUT: transportador de glicose; IL: interleucina; IFN: interferon; JAK/STAT: Família Janus de tirosinoquinases/fatores de transcrição; NAP-1: proteína ativadora de neutrófilos-1; NO: óxido nítrico; PAI-1: Inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; PGE: prostaglandina; SP: substância P.

Quadro 3- Principais biomarcadores de estresse oxidativo e compostos antioxidantes envolvidos na fisiopatologia da pré-eclâmpsia.

BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E COMPOSTOS ANTIOXIDANTES	DEFINIÇÃO
MDA	Malondialdeído, produto oriundo da peroxidação lipídica, através da ruptura de endociclicização de ácidos graxos poli-insaturados contendo mais de duas duplas ligações, tais como ácido linoléico, araquidônico e docosaexanóico ³⁴ .
CAT	Possui em seu sítio ativo o grupo heme e está presa no peroxissoma, organela responsável pela desintoxicação celular e oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, fonte inesgotável de peróxidos orgânicos, produtos carbonílicos e oxigênio singlete. Esta enzima é encontrada também nas mitocôndrias das células do tecido cardíaco ^{34,57} .
SOD	As formas detectadas em seres humanos são a Cu/ZnSOD localizada no citosol (dimérica), lisossomas, núcleo e espaço entre as membranas interna e externa da mitocôndria (tetramérica), bem como a MnSOD localizada na mitocôndria. A atividade de SOD costuma ser avaliada indiretamente através de eritrócitos em análises laboratoriais ^{34,58} .
GPx	A família de GPx integra o grupo de selenoproteínas, tendo em seu sítio ativo o selênio, obtido através da dieta ligado à metionina, em alimentos de origem vegetal (selenometionina) e, ligado à cisteína, em alimentos de origem animal (selenocisteína). Esta enzima é capaz de reduzir peróxidos a água ou álcool ^{34,57} .
NO [•]	É um marcador de espécies reativas de nitrogênio, sendo rapidamente metabolizado a produtos estáveis, ou seja, nitrito e nitrato, na maioria dos fluidos do corpo, inclusive no plasma ^{59,60} .
TBARs	É um marcador indireto da peroxidação lipídica, mede o conteúdo de MDA. A sua avaliação é baseada na reação do MDA e outros aldeídos com o ácido tiobarbitúrico em pH baixo e temperatura elevada, para formar um complexo com absorção máxima em 535 nm ^{34,59} .
VIT. C	O ácido ascórbico não pode ser sintetizado pelo organismo humano, e dessa forma, constitui um nutriente essencial. Atua como antioxidante sobre ERO e ERN, em ambiente biológico aquoso, resultando na formação do ânion radical semidesidroascorbato (Asc ^{•-}), ou ascorbila, o qual é pouco reativo ^{34,60} .
VIT. E	O termo vitamina E constitui a denominação de duas diferentes famílias de compostos: os tocoferóis e os

	tocotrienóis, que exibem a atividade biológica do α -tocoferol, que é o composto mais potente e, geralmente, a forma predominante. O tocoferol é o composto antioxidante lipossolúvel capaz de bloquear a etapa de propagação da peroxidação lipídica dos ácidos graxos poli-insaturados das membranas e lipoproteínas ^{60,61} .
--	--

CAT- catalase; GPx- glutathione peroxidase; GSH- glutathione reduzida; MDA- malonaldeído; NO[•]- óxido nítrico; SOD- superóxido dismutase; TBARs- produtos da peroxidação lipídica; Vit.C- vitamina C; Vit. E- vitamina E.

Quadro 4- Estudos de associação da pré-eclâmpsia e seus desfechos com os níveis de biomarcadores de estresse oxidativo, enzimas antioxidantes, associados ou não à análise de outros biomarcadores.

ESTUDO	POPULAÇÃO	BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO/ ENZIMAS ANTIOXIDANTES	DESFECHOS
Atamer et al. (2005) ⁶⁴	NG (n= 25) GC (n=28) PE (n= 32)	MDA- sérico MDA- placentário SOD- eritrócito CAT- eritrócito GPx- placentário GSH- placentário	Aumento significativo nos níveis de MDA sérico e placentário em gestantes PE, e diminuição nos níveis de GPx e GSH placentário.
Aydin et al. (2004) ⁶⁵	NT (n= 34) PE (n= 35)	MDA- plasma SOD- plasma NO ⁻ plasma	Aumento significativo nos níveis plasmáticos de MDA com incrementos na pressão arterial diastólica (p< 0,001). Além disso, os níveis de SOD e NO ⁻ foram significativamente menores, com redução ainda maior, com o aumento da pressão sanguínea diastólica.
Yoneyama et al. (2002) ⁶⁶	NT (n= 26) PE (n= 26)	MDA- plasma ADA- plasma	Níveis significativamente mais elevados de MDA e ADA na PE (p<0,05).
Orhan et al. (2003) ⁶⁷	NT (n =16) PE (n =9) DMG (n =3)	TBARs- plasma e eritrócitos GPx-Se - plasma e eritrócitos GPx- plasma e eritrócitos Atividade de CAT- plasma e eritrócitos	Atividade de GPx-Se significativamente maior na gravidez com PE e DMG dependente de insulina. Além disso, foi visto aumento simultâneo dos níveis plasmáticos de TBARs.
Hubel et al. (1996) ⁶⁸	PE (n =8) NT (n = 9)	Pré-parto e pós-parto: MDA- sérico	As concentrações pré-parto de MDA foram 50% maiores em mulheres com PE, diminuindo no pós-parto.
Serdar et al. (2003) ⁶⁹	PE leve (n=30) PE severa (n=30) NT (n=50)	Peróxidos lipídicos- sérico, placentário e decidual Proteínas carboniladas- sérico, placentário e decidual Vit. E- sérico, placentário e decidual Cartotenóides- sérico, placentário e decidual	Peróxidos lipídicos e proteínas carboniladas foram significativamente maiores em soro, placenta e decídua basal, bem como vit. E e carotenóides séricos foram menores em mulheres PE grave, em comparação àquelas com PE leve e NT. Observou-se ainda correlação significativa entre a pressão sanguínea diastólica e os peroxilipídios no sangue, placenta e decíduas e proteínas

			carboniladas séricas.
Siddiqui et al. (2013) ⁷⁰	PE (n = 40) GC (n = 80)	MDA- sérico Vit. E- sérico GSH total- sérico	Marcadores de estresse oxidativo, incluindo o MDA sérico, GSH total e vit. E, foram significativamente diferentes em ambos os grupos, sendo os níveis de MDA maiores, bem com os de vit. E e GSH total menores em mulheres com PE .
Sahay et al. (2015) ⁷¹	NT (n= 35) PE- PT (n= 11) PE- PPT (n= 14)	MDA- placentário GPx- placentário CAT- placentário	Os níveis de MDA foram maiores em todas as regiões da placenta entre os grupos PE versus NT ($p < 0,01$). Os níveis de MDA foram mais elevados na região central materna em relação à região central fetal no grupo de PE-PPT ($p = 0,023$). Os níveis de MDA na região central materna também foram maiores no período pré-termo do que no grupo PE ($p = 0,014$). A atividade da CAT foi menor nas regiões periféricas maternas ($p = 0,036$) e fetal ($p = 0,050$) na PE- PPT versus NT. A atividade de GPx foi maior na região periférica do que na região central fetal no grupo NT ($p = 0,033$).
Yuvaci et al. (2016) ⁷²	PE severa (n = 32) PE leve (n = 30) GC (n = 37)	Tiol total- sérico	Os níveis séricos de tiol foram significativamente menores nas gestantes com PE severa, em relação àquelas com PE leve e às GC.
Lucca et al. (2016) ⁷³	PE severa (n = 3) PE leve (n = 25) GC (n = 30)	Proteínas tiol-plasma e eritrócitos Vit.C- plasma CAT- plasma	Níveis de TBARS presentes no plasma e eritrócitos foram significativamente maiores em mulheres com PE, enquanto que os grupos de proteínas tioladas, a quantidade de vit. C e CAT foram significativamente menores no grupo de mulheres PE quando comparadas às GC.

Legenda: ADA- adenosina deaminase; DMG- diabetes mellitus gestacional; GC- gestante controle; GPx-Se- glutatona peroxidase de selênio; NG- não grávidas; NT- normotensas; PE- pré-eclâmpsia; ; PPT- parto pré-termo; PT- parto a termo; TBARS- produtos da peroxidação lipídica; Vit.C- vitamina C; Vit. E- vitamina E.

Quadro 5- Estudos que associaram a pré-eclâmpsia e seus desfechos com os níveis de marcadores de inflamação em seres humanos e animais.

ESTUDO	POPULAÇÃO	BIOMARCADORES DE INFLAMAÇÃO	DESFECHOS
Cackovic et al.(2008) ⁵⁵	Seres humanos: GC (n=45) PE (n= 45)	TNF- α - sérico e urinário	Foi observada maior concentração sérica deste na PE em relação as GC, bem como de sFlt-1. Por outro lado, os níveis urinários estavam diminuídos na PE e não se correlacionaram com o grau de proteinúria, quando comparados às GC. Além disso, na PE, a excreção fracionada de tal citocina foi significativamente menor, apesar da existência de proteinúria. Assim, a diminuição na excreção renal de TNF- α pode contribuir com a exacerbada resposta inflamatória observada na fisiopatologia da doença, considerando que com isso, há um acúmulo deste biomarcador no organismo.
Sandrim et al. (2008) ⁷⁴	Seres humanos: GC (n=58) GDH (n=56) PE (n=45)	Nitrito- sérico	Níveis séricos de nitrito foram menores nas mulheres GDH e PE, quando comparados as GC, (-36% e -58%, respectivamente, ambos P <0,05). Foram observadas, ainda, menores concentrações séricas de sEndogлина e sFlt-1 em mulheres PE em relação àquelas GDH e GC. Dessa forma, comprometimento na formação de NO \bullet na PE foi sugerido.
LaMarca et al.(2011) ⁷⁵	Experimental: Ratas GC (n=6) GI (n=6)	IL-6	Os resultados indicaram aumento na média de pressão arterial e de AT1-AA nos animais que receberam infusão crônica de IL-6, sendo essa resposta abolida naqueles tratados previamente com o agente anti-hipertensivo (losartana - antagonistas dos receptores da angiotensina). Assim, estes dados mostraram

			que IL-6 estimula AT1-AA e que a ativação do AT1R medeia a hipertensão induzida por IL-6 durante a gravidez.
Lai, Kalkunte e Sharma et al. (2011) ⁷⁶	Experimental: Ratas GC (n=6) GI (n=6)	IL-10	Animais expostos à hipóxia tenderam a desenvolver os sintomas característicos da PE, tais como injúria placentária, proteinúria, hipertensão e sintomas sistêmicos. Somado a isso, houve um aumento na expressão de fatores anti-angiogênicos, como o sFlt-1. Entretanto, após a administração de IL-10, foi observado papel protetor desta citocina em relação ao desenvolvimento dos sintomas e a progressão da doença, indicando papel protetor de IL-10 na PE.

Legenda: AT1- receptor de auto anticorpos contra o Ang II tipo 1; AT1-AA- Receptor da angiotensina II tipo 1; GC- gestante controle; GDH- gestante com distúrbio hipertensivo; GI- grupo intervenção; IL- interleucina; NT- normotensas; PE- pré-eclâmpsia; Vit. E- vitamina E;; sFlt-1- soluble Fms-like receptor tirosina quinase.

Quadro 6- Pesquisas em humanos envolvendo a suplementação oral de antioxidantes para a prevenção e tratamento da pré-eclâmpsia.

AUTOR	ANTIOXIDANTE	DOSE/ TEMPO	DESFECHOS
Banerjee et al. (2009) ⁷⁸	Licopeno	2 mg 12 – 20 semanas até o parto	O grupo suplementado apresentou um aumento na incidência de efeitos adversos do parto prematuro e baixo peso ao nascer.
Pulido et al. (2016) ⁷⁹	L-arginina	3 g 3 semanas durante a gestação e 2 semanas pós- parto	A pressão arterial materna e a taxa de prematuridade foram menores significativamente no grupo intervenção, enquanto o peso ao nascer foi maior. O escore de Apgar <7 a 5 min não foi diferente entre os grupos e não houve morte neonatal ou materna.
Valdivia-Silva et al. (2009) ⁸⁰	L-arginina	3 g 20 semanas até o parto	O risco de restrição de crescimento intrauterino foi cinco vezes maior em lactentes nascidos de mãe com PE sem terapia com L-arginina e foi duas vezes maior nos bebês nascidos de mãe com PE no grupo intervenção. O perfil biofísico fetal e o escore de Apgar foram significativamente mais favoráveis no grupo intervenção.
Teran et al. (2009) ⁸¹	Coenzima Q10	200 mg 20 semanas até o parto	Não houve diferenças entre os grupos na incidência de baixo peso ao nascer e peso médio ao nascer. Não houve mortalidade perinatal. Apenas 2 gravidezes resultaram em parto prematuro e ambos estavam no grupo placebo.
Tara et al. (2010) ⁸²	Selênio	100 µg 1º trimestre até o parto	O suplemento de selênio aumentou significativamente as concentrações séricas de selênio em recém-nascidos a termo. No entanto, não houve diferenças na pressão arterial sistólica e diastólica, colesterol total no soro e frações, triglicerídeos e proteína C-reativa de alta sensibilidade entre os grupos.
Aalami-Harandi et al. (2014) ⁸³	Alicina	400 mg alho (1mg alicina) 27 semanas, por 9 semanas	Diminuição significativa da Proteína C reativa e um aumento significativo nos níveis plasmáticos de GSH. Nenhum efeito significativo nos perfis lipídicos séricos, níveis plasmáticos de capacidade antioxidante total e

			resultados da gravidez.
Motawei et al. (2016) ⁸⁴	N- acetil-cisteína	400 mg Por 6 semanas	Melhora nos resultados da gravidez, o peso ao nascer e os escores de Apgar foram observados entre os pacientes do grupo intervenção, mas não houve diferença na incidência de complicações obstétricas e em marcadores de estresse oxidativo entre os dois grupos.
Spinnato et al. (2007) ⁸⁵	Vitaminas C e E	1000 mg 400 UI 12- 19 semanas até o parto ou o desenvolvimento da doença	Ruptura prematura de membrana foi maior no grupo intervenção. Não houve influência na frequência de baixo peso ao nascer, pequenos para idade gestacional, nascidos mortos, medidas ao nascimento, asfixia ou pontuação de Apgar.
Xu et al. (2010) ⁸⁶	Vitaminas C e E	1000 mg/dia 400 UI/dia 12- 18 semanas até o parto	Não houve diferença nos desfechos adversos maternos entre os grupos, incluindo as taxas de aborto espontâneo, morte fetal, morte neonatal, parto prematuro, restrição de crescimento intrauterino ou pequeno para idade gestacional.
Sharma et al. (2003) ⁸⁷	Licopeno	2 mg 16- 20 semanas até o parto ou o desenvolvimento da doença	O peso médio ao nascer foi maior e houve redução de restrição de crescimento intrauterino no grupo do intervenção.

Quadro 7- Pesquisas em humanos envolvendo a suplementação oral de nutrientes anti-inflamatórios para prevenção e tratamento da pré-eclâmpsia.

AUTOR	ANTI-INFLAMATÓRIO	DOSE/ TEMPO	DESFECHOS
D'Almeida et al. (1992) ⁹⁰	Grupo1: controle Grupo 2: GLA EPA DHA Grupo 3: Óxido de magnésio	Azeite de oliva (sem vitamina E) 37 mg 18 mg 10 mg (8 cápsulas/dia) 1000 mg (2 cápsulas/dia) Por 30 dias	O grupo 2 teve uma incidência significativamente menor de edema, quando comparado aos demais. O grupo 3 apresentou menos indivíduos que desenvolveram hipertensão na gravidez. Foram relatados 3 casos de eclampsia no grupo controle.
Herrera et al. (1998) ⁹¹	Grupo intervenção: Ácido linoleico Cálcio Grupo controle: Placebo (lactose)	450 mg 600 mg 600 mg 28-32 semanas até o parto	A administração de baixas doses diárias de ácido linoleico e cálcio durante o terceiro trimestre de gravidez reduziu significativamente a incidência de PE em mulheres de alto risco, possivelmente corrigindo os níveis de prostaglandinas do tipo PGE2.
Bulstra-Ramakers et al. (1994) ⁹²	Grupo intervenção: EPA e DHA Grupo controle: Placebo (óleo de côco)	3 g 12-14 semanas até o parto	Um terço das mulheres desenvolveu hipertensão induzida pela gravidez e um terço dos bebês teve peso ao nascer abaixo do percentil 10. Não houve diferenças entre grupo intervenção e grupo placebo, concluindo-se que a adição de 3 g de EPA por dia não previne a recorrência de retardo de crescimento intrauterino ou hipertensão induzida pela gravidez em uma população de alto risco.
Onwude et al. (1995) ⁹³	Grupo intervenção: EPA e DHA Grupo controle: Placebo	1,62 g 1,08 g 16-20 semanas até completar 38 semanas de gestação	Não houve diferença significativa estatisticamente entre os grupos. Assim, não há evidências neste estudo sobre qualquer efeito útil da suplementação de óleo de peixe para mulheres com alto risco

			de desfechos adversos de uma gravidez.
Salving et al. (1996) ⁹⁴	Grupo intervenção: Óleo de peixe Grupo controle: controle do consumo de azeite de oliva	2,7 g ω -3 30 semanas de gestação até o parto	Não foram observados efeitos significativos na pressão arterial sistólica ou diastólica no grupo do óleo de peixe em comparação com os grupos controle. Com isso, no terceiro trimestre da gravidez, a suplementação não apresentou efeito na pressão arterial.
Smuts et al. (2003) ⁹⁵	Grupo intervenção: ovos enriquecidos com DHA Grupo controle: Ovos comuns	133 mg/unidade 33 mg/unidade 24-28 semanas de gestação até o parto (12 ovos/semana de estudo)	No grupo intervenção houve aumento do peso ao nascer, comprimento e circunferência da cabeça, apesar de não obter significância estatística, embora os aumentos possam indicar melhor crescimento intrauterino. Além disso, a duração da gestação aumentou significativamente quando a ingestão de ácido docosahexaenoico foi aumentada durante o último trimestre da gravidez.
Olsen et al. (2000) ⁹⁶	Grupo intervenção: Óleo de peixe Grupo controle: Azeite de oliva	2,7 g ω -3 (profilático) ou 6,1 g ω -3 (terapêutico) - 20-33 semanas até o parto	A suplementação de óleo de peixe reduziu o risco de recorrência de parto pré-termo, mas não teve efeito no parto pré-termo em gestações gemelares. Além disso, não teve efeito sobre o retardo do crescimento intrauterino e hipertensão induzida pela gravidez.

Legenda: DHA: Ácido docosa-hexaenoico; EPA: Ácido eicosapentaenoico; GLA: Ácido gama-linolênico.

Figuras

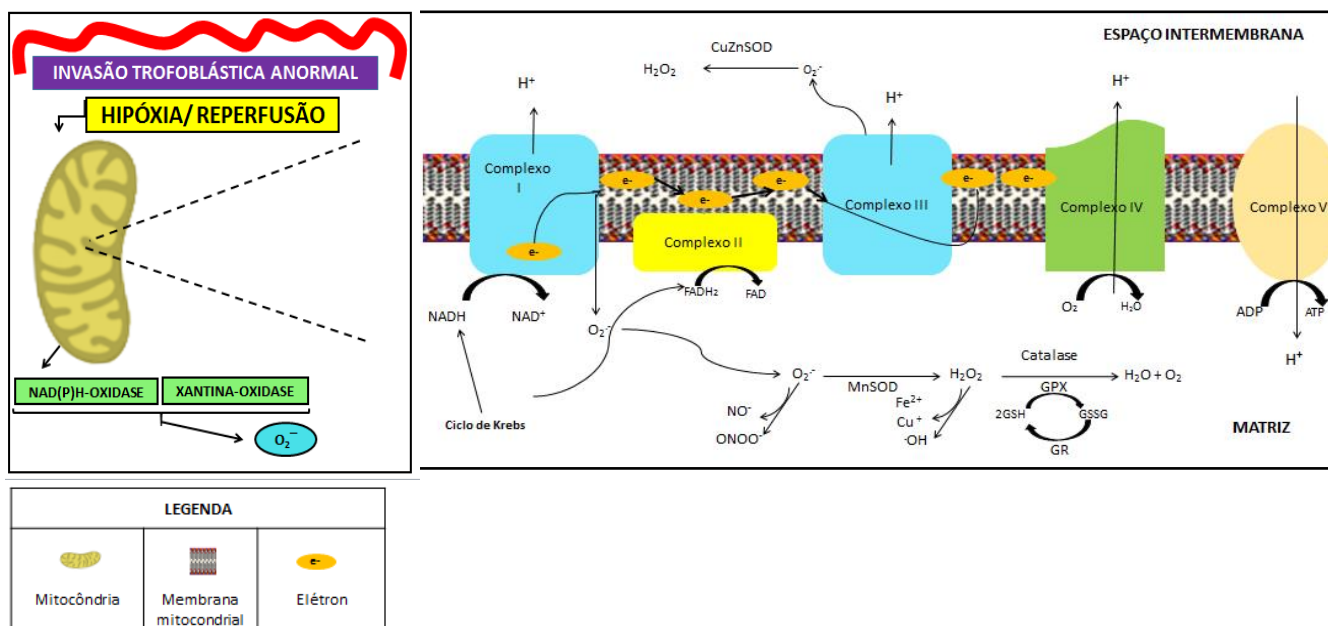
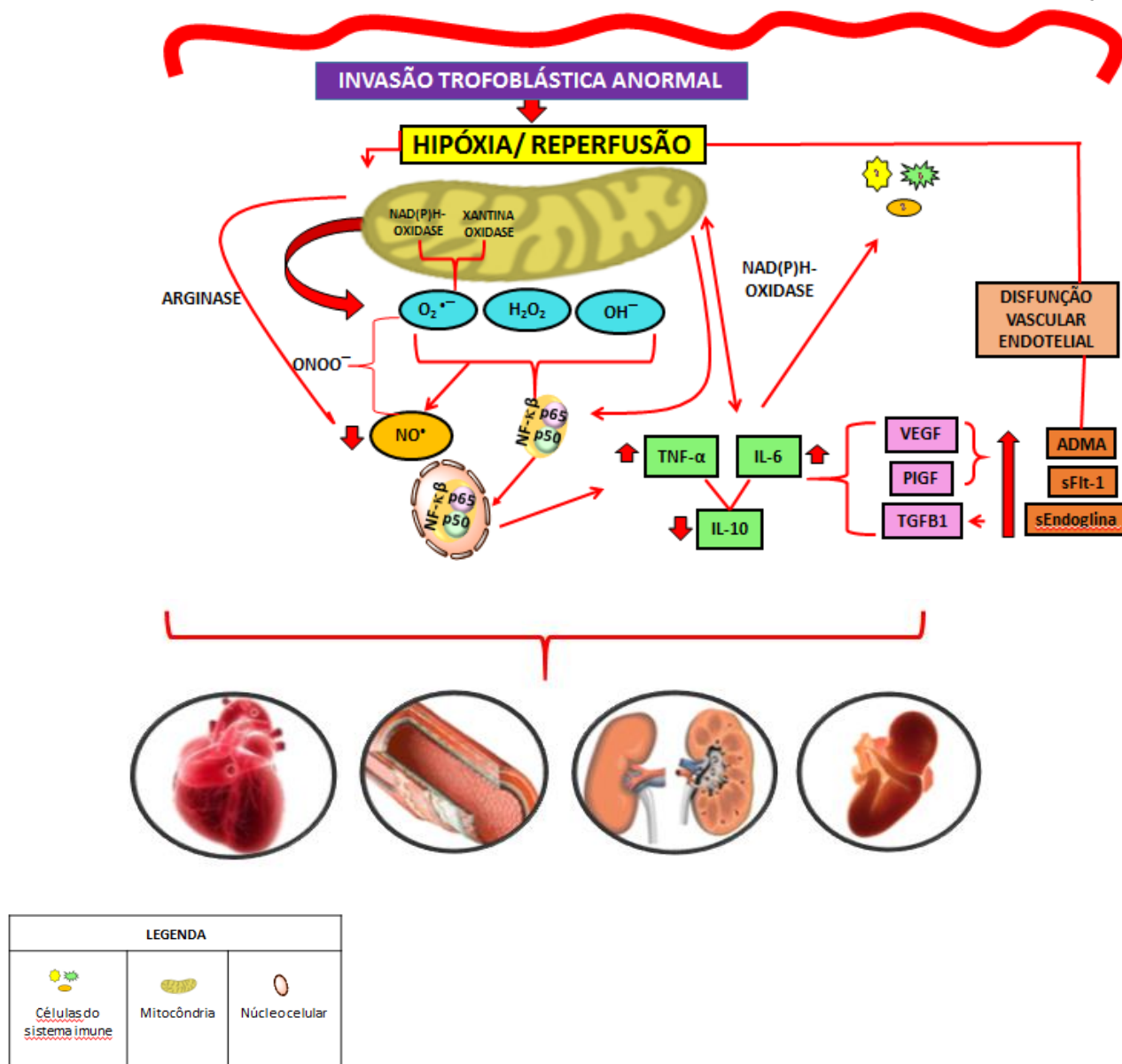
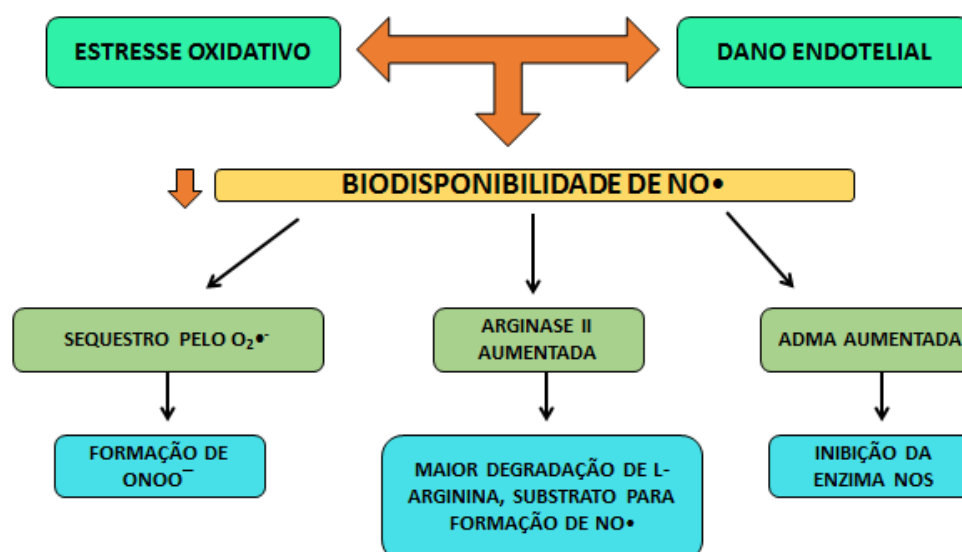


Figura 1- Produção mitocondrial de algumas espécies reativas de oxigênio.



Legenda: ADMA: dimetilarginina assimétrica; H_2O_2 : peróxido de hidrogênio; IL- interleucina; NAD(P)H-oxidase: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidase; NF- κ B: fator nuclear kappa B; $NO\cdot$: óxido nítrico; $ONOO^-$: peroxinitrito; $\cdot OH$: hidroxila; $O_2\cdot^-$: radical superóxido; PlGF: fator de crescimento placentário; sFlt-1: soluble Fms-like receptor tirosina quinase; TGFB1: fator de crescimento transformador beta; TNF- α : Fator de necrose tumoral; VEGF: fator de crescimento endotelial vascular.

Figura 2- Mecanismos sugeridos na fisiopatologia da pré-eclâmpsia.



Legenda: ADMA= dimetilarginina assimétrica; NO• = óxido nítrico; NOS= óxido nítrico sintase; O₂^{•-} = radical superóxido; ONOO⁻ = peroxinitrito.

A primeira via através da qual ocorre a redução na biodisponibilidade de NO• envolve as ERO, onde se sugere que O₂^{•-} captura o NO• para a formação de peroxinitrito (ONOO⁻), que apresenta elevado potencial redox¹⁴. Adicionalmente, o ONOO⁻ reage com os lipídios, levando à peroxidação lipídica (PL), e geração de malonaldeído (MDA) e seus conjugados. Contudo, a PL pode ainda ativar o NF-κB nas células vasculares endoteliais, e conseqüentemente, conduzir à disfunção endotelial, pois este fator age como mediador para a ativação de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas⁴². O segundo caminho envolve o aumento na produção da enzima arginase, responsável por catalisar a conversão de L-arginina a L-ornitina e ureia⁴³. Portanto, a biodisponibilidade da arginina para a formação de NO• é comprometida^{44, 45}. A via seguinte envolve a presença de ADMA, um inibidor endógeno da enzima óxido nítrico sintase (eNOS), o qual se encontra aumentado na PE e é capaz de diminuir a síntese de NO•¹⁵

Figura 3- Vias através das quais ocorre a redução da biodisponibilidade do óxido nítrico na pré-eclâmpsia.

2º artigo: artigo de resultados

TENÓRIO, MB; FERREIRA, RC; MOURA, FA; BUENO, NB; GOULART, MOF; OLIVEIRA, ACM. **Oral antioxidant therapy for prevention and treatment of preeclampsia: meta-analysis of randomized controlled trials.** Revista Científica para a qual será submetido: Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases. Fator de impacto: 3.679 (Classificação A2, segundo os critérios do sistema *Qualis* da CAPES).

Oral antioxidant therapy for prevention and treatment of preeclampsia: meta-analysis of randomized controlled trials

Tenório, M.B.^a; Ferreira, R.C.^a; Moura, F.A.^a; Bueno, N.B.^a; Goulart, M.O.F.^b; Oliveira, A.C.M.^{a,1}

^a Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas. Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins. CEP 57.072-970. Maceió, Alagoas, Brazil.

^b Instituto de Química e Biotecnologia (IQB/UFAL); Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO); Universidade Federal de Alagoas. Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins. CEP 57.072-970. Maceió, Alagoas, Brazil.

Keywords: Antioxidant, Oral Administration, Pregnant Women, Preeclampsia.

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

¹ Corresponding author

Faculdade de Nutrição. Universidade Federal de Alagoas. Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins. CEP 57.072-970. Maceió, Alagoas, Brazil. Phone: (82) 98733-1950. Email: alanecabral@gmail.com.

ABSTRACT

Aims: to determine whether oral antioxidant therapies, of various types and doses, are able to prevent or treat women with preeclampsia.

Data Synthesis: the following databases were searched: MEDLINE, CENTRAL, LILACS and Web of Science databases. Inclusion criteria were: a) randomized clinical trials; b) oral antioxidant supplementation; c) study in pregnant women; d) control group, treated or not with placebo. Papers were excluded if they evaluated antioxidant nutrient supplementation associated with other non-antioxidant therapies. Data were extracted and the risk of bias of each study was assessed. Heterogeneity was analysed using the Cochran Q test, and I^2 statistics and pre-specified sensitivity analyses were performed. Meta-analyses were conducted on prevention and treatment studies, separately. The incidence of preeclampsia, and in treatment trials was neonatal death. In total, 28 studies were included in the analysis, 19 for prevention and nine for treatment. The antioxidants used in these studies were vitamins C and E, selenium, L-arginine, allicin, lycopene and coenzyme Q10, none of which showed an effect on the prevention of preeclampsia (RR: 0.89, CI 95%: [0.79 – 1.02], P = 0.09; I^2 = 39%, P = 0.04) and other outcomes. The antioxidants used in the “treatment” studies were vitamins C and E, N-acetylcysteine and L-arginine. Significant effects were found in intrauterine growth restriction and Apgar score < 7.

Conclusions: Antioxidant therapy had no effect in the prevention of preeclampsia but did show some effects in some outcomes while used in the treatment of this condition.

Introduction

Pregnancy is considered a sensitive period for the appearance of complications, such as hypertensive diseases and, particularly, preeclampsia (PE) [1, 2]. This syndrome is the leading cause of maternal and foetal mortality worldwide, affecting 2-8% of pregnancies. In Latin America, hypertensive disorders account for almost 2.6% of maternal deaths, with lower rates than in developed countries such as the United States, where the incidence is from one up to 8% [3] and continues to rise [4].

The aetiology of PE is not fully understood. Oxidative stress, involving the imbalance between the generation of reactive oxygen and nitrogen species (RONS) and antioxidant defence (enzymatic and non-enzymatic), in favour of the oxidants, is among the mechanisms proposed to explain the pathogenesis of PE. Exacerbated production of RONS occurs due to placental abnormalities and consequent deficiency in the defence system performance [5].

Conventional treatment aims at controlling blood pressure levels. However, hypertension is not the cause of the disease, but rather a consequence of the inadequacy of the trophoblastic invasion process with subsequent insufficiency of blood supply and oxygen in the uterus, which increases inflammation and oxidative stress in the placenta [5, 6]. These events generate several proinflammatory mediators contributing to maintaining the inflammatory process and therefore increasing expression of clinical symptoms of the disease. In this context, the cure is only possible with childbirth – that is, with elimination of the placenta [6].

Antioxidant therapy has shown positive effects in the treatment of various diseases based on oxidative stress and inflammation, such as hypertension [7], inflammatory bowel diseases [8, 9] and chronic kidney disease [10]. Therefore, since in these isolated situations an effective role of antioxidant therapy has been observed, it is believed that in PE, when there are combinations of these factors, there could be benefits in the use of this treatment.

In this context, oral antioxidant therapy with micronutrients and/or drugs has been investigated for increasing the endogenous antioxidant defence, thereby minimizing the consequences of oxidative stress for mother and foetus and helping in the prevention and/or treatment of PE. Besides, the most recent systematic review on the topic was developed by Salles et al. (2012), more than 5 years ago [11]. Since then, several clinical trials on the subject have been conducted, which motivated the accomplishment of a new meta-analysis. Thus, the aim of the present systematic review with meta-analysis of randomized controlled trials was to determine whether oral antioxidant therapy is effective in the prevention and/or treatment of PE, in order to provide a therapeutic protocol for the clinical practice of health professionals.

Methods

The present meta-analysis is reported in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA) Statement. Two researchers conducted the search, data extraction and assessment of risk of bias, independently. Any disagreements were solved by consensus. A formal protocol was published in PROSPERO database

(http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/display_record.asp?ID=CRD42017062109).

Search strategy and selection of studies

The search was conducted until April 2017 in the following databases: MEDLINE (via PubMed), CENTRAL, LILACS and Web of Science databases. Keywords related to the condition and to the intervention were combined with Boolean operators, adjusting for each database. The full search strategy for the PubMed search is reported in Supplementary Material.

All records retrieved had their titles and abstracts evaluated. In addition, there were no restrictions based on year of publication. Duplicate papers were removed. The following eligibility criteria were used: a) randomized clinical trials; b) oral antioxidant supplementation; c) study in pregnant women, regardless of age; d) control group treated or not with placebo. Papers were excluded if they evaluated antioxidant nutrient supplementation associated with other non-antioxidant therapies, such as calcium and essential fatty acid supplementation.

Later, abstracts were read, and those in languages other than English, Portuguese and Spanish were excluded. Full-texts of potentially relevant papers were retrieved for further assessment. Finally, included papers were divided according to the therapeutic use of antioxidants, for either prevention or treatment of preeclampsia.

For this study, PE was considered as the gradual development of hypertension (systolic blood pressure \geq 140 mm Hg and / or diastolic blood pressure \geq 90 mm Hg), proteinuria (300 mg/L or more in 24 hours), generalized

oedema, and sometimes blood clotting disorders [1]. Antioxidant compound was defined according to Halliwell and Gutteridge (1989) [12] as 'any substance that, when present at low concentrations compared with that of an oxidizable substrate, significantly delays or inhibits oxidation of that substrate', and this definition includes compounds of both non-enzymatic and enzymatic nature. In addition, the studies were considered as PE treatment when the diagnosis of the disease had been made before the intervention with antioxidant supplementation in the pregnant women evaluated, that is, women were already in a PE condition established. On the other hand, trials were considered as prevention when the supplementation began in women without PE.

Data extraction

Two authors extracted the following data from the papers: randomized individuals (n); type of antioxidant used; dose and time of administration; and outcomes assessed. The primary outcome in the prevention studies was the incidence of PE. Low birth weight, premature birth, miscarriage, Apgar score, early neonatal death, need for foetal intensive care unit (ICU), stillbirth and small for gestational age (SGA) were considered as secondary outcomes. In the treatment studies, the outcomes analysed were neonatal death, intrauterine growth restriction, Apgar score < 7 and stillbirth.

Assessment of the risk of bias and quality of evidence

The risk of bias at the primary outcome level was assessed according to the Cochrane Collaboration tool in six different categories: random sequence generation, allocation concealment, blinding of the participants and study personnel, missing data, and selective outcome report. Then, each study received an overall rating of risk of bias. The quality of the evidence was also assessed by the method proposed by the Grading of Recommendations Assessment, Developing and Evaluation (GRADE) [13]. Five criteria were evaluated: study limitations (risk of bias), inconsistency of the results (heterogeneity), indirect evidence, inaccuracy and publication of bias, which generated a score to allow the final classification.

Statistical Analysis

As all the analysed outcomes were dichotomous, the relative risk (RR) between groups for each outcome was calculated, for each study. Studies' weights were assigned according to the Mantel-Haenszel method and calculations were based on a random effects model. An alpha value of 0.05 was adopted.

Statistical heterogeneity among the studies was tested using the Cochran Q test, and inconsistency was assessed using I^2 statistics. Heterogeneity was considered as important when the p-value for the Cochran Q test was lower than 0.1. Whenever this occurred, the heterogeneity was explored by repeating the analysis with the removal of one study at a time, in order to assess whether a particular study explained the heterogeneity. For the primary endpoint (preeclampsia), subgroup analyses were performed in studies that shared the same type of supplemented antioxidant (vitamins C and E and lycopene), in an

exploratory way with the objective of generating new hypotheses, justified by the specific action of each compound. A funnel plot was created and Egger's test was conducted to assess publication bias at the primary outcome. All analyses were conducted using the RevMan 5.3 program (The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, Denmark).

Results

Search results

From the 1,209 screened records, 28 were finally included. From these, 19 (67.9%) studies used antioxidants for preventing PE and nine (32.1%) used them with the aim to treat PE (Supplemental Figure S1).

Study characteristics

Risk of bias assessment is shown in Supplemental Table 1. In general, studies had a low risk of bias. From these, three studies were not complete in terms of information regarding allocation concealment and were classified as having high risk of bias. Tables 1 and 2 show the characteristics and main results obtained with the oral use of antioxidants for the prevention and treatment of PE, respectively.

The antioxidants used in the studies for the prevention of PE were vitamins C and E, selenium, L-arginine, allicin, lycopene and coenzyme Q10. On the other hand, the antioxidants used in the studies for the treatment of PE were vitamins C and E, *N*-acetylcysteine and L-arginine. For the treatment of PE, the therapy used

associated nutrients with drugs (allopurinol, magnesium sulfate, dihydralazine methyl dopa, nifedipin, intravenously ketanserin, nicardipin, calcium-channel blockers), isolated or combined. The remaining studies used only nutrients (vitamins C, E, selenium, lycopene, L-arginine, omega 3, allicin, coenzyme Q10) and other compounds (*N*-acetylcysteine). The range of the antioxidant dosage administered to prevent PE was as follows: vitamin C from 500 mg to 1000 mg/day; vitamin E, with 400 IU/day; selenium with 100 µg/day; lycopene, from 2 mg to 4 mg/day; allicin, with 1 mg/day; coenzyme Q10, with 200 mg/day, and L-arginine, with 3 g/day. Dosages administered in treatment studies were 400 mg to 600 mg/day of *N*-acetylcysteine; 3 g to 3.5 g/day of L-arginine; 1000 mg/day of vitamin C 400 UI to 800 IU/day of vitamin E.

Data Analysis

Prevention of preeclampsia:

Preeclampsia. Figure 1 displays the forest plot for the primary outcome. Nineteen studies were included, with a total of 10,940 individuals and 1,075 events in the control groups and 10,895 individuals with 1,033 events in the intervention groups (RR: 0.89, CI 95%: [0.79 – 1.02], P=0.09; I² = 39%, P=0.04). No particular study was responsible for the heterogeneity. The funnel scatter plot showed evidence of publication bias in favour of the intervention group (Supplemental Figure 2), and the Egger's test showed a significant coefficient (-1.02, 95% CI: [-1.57 – -0.46]; P<0.01). The subgroup of studies using vitamins C and E as antioxidants [14- 24] did not show heterogeneity and a pooled RR that indicates no effects of the

intervention, with 959 events in 10,028 individuals for the control group and 969 events for 10,014 individuals for the intervention group (RR: 1.00, CI 95%: [0.91 – 1.10], $P=0.98$; $I^2 = 12\%$, $P=0.33$). The subgroup that used lycopene as antioxidant [25-27] presented low heterogeneity and RR that may indicate a protective effect for the antioxidant group, with 30 events and 230 individuals for this group and 51 events for 241 individuals for the control group (RR: 0.67, CI 95%: [0.44 – 1.04], $P=0.08$; $I^2 = 13\%$, $P=0.32$). Secondary outcomes analyzed in prevention of preeclampsia can be viewed in the Table 3 [14-28].

Treatment of preeclampsia

Neonatal death. Four studies were included in the analysis, with 116 individuals and four events in the control groups and 119 individuals and eight events in the intervention groups (RR: 1.93, CI 95%: [0.35 – 10.61], $P=0.21$; $I^2 = 36\%$, $P=0.45$).

Intrauterine growth restriction (IUGR). Two studies were included in the analysis, with 77 individuals and 28 events in the control groups and 80 individuals and 13 events in the intervention groups (RR: 0.46, CI 95%: [0.26 – 0.81], $P=0.008$; $I^2 = 0\%$, $P=0.64$).

Apgar score < 7. Three studies were included in the analysis, with 95 individuals and 29 events in the control groups and 100 individuals and 13 events in the intervention groups (RR: 0.45, CI 95%: [0.23 – 0.90], $P=0.02$; $I^2 = 26\%$, $P=0.26$).

Stillbirth. Two studies were included in the analysis, with 48 individuals and 12 events in the control groups and 46 individuals and eight events in the intervention group (RR: 0.74, CI 95%: [0.34 – 1.62], P=0.45; $I^2 = 0\%$, P=0.43).

GRADE assessment

The quality of the evidence analysis by the method proposed by the GRADE guidelines [13] indicated a score of 2, which characterizes a low quality of evidence from the overall analysis, because of inaccurate results (heterogeneity) and indirect evidence.

Discussion

Antioxidant therapy in the prevention of preeclampsia

No beneficial effects of antioxidants supplementation with the objective of preventing PE, and its maternal and foetal consequences, were observed in this meta-analysis. Antioxidant therapy has been evaluated as a promising alternative for prevention and/or treatment of preeclampsia complications. Animal model studies were more effective in demonstrating the efficacy of various antioxidants, such as resveratrol [29], antioxidant vitamins [30] quercetin and glutathione [31]. However, in human studies their actions are uncertain.

When statistical analysis by subgroup was performed including only studies that used lycopene, it was observed that this antioxidant also did not prevent PE. However, a considerable effect size was observed for the prevention of PE in

favour of lycopene. Thus, it is possible that if there were more studies available to be included in the analysis, which could lead to a reduction in the variability, narrowing the confidence interval, statistical significance could be reached. According to Sharma et al., [27] lycopene decreased PE risk, increased the birth weight and decreased IUGR. However, in the Antartani et al., [25] study, no reduction in PE risk was observed, although there was a reduction in the incidence of IUGR.

Probably, the absence of significant results in the present metanalysis occurred due to methodological differences in the included studies, such as sample size variation, ranging from 44 to 10,154 participants; duration of oral antioxidant therapy, starting in the 1st quarter and finalizing until the moment of birth, or until preeclampsia development, or two weeks post childbirth; and dosage. This variation may be due to the absence of consensus in the scientific community on these aspects, imposing some drawbacks in the comparison of the included studies. In addition, there was important publication bias evidence at the primary outcome level, favouring the intervention, which suggests that the observed effect size is somewhat inflated.

Future studies should evaluate the presence of oxidative stress in both placenta and umbilical cord blood. A possible protective role of lycopene in the prevention of PE may also be investigated, since this was the only compound that showed a trend to exert a beneficial effect. Thus, it would be possible to determine the real impact of oxidative stress and its management in the development of an alternative therapy during pregnancy. Finally, since in the included studies the supplementation of antioxidants begun after the onset of pregnancy, the antioxidants possibly did not exert any effects on placentogenesis, which may

diminish the possibility of significant results in preventing PE. Thus, researchers should consider carrying out the supplementation in women before conception.

The role of antioxidants in the treatment of preeclampsia

The present meta-analysis also evaluated the ability of antioxidants to exert benefits on the maternal and foetal outcomes during the treatment of PE. A positive effect of antioxidant supplementation was observed in two outcomes: Apgar score < 7 and IUGR, favouring intervention groups. The studies that considered the first outcome used the antioxidants L-arginine [32, 33] and vitamin C and E [34]. On the other hand, the studies that assessed the second outcome supplemented only L-arginine [32, 33]. No statistical significance was found among studies evaluating the outcomes stillbirth [34, 35] and neonatal death [32-35].

Suhail et al., [36] affirmed that vitamins C and E should be considered for the control of biochemical indices during the development of PE. Other authors [37, 38] have evaluated these antioxidants separately, and found beneficial effects in relation to the increase in levels of circulating antioxidants. Three studies evaluated the effect of treatment with L-arginine on several outcomes and it was found by Rytlewsky et al., [32] that L-arginine supplementation accelerated foetal weight gain and improved biophysical profile. Additionally, Hladunewich et al., [39] observed that there were no significant differences in the primary outcome measures. Besides, the risk of IUGR was five times higher in infants born from mothers that developed PE without L-arginine therapy than in control pregnancies.

Still, according to Valdivia-Silva et al., [33] this risk was two times higher in infants born from PE with L-arginine therapy.

Conclusions

The present meta-analysis shows that antioxidant therapy is not able to prevent PE. This may be due to methodological differences in the included studies. There was a positive trend of lycopene to prevent PE, and it is likely that, in combination with other therapies, it could promote beneficial effects.

Regarding treatment of PE, L-arginine and vitamins C and E showed benefits in the Apgar score < 7 and IUGR outcomes. There were no differences in the results between our investigation and the most recent systematic review on the subject [11], since no positive effect was observed with the antioxidant supplementation in both studies. So, these therapies deserve to be further studied, either alone or in combination with other therapies, to assess their real effect on these and other outcomes of PE.

Conflict of interest

None.

Author contribution

The authors' responsibilities were as follows: A.C.M.O. designed the study; N.B.B. analysed data and performed statistical analysis; R.C.F. and M.B.T. wrote the paper; F.A.M., N.B.B. and A.C.M.O. had primary responsibility for the final content;

M.O.F.G. critically revised the paper for intellectual content and provided final approval of the manuscript; all the authors contributed to the revision of the article for important intellectual content and approved the final manuscript.

References

[1] In *WHO Recommendations for Prevention and Treatment of Pre-Eclampsia and Eclampsia*, Geneva, 2011.

[2] Abalos E. Pregnancy: Pre-eclampsia and Diet. In: Caballero B, Allen L, Prentice A, *Encyclopedia of Human Nutrition*. (2013) 3rd:75-80. Baltimore, MD: Elsevier.

[3] Chasan-Taber L, Silveira M, Waring ME, Pekow P, Braun B, Manson JE, et al. Gestational Weight Gain, Body Mass Index, and Risk of Hypertensive Disorders of Pregnancy in a Predominantly Puerto Rican Population. *Maternal and child health journal* 2016; 20:1804-1813. <https://doi.org/10.1007/s10995-016-1983-3>.

[4] Steegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *The Lancet* 2010; 376: 631-644. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60279-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60279-6).

[5] Sanchez-Aranguren LC, Prada CE, Riano-Medina C, Lopez M. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Frontiers in Physiology* 2014; 5: 372. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00372>.

[6] Mol BW, Roberts CT, Thangaratinam S, Magee LA, Groot CJM, Hofmeyr GJ. Pre-eclampsia. *The Lancet* 2016;387: 999-1011. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00070-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00070-7).

[7] Xu JX, Su L, Chen L, Lin J.X. Protection from vascular endothelial dysfunction in acute glycemic load-induced primary hypertension by vitamin C and E. *Genetics and Molecular Research* 2014;13: 7246-7255. <https://doi.org/10.4238/2014>.

[8] Langmead L, Rampton DS. Review article: complementary and alternative therapies for inflammatory bowel disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2006;23: 341-349. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2006.02761.x>.

[9] Moura FA, de Andrade KQ, dos Santos JC, Araújo ORP, Goulart MOF. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work?. *Redox Biology* 2015;6: 617-639. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.10.006>.

[10] Genser D, Kang MH, Vogelsang H, Elmadfa I. Status of lipidsoluble antioxidants and TRAP in patients with Crohn's disease and healthy controls. *European Journal of Clinical Nutrition* 1999;53: 675-679.

[11] Salles AMR, Galvao TF, Silva MT, Motta LCD, Pereira MG. Antioxidants for Preventing Preeclampsia: A Systematic Review. *The ScientificWorld Journal* 2012: 1-10. <https://doi.org/10.1100/2012/243476>.

[12] Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, 2nd edn. Clarendon Press, Oxford, UK. (1989).

[13] GRADE working group: the Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation. <http://www.gradeworkinggroup.org>, 2017 [accessed 13 July 2017].

[14] Chappell LC, Seed PT, Briley AL, Kelly FJ, Lee R, Hunt BJ, et al. Effect of antioxidants on the occurrence of pre-eclampsia in women at increased risk: a randomised trial. *The Lancet* 1999;354: 810- 816. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)80010-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)80010-5).

[15] Kiondo P, Wamuyu-Maina G, Wandabwa J, Bimenya GS, Tumwesigye NM, Okon P. The effects of vitamin C supplementation on pre-eclampsia in Mulago Hospital, Kampala, Uganda: a randomized placebo controlled clinical trial. *BMC Pregnancy Childbirth* 2014;14:283. <https://doi.org/10.1186/1471-2393-14-283>.

[16] McCance DR, Holmes VA, Maresh MJ, Patterson CC, Young IS. Diabetes and Pre-eclampsia Intervention Trial (DAPIT) Study Group, Vitamins C and E for prevention of pre-eclampsia in women with type 1 diabetes (DAPIT): a randomized placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2010;376: 259- 266. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60630-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60630-7).

[17] Poston L, Briley AL, Seed PT, Kelly FJ, Shennan AH. Vitamin C and vitamin E in pregnant women at risk for pre-eclampsia (VIP trial): randomised placebo-

controlled trial. *The Lancet* 2006;367: 1145- 1154. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68433-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68433-X).

[18] Roberts JM, Myatt L, Spong CY, Thom EA, Hauth JC , Leveno KJ, et al. Vitamins C and E to prevent complications of pregnancy-associated hypertension. *The New England Journal of Medicine* 2010;362: 1282-1291. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0908056>.

[19] Rumbold AR, Crowther CA, Haslam RR, Dekker GA, Robinson JS. Vitamins C and E and the risks of preeclampsia and perinatal complications. *The New England Journal of Medicine* 2006;354: 1796-1806. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa054186>.

[20] Spinnato JA, Freire S, Pinto ESJL, Cunha RMV, Martins-Costa S, Koch MA, et al. Antioxidant therapy to prevent preeclampsia: a randomized controlled trial. *Obstetrics and Gynecology* 2007;110: 1311-1318. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000289576.43441.1f>.

[21] Villar J, Purwar M, Merialdi M, Zavaleta N, Thi Nhu Ngoc N, Anthony J, et al. World Health Organisation multicenter randomised trial of supplementation with vitamins C and E among pregnant women at high risk for pre-eclampsia in populations of low nutritional status from developing countries. *BJOG An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2009;116: 780- 788. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2009.02158.x>.

- [22] Xu H, Perez- Cuevas R, Xiong X, Reyes H, Roy C, Julien P, et al. An international trial of antioxidants in the prevention of preeclampsia (INTAPP). *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 2010;239: e1- e10. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.01.050>.
- [23] Beazley D, Ahokas R, Livingston J. Vitamin C and E supplementation in women at high risk for preeclampsia: A double-blind, placebo-controlled trial. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2005;192: 520– 521. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.09.005>.
- [24] Cardoso PM, Surve S. The Effect of Vitamin E and Vitamin C on the Prevention of Preeclampsia and Newborn Outcome: A Case–Control Study. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India* 2016;66: 271- 278. <https://doi.org/10.1007/s13224-016-0885-z>.
- [25] Antartani R, Ashok K. Effect of lycopene in prevention of preeclampsia in high risk pregnant women. *Journal of the Turkish-German Gynecology Association* 2011;12: 35- 38. <https://doi.org/10.5152/jtgga.2011.08>.
- [26] Banerjee S, Jeyaseelan S, Guleria R. Trial of lycopene to prevent preeclampsia in healthy primigravidas: results show some adverse effects. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 2009;35: 477-482. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2008.00983.x>.

[27] Sharma JB, Kumar A, Kumar A, Malhotra M, Arora R, Prasad S. Effect of lycopene on pre-eclampsia and intra-uterine growth retardation in primigravidas, *International Journal of Gynaecology and Obstetrics* 2003; 81: 257-262.

[28] Kalpedev A, Saha SC, Dhawan V. Vitamin C and E supplementation does not reduce the risk of superimposed PE in pregnancy. *Hypertension in Pregnancy* 2011;30: 447–456. <https://doi.org/10.3109/10641955.2010.507840>.

[29] Zou Y, Zuo Q, Huang S, Yu X, Jiang Z , Zou S, et al. Resveratrol inhibits trophoblast apoptosis through oxidative stress in preeclampsia-model rats. *Molecules* 2014;19: 20570-20579. <https://doi.org/10.3390/molecules191220570>.

[30] Chang CY, Chen JY, Ke D, Hu ML. Plasma levels of lipophilic antioxidant vitamins in acute ischemic stroke patients: correlation to inflammation markers and neurological deficits. *Nutrition* 2005;21: 987-993. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2005.02.010>.

[31] Tanir HM, Sener T, Inal M, Akyuz F, Uzuner K, Sivri E. Effect of quercetine and glutathione on the level of superoxide dismutase, catalase, malonyldialdehyde, blood pressure and neonatal outcome in a rat model of pre-eclampsia induced by NG-nitro-L-arginine-methyl ester. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 2005;118: 190-195. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2004.04.033>.

[32] Rytlewsky K, Olszanecki R, Lauterbach R, Grzyb A, Basta A. Effects of Oral L-Arginine on the Foetal Condition and Neonatal Outcome in Preeclampsia: A Preliminary Report. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2006;99: 146–152. https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2006.pto_468.x.

[33] Valdivia-Silva JE, López-Molina K, Macedo R. Efecto de la terapia temprana con L-arginina em el crecimiento intrauterino restringido en la preclampsia. Estudio aleatorizado em mujeres latino-americanas. *Progressos de Obstetricia y Ginecologia* 2009;52: 89-98. [https://doi.org/10.1016/S0304-5013\(09\)70342-5](https://doi.org/10.1016/S0304-5013(09)70342-5).

[34] Gulmezoglu AM, Hofmeyr GJ, Oosthuisen MM. Antioxidants in the treatment of severe pre-eclampsia: an explanatory randomised controlled trial. *British journal of obstetrics and gynaecology* 1997;104: 689-696.

[35] Roes EM, Raijmakers MT, Boo TM, Zusterzeel PL, Merkus HM, Peters WH, et al. Oral N-acetylcysteine administration does not stabilise the process of established severe preeclampsia. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 2006;127: 61-67. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2005.09.007>.

[36] Suhail M, Suhail MF, Khan H. Role of vitamins C and E in regulating antioxidant and pro- oxidant markers in Preeclampsia. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* 2008;43: 210- 220. <https://doi.org/10.3164/jcbtn.2008067>.

[37] Mujawar JR, Patel SS. Circulating biomarkers of oxidative stress in preeclampsia and efficacy of antioxidant Vitamin C supplementation. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 2016;7: 7498- 1506.

[38] Wangkheimayum S, Kumar S, Suri V. Effect of Vitamin E on sP-Selectin Levels in Pre-Eclampsia. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2011;26: 169–171. <https://doi.org/10.1007/s12291-010-0102-2>.

[39] Hladunewich MA, Derby GC, Lafayette RA. Effect of L-Arginine Therapy on the Glomerular Injury of Preeclampsia A Randomized Controlled Trial. *American Collgege of Obstetricioans and Gynecologists* 2011;107: 886- 895. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000207637.01824.fe>.

[40] Pulido EEC, Benavides LG, Barón JGP, Gonzalez SP, Saray AJM, Padilla FEG, et al. Efficacy of L-arginine for preventing preeclampsia in high-risk pregnancies: A double-blind, randomized, clinical trial. *Hypertension in Pregnancy* 2016;35: 217- 225. <https://doi.org/10.3109/10641955.2015.1137586>.

[41] Alami- Harandi R, Karamali M, Asemi Z. The favorable effects of garlic intake on metabolic profiles, hs-CRP, biomarkers of oxidative stress and pregnancy outcomes in pregnant women at risk for pre-eclampsia: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 2014: 1- 28. <https://doi.org/10.3109/14767058.2014.977248>.

[42] Tara F, Maamouri G, Rayman MP, Ghayour-Mobarhan M, Sahebkar A, Yazarlu O, et al. Selenium supplementation and the incidence of preeclampsia in pregnant Iranian women: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology* 2010;49: 181-187. [https://doi.org/10.1016/S1028-4559\(10\)60038-1](https://doi.org/10.1016/S1028-4559(10)60038-1).

[43] Teran E, Hernandez I, Nieto B, Tavera R, Ocampo JE, Calle A. Coenzyme Q10 supplementation during pregnancy reduces the risk of pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 2009;105: 43–45. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2008.11.033>.

[44] Motawei SM, Attalla SM, Gouda HE, Harouny MA, Elmansoury AM. The effects of N-acetyl cysteine on oxidative stress among patients with pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 2016; 135: 226- 227. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2016.07.002>.

Table 1- Oral therapy with antioxidants used in the prevention of preeclampsia: articles published until April 2017

Source	N Analyzed	Age	Comorbidity	Antioxidants	Dosage/ Treatment begin	Secondary Outcomes
Pulido et al. 2016 [40]	96/ 100	Intervention: 20 ± 5.4 Control: 20 ± 4.7	Hypertension	L- arginine	3 g 3 weeks during pregnancy and 2 weeks after birth	Maternal blood pressure and prematurity rate were significantly lower in the intervention group, whereas birth weight was higher. Apgar score <7 at 5 min was not different between groups and no neonatal or maternal death was observed.
Cardoso et al. 2016 [24]	200/ 200	18- 35 years	DM; Obesity; Hypertension.	Vitamin C Vitamin E	500 mg 400 IU 12 weeks until delivery	There was a reduction of 46% in the occurrence of preterm deliveries and 53% in the risk of hospitalization in the intervention group.
Kiondo et al. 2014 [15]	833/ 932	15- 42	No	Vitamin C	1000 mg 12 - 22 weeks until delivery	Vitamin C supplementation did not reduce the risk of LBW, stillbirth and premature birth in women with inadequate nutritional status.
Alami-Harandi et al. 2014 [41]	44/ 50	Intervention: 27.4 ± 4.8 Control: 24.7 ± 3.8	No	Garlic (allicin)	400 mg garlic (1mg allicin) 27 weeks, for 9 weeks	Significant decrease in serum hs-CRP and a significant increase in plasma GSH levels. No significant effect on serum lipid profiles, plasma TAC levels and pregnancy outcomes.
Antartani et al. 2011 [25]	44/ 54	18- 28	Hypertension	Lycopene	4 mg 14- 28 weeks until delivery	No significant differences in preterm deliveries between groups. The perinatal outcome in terms of babies alive at discharge was significantly better in the treatment group compared to controls.
Kalpdev et al. 2011 [28]	44/ 50	Not informed	Hypertension	Vitamin C Vitamin E	500 mg 400 UI 16- 22 weeks until delivery	There was a non-significant trend towards lesser hypertension-related complications in intervention group. More women in control group required initiation or increment of antihypertensive medications during pregnancy. There was no significant difference between foetal outcomes and MDA levels between both groups.
Tara et al. 2010 [42]	125/ 179	Intervention: 21.6 ± 2.5 Control:	No	Selenium	100 µg 1 ^o quarter until delivery	Selenium supplementation significantly increased serum selenium concentrations at term. Nevertheless, there were no differences in systolic and diastolic

		21.6 ± 3.4				blood pressure, serum total cholesterol and fractions, triglycerides, and high-sensitivity C-reactive protein between groups.
Roberts et al. 2010 [18]	9969/ 10154	Intervention: 23.5 ± 5.2 Control: 23.5 ± 5.2	No	Vitamin C Vitamin E	1000 mg 400 UI 9- 16 weeks until delivery	Vitamin C and E did not reduce adverse maternal or perinatal outcomes in women at high risk. There was no significant difference in rates of SGA, foetal or neonatal death, placental abruption and PRM between groups.
McCance et al. 2010 [16]	749/ 762	Intervention: 29. 5 ± 5. 6 Control: 29. 6 ± 5. 7	Hypertension; DM type 1.	Vitamin C Vitamin E	1000 mg 400 UI 8- 22 weeks of pregnancy until delivery	There were no significant differences between groups for any maternal and foetal outcomes, including delivery before 34 or 37 weeks, foetal malformation, foetal loss, infant death, miscarriage, rates of admission to neonatal care, including intensive care, rates of respiratory diagnoses.
Xu et al. 2010 [22]	2363/ 2640	Intervention: 28.66 ± 5.57 Control: 28.68 ± 5.44	Hypertension; DM.	Vitamin C Vitamin E	1000mg 400 UI 12- 18 weeks until delivery	There was no difference in other maternal adverse outcomes between groups, including the rates of spontaneous abortion, stillbirth, neonatal death, preterm birth, IUGR, or SGA.
Banerjee et al. 2009 [26]	159/ 159	Intervention: 24.23 ± 3.11 Control: 24.60 ± 2.64	No	Lycopene	2 mg 12 – 20 weeks until delivery	Lycopene supplementation group had an increase in the incidence of adverse effects of premature labor and LBW.
Teran et al. 2009 [43]	197/235	Intervention: 17.4 ± 1.9 Control: 17.6 ± 2.1	No	CoQ10	200 mg 20 weeks until delivery	There were no differences between groups in the incidence of LBW and mean birth weight. There was no perinatal mortality. Only 2 pregnancies resulted in preterm delivery and both were in the placebo group.
Villar et al. 2009 [21]	1365/ 1381	Intervention: 27.6 ± 5.6 Control: 27.6 ± 5.0	Hypertension; Obesity; DM; Chronic renal disease.	Vitamin C Vitamin E	1000 mg 400 UI 14-22 weeks until delivery	Vitamins C and E supplementation was not associated with a reduction in gestational hypertension, LWB, SGA and perinatal mortality.
Spinnato et al. 2007 [20]	707/ 739	Intervention: 28.9 ± 6.3 Control: 29.7 ± 6.2	Hypertension	Vitamin C Vitamin E	1000mg 400 UI 12- 19 weeks until delivery	PRM was higher in the intervention group. There was no influence on the frequency of LBW, SGA, and stillbirth, measures of birth, asphyxia or Apgar score.
Rumbold et al. 2006 [19]	1877/ 1877	Intervention: 26.3 ± 5.6 Control: 26.6 ± 5.8	No	Vitamin C Vitamin E	1000 mg 400 UI 14- 22 weeks until delivery	There was no reduction of the risk of IUGR, and death or other serious outcomes in fetuses.

Poston et al. 2006 [17]	2395/ 2410	Intervention: 31.0 ± 5.8 Control: 30.9 ± 5.8	Hypertension; Obesity, DM; Chronic renal disease.	Vitamin C Vitamin E	1000 mg 400 IU 2nd quarter until delivery	Concomitant supplementation with vitamin C and vitamin E does increase the rate of babies born with a LWB.
Beazley et al. 2005 [23]	109/ 100	Not informed	Hypertension; DM.	Vitamin C Vitamin E	1000 mg 400 IU 14- 20 weeks until delivery	There were no significant differences between the two groups regarding gestational age at delivery and birth weight of the concepts.
Sharma et al. 2003 [27]	251/ 251	Intervention: 22.56 Control: 21.77	No	Lycopene	4 mg 16- 20 weeks until delivery	The average birth weight was higher and there was a reduction of IUGR in the lycopene group.
Chappell et al. 1999 [14]	283	Intervention: 28.9 ± 6.4 Control: 29.8 ± 5.6	Hypertension; Antiphospholipid syndrome; DM; Lupus	Vitamin C Vitamin E	1000 mg 400 IU 16–22 weeks until delivery	Supplementation with vitamins C and E was associated with a decrease in the PAI-1/PAI-2 ratio. There was no significant difference in birthweight and gestational age in the PE women between the placebo and vitamin groups.

PE – Preeclampsia; PRM – Premature Rupture of Membranes; ; PRMPT - Premature Rupture of Membranes Pre-Term; SGA- Small for Gestational Age; LWB- Low Weight at Birth, IUGR: Intrauterine Growth Restriction; CRP: C-Reactive Protein; GSH: Plasma Glutathione; TAC: Total Antioxidant capacity; DM - diabetes mellitus.

Table 2- Oral therapy with antioxidants used in the treatment of preeclampsia: articles published until April 2017.

Source	N Analyzed	Age	Comorbidity	Antioxidant	Dosage/ Duration	Association with drug	Outcomes
Mujawar et al. 2016 [37]	60	23.36 ± 3.22 (20-35 years)	No	Vitamin C	1000 mg 20-32 weeks for 45 days	Alfa methyl dopa (250mg) or Nifedipine (10mg)	MDA levels were significantly raised in women with PE. Superoxide dismutase levels was lower in PE patients.
Motawei et al. 2016 [44]	125	-	No	N-acetyl cysteine	400 mg For 6 weeks	Methyldopa (250mg) Calcium-channel blockers (if necessary)	Improved pregnancy outcomes (birth weight and Apgar scores) were observed among patients who received NAC, but no difference was demonstrated in the incidence of obstetric complications and in oxidative-stress markers between the two groups.
Wangkheimayum et al. 2011 [38]	31	-	No	Vitamin E	400 UI For 2 weeks	-	No correlations between vitamin E or sP-selectin with blood pressure or proteinuria were found.
Valdivia-Silva et al. 2009 [33]	96/ 100	Intervention: 27.7 ± 6.3 Control: 28.1 ± 8.4	No	L-arginine	3g After 20° weeks of pregnancy until delivery	Magnesium sulfate (8-10 g) Dihydralazine (4 × 25 mg) Methyldopa (250 mg)	The risk of IUGR was five times higher in infants born from mother with PE without L-arginine therapy and was two times higher in infants born from PE with L-arginine therapy. The foetal biophysical profile and Apgar score were significantly more favourable in the L-arginine group.
Suhail et al. 2008 [36]	63	Group PE without vitamin (A): 29.2 ± 6.4 Intervention (B): 27.4 ± 8.4 Control (P): 28.8 ± 7.2	No	Vitamin C Vitamin E	1000 mg 400 UI 2nd quarter until delivery	No	SOD activity decreased 23% in A and 14% in B; GRx decreased 27% in A and 5.5% in B; GPx decreased 12% in A and 9.6% in B. Catalase activity, however, increased 27% in A and 29% in B as compared to control.
Roes et al. 2006 [35]	38/ 59	Intervention group:	HELLP syndrome	N-acetylcysteine	600 mg	Alpha-methyldopa or Nifedipin	Oral NAC did not stabilize the process of severe PE and/or HELLP syndrome.

		28.5 (22–34) Control group: 30 (23–40)		ne	25- 33 weeks until delivery	or intravenously as Ketanserin or Nocardipin and intravenous Magnesium sulfate. Magnesium sulfate	There were no differences in maternal and neonatal outcomes between the groups.
Hladunewi c et al. 2006 [39]	67	Intervention: 29 ± 6 Control: 28 ± 7 Gravid Controls: 32 ± 5	No	L-arginine	3.5 g every 6 hours (Orally) or 10 g every 8h ours (intravenously) 6-8 days before delivery, 24 hours or just before delivery, up to 10 days postpartum.		Serum arginine postpartum levels increased, but no differences were found in levels of nitric oxide, endothelin-1, Guanosine 3 = 5 = monophosphate, or asymmetric-dimethyl-arginine between the two groups with PE. In addition, there were no significant differences in the primary outcome measures glomerular filtration rate, blood pressure and proteinuria).
Rytlewski et al. 2006 [32]	83	Intervention: 29.3 ± 6.7 (26.9–31.7) Control: 29.2 ± 5.9 (27.1–31.3)	No	L-arginine	3g 1st - 2nd week until delivery	Magnesium sulfate (8–10 g), Dihydralazine (4.25 mg) Methyldopa (250mg)	The umbilical artery pulsatility indexes values were significantly lower in L- arginine. Moreover, treatment with L- arginine caused significant increase of middle cerebral artery pulsatility indexes and cerebral-placental ratio values. Latency was longer in L-arginine group. Neonates delivered in the L-arginine group revealed higher Apgar score.
Gülmezogl u et al. 1997 [34]	56/ 59	Intervention: 29 (18–44) Control: 28 (17–42)	Eclampsia	Vitamin C Vitamin E	1000 mg 800 UI 24- 32 weeks until delivery	Allopurinol (200 mg)	There was an increase in creatinine clearance before delivery in the intervention group. No differences between groups in the treatment of severe PE, maternal and fetal outcomes were noted

NAC – N- acetylcysteine; PE – Preeclampsia.

Table 3- Secondary outcomes analyzed in prevention of preeclampsia

Variable	Number of studies	N Analyzed/events		RR	CI 95%	p-value	I ²	p-value
		Control groups	Intervention groups					
Low birth weight	10	8,618/1,186	8,629/1,182	0.98	[0.87 - 1.11]	0.78	47%	0.05
Premature birth	16	10,997/1,939	10,962/1,889	0.97	[0.88 - 1.07]	0.56	47%	0.02
Miscarriage	9	10,658/155	10,607/139	0.89	[0.71 - 1.12]	0.32	0%	0.59
Apgar score < 7	8	8,308/130	8,317/128	0.98	[0.75 - 1.29]	0.90	13%	0.33
Early neonatal death	9	9,862/65	9,818/44	0.71	[0.48 - 1.05]	0.09	0%	0.75
Foetal intensive care unit (ICU)	10	10,646/1,167	10,099/1,177	1.01	[0.93 - 1.09]	0.82	8%	0.36
Stillbirth	8	9,854/95	9,813/111	1.16	[0.88 - 1.53]	0.30	1%	0.42
Small for gestational age (SGA)	9	10,063/961	10,047/957	0.97	[0.86 - 1.09]	0.60	33%	0.15

Figure legends

Figure 1- Forest plot for the preeclampsia analysis.

Supplemental Figure legends

Supplemental Figure 1- Flow diagram of study selection.

Supplemental Figure 2- Funnel Scatterplot from the primary outcome analysis.

Supplemental Table legends

Supplemental Table 1- Risk of bias of included studies

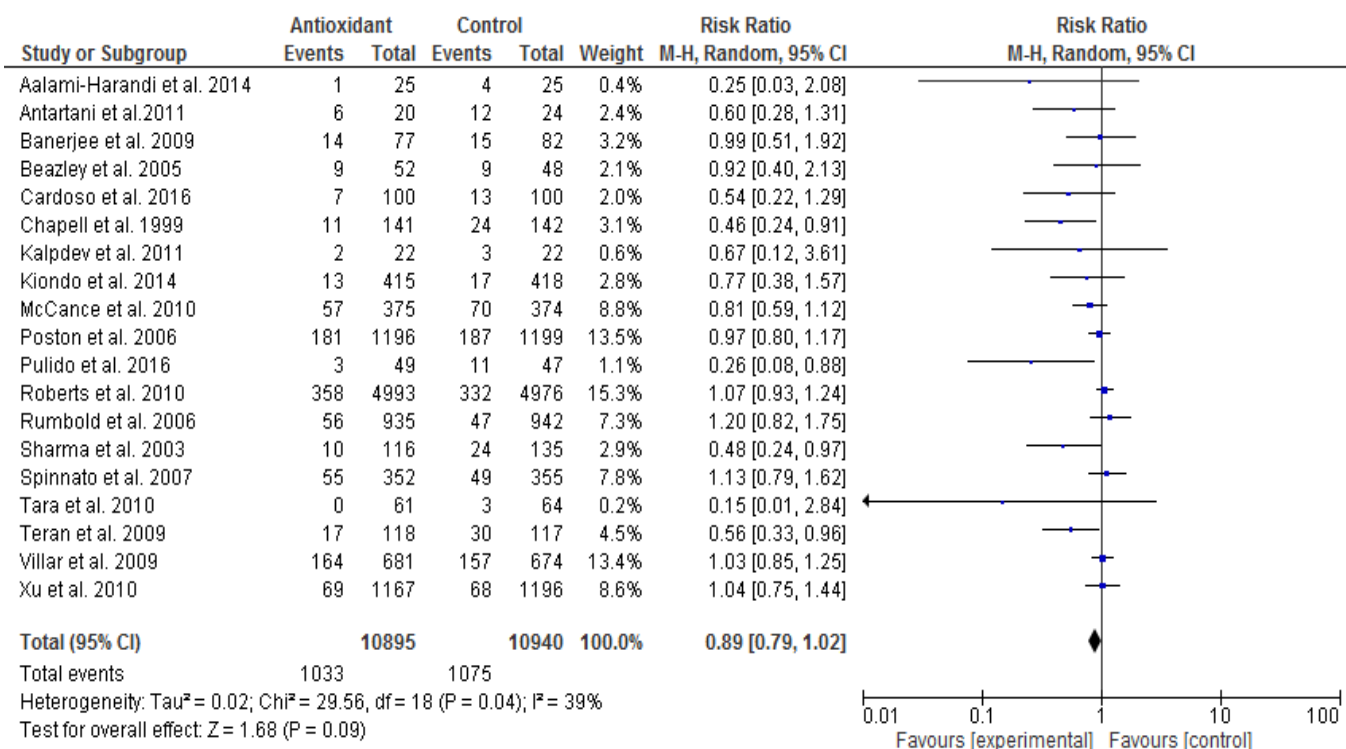
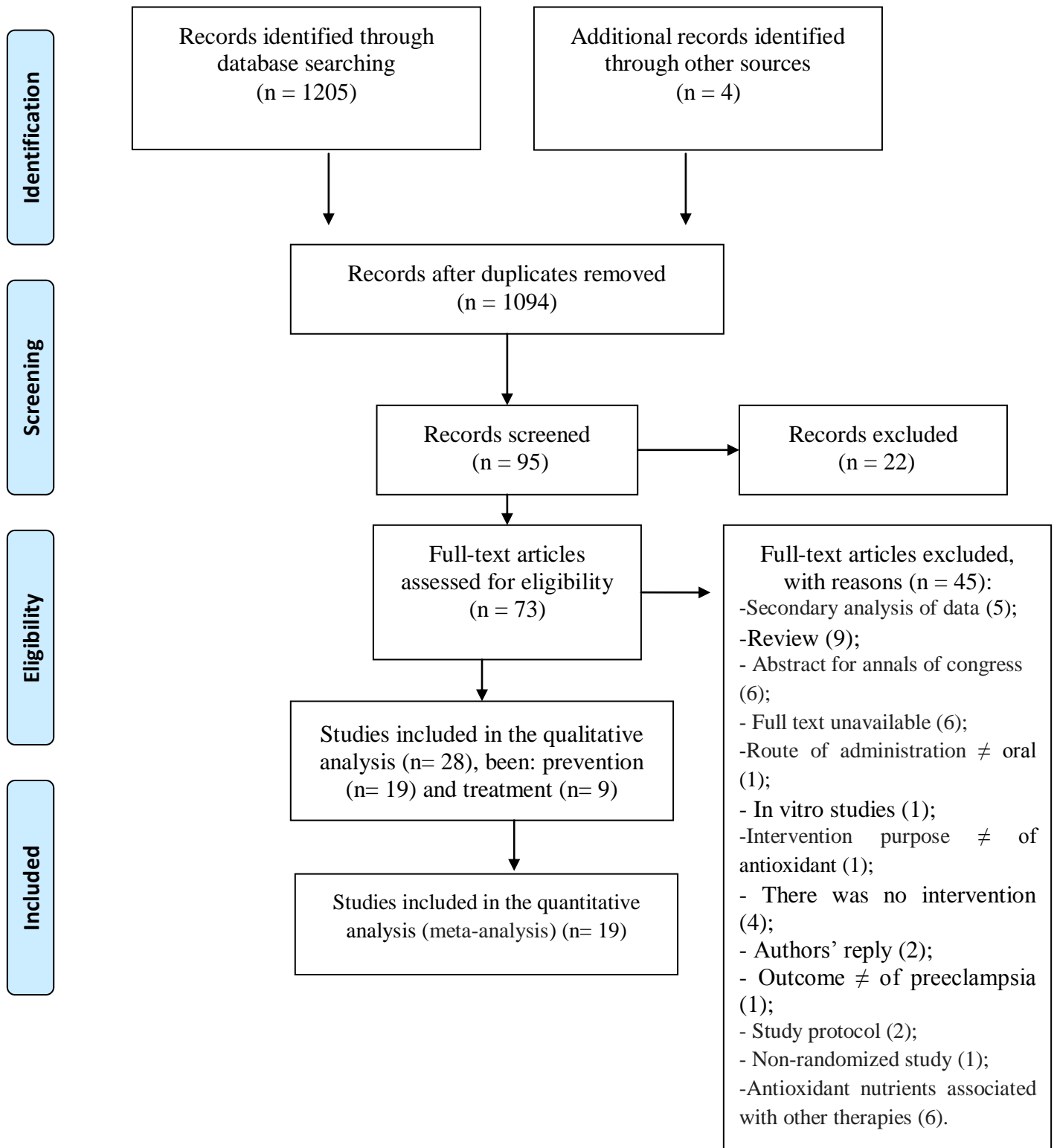
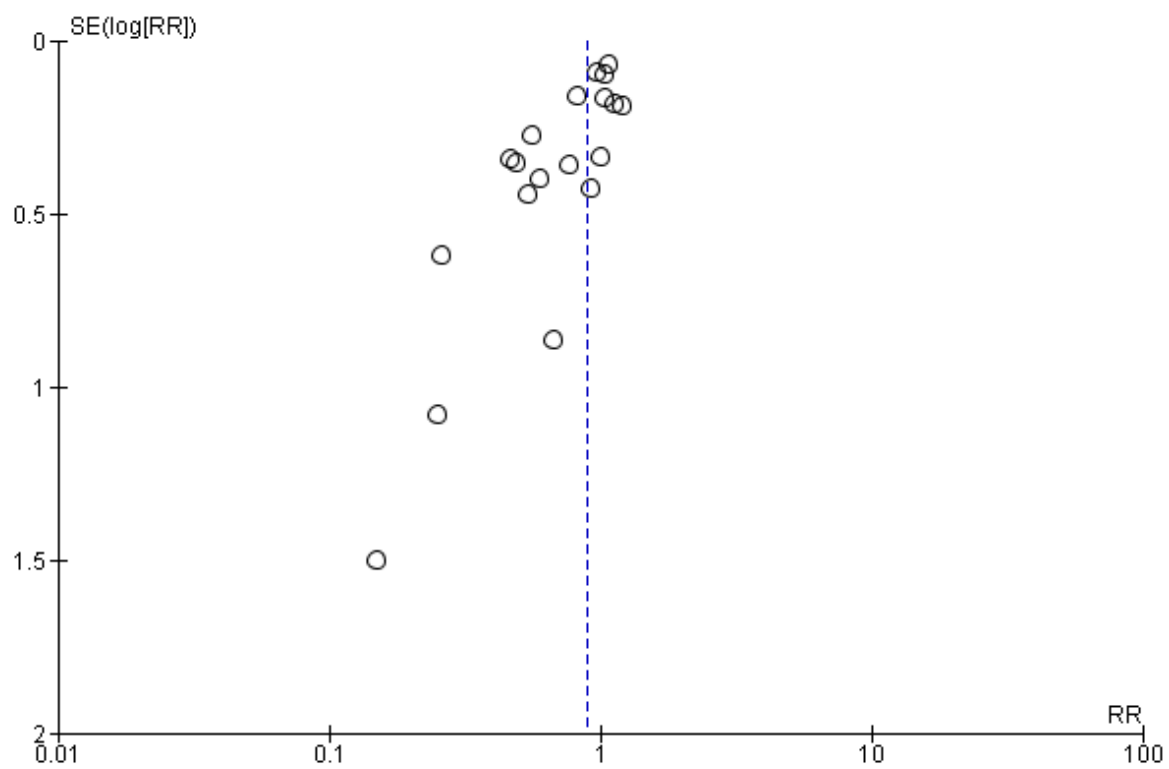


Figure 1- Forest plot for the preeclampsia analysis.



Supplemental Figure 1- Flow diagram of study selection.



Supplemental Table 1- Risk of bias of included studies

Source	Sequence Generation	Allocation Concealment	Blinding	Missing Data	Selective Report	Overall
Prevention of preeclampsia						
Pulido <i>et al.</i> (2016) (31)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Cardoso <i>et al.</i> (2016) (29)	Unclear	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Kiondo <i>et al.</i> (2014) (18)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Alami- Harandi <i>et al.</i> (2014) (48)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Antartani <i>et al.</i> (2011) (26)	Unclear	High	Unclear	High	Low	High
Kalpdev <i>et al.</i> (2011) (30)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Tara <i>et al.</i> (2010) (47)	Unclear	Low	Low	High	Low	Unclear
Roberts <i>et al.</i> (2010) (21)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
McCance <i>et al.</i> (2010) (19)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Xu <i>et al.</i> (2010) (25)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Banerjee <i>et al.</i> (2009) (27)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Teran <i>et al.</i> (2009) (32)	Low	Low	Low	High	Low	High
Villar <i>et al.</i> (2009) (24)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Spinnato <i>et al.</i> (2007) (23)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Rumbold <i>et al.</i>	Low	Low	Low	Low	Low	Low

(2006) (22)						
Poston <i>et al.</i> (2006) (20)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Beazley <i>et al.</i> (2005) (28)	Unclear	Low	Low	Low	Low	Low
Sharma <i>et al.</i> (2003) (37)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Chappell <i>et al.</i> (1999) (17)	Low	Low	Low	High	Low	Low
Treatment of preeclampsia						
Mujawar <i>et al.</i> (2016) (50)	Unclear	Unclear	High	Low	Low	High
Motawei <i>et al.</i> (2016) (63)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Wangkheimayum <i>et al.</i> (2011) (51)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Valdivia-Silva <i>et al.</i> (2009) (36)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Suhail <i>et al.</i> (2008) (49)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Roes <i>et al.</i> (2006) (34)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Hladunewic <i>et al.</i> (2006) (52)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Rytlewski <i>et al.</i> (2006) (35)	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Gülmezoglu <i>et al.</i> (1997) (33)	Low	Low	Low	Low	Low	Low

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização deste trabalho evidenciou a importância de mais pesquisas serem desenvolvidas acerca da pré-eclâmpsia, a fim de esclarecer sua causa e fisiopatologia, para assim, auxiliar em adequada prevenção e controle da doença, levando-se em consideração as graves repercussões que podem acometer a saúde do binômio mãe-feto.

Além disso, considerando a heterogeneidade dos tipos e doses dos antioxidantes utilizados nos estudos inclusos na metanálise, não é possível concluir se há efeitos positivos ou não a partir da suplementação de tais compostos.

Dessa forma, sugere-se a realização de mais ensaios clínicos aleatórios, onde o início da suplementação se dê imediatamente após a confirmação da gravidez, o quanto antes seja possível, havendo padronização da dose e tipo de antioxidante utilizado, sendo a administração rigorosamente seguida até o momento do parto. Somado a isso, é importante que o consumo alimentar das gestantes, bem como as condições socioeconômicas sob a qual estas mulheres sobrevivam, sejam descritos nos estudos, visando uma avaliação geral do papel de tais compostos nas repercussões à saúde do binômio mãe-feto. A partir de então, o papel da suplementação em questão poderá ser concluído.

4 REFERÊNCIAS

ABALOS, E. et al. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 170, p.1–7, 2013.

BOGGES, K. A. et al. Maternal periodontal disease is associated with an increased risk for preeclampsia. **Obstetrics Gynecology**, v.101, n.2, p.227-231, 2003.

DEKKER, G.; SIBAI, B. Primary, secondary, and tertiary prevention of preeclampsia. **The Lancet**, v. 357, n. 9251, p. 209–215, 2001.

GENSER, D. et al. Status of lipidsoluble antioxidants and TRAP in patients with Crohn's disease and healthy controls. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.53, n.9, p. 675-679, 1999.

HSIEH, T.T. et al. The Association Between Maternal Oxidative Stress at Mid-Gestation and Subsequent Pregnancy Complications. **Reproductive Sciences**, v.19, n.5, p. 505-512, 2012.

LANGMEAD, L.; RAMPTON, D.S. Review article: complementary and alternative therapies for inflammatory bowel disease. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v.23,n.3, p.341-349, 2006.

LO, J.O.; MISSION, J.F.; CAUGHEY, A.B. Hypertensive disease of pregnancy and maternal mortality. **Current opinion in obstetrics & gynecology**, v.25,n.2, p.124-132, 2013.

MALACHIAS, M.V.B. et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107(3Supl.3), p.1-83, 2016.

MOL, B.W.J. et al. Pre- eclampsia. **The Lancet**, v. 6736, n.15, p. 70-77, 2015.

MONTENEGRO, C.A.B.; REZENDE FILHO, J. **Obstetrícia fundamental**. 11^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

MOURA, F.A. et al. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? **Redox Biology**, v.6, p. 617-639, 2015.

OLIVEIRA, A. C. M. et al. Fatores Maternos e Resultados Perinatais Adversos em Portadoras de Pré-eclâmpsia em Maceió, Alagoas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.106, n.2, p.1-8, 2016.

REZENDE, K.B.D. et al. Preeclampsia: Prevalence and Perinatal Repercussions in a University Hospital in Rio De Janeiro, Brazil, Pregnancy Hypertension: **An International Journal of Women's Cardiovascular Health**, v.6, n.4, p. 253-255, 2016.

SANCHEZ-ARANGUREN, L. C. et al. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. **Frontiers in Physiology**, v.5, p. 372, 2014.

STEEGERS, E. A. P. et al. Pre- eclampsia. **The Lancet.**, v.376, p.631-644, 2010.

TURPIN, C. A. et al. Association between adverse pregnancy outcome and imbalance in angiogenic regulators and oxidative stress biomarkers in gestational hypertension and preeclampsia. **BMC Pregnancy and Childbirth**. v.15, n.189, p.1-10, 2015.

WALSH, S.W. Obesity: a risk factor for preeclampsia. **Trends Endocrinology Metabolism Journal**, v. 18, n.10, p.365-370, 2007.

WILLIAMSON, R.D. et al. Oxidative stress in pre-eclampsia; have we been looking in the wrong place? **Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health** [in press]. 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Recomendações da OMS para a prevenção e tratamento da pré- eclâmpsia e da eclâmpsia: Implicações e ações.** Geneva: World Health Organization, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclâmpsia.** Geneva: World Health Organization, 2011.

XU, J.X. et al. Protection from vascular endothelial dysfunction in acute glycemic load-induced primary hypertension by vitamin C and E. **Genetics and Molecular Research**, v.13,n.3, p. 7246-7255, 2014.

ZHONG, Y., ZHU, F., DING, Y. Serum screening in first trimester to predict pre-eclampsia, small for gestational age and preterm delivery: systematic review and meta-analysis. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v.15, n.191, p.1-10, 2015.

A- NORMAS DE PUBLICAÇÃO: REVISTA PORTUGUESA DE CARDIOLOGIA

Normas de publicação da Revista Portuguesa de Cardiologia

A Revista Portuguesa de Cardiologia, órgão oficial da Sociedade Portuguesa de Cardiologia, é uma publicação científica internacional destinada ao estudo das doenças cardiovasculares.

Publica artigos em português na sua edição em papel e em português e inglês na sua edição online, sobre todas as áreas da Medicina Cardiovascular. Se os artigos são publicados apenas em inglês, esta versão surgirá simultaneamente em papel e online. Inclui regularmente artigos originais sobre investigação clínica ou básica, revisões temáticas, casos clínicos, imagens em cardiologia, comentários editoriais e cartas ao editor. Para consultar as edições online deverá aceder através do link www.revportcardiol.org.

Todos os artigos são avaliados antes de serem aceites para publicação por peritos designados pelos Editores (peer review). A submissão de um artigo à Revista Portuguesa de Cardiologia implica que este nunca tenha sido publicado e que não esteja a ser avaliado para publicação noutra revista.

Os trabalhos submetidos para publicação são propriedade da Revista Portuguesa de Cardiologia e a sua reprodução total ou parcial deverá ser convenientemente autorizada. Todos os autores deverão enviar a Declaração de Originalidade, conferindo esses direitos à RPC, na altura em que os artigos são aceites para publicação.

Envio de manuscritos

Os manuscritos para a Revista Portuguesa de Cardiologia são enviados através do link <http://www.ees.elsevier.com/repc>. Para enviar um manuscrito, é apenas necessário aceder ao referido link e seguir todas as instruções que surgem.

Esta revista faz parte do nosso Serviço de Transferência de Artigos. Isto significa que se o Editor considerar que o seu artigo é mais adequado para outra revista parceira, então poderemos perguntar se quer considerar a transferência para uma dessas revistas. Se concordar, o seu artigo será transferido automaticamente em seu nome sem necessidade de reformatar o mesmo. De notar que o seu artigo será enviado novamente para revisão por parte da outra revista. Para mais informação: <https://www.elsevier.com/authors/article-transfer-service>

Responsabilidades Éticas

Os autores dos artigos aceitam a responsabilidade definida pelo Comité Internacional dos Editores das Revistas Médicas (consultar www.icmje.org).

Os trabalhos submetidos para publicação na Revista Portuguesa de Cardiologia devem respeitar as recomendações internacionais sobre investigação clínica (Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial, revista recentemente) e com animais de laboratório (Sociedade Americana de Fisiologia). Os estudos aleatorizados deverão seguir as normas CONSORT.

Informação sobre autorizações

A publicação de fotografias ou de dados dos doentes não devem identificar os mesmos. Em todos os casos, os autores devem apresentar o consentimento escrito por parte do doente que autorize a sua publicação, reprodução e divulgação em papel e na Revista Portuguesa de Cardiologia. Do mesmo modo os autores são responsáveis por obter as respectivas autorizações para reproduzir na Revista Portuguesa de Cardiologia todo o material (texto, tabelas ou figuras) previamente publicado. Estas autorizações devem ser solicitadas ao autor e à editora que publicou o referido material.

Conflito de interesses

Cada um dos autores deverá indicar no seu artigo se existe ou não qualquer tipo de Conflito de Interesses.

Declaração de originalidade

O autor deverá enviar uma declaração de originalidade. Ver anexo I

Protecção de dados

Os dados de carácter pessoal que se solicitam vão ser tratados num ficheiro automatizado da Sociedade Portuguesa de Cardiologia (SPC) com a finalidade de gerir a publicação do seu artigo na Revista Portuguesa de Cardiologia (RPC). Salvo indique o contrário ao enviar o artigo, fica expressamente autorizado que os dados referentes ao seu nome, apelidos, local de trabalho e correio electrónico sejam publicados na RPC, bem como no portal da SPC (www.spc.pt) e no portal online www.revportcardiol.org, com o intuito de dar a conhecer a autoria do artigo e de possibilitar que os leitores possam comunicar com os autores.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Todos os manuscritos deverão ser apresentados de acordo com as normas de publicação. Pressupõe-se que o primeiro autor é o responsável pelo cumprimento das normas e que os restantes autores conhecem, participam e estão de acordo com o conteúdo do manuscrito.

NOTA IMPORTANTE! Para que se possa iniciar o processo de avaliação, o documento com o corpo do artigo deverá incluir todos os elementos que fazem parte do artigo: Títulos em português e em inglês; autores; proveniência; palavras-chave e keywords; Resumos em português e em inglês; Corpo do artigo, incluindo as tabelas; bibliografia; legendas das figuras e das tabelas.

I. Artigos Originais

Apresentação do documento:

- Com espaço duplo, margens de 2,5 cm e páginas numeradas.
- Não deverão exceder 5.000 palavras, contadas desde a primeira à última página, excluindo as tabelas.
- Consta de dois documentos: primeira página e manuscrito
- O manuscrito deve seguir sempre a mesma ordem: a) resumo estruturado em português e palavras-chave; b) resumo estruturado em inglês e palavras-chave; c) quadro de abreviaturas em português e em inglês; d) texto; e) bibliografia; f) legendas das figuras; g) tabelas (opcional) e h) figuras (opcional)-

Primeira página

Título completo (menos de 150 caracteres) em português e em inglês. Nome e apelido dos autores pela ordem seguinte: nome próprio, seguido do apelido (pode conter dois nomes)

Proveniência (Serviço, Instituição, cidade, país) e financiamento caso haja. Endereço completo do autor a quem deve ser dirigida a correspondência, fax e endereço electrónico.

Faz-se referência ao número total de palavras do manuscrito (excluindo as tabelas).

Resumo estruturado

O resumo, com um máximo de 250 palavras, está dividido em quatro partes: a) Introdução e objectivos; b) Métodos; c) Resultados e d) Conclusões.

Deverá ser elucidativo e não inclui referências bibliográficas nem abreviaturas (excepto as referentes a unidades de medida).

Inclui no final três a dez palavras-chave em português e em inglês. Deverão ser preferencialmente seleccionadas a partir da lista publicada na Revista Portuguesa de Cardiologia, oriundas do Medical Subject Headings (MeSH) da National Library of Medicine, disponível em: www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html.

O resumo e as palavras-chave em inglês devem ser apresentados da mesma forma.

Texto

Deverá conter as seguintes partes devidamente assinaladas: a) Introdução; b) Métodos; c) Resultados; d) Discussão e e) Conclusões. Poderá utilizar subdivisões adequadamente para organizar cada uma das secções.

As abreviaturas das unidades de medida são as recomendadas pela RPC (ver Anexo II).

Os agradecimentos situam-se no final do texto.

Bibliografia

As referências bibliográficas deverão ser citadas por ordem numérica no formato 'superscript', de acordo com a ordem de entrada no texto.

As referências bibliográficas não incluem comunicações pessoais, manuscritos ou qualquer dado não publicado. Todavia podem estar incluídos, entre parêntesis, ao longo do texto.

São citados abstracts com menos de dois anos de publicação, identificando-os com [abstract] colocado depois do título.

As revistas médicas são referenciadas com as abreviaturas utilizadas pelo Index Medicus: List of Journals Indexed, tal como se publicam no número de Janeiro de cada ano. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/citmatch_help.html#journalLists.

O estilo e a pontuação das referências deverão seguir o modelo Vancouver 3.

Revista médica: Lista de todos os autores. Se o número de autores for superior a três, incluem-se os três primeiros, seguidos da abreviatura latina et al. Exemplo:

17. Sousa PJ, Gonçalves PA, Marques H et al. Radiação na AngioTC cardíaca; preditores de maior dose utilizada e sua redução ao longo do tempo. *Rev Port cardiol*, 2010; 29:1655-65

Capítulo em livro: Autores, título do capítulo, editores, título do livro, cidade, editora e páginas. Exemplo:

23. Nabel EG, Nabel GJ. Gene therapy for cardiovascular disease. En: Haber E, editor. *Molecular cardiovascular medicine*. New York: Scientific American 1995. P79-96.

Livro: Cite as páginas específicas. Exemplo:

30. Cohn PF. Silent myocardial ischemia and infarction. 3rd ed. New York: Mansel Dekker; 1993. P. 33.

Material electrónico: Artigo de revista em formato electrónico. Exemplo:

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts it an advisory role. *Am J Nurs*. [serie na internet.] 2002 Jun citado 12 Ago 2002;102(6): [aprox. 3] p. Disponível em: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wwatch.htm>

.A Bibliografia será enviada como texto regular, nunca como nota de rodapé. Não se aceitam códigos específicos dos programas de gestão bibliográfica.

I. Figuras

As figuras correspondentes a gráficos e desenhos são enviadas no formato TIFF ou JPEG de preferência, com uma resolução nunca inferior a 300 dpi e utilizando o negro para linhas e texto. São alvo de numeração árabe de acordo com a ordem de entrada no texto.

• A grafia, símbolos, letras, etc, deverão ser enviados num tamanho que, ao ser reduzido, os mantenha claramente legíveis. Os detalhes especiais deverão ser assinalados com setas contrastantes com a figura.

• As legendas das figuras devem ser incluídas numa folha aparte. No final devem ser identificadas as abreviaturas empregues por ordem alfabética.

• As figuras não podem incluir dados que dêem a conhecer a proveniência do trabalho ou a identidade do paciente. As fotografias das pessoas devem ser feitas de maneira que estas não sejam identificadas ou incluir-se-á o consentimento por parte da pessoa fotografada.

Tabelas

São identificadas com numeração árabe de acordo com a ordem de entrada no texto.

Cada tabela será escrita a espaço duplo numa folha aparte.

• Incluem um título na parte superior e na parte inferior são referidas as abreviaturas por ordem alfabética.

• O seu conteúdo é auto-explicativo e os dados que incluem não figuram no texto nem nas figuras.

2. Artigos de Revisão

Nº máximo de palavras do artigo sem contar com o resumo e quadros- 5.000

Nº máximo de palavras do Resumo - 250

Nº máximo de Figuras - 10

Nº máximo de quadros - 10

Nº máximo de ref. bibliográficas - 100

3. Cartas ao Editor

Devem ser enviadas sob esta rubrica e referem-se a artigos publicados na Revista. Serão somente consideradas as cartas recebidas no prazo de oito semanas após a publicação do artigo em questão.

• Com espaço duplo, com margens de 2,5 cm.

• O título (em português e em inglês), os autores (máximo quatro), proveniência, endereço e figuras devem ser especificados de acordo com as normas anteriormente referidas para os artigos originais.

• Não podem exceder as 800 palavras.

• Podem incluir um número máximo de duas figuras. As tabelas estão excluídas.

4. Casos Clínicos

Devem ser enviados sob esta rubrica.

• A espaço duplo com margens de 2,5 cm.

• O título (em português e em inglês) não deve exceder 10 palavras

Os autores (máximo oito) proveniência, endereço e figuras serão especificados de acordo com as normas anteriormente referidas para os artigos originais.

O texto explicativo não pode exceder 3.000 palavras e contem informação de maior relevância. Todos os símbolos que possam constar nas imagens serão adequadamente explicados no texto.

Contêm um número máximo de 4 figuras e pode ser enviado material suplementar, como por exemplo vídeos clips.

5. Imagens em Cardiologia

• A espaço duplo com margens de 2,5 cm.

• O título (em português e em inglês) não deve exceder oito palavras

• Os autores (máximo seis), proveniência, endereço e figuras serão especificados de acordo com as normas anteriormente referidas para os artigos originais.

• O texto explicativo não pode exceder as 250 palavras e contem informação de maior relevância, sem referências bibliográficas. Todos os símbolos que possam constar nas imagens serão adequadamente explicados no texto.

• Contêm um número máximo de quatro figuras.

6. Material adicional na WEB

A Revista Portuguesa de Cardiologia aceita o envio de material electrónico adicional para apoiar e melhorar a apresentação da sua investigação científica. Contudo, unicamente se considerará para publicação o material electrónico adicional directamente relacionado com o conteúdo do artigo e a sua aceitação final dependerá do critério do Editor. O material adicional aceite não será traduzido e publicar-se-á electronicamente no formato da sua recepção.

Para assegurar que o material tenha o formato apropriado recomendamos o seguinte:

	Formato	Extensão	Detalhes
Texto	Word	.doc ou docx	Tamanho máximo 300 Kb
Imagem	TIFF	.tif	Tamanho máximo 10MB
Audio	MP3	.mp3	Tamanho máximo 10MB
Vídeo	WMV	.wmv	Tamanho máximo 30MB

ANEXO I DECLARAÇÃO

Declaro que autorizo a publicação do manuscrito:

Ref.^a

Título

do qual sou autor ou c/autor.

Declaro ainda que presente manuscrito é original, não foi objecto de qualquer outro tipo de publicação e cedo a inteira propriedade à Revista Portuguesa de Cardiologia, ficando a sua reprodução, no todo ou em parte, dependente de prévia autorização dos editores.

Nome dos autores:

.....

.....

Assinaturas:

Os autores deverão submeter o material no formato electrónico através do EES como arquivo multimédia juntamente com o artigo e conceber um título conciso e descritivo para cada arquivo.

Do mesmo modo, este tipo de material deverá cumprir também todos os requisitos e responsabilidades éticas gerais descritas nessas normas.

O Corpo Redactorial reserva-se o direito de recusar o material electrónico que não julgue apropriado.

ANEXO II

Símbolos, abreviaturas de medidas ou estatística

Designação	Português	Inglês
Ampere	A	A
Ano	ano	yr
Centímetro quadrado	cm ²	cm ²
Contagens por minuto	cpm	cpm
Contagens por segundo	cps	cps
Curie	Ci	Ci
Electrocardiograma	ECG	ECG
Equivalente	Eq	Eq
Grau Celsius	°C	°C
Gramma	g	g
Hemoglobina	Hb	Hb
Hertz	Hz	Hz
Hora	h	h
Joule	J	J
Litro	L ou l	l ou L
Metro	m	m
Minuto	min	min
Molar	M	M
Mole	mol	mol
Normal (concentração)	N	N
Ohm	Ω	Ω
Osmol	osmol	osmol
Peso	peso	WT
Pressão parcial de CO ₂	pCO ₂	pCO ₂
Pressão parcial de O ₂	pO ₂	pO ₂
Quilograma	kg	kg
Segundo	s	sec
Semana	Sem	Wk
Sistema nervoso central	SNC	CNS
Unidade Internacional	UI	IU
Volt	V	V
Milivolt	mV	mV
Volume	Vol	Vol
Watts	W	W
Estatística:		
Coefficiente de correlação	r	r
Desvio padrão (standard)	DP	SD
Erro padrão (standard) da média	EPM	SEM
Graus de liberdade	gl	df
Média	X	X
Não significativa	NS	NS
Número de observações	n	n
Probabilidade	p	p
Teste «t» de Student	teste t	t test

B- NORMAS DE PUBLICAÇÃO: NUTRITION, METABOLISM & CARDIOVASCULAR DISEASES

NUTRITION, METABOLISM & CARDIOVASCULAR DISEASES

An international journal on Diabetes, Atherosclerosis and Human Nutrition

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

- Description
- Impact Factor
- Abstracting and Indexing
- Editorial Board
- Guide for Authors

ISSN: 0939-4753

DESCRIPTION

Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases is a forum designed to focus on the powerful interplay between **nutritional** and metabolic alterations, and **cardiovascular disorders**. It aims to be a highly qualified tool to help refine strategies against the nutrition-related epidemics of **metabolic** and cardiovascular diseases. By presenting original clinical and experimental findings, it introduces readers and authors into a rapidly developing area of **clinical** and **preventive medicine**, including also **vascular biology**. Of particular concern are the origins, the mechanisms and the means to prevent and control diabetes, atherosclerosis, hypertension, and other nutrition-related diseases. SID, SISA and SINU members may access the journal contents here Electronic usage:

An increasing number of readers access the journal online via ScienceDirect, one of the world's most advanced web delivery systems for scientific, technical and medical information.

IMPACT FACTOR

2016: 3.679 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2017

ABSTRACTING AND INDEXING

FSTA (Food Science and Technology Abstracts)
National Library of Medicine (MEDLARS and MEDLINE)
PubMed
ScienceDirect
EMBASE/Excerpta Medica
Scopus
Journal Citation Reports - Science Edition

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

A. Giaccari, Roma, Italy

Co-Editors

- L. Calabresi**, Milan, Italy
F. Galletti, Naples, Italy
A. Siani, Avellino, Italy (Deputy Editor-in-Chief)
P. Strazzullo, Napoli, Italy (Immediate Past Editor-in-Chief)

Associate Editors

- M. Arca**, Rome, Italy
J. Bella, New York, NY, USA
F.P. Cappuccio, Coventry, UK
P. Clifton, Adelaide, Australia
S. Frontoni, Rome, Italy
L. Laviola, Bari, Italy
D. Noto, Palermo, Italy
G. Perseghin, Monza, Italy
A.A. Rivellese, Naples, Italy
A. Rocchini, Ann Arbor, MI, USA
G. L. Russo, Avellino, Italy

Editorial Board**Human Nutrition**

- D. Del Rio**, Università degli Studi di Parma, Parma, Italy
R. Giacco, National Research Council of Italy, Avellino, Italy
E. K. Kabagambe, Nashville, TN, USA
V. Krogh, Milan, Italy
B. Lamarche, Université Laval, Québec, Quebec, Canada
D. Molnar, University of Pécs (Pécsi Tudományegyetem), Pécs, Hungary
A. Naska, Athens, Greece
P. Russo, Avellino, Italy
J. Salas-Salvado, Tarragona, Spain
Y. Sanz, Valencia, Spain
L. Scalfi, University of Naples Federico II, Naples, Italy
J. Tur, Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca, Spain
E. Verduci, Milan, Italy

Hyperlipidemia and Atherosclerosis

- F. Angelico**, Sapienza Università di Roma, Rome, Italy
M. Averna, Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italy
F. Cipollone, Università degli Studi "G. d'Annunzio" - Chieti-Pescara, Chieti, Italy
A. Iannuzzi, Naples, Italy
F. Karpe, Oxford, UK
M. Maranghi, Rome, Italy
L. Masana, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain
R. Mensink, Maastricht University, Maastricht, Netherlands
G. Norata, Milan, Italy
L. Ose, Rikshospitalet University Hospital, Oslo, Norway
K. Parhofer, Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU), München, Germany
A. Pujia, Università degli studi Magna Graecia di Catanzaro, Catanzaro, Italy
Z. Reiner, Klinicki bolnicki centar Zagreb, Zagreb, Croatia
G.B. Vigna, Ferrara, Italy

M. Volpe, Università di Roma "La Sapienza", Rome, Italy

Diabetes and Metabolism

M.A. Abdul-Ghani, San Antonio, TX, USA

D. Accili, Columbia University, New York, USA

G. Annuzzi, University of Naples Federico II, Naples, Italy

R.C. Bonadonna, Parma, Italy

M.F. Brizzi, University of Turin, Turin, Italy

U. Campia, Washington DC, USA

M. Donath, Universität Basel, Basel, Switzerland

G. P. Fadini, Padua, Italy

L. Gnudi, London, UK

M. Hribal, Catanzaro, Italy

S.E. Inzucchi, New Haven, CT, USA

V. Lyssenko, Mälmo, Sweden

R.C.W. Ma, Hong Kong, China

AUTHOR INFORMATION PACK 26 Nov 2017 www.elsevier.com/locate/nmcd 3

A. Natali, Pisa, Italy

E.M. Ooi, Perth, Australia

S. Piro, Catania, Italy

S. Prudente, Rome, Italy

G. Reboldi, Perugia, Italy

C.K. Roberts, Los Angeles, CA, USA

A. Solini, Pisa, Italy

M. Uusitupa, Kuopio, Finland

A. Vaag, Copenhagen, Denmark

J. Wilding, Liverpool, UK

F. Zaccardi, Leicester, UK

Hypertension/Cardiovascular Diseases

P. Barter, The University of Sydney, Camperdown, New South Wales, Australia

L.A. Bazzano, Tulane University, New Orleans, Louisiana, USA

C. Borghi, Bologna, Italy

S. Cocozza, Università degli studi di Napoli Federico II, Napoli, Italy

G.B. Desideri, L'Aquila, Italy

L. Ghiadoni, Università di Pisa, Pisa, Italy

L. Iacoviello, Catholic University Largo A.Gemelli, Campobasso, Italy

V.L. Murthy, Ann Arbor, MI, USA

G. Navis, University Medical Center Groningen/University of Groningen, Groningen, Netherlands

D. Panagiotakos, Harokopio University, Athens, Greece

D. Rendina, Naples, Italy

L. Sechi, Udine, Italy

S. Stranges, Western University

F Veglio, University of Torino, Torino, Italy

K.T. Weber, University of Tennessee Health Science Center, Memphis, Tennessee, USA

A. Zittermann, Ruhr-University Bochum, Bad Oeynhausen, Germany

C Zoccali, Cnr Ibim Sezione Di Reggio Cal Epidemiologia, Reggio Calabria, Italy

Statistical Consultants

L. D'Elia, Naples, Italy

A. Di Castelnuovo, Campobasso, Italy

Emeritus Editors

G. Assman, Munster, German

P. Brunetti, Perugia, Italy

M. Mancini, Naples, Italy

G. Riccardi, Naples, Italy

P. Rubba, Naples, Italy

J. Stamler, Chicago, USA

Y. Stein, Jerusalem, Israel

Editorial Assistant

S. Rotunno, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome, Italy

R. Scala, Federico II University of Naples, Naples, Italy

AUTHOR INFORMATION PACK 26 Nov 2017 www.elsevier.com/locate/nmcd 4

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Cover letter, Article types

Having problems with your submission? Our Editorial Assistants are available to help. Email at:

ed.assistant.nmcd@rm.unicatt.it or nmcd@unina.it

COVER LETTER

Cover letters must state that all authors have seen and approved the study submitted. Provide a statement that no part of the submitted work has been published or is under consideration for publication elsewhere (except in the form of abstract). Provide a statement of financial or other relationships that might lead to a conflict of interest. In the case of clinical trials, provide the registration number and date.

TYPES OF MANUSCRIPT

Original Articles should report original clinical studies or research not previously published or being considered for publication elsewhere. The text should not exceed 3000 words, including list of authors and their affiliations, corresponding author, acknowledgements and figure legends, with an abstract of maximum 250 words, a list of no more than 30 references, and maximum 5 figures/tables (see below for more details on the layout).

Systematic Reviews are exhaustive, critical assessments of evidence from different data sources in relation to a given subject in the areas of diagnosis, prevention and treatment of clinical disorders or public health issues relevant to the NMCD readership.

A systematic search of the relevant data sources should be carried out and the items collected should be carefully evaluated for inclusion based on a-priori defined inclusion/exclusion criteria. A description and an analytical graphic representation of the process should be provided. The specific features of the participants' or patients' populations of the studies included in the review should be described as well as the measures of exposure and outcome with the indication of the corresponding data sources. A structured abstract is required (like for Short reviews). The text must not exceed 3000 words including the acknowledgments, with no more than 4 tables and/or figures and maximum 70 references.

Meta-analyses should follow the same guidelines as for systematic reviews. They are expected to provide exhaustive information and statistical assessment

of pooled estimates of pre-defined outcomes, study heterogeneity and quality, possible publication bias, meta-regression and subgroup analyses when appropriate. Depending on the type of study, Authors are invited to submit PRISMA flow diagrams or MOOSE checklists.

Both systematic reviews and meta-analyses will be dealt with ordinarily as original articles as far as the editorial process is concerned.

Viewpoints and short review articles, including institutional reviews of recent developments, are generally upon invitation but authors interested in submitting a proposal are welcome to contact the editors. These articles also undergo peer review. Their length should not exceed 3000 words and should have an abstract of up to 250 words. A limit of 50 references is recommended.

Letters to the Editor should be no longer than 500 words and may refer to material previously published in the Journal or report original research findings. These contributions appear in the index of the print copy but are generally published only in the online version of the Journal.

Guidelines on Clinical Trials Registration

1. NMCD will not consider articles dealing with clinical trials that were not registered before their initiation. The letter accompanying manuscript submission must state trial registration date, number and website where these data can be verified. Submissions that do not comply with these rules will not be admitted to the reviewing process.

2. Registration must be done on a publicly available database, such as www.clinicaltrials.gov or any other registry meeting WHO and ICTRP criteria (please refer to <http://www.who.int/ictrp/en/> or <http://www.icmje.org/>).

AUTHOR INFORMATION PACK 26 Nov 2017 www.elsevier.com/locate/nmcd 5

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)

- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements. For further information, visit our Support Center.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding from any company, institution or foundation. All submissions to NMCD need to include a completed ICMJE Conflict of Interest form, which can be downloaded here. If there are no conflicts of interest in relation to the work then this also needs to be indicated on the ICMJE Conflict of Interest form. For More information.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason AUTHOR INFORMATION PACK 26 Nov 2017 www.elsevier.com/locate/nmcd 6 for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of existing agreements are available online. The open access fee for this journal is **US\$3000**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our green open access page for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. Find out more. This journal has an embargo period of 12 months.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our Support site. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

Language

The text should be written in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Please use decimal points (not decimal commas); use a space for thousands (10 000 and above).

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

FORMAT

Essential Title page Information

Title. Should be concise (no more than 120 characters), informative and focused on the innovative contents of the study. As titles are often used in information-retrieval systems, abbreviations and formulae are to be avoided.

Author names and affiliations. **Provide last name followed by the initial(s) of the first name.** Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. The indication of the individual authors' affiliations must be informative but concise.

Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in**

addition to the e-mail address and the complete postal address.

Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a "Present address" (or "Permanent address") may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Clinical Trials. In case of clinical trials, starting July 1st 2009, registration number and date. *Word counts* for abstract and text, and number of references, figures and tables.

Abstract

An abstract (maximum 250 words) should be typed double spaced on a separate page. The abstract for original articles should be structured under the headings (1) Background and Aims, (2) Methods and Results, (3) Conclusion, (f)registration number for clinical trials. The abstract of review and viewpoint articles should be structured under the headings (1) Aims, (2) Data Synthesis, (3) Conclusions.

Text

The following subheads should be included in all research articles: Introduction, Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References, Appendices, Tables, Figure Legends. The Methods section should include a statement that the experimental protocols and the process for obtaining informed consent (in human studies) were approved by the appropriate institutional review committee.

For studies on animals, the Methods section should include the species, strain, and supplier/source. For studies on humans, the Methods section should include a Study Population subheading, under which demographics of study population are defined.

Acronyms should be spelled out in full (in the abstract or text) the first time they are cited. If more than 5 acronyms are used, they should be listed on the title page after the keywords. Avoid jargon. Measurement units should be reported as standard SI units with traditional units in brackets. Suppliers of specific instruments or drugs should be given, including the company name and city. All drugs should be referred to by their generic names.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Authors can make use of Elsevier's Illustration Services to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use

'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view example Highlights on our information site.

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements: Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding. If no funding has been provided for the research, please include the following sentence: This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References*Citation in text*

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

A DOI can be used to cite and link to electronic articles where an article is in press and full citation details are not yet known, but the article is available online. A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*,

<https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style.

If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/nutrition-metabolism-and-cardiovascular-diseases>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2010;163:51–9.

Reference to a book:

[2] Strunk Jr W, White EB. *The elements of style*. 4th ed. New York: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. *Introduction to the electronic age*, New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304.

Reference to a website:

[4] Cancer Research UK. Cancer statistics reports for the UK, <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>; 2003 [accessed 13 March 2003].

Reference to a dataset:

[dataset] [5] Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Note shortened form for last page number. e.g., 51–9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (*J Am Med Assoc* 1997;277:927–34) (see also Samples of Formatted References).

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB in total. Any single file should not exceed 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages.

Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Online Submission

Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases uses an online submission and review system. Authors can upload their article via our on-line system Elsevier Editorial System at <http://ees.elsevier.com/nmcd>. By accessing the website Authors will be guided stepwise through the uploading of the various files. Editable file formats are necessary. We accept most word-processing formats, but Word, WordPerfect or LaTeX is preferred. Figure files (TIFF, EPS, JPEG) should be uploaded separately. Always keep a backup copy of the electronic file for reference and safety. Save your files using the default extension of the program used. The system generates an Adobe Acrobat PDF version of the article which is used for the reviewing process. Authors, Reviewers and Editors send

and receive all correspondence by e-mail and no paper correspondence is necessary. For assistance visit our Support Center.

The instructions also apply to authors of papers appearing in supplements or special issues.

Having problems with your submission? Our Editorial Assistants are available to help. Email at: ed.assistant.nmcd@rm.unicatt.it or nmcd@unina.it

RESEARCH DATA

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant

information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. Before submitting your article, you can deposit the relevant datasets to *Mendeley Data*. Please include the DOI of the deposited dataset(s) in your main manuscript file. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

AFTER ACCEPTANCE

Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download the free Adobe Reader, version 9 (or higher). Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and scan the pages and return via email.

Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Webshop. Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published.

© Copyright 2014 Elsevier | <http://www.elsevier.com>