

Антиоксиданты и их роль в акушерской практике

Р.И.Шалина, М.Р.Канзанетов

ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России, Москва

Резюме

Цель – определение значимости антиоксидантов в патогенезе акушерской патологии.

Пациенты и методы. Обследованы 337 пациенток (38 – небеременные, 94 – с физиологически протекающей беременностью, 40 – с угрозой прерывания, 165 – с преэклампсией различной степени тяжести). Использованы следующие методы: определение микровязкости и гидрофобности липидного бислоя мембран методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР); изучение уровней продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) спектрометрическим методом, антиоксидантная активность (АОА) системы церулоплазмин–трансферрин в сыворотке методом ЭПР и хемилюминесценции.

Результаты. Определены особенности параметров оксидативного стресса при нормально протекающей беременности, заключающиеся в повышении уровня ПОЛ как в сыворотке, так и в эритроцитах с одновременным повышением АОА системы церулоплазмин–трансферрин в период до 36–37 недель, а также ее снижение перед родами, что имеет физиологическое значение. Повышение ПОЛ и АОА сыворотки выявляется и у беременных с угрозой преждевременных родов. При преэклампсии активация ПОЛ и снижение АОА – одна из причин нарушения матричной и барьерной функции клеточных мембран с нарушением их проницаемости.

Заключение. Выявленная роль оксидативного стресса в патогенезе акушерской патологии диктует необходимость включения в комплекс терапии или профилактики применения антиоксидантов.

Ключевые слова: антиоксиданты, перекисное окисление липидов, структурно-функциональные свойства клеточных мембран, антиоксидантная терапия.

Antioxidants and their role in obstetric practice

R.I.Shalina, M.R.Kanzanetov

Summary

Objective – to determine the importance of antioxidants in the pathogenesis of obstetric pathology.

Patients and methods. 337 patients were examined (38 – non-pregnant, 94 – with a normal pregnancy, 40 – with the threat of interruption, 165 – with varying severity degrees of preeclampsia). Methods used: determination of microviscosity and hydrophobicity of the lipid bilayer membrane by electron spin resonance, the study of lipid peroxidation (LPO) levels of by spectrometry, antioxidant activity (AOA) of ceruloplasmin–transferrin in serum by electron paramagnetic resonance (EPR) and chemiluminescence.

Results. The particular parameters of oxidative stress in normal pregnancy – such as raising the lipid peroxidation level in serum and red blood cells while increasing the AOA systems of ceruloplasmin–transferrin in the period up to 36–37 weeks, as well as its decline before the birth, which has no physiological significance, were established. Increased lipid peroxidation and activity of AOA and detected in women with threatened preterm labor. LPO activation in preeclampsia and reduced antioxidant activity are one of the causes of cell membranes matrix and the barrier functions violation as well as their permeability.

Conclusion. Identification of oxidative stress role in the pathogenesis of obstetric pathology clearly demonstrates the need to include complex treatment or prophylaxis of the antioxidants use.

Key words: antioxidants, lipid peroxidation, structural and functional properties of cell membranes, anti-oxidative therapy.

Сведения об авторах

Шалина Раиса Ивановна – д-р мед. наук, проф. каф. акушерства и гинекологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова

Канзанетов Марат Робертович – ст. лаборант каф. акушерства и гинекологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова. E-mail: kanzanetov@mail

Нарушению структурно-функционального свойства клеточных мембран принадлежит важное значение в патогенезе заболеваний, в том числе в акушерстве (эклампсия, угроза прерывания, сепсис), что связано с многочисленными функциями мембран, обуславливающих морфологическую целостность клетки и внутриклеточных оргanelл, рецепцию и передачу нервного импульса, ионную проницаемость, транспорт метаболитов, окислительное фосфорилирование.

Повреждение мембран

Независимо от характера патологического процесса существуют четыре основных механизма повреждения структурно-функциональных свойств клеточных мембран: перекисное окисление липидов (ПОЛ), активация мембранных фосфолипаз, механическое растяжение, адсорбция чужеродных белков. Эти процессы в итоге приводят к электронному «пробою» бислоя мембран и, как следствие, их патологической проницаемости и в конечном итоге – к гибели клетки. Наиболее изученным из повреждающих процессов является механизм ПОЛ [1–4].

Впервые идея о возможности влияния ПОЛ на биологические системы была выдвинута в конце 1950-х годов Б.Н.Тарусовым и Н.М.Эммануэлем [4]. В последующем ПОЛ было посвящено значительное количество работ, и в первую очередь Ю.А.Владимирова и его школы. Ими было сформулиро-

вано положение о том, что процессы ПОЛ – не случайность и не исключение, а широко распространенное явление, которое постоянно происходит в той или иной мере в любой клетке и в различных мембранных структурах.

Благодаря проведенным работам стало возможным внедрение полученных теоретических данных в клинические дисциплины, что позволило разрабатывать новые концепции патогенеза многих заболеваний, в том числе преэклампсии, гипоксических состояний, тромбозов и т.д. Активация ПОЛ является следствием нарушения метаболизма кислорода. В физиологических условиях около 95% всего потребляемого кислорода клетки идет на восстановление в митохондриях до воды в процессе окислительного фосфорилирования. Остальные 5% кислорода в результате различных ферментативных реакций превращаются в активные формы кислорода (АФК) или азота (первичные радикалы), которые могут запускать процесс ПОЛ с образованием липидных радикалов (вторичные радикалы).

В понятие АФК исследователи включают различное число соединений [5], так или иначе связанных с первичным образованием супероксидного радикала. Одним из общих свойств соединений является то, что они имеют один или несколько неспаренных электронов, что формирует их высокую способность вступать в различные реакции с образованием токсических продуктов окисления белков, липидов, ДНК [3].

Антиоксиданты

Вещества, способные или тормозить окислительные реакции, или обезвреживать токсичные продукты ПОЛ за счет своих ионов, называются антиоксидантами. Нейтрализация свободных радикалов осуществляется антиоксидантными соединениями, которые могут «отдать» свои электроны, не становясь при этом свободными радикалами. За счет указанного механизма именно антиоксиданты «защищают» клетки от повреждающего воздействия свободных радикалов [1].

Оксидативный стресс

В 1991 г. Хельмутом Зесом было введено понятие «оксидативный стресс»: согласно определению в словаре MESH (MEdicAl Subject Headings) [4] оксидативный стресс – это нарушение баланса про- и антиоксидантов в пользу первых, что способствует повреждению клеточных мембран. Оксидативный стресс является общепатологической реакцией, имеющей место в патогенезе многих заболеваний, и в акушерстве в том числе. Следует отметить, что на практике сложно определить, где заканчивается баланс между про- и антиоксидантами и начинается дисбаланс. По всей видимости, именно с этим связан тот факт, что теоретическая база оксидативного стресса не вызывает сомнений, тем не менее в клинической практике значимость антиоксидантной терапии нередко подвергается сомнению, что в основном связано с отсутствием точных критериев влияния антиоксидантов на эффективность терапии. При этом не принимается в расчет то, что такие соединения, как липооксигеназы, глюкокортикоиды, катехоламины, эстрогены, прогестероны [12, 15] и ряд витаминов, относятся к природным антиоксидантам.

Место и значимость витаминов

Витамин Е – антиоксидант, препятствующий образованию токсических биохимических продуктов в крови вследствие перекисного окисления, способствует снижению активности окислительного стресса, стабилизирует клеточную мембрану, защищает клеточные структуры от разрушения свободными радикалами, регулирует синтез белков и пролиферацию клеток.

Витамин С играет важную роль в регуляции окислительно-восстановительных процессов, регулирует уровень ПОЛ.

Селен (Se) – основной микроэлемент, участвующий в антиоксидантной защите организма. В составе клеточных ферментов селен обеспечивает уничтожение свободных радикалов в клетках.

Витамины групп А и В участвуют в окислительно-восстановительных процессах, снижают уровень ПОЛ, регулируют синтез белков, способствуют нормальному обмену веществ, улучшают функции клеточных и субклеточных мембран.

Во время беременности, представляющей собой определенный стресс для организма за счет гормональной перестройки, изменений метаболизма, формирования плаценты, функция которой определяется проницаемостью мембран, роль ПОЛ может иметь существенное значение.

Исследование

Исследование уровня промежуточных (гидроперекисей) и конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) спектрометрическим методом, проведенное нами у 74 здоровых беременных на протяжении гестации и у 18 небеременных женщин, свидетельствует об отсутствии существенных различий этих показателей в сыворотке крови до периода 24–28 нед. Только к 29–32-й неделе происходит увеличение указанных показателей. В последующем, по мере увеличения сроков гестации, отмечено повышение продуктов ПОЛ в сыворотке. Наиболее высоких значений средние показатели гидроперекиси достигали в периоде 33–36 нед (в 1,4 раза по сравнению с показателями небеременных), а МДА – в сроки доношенной беременности (в 1,4 раза по сравнению с показателями небеременных).

При сравнительном анализе между концентрацией продуктов ПОЛ и сроком беременности коэффициент корреляции составил 0,49–0,52.

В эритроцитах интенсивность реакции ПОЛ изменяется с ранних сроков гестации. Это касается как промежуточных, так и конечных продуктов этой реакции. Так, гидроперекиси в период 14–18 нед повышаются в 1,3 раза по сравнению с показателями небеременных, а в период 24–28 нед – в 1,4 раза. Содержание МДА в эритроцитах увеличивалось, начиная с 14–18-й недели гестации, превышая к 24–28-й неделе показатели небеременных в 1,25 раза. Самые высокие значения как гидроперекисей, так и МДА в эритроцитах на протяжении гестации зарегистрированы при доношенной беременности, когда они в 2 раза соответственно превышали эти значения у небеременных. Коэффициент корреляции между уровнем ПОЛ в эритроцитах и сроком гестации составил 0,62–0,68 ($p < 0,05$). Следовательно, во время беременности ПОЛ первоначально активируется в эритроцитах в период 14–18 нед, а затем в сыворотке – в 29–32 нед.

На фоне активности ПОЛ во время беременности важное значение имеет баланс их с антиоксидантами. Изучение методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) антиоксидантной активности (АОА) системы церулоплазмин–трансферрин проведено нами у 35 беременных с физиологическим течением гестации, начиная с 14–18-й недели. Контрольную группу составили 20 небеременных здоровых женщин.

В ходе исследования был отмечен рост содержания церулоплазмина, начиная с ранних сроков беременности. Так, в 14–18 нед его концентрация была в 2,6 раза выше, чем его содержание у небеременных женщин. В 19–23 нед содержание церулоплазмина превышало нормальное значение в 2,5 раза, в 24–28 нед – в 2,4 раза, в 29–32 нед – в 2,3 раза. Самые низкие значения концентрации церулоплазмина на протяжении гестации отмечены в период 33–36 нед. При доношенной беременности вновь отмечено повышение этого белка до $3,58 \pm 0,08$ опт. ед.

Наряду с церулоплазмином важную роль в АОА сыворотки имеет апотрансферрин – белок, нейтрализующий 2-валентное железо, являющееся одним из активаторов ПОЛ. После присоединения 2-валентного железа трансферрин превращается в апотрансферрин и теряет свои антиоксидантные свойства. Поэтому, чем больше в крови уровень трансферрина, тем ниже АОА сыворотки.

Проведенный анализ свидетельствует о том, что на протяжении гестации уровень трансферрина ниже, чем у небеременных женщин. Самые низкие значения активности трансферрина отмечены в период 33–36 нед. При доношенной беременности выявлен достоверный рост концентрации трансферрина. Следовательно, у здоровых беременных до 37-й недели гестации содержание трансферрина было относительно низким, что косвенно указывает на высокий антиоксидантный эффект за счет антиферроксидного потенциала крови. Перед родами отмечено снижение указанного вида антиоксидантной защиты крови.

Наибольшую корреляцию с АОА активности сыворотки имеет отношение церулоплазмин/трансферрин. На протяжении первых 2 триместров беременности величина его была в 3 раза выше, чем значение у небеременных. Самые низкие значения антиоксидантной системы церулоплазмин–трансферрин были при доношенной беременности. Выраженное снижение коэффициента церулоплазмин/трансферрин при доношенной беременности, возможно, обусловлено значительным повышением при этом сроке гестации содержания трансферрина. Между коэффициентом церулоплазмин/трансферрин и сроком гестации коэффициент корреляции составил $-0,53$ ($p < 0,05$).

Следовательно, АОА сыворотки достигала относительно высоких значений в 33–36 нед гестации, после чего наблюдалось ее снижение. Этому соответствовало выраженное увеличение продуктов ПОЛ в крови и эритроцитарных мембранах. Исходя из этого, можно предположить, что снижение АОА перед родами является одной из причин активации ПОЛ, необходимой, по всей видимости, для синтеза простагландинов, участвующих в инициации родовой деятельности. Активация ПОЛ перед родами на фоне снижения АОА оказывает влияние на структурные свойства ли-

пидного бислоя мембран, обуславливая повышенную их проницаемость для окислительных веществ перед родами и чувствительность матки к утеротоническим препаратам, что является необходимым условием для начала родовой деятельности.

Следует отметить, что изменение ПОЛ и антиоксидантной системы, происходящее во время физиологического течения гестации в преддверии предстоящих своевременных родов, может носить аналогичный характер при разрыве преждевременных родов [14].

С целью изучения процессов ПОЛ и АОА сыворотки крови и влияния на них комплексной терапии с включением антиоксидантов были исследованы 60 пациенток. В качестве препарата выбора был лекарственный препарат Витрум Пренатал Форте – наиболее полный витаминно-минеральный комплекс, который имеет сбалансированный состав (13 витаминов и 10 минералов), содержит такие антиоксиданты, как витамины Е, А, С, β -каротин, микроэлементы – селен, марганец, цинк. В препарат Витрум Пренатал Форте также входят фолиевая кислота, йод и железо.

Первую группу составили 30 пациенток с угрозой прерывания беременности, принимающие Витрум Пренатал Форте в комплексной терапии. Вторую группу – 10 пациенток с угрозой преждевременных родов, не принимающих антиоксиданты. Третью группу составили 20 пациенток с физиологически протекающей беременностью (контрольная группа).

АОА сыворотки определялась методом «тушения» антиоксидантами хемиллюминесцентной вспышки. Об уровне ПОЛ судили по содержанию в сыворотке МДА и гидроперекиси, определяемых методом флуоресценции.

Критерии включения: наличие угрозы преждевременных родов (боли в нижних отделах живота, повышенный тонус матки, длина шейки матки менее 30 мм), возраст от 18–35 лет, одноплодная беременность, первобеременные, срок беременности 28–32 нед.

Полученные результаты свидетельствуют о повышении уровня ПОЛ у пациенток с угрозой преждевременных родов в 1,5 раза по сравнению с показателями у небеременных. Одновременно отмечено повышение АОА сыворотки крови в 1,3–1,6 раза по сравнению с показателями, характерными для здоровых беременных. На фоне комплексной терапии угрозы прерывания, с включением в нее препарата Витрум Пренатал Форте, отмечено снижение содержания продуктов ПОЛ и повышение АОА крови. Значения показателей не отличались от таковых, свойственных здоровым беременным.

У пациенток, которым проводилась комплексная терапия угрозы преждевременных родов с использованием витаминно-минерального комплекса с антиоксидантами Витрум Пренатал Форте, беременность была пролонгирована до 38–40 нед, наблюдалось нормальное развитие плода. Дети рождались с оценкой 8–9 баллов по шкале Апгар. Ранний неонатальный период у всех новорожденных протекал без особенностей.

В процессе проведенных исследований были сделаны следующие выводы: угроза прерывания беременности является стрессовой реакцией для организма, в результате которой происходит смещение окислительно-антиоксидантного равновесия в сторону ПОЛ.

Активация АОА при угрозе преждевременных родов является фактором, препятствующим поражению липидного бислоя клеточных мембран: компенсаторная активация эндогенной АОА не приводит к нормализации процессов ПОЛ, что требует введения экзогенных антиоксидантов, которые входят в состав препарата Витрум Пренатал Форте. Экзогенные антиоксиданты способствуют нормализации ПОЛ и устраняют напряжение АОА.

В последние годы особую значимость изучение окислительного стресса получило при преэклампсии [5–13, 15].

Нами проведено изучение микровязкости и гидрофобности билипидного слоя клеточной мембраны и уровня ПОЛ и АОА у 165 беременных с заболеванием различной степени. К началу наших исследований появились работы по клинической мембранологии, позволяющие выявить состояние мембран при различных заболеваниях, имею-

щих общие звенья патогенеза с преэклампсией (гипертоническая болезнь, инфаркты, атеросклероз). Это направление науки тесно связано с появлением метода ЭПР [1, 2].

Нами впервые при использовании метода ЭПР были установлены изменения параметра упорядоченности липидного бислоя мембран, значения которого повышались соответственно тяжести заболевания (с $0,685 \pm 0,001$ при легкой степени до $0,714 \pm 0,002$ опт. ед. при эклампсии; норма $0,673 \pm 0,001$ опт. ед.; $p < 0,001$) и свидетельствовали о степени хаотичности жирнокислотных цепей фосфолипидов бислоя мембран, характеризующих их микровязкость. Значимость этого показателя для характеристики мембран заключается в том, что он отображает состояние гидрофобной зоны липидного бислоя, нарушение которого приводит к потере барьерных свойств мембраны и гибели клетки в целом. При преэклампсии микровязкость мембран повышалась не только соответственно тяжести заболевания, но и определялась дистрофическими изменениями в плаценте и состоянием плода.

При всех прочих равных условиях этот показатель был относительно высок ($0,712 \pm 0,002$ опт. ед.) у пациенток с хронической гипоксией плода и задержкой развития плода. Обнаружена высокая корреляционная зависимость ($r=0,8$) между микровязкостью мембран и цифрами систолического и диастолического давления. При развитии преэклампсии отмечено выраженное уменьшение гидрофобности мембран (в 1,3–2,1 раза соответственно тяжести заболевания) и, следовательно, увеличение гидрофилии липидного бислоя, и как следствие – повышение их проницаемости. При сопоставлении параметра гидрофобности с клиническими симптомами заболевания установлена корреляционная связь между ними и выраженностью отеков ($r=-0,66$).

Следовательно, полученные нами данные свидетельствуют о том, что при преэклампсии структура клеточных мембран модифицирована за счет снижения подвижности ацильных цепей фосфолипидов и увеличения полярности липидного бислоя, что способствует уменьшению гидрофобности мембраны, а следовательно, увеличению клеточной проницаемости.

Снижение подвижности ацильных цепей фосфолипидов может быть связана с уменьшением цис-двойных связей в результате ПОЛ с образованием «сшивок» между белками и фосфолипидами.

У беременных с преэклампсией отмечалась активация ПОЛ, степень которой определялась тяжестью заболевания. При этом нами обнаружена неоднородность этих изменений в сыворотке и эритроцитах. В сыворотке крови повышение как гидроперекисей ($85,0-87,0$ опт. ед. при норме $48,8 \pm 3,0$ опт. ед.; $p < 0,01$), так и МДА ($62,0-65,0$ опт. ед. при норме $36,0-65,0$ опт. ед.) было максимально при средней степени заболевания. У 35% пациенток с тяжелой преэклампсией, в большой мере у тех из них, у которых проводимая терапия была неэффективной, и в особенности у 4 пациенток с эклампсией, отмечалось парадоксальное снижение продуктов ПОЛ до $34,0-45,5$ опт. пл.

При анализе уровня ПОЛ у пациенток с преэклампсией возникает вопрос, на каком этапе изменения в мембранах становятся необратимыми. Можно предположить, что снижение уровня ПОЛ в сыворотке до $50,0-55,0$ опт. ед. при продолжающемся повышении их в эритроцитах (МДА до $700,0-800,0$ опт. ед., гидроперекиси до $200,0-250,0$ опт. ед.) обусловлено нарушением выделения и задержки их в клетке. Задержка МДА в клетке способствует нарушениям структурно-функциональных свойств клеточных мембран, снижению активности мембранных ферментов. Указанное приводит к необратимым изменениям и старению клетки. Сопоставив полученные нами результаты с литературными данными, можно предположить, что процесс необратимости мембран при преэклампсии начинается в момент разноплановости изменений ПОЛ в сыворотке и эритроцитах [1–3].

Регулятором ПОЛ в тканях является АОА ферментов, представляющих собой целую систему окислителей. Мы в своих работах исследовали АОА сыворотки системы церулоплазмин–трансферрин. Полученные результаты свидетельствовали о том, что при легкой степени заболевания

АОА сыворотки системы церулоплазмин–трансферрин повышалась (коэффициент церулоплазмин–трансферрин в 1,4 раза – до $2,47 \pm 0,19$ при норме $1,87 \pm 0,09$) соответственно активации ПОЛ. Выраженное снижение АОА (в 2,5 раза) зарегистрировано у тех пациенток, у которых в сыворотке уменьшается уровень ПОЛ (до $45,0$ опт. пл.). По нашим данным, при такой ситуации в клеточных мембранах возможно развитие необратимых нарушений, с делипидизацией и патологической проницаемостью.

Следовательно, проведенные исследования свидетельствуют о том, что при преэклампсии основной причиной активации ПОЛ является снижение АОА за счет уменьшения резервных возможностей, что подчеркивает необходимость применения в комплексной терапии антиоксидантов.

Наши исследования показали, что антиоксиданты – витамины А, Е, С и микроэлементы селен, цинк и марганец – следует активно использовать при проведении профилактических мероприятий, начиная с I триместра, у пациенток группы риска в отношении преэклампсии и плацентарной недостаточности. Лекарственный препарат Витрум Пренатал Форте, имеющий в своем составе антиоксиданты, рекомендовано принимать в период подготовки к беременности, на протяжении всей беременности и в период грудного вскармливания.

Заключение

Таким образом, оксидативному стрессу принадлежит существенная роль в патогенезе заболеваний, связанных с беременностью. Исследования оксидативного стресса и его последствий в настоящее время находятся в большей мере на уровне научных и клинических поисков. Внедрение результатов исследования, касающихся изучения АОА, в клиническую практику позволит оптимизировать эффективность терапии и профилактики осложнений беременности, назначать препараты, содержащие в своем составе антиоксиданты.

Литература

1. Алексеев А.В., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Определение антиоксидантов методом активированной хемиллюминесценции с использованием 2,2'-азобис(2-амидинопропана). Вестн. МГУ (Химия). 2012; 53 (3).
2. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемиллюминесценция. Успехи биол. химии. 2009; 49: 341.
3. Измайлов Д.Ю., Демин Е.В., Владимиров Ю.А. Определение активности антиоксидантов методом измерения кинетики хемиллюминесценции. Фотобиол. и фотомедицина. 2011; 2.
4. Гунина Л.М., Горчакова Н.А., Гудивок Я.С. Фармакология спорта. Олимпийская литература, 2010.
5. Hobson SR, Lim R, Gardiner EE et al. Pbase 1 pilot clinical trial of antenatal maternally administered melatonin to decrease the level of oxidative stress in human pregnancies affected by pre-eclampsia (PAMPR): study protocol. *BMJ Open* 2013; 3 (9): e003788. <http://doi:10.1136/bmjopen-2013-003788>
6. Kurlak LO, Mistry HD, Kaptein E et al. Thyroid hormones and their placental deiodination in normal and pre-eclamptic pregnancy. *Placenta* 2013; 34 (5): 395–400. <http://doi:10.1016/j.placenta.2013.02.009>
7. Parrish MR, Martin JN Jr, Lamarca BB et al. Randomized, placebo controlled, double blind trial evaluating early pregnancy phytonutrient supplementation in the prevention of preeclampsia. *J Perinatol* 2013; 33 (8): 593–9. <http://doi:10.1038/jp.2013.18>
8. Siddiqui IA, Jaleel A, AlKadri HM et al. Biomarkers of oxidative stress in women with pre-eclampsia. *Biomark Med* 2013; 7 (2): 229–34. <http://doi:10.2217/bmm.12.109>
9. Gobil JT, Patel PK, Gupta P. Evaluation of oxidative stress and antioxidant defense in subjects of preeclampsia. *J Obstet Gynaecol India* 2011; 61 (6): 638–40. <http://doi:10.1007/s13224-011-0094-8>
10. Ikpen MA, Egbefoh J, Eijediyi RA et al. Determination of antioxidant status of pre-eclamptic and normotensive sub-rural Nigerian pregnant women at the Irrua Specialist Teaching Hospital, Irrua, Edo State. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25 (10): 2046–50. <http://doi:10.3109/14767058.2011.599458>
11. Mert I, Oruc AS, Yuksel S et al. Role of oxidative stress in preeclampsia and intrauterine growth restriction. *J Obstet Gynaecol Res* 2012; 38 (4): 658–64. <http://doi:10.1111/j.1447-0756.2011.01771.x>
12. Watanabe K, Mori T, Iwasaki A et al. Increased oxygen free radical production during pregnancy may impair vascular reactivity in preeclamptic women. *Hypertens Res* 2013; 36 (4): 356–60. <http://doi:10.1038/hr.2012.208>
13. Yu J, Feng L, Hu Y, Zhou Y. Effects of SAC on oxidative stress and NO availability in placenta: potential benefits to preeclampsia. *Placenta* 2012; 33 (6): 487–94. <http://doi:10.1016/j.placenta.2012.02.015>
14. Wibowo N, Purwosunu Y, Sekizawa A et al. Antioxidant supplementation in pregnant women with low antioxidant status. *J Obstet Gynaecol Res* 2012; 38 (9): 1152–61. <http://doi:10.1111/j.1447-0756.2012.01855.x>
15. Watanabe K, Mori T, Iwasaki A et al. Increased oxygen free radical production during pregnancy may impair vascular reactivity in preeclamptic women. *Hypertens Res* 2013; 36 (4): 356–60. <http://doi:10.1038/hr.2012.208>