

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Obstetricia y Ginecología



TESIS DOCTORAL

**Estudio doppler de las arterias uterinas y del equilibrio
angiogénico para estimar el riesgo de complicaciones
maternas y perinatales en las gestantes diagnosticadas
de preeclampsia**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Paula Isabel Gómez Arriaga

Directores

Alberto Galindo Izquierdo,
Ignacio Herráiz García

Madrid, 2014

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Obstetricia y Ginecología



**ESTUDIO DOPPLER DE LAS ARTERIAS UTERINAS Y DEL EQUILIBRIO
ANGIOGÉNICO PARA ESTIMAR EL RIESGO DE COMPLICACIONES
MATERNAS Y PERINATALES EN LAS GESTANTES DIAGNOSTICADAS
DE PREECLAMPSIA**

Memoria para optar al grado de doctor presentada por:

Paula Isabel Gómez Arriaga

Madrid, 2014

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Obstetricia y Ginecología



**ESTUDIO DOPPLER DE LAS ARTERIAS UTERINAS Y DEL EQUILIBRIO
ANGIOGÉNICO PARA ESTIMAR EL RIESGO DE COMPLICACIONES
MATERNAS Y PERINATALES EN LAS GESTANTES DIAGNOSTICADAS
DE PREECLAMPSIA**

Memoria para optar al grado de doctor presentada por:

Paula Isabel Gómez Arriaga

Bajo la dirección de los doctores:

Alberto Galindo Izquierdo

Ignacio Herraiz García

Madrid, 2014



Informe del Director de la Tesis Doctoral

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
<i>Nombre del Doctorando</i>	<i>Paula Isabel Gómez Arriaga</i>
<i>Título de la Tesis</i>	<i>Estudio Doppler de las arterias uterinas y del equilibrio angiogénico para estimar el riesgo de complicaciones maternas y perinatales en las gestantes diagnosticadas de preeclampsia</i>
<i>Facultad o Centro</i>	<i>Facultad de Medicina. Departamento de Obstetricia y Ginecología.</i>

DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL	
<i>Nombre Completo</i>	<i>Alberto Galindo Izquierdo</i>
<i>Centro al que pertenece y dirección</i>	<i>Unidad de Medicina Fetal. Servicio de Obstetricia y Ginecología. 2ª planta Edificio Materno-Infantil, Hospital Universitario 12 de Octubre. Avda Córdoba s/n. 28041. Madrid.</i>
<i>D.N.I./Pasaporte</i>	<i>00405479N</i>
<i>e-mail</i>	<i>agalindo.hdoc@salud.madrid.org</i>

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	<i>Muy Buena</i>	<i>Buena</i>	<i>Suficiente</i>	<i>Deficiente</i>
<i>Originalidad</i>	<i>X</i>			
<i>Definición Objetivos</i>	<i>X</i>			
<i>Metodología</i>	<i>X</i>			
<i>Relevancia Resultados</i>	<i>X</i>			
<i>Discusión / Conclusiones</i>	<i>X</i>			

INFORME: Se trata de una Tesis Doctoral en forma de compendio de publicaciones basada en tres artículos recientes, publicados todos ellos en *Ultrasound Obstet Gynecol*, revista con elevado factor de impacto en el ámbito de nuestra especialidad (Q1), y relacionados entre sí en torno a la utilidad del estudio Doppler de las arterias uterinas y del equilibrio angiogénico, expresado mediante el cociente sFlt-1/PIGF, para la predicción (primer artículo), diagnóstico (segundo artículo) y pronóstico materno y perinatal (tercer artículo) de la preeclampsia. En todos ellos la doctoranda ha tenido un papel destacado en su elaboración y son el reflejo de un intenso y largo trabajo. De su originalidad da buena cuenta que dos de ellos hayan merecido un comentario editorial de la revista. La metodología es rigurosa y es la más adecuada para la consecución de los objetivos propuestos, siendo todos los estudios prospectivos y estando avalados por el riguroso "peer review" de la prestigiosa revista en la que han sido publicados. Los resultados son relevantes, puesto que aportan nuevas evidencias importantes sobre la utilidad clínica de la combinación de herramientas ya conocidas (estudio Doppler de arterias uterinas, factores clínicos preconceptionales de riesgo) y de otras novedosas (marcadores angiogénicos). Cabe destacar la utilidad demostrada para la predicción de la preeclampsia de estrategias secuenciales de medición del Doppler de las arterias uterinas (primer artículo), la utilidad diagnóstica del cociente sFlt-1/PIGF para la confirmación de la preeclampsia precoz y de otros trastornos también relacionados con una placentación anómala como el retraso grave y precoz del crecimiento fetal (segundo artículo), y la capacidad de los valores muy elevados del cociente sFlt-1/PIGF para predecir complicaciones inminentes de la preeclampsia (tercer artículo).

artículo). En resumen, las conclusiones de la presente Tesis responden bien a los objetivos planteados y han contribuido de forma esencial al conocimiento que ha de llevar a la implantación definitiva en la práctica clínica del estudio Doppler de arterias uterinas y del cociente sFlt-1/PIGF para la detección, diagnóstico precoz y adecuación del seguimiento de las gestaciones complicadas con preeclampsia, entidad responsable del 15% de las muertes maternas y que provoca 50.000 muertes maternas anualmente.

Madrid, a 20 de junio de 2014

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'A. Galindo Izquierdo', written in a cursive style.

Fdo.: Alberto Galindo Izquierdo

Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.



Informe del Director de la Tesis Doctoral

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	<i>Paula Isabel Gómez Arriaga</i>
Título de la Tesis	<i>Estudio Doppler de las arterias uterinas y del equilibrio angiogénico para estimar el riesgo de complicaciones maternas y perinatales en las gestantes diagnosticadas de preeclampsia</i>
Facultad o Centro	<i>Facultad de Medicina. Departamento de Obstetricia y Ginecología.</i>

DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre Completo	<i>Ignacio Herraiz García</i>
Centro al que pertenece y dirección	<i>Hospital Universitario 12 de Octubre. Avda Córdoba s/n. Edificio maternal, Servicio de Obstetricia y Ginecología, 2 planta, Unidad de Medicina Fetal. 28041. Madrid.</i>
D.N.I./Pasaporte	<i>53407365P</i>
e-mail	<i>ignacio.herraiz@salud.madrid.org</i>

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	<i>Muy Buena</i>	<i>Buena</i>	<i>Suficiente</i>	<i>Deficiente</i>
Originalidad	<i>x</i>			
Definición Objetivos	<i>x</i>			
Metodología	<i>x</i>			
Relevancia Resultados	<i>x</i>			
Discusión / Conclusiones	<i>x</i>			

INFORME: Se trata de una Tesis Doctoral en forma de compendio de publicaciones basada en tres artículos recientes, publicados todos ellos en *Ultrasound Obstet Gynecol*, revista de elevado impacto en el ámbito de nuestra especialidad (Q1), y relacionados entre sí en torno al papel del Doppler de las arterias uterinas y del cociente sFlt-1/PIGF para el estudio de la predicción (primer artículo), diagnóstico (segundo artículo) y pronóstico materno y perinatal (tercer artículo) de la preeclampsia. En todos ellos la doctoranda ha tenido un papel destacado en su elaboración y son el reflejo de un intenso y largo trabajo. De su originalidad da buena cuenta que dos de ellos hayan merecido un comentario editorial de la revista. La metodología es rigurosa y es la más adecuada para la consecución de los objetivos propuestos, tratándose de estudios todos ellos prospectivos, y avalados por el riguroso “peer review” de la prestigiosa revista en la que han sido publicados. Los resultados son relevantes, puesto que aportan nuevas evidencias importantes para la implementación clínica de herramientas ya conocidas (estudio Doppler de arterias uterinas) y de otras novedosas (marcadores angiogénicos). Cabe destacar la utilidad demostrada para la predicción de la preeclampsia de estrategias secuenciales de medición del Doppler de las arterias uterinas (primer artículo), la utilidad diagnóstica del cociente sFlt-1/PIGF para la confirmación de la preeclampsia precoz (segundo artículo), y la capacidad de predecir complicaciones inminentes de la preeclampsia de los valores muy elevados del cociente sFlt-1/PIGF (tercer artículo). Por último, las conclusiones de la presente

Tesis responden bien a los objetivos planteados y han ayudado de forma esencial al planteamiento de nuevos estudios encaminados a la definitiva implantación en la práctica clínica del Doppler de arterias uterinas y el cociente sFlt-1/PIGF para la detección, diagnóstico precoz y adecuación del seguimiento de la preeclampsia.

Madrid, a 20 de Junio de 2014

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'I. Herraiz García', written in a cursive style.

Fdo.: Ignacio Herraiz García

Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.

Alberto Galindo Izquierdo, Profesor Titular de Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid y Jefe de Sección de la Unidad de Medicina Fetal del Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario 12 de Octubre

e

Ignacio Herraiz García, Colaborador Honorífico del Departamento de Obstetricia y Ginecología en la Universidad Complutense de Madrid y Facultativo Especialista de Área del Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario 12 de Octubre,

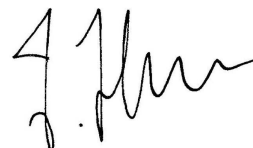
CERTIFICAN:

que el presente trabajo titulado: "Estudio Doppler de las arterias uterinas y del equilibrio angiogénico para estimar el riesgo de complicaciones maternas y perinatales en las gestantes diagnosticadas de preeclampsia", que presenta Dña. Paula Isabel Gómez Arriaga para optar al grado de Doctor, ha sido realizado bajo su dirección y supervisión, y reúne los requisitos necesarios en cuanto a forma y contenido para ser expuesta y posteriormente defendida como Tesis Doctoral por Compendio de Publicaciones.

Y para que así conste, firman el presente certificado en Madrid a veinte de junio de dos mil catorce.



Alberto Galindo Izquierdo



Ignacio Herraiz García

PRESENTACIÓN

Esta Tesis ha sido estructurada según la normativa de presentación de la Tesis en la modalidad de compendio de publicaciones que ha sido aprobada por la Comisión del Doctorado de la Facultad de Medicina. La componen tres artículos relacionados y enmarcados en la temática de la Tesis, que han sido publicados en revistas indexadas en bases de datos internacionales de reconocido prestigio:

1. Herraiz I, Escribano D, Gómez-Arriaga PI, Hernández-García JM, Herraiz MA, Galindo A. Predictive value of sequential models of uterine artery Doppler in pregnancies at high risk for pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012 Jul; 40:68-74.

Estado: Publicado; Factor de Impacto: 3.557 (Journal Citation Report);

Calidad: 3^{er} autor

2. Gómez-Arriaga PI, Herraiz I, López-Jiménez EA, Gómez-Montes E, Denk B, Galindo A Uterine artery Doppler and sFlt-1/PlGF ratio: usefulness in diagnosis of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013: May; 41:530-537.

Estado: Publicado; Factor de Impacto: 3.557 (Journal Citation Report);

Calidad: 1^{er} autor

3. Gómez-Arriaga PI, Herraiz I, López-Jiménez EA, Escribano D, Denk B, Galindo A. Uterine artery Doppler and sFlt-1/PlGF ratio: usefulness for the prognosis assessment of early-onset preeclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014; May; 43:525-532.

Estado: Publicado; Factor de Impacto: 3.557 (Journal Citation Report);

Calidad: 1^{er} autor

DEDICATORIA

«A todos los que me han enseñado a aprender»

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar todo mi agradecimiento a mi familia y amigos por su apoyo incondicional a lo largo de este trayecto.

Quiero agradecer especialmente a los directores de mi tesis, el Doctor Ignacio Herraiz y el Profesor Alberto Galindo, su disponibilidad y apoyo durante el proceso de elaboración de esta tesis doctoral y por lo mucho que he aprendido con su ayuda.

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AAS, ácido acetilsalicílico.

AUC, área bajo la curva.

AUt, arterias uterinas.

CIR, crecimiento intrauterino restringido.

DE, desviación estándar.

Doppler AUt, Doppler de las resistencias en arterias uterinas.

EG, edad gestacional.

Esp, especificidad.

Flt-1, fms-like tyrosine kinase 1.

IC, intervalo de confianza.

IMC, índice de masa corporal.

IPm-AUt, índice de pulsatilidad medio en las arterias uterinas.

ISSHP, "International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy".

Log ratio 2T/1T, logaritmo del cociente entre el IPm-AUt en segundo trimestre en y el IPm-AUt en el primer trimestre.

LR+, likelihood ratio positivo.

MoM, múltiplos de la mediana.

NK, Natural Killer.

PAPP-A, proteína placentaria A asociada al embarazo.

PE, preeclampsia.

PEG, pequeño para la edad gestacional.

PIERS, Preeclampsia Integrated Estimate of Risk.

PlGF, placental growth factor.

RAP, resultados adversos perinatales.

sFlt-1, soluble fms-like tyrosin kinase-1.

TA, tensión arterial.

TFP, tasa de falsos positivos.

VEGF, vascular endothelial growth factor.

VPP, valor predictivo positivo.

VPN, valor predictivo negativo.

SEGO, Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia.

Sens, sensibilidad.

1T, primer trimestre.

2T, segundo trimestre.

ÍNDICE

1	Resumen.....	14
2	Introducción.....	20
2.1	Concepto y patogenia de la preeclampsia.....	20
2.2	Definición y diagnóstico de la preeclampsia.....	25
2.3	Predicción de la preeclampsia	27
2.4	Manejo clínico de la preeclampsia precoz.....	29
2.5	Marcadores de riesgo de preeclampsia.....	30
2.5.1	Estudio Doppler de las resistencias en arterias uterinas (Doppler AU).....	30
2.5.2	Factores relacionados con la angiogénesis.....	33
2.6	Integración de los marcadores de angiogénesis en la práctica clínica	40
3	Hipótesis	43
4	Objetivos generales	44
5	Definiciones y estándares comunes para el conjunto de la investigación:.....	45
6	Resúmenes de las publicaciones.....	47
	Primera publicación (P1): Valor predictivo de los modelos secuenciales del Doppler de las arterias uterinas en gestantes con alto riesgo de preeclampsia	47
	Segunda publicación (P2): Doppler de arterias uterinas y cociente sFlt-1/PIGF: utilidad para el diagnóstico de la preeclampsia.	62
	Tercera publicación (P3): Doppler de arterias uterinas y cociente sFLT-1/PIGF: Utilidad pronóstica en la preeclampsia de presentación precoz.....	81
7	Conclusiones.....	102
8	Anexos.....	104
8.1	Aprobación del Comité de ética de la primera publicación.....	104
8.2	Consentimiento informado de la primera publicación.....	105
8.3	Aprobación del Comité de Ética de la segunda y tercera publicación.....	108
8.4	Consentimiento informado de la segunda y tercera publicación.....	109
9	Referencias.....	111

1 Resumen

Estudio Doppler de las arterias uterinas y del equilibrio angiogénico para estimar el riesgo de complicaciones maternas y perinatales en las gestantes diagnosticadas de preeclampsia

Introducción: La preeclampsia (PE) es un trastorno hipertensivo específico de la gestación que se asocia a un daño vascular sistémico materno con particular afectación de los endotelios y que sigue siendo una de las principales causas de mortalidad y morbilidad materna y fetal a nivel mundial.

A pesar de los grandes esfuerzos realizados para clarificar los aspectos fundamentales de su fisiopatología y para establecer unos criterios diagnósticos precisos, la PE sigue siendo una enfermedad compleja e impredecible, que habitualmente genera dificultades a los clínicos en su diagnóstico y su manejo.

Por ello, resulta importante el desarrollo de nuevas y mejores herramientas pronósticas que nos permitan identificar a aquellas embarazadas con un mayor riesgo de padecer formas precoces y severas de PE que supongan una mayor amenaza para el pronóstico materno y fetal, y que obliga a finalizar la gestación antes de llegar a término. En este sentido, el estudio Doppler del índice de pulsatilidad medio de las arterias uterinas (IPm-AUt) en combinación con los nuevos marcadores de equilibrio angiogénico como el “soluble fms-like tyroxin kinase-1” (sFlt-1) y el “placental growth factor” (PlGF) se posicionan como herramientas útiles para la predicción, diagnóstico y pronóstico de PE.

Objetivos: el objetivo de las tres publicaciones que componen esta Tesis Doctoral fue evaluar la capacidad del IPm-AUt y de los factores de equilibrio angiogénico sFlt1 y PlGF para:

- P1.** La predicción de PE en gestantes de alto riesgo.
- P2.** La confirmación o exclusión del diagnóstico de PE cuando existe sospecha clínica.
- P3.** La predicción del riesgo de aparición de complicaciones maternas y neonatales y del intervalo de tiempo que transcurre hasta el parto en mujeres con PE.

Métodos:

P1: Estudio prospectivo observacional de 135 gestaciones únicas con al menos un criterio de alto riesgo. Se evaluó el rendimiento de un modelo cuantitativo y otro semi-cuantitativo previamente descritos para la predicción de la PE, basados en la evaluación secuencial del IPm-AUt entre las semanas 11+0 - 13+6 y 19+0 - 22+0.

P2: Se incluyeron gestantes con sospecha (n=32) o diagnóstico confirmado (n=60) de PE. Se evaluó el IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF de forma adicional al protocolo convencional de estudio ante un caso de PE.

P3: Se incluyeron 51 gestaciones con PE precoz (<34 semanas). Se evaluó el IPm-AUt y el cociente sFlt-1/PlGF en el momento del diagnóstico y la asociación individual y en combinación de dichos marcadores con la aparición de resultados maternos y perinatales adversos. También se estudió la relación de estos marcadores con el tiempo restante desde el diagnóstico de la PE hasta el parto.

Resultados:

P1: Mediante la aplicación del modelo semi-cuantitativo, el grupo de gestantes que obtuvo el riesgo más alto de PE precoz fue el que presentó un IPm-AUt \geq percentil 90 tanto en el primer trimestre como en el segundo trimestre en comparación con el grupo con IPm-AUt normal en el primer y segundo trimestre (OR 21.4; IC95% 2.5-184.7). Utilizando el modelo cuantitativo, se observó un empeoramiento relativo en el IPm-AUt entre el primer y segundo trimestre en todos los casos de PE precoz.

P2: En la PE precoz, el IPm-AUt al diagnóstico fue anormal en el 100% de los casos de PE con crecimiento intrauterino restringido (CIR) y en el 91% de las PE sin CIR, mientras que el cociente sFlt-1/PlGF fue anormal en el 100% y en el 96% de los casos, respectivamente. Sin embargo, en la PE tardía, la medición del IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF obtuvieron unos resultados más modestos para el diagnóstico de PE.

P3: Al diagnóstico de PE precoz, solamente la edad gestacional se asoció de forma significativa con la aparición de complicaciones maternas. La aparición de resultados perinatales adversos puede predecirse con una sensibilidad del 64% y una especificidad del 95%, combinando la información aportada por la edad gestacional al diagnóstico, los valores del IPm-AUt y los valores del cociente sFlt-1/PlGF. Además, un cociente sFlt-1/PlGF > 655 se asocia con la aparición de

Resumen

complicaciones que obligan a finalizar el embarazo de forma inminente en las siguientes 48 horas

Conclusiones:

P1: la evaluación de la evolución secuencial de las resistencias en las arterias uterinas entre el primer y segundo trimestre de la gestación es de utilidad para predecir el riesgo de padecer PE precoz en gestantes de alto riesgo.

P2: La PE precoz se asocia de forma prácticamente invariable con valores elevados del cociente sFlt-1/PlGF y del IPm-AUt. La utilidad clínica tanto del IPm-AUt como del ratio sFlt-1/PlGF más allá de la semana 34 es limitada. En el contexto de una sospecha de PE, solamente la obtención de un cociente sFlt-1/PlGF elevado podría tener utilidad diagnóstica, mostrando una elevada especificidad pero una baja sensibilidad.

P3: En la PE precoz, la edad gestacional y los valores de IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF obtenidos en el momento del diagnóstico se relacionan con los resultados perinatales adversos pero no con la aparición de complicaciones maternas. El cociente sFlt-1/PlGF está inversamente relacionado con el intervalo de tiempo que transcurre hasta el parto y cuando es >655 se asocia a la aparición de complicaciones maternas y/o perinatales en las siguientes 48 horas.

SUMMARY

Study of the uterine artery Doppler and the angiogenic state for predicting the risk of maternal and perinatal complications in pregnant women with preeclampsia.

Introduction: Preeclampsia (PE) is a heterogeneous multisystem disorder in pregnancy, characterized by the occurrence of endothelial damage in multiple organs and it remains a principal cause of maternal and perinatal morbidity and mortality worldwide. Despite the huge efforts to clarify its underlying pathogenic basis and to establish suitable diagnostic criteria, the pathophysiology of PE is still largely unknown and clinicians often face difficulties in diagnosing and managing PE.

Therefore, it is of paramount importance to develop new tools with a better prognostic performance in the identification of patients who will develop severe forms of PE with potential maternal/fetal complications and requiring preterm delivery. In this sense, the use of the mean uterine artery pulsatility index (mPI-UtA) in combination with new markers of the angiogenic state such as soluble Fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) and Placental Growth Factor (PlGF), have emerged as powerful instruments for the prediction, diagnosis and prognosis of PE.

Objectives: The aims of the three publications which compose this Doctoral Thesis were to evaluate the usefulness of the mPI-UtA and the automated measurement of the sFlt-1/PlGF ratio for:

- P1.** Predicting PE in a high-risk population.
- P2.** Confirming or ruling out the diagnosis of PE when clinically suspected.
- P3.** Predicting severe maternal and neonatal complications as well as the expected time-to-delivery in pregnant women with PE.

Methods:

P1: This was a prospective study in 135 women with singleton pregnancies with at least one high-risk condition. We evaluated the performance of quantitative and semi-quantitative models described previously for the prediction of PE, based on

Resumen

the sequential evaluation of mPI-UtA at 11–13 weeks and 19–22 weeks.

P2: Pregnant women with suspected (n=32) or confirmed PE (n=60) were enrolled for the assessment of mPI-UtA and angiogenic state (sFlt-1/PlGF ratio) in addition to standard care.

P3: 51 singleton pregnancies with early-onset PE (<34+0 weeks) were enrolled. Mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio were measured at diagnosis and the association of each marker and their combinations with adverse maternal and perinatal outcomes as well as the time-to-delivery interval were assessed.

Results:

P1: Using a semi-quantitative approach, the group of pregnant women with mUtA-PI \geq 90th percentile at both 11–13 and 19–22 weeks had a greater risk for early PE (odds ratio, 21.4 (95% CI, 2.5–184.7)) compared with the group with mUtA-PI <90th percentile at both periods. Using a quantitative approach, there was relative worsening in the mPI-UtA from the first to the second trimester in all cases of early PE.

P2: In early PE, mPI-UtA at diagnosis was abnormal in 100% of cases with intrauterine growth restriction (IUGR) and in 91% without IUGR, while sFlt-1/PlGF ratio was abnormal in 100% and 96%, respectively. However, in late PE, mPI-UtA and sFlt-1/PlGF were of modest diagnostic value. mPI-UtA and sFlt-1/PlGF ratio was not discriminatory between IUGR and PE. Regarding suspected PE, the sFlt-1/PlGF ratio showed high specificity (100%) but low sensitivity (53%) to confirm PE.

P3: At the time of onset of PE, only gestational age was significantly related to maternal complications. Gestational age at onset, mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio were significantly associated with perinatal complications, their combination reaching a sensitivity of 64% with 95% specificity. Moreover, a sFlt-1/PlGF ratio >655 was closely related to the need to deliver within 48 h.

Conclusions:

P1: Sequential changes in the mPI-UtA between the first and the second trimesters are useful in assessing high-risk women regarding their true risk of developing early PE.

P2: Abnormal mPI-UtA and sFlt-1/PlGF ratio are common features in early PE. In

Resumen

late PE, mPI-UtA and sFlt-1/PlGF are of limited diagnostic value. The sFlt-1/PlGF ratio shows high specificity but low sensitivity to confirm PE when suspected.

P3: mPI-UtA and sFlt-1/PlGF in combination with gestational age are useful for the prognosis assessment of perinatal complications at the time of diagnosis of early-onset PE, but not for the prediction of maternal complications. Moreover, values of the sFlt-1/PlGF ratio above 655 are closely related to the need to deliver within 48 hours.

2 Introducción

2.1 Concepto y patogenia de la preeclampsia

La preeclampsia (PE) es un trastorno hipertensivo específico de la gestación que se asocia a un daño vascular sistémico materno, con particular afectación de los endotelios fenestrados presentes en el riñón, el hígado y el cerebro. Se estima que afecta entre un 2-5% de los embarazos en nuestro medio, pero en presencia de determinados factores de riesgo como son el antecedente de una PE previa, hipertensión arterial crónica, diabetes o la existencia de una gestación múltiple, la posibilidad se eleva al 10-25%^{1,2}.

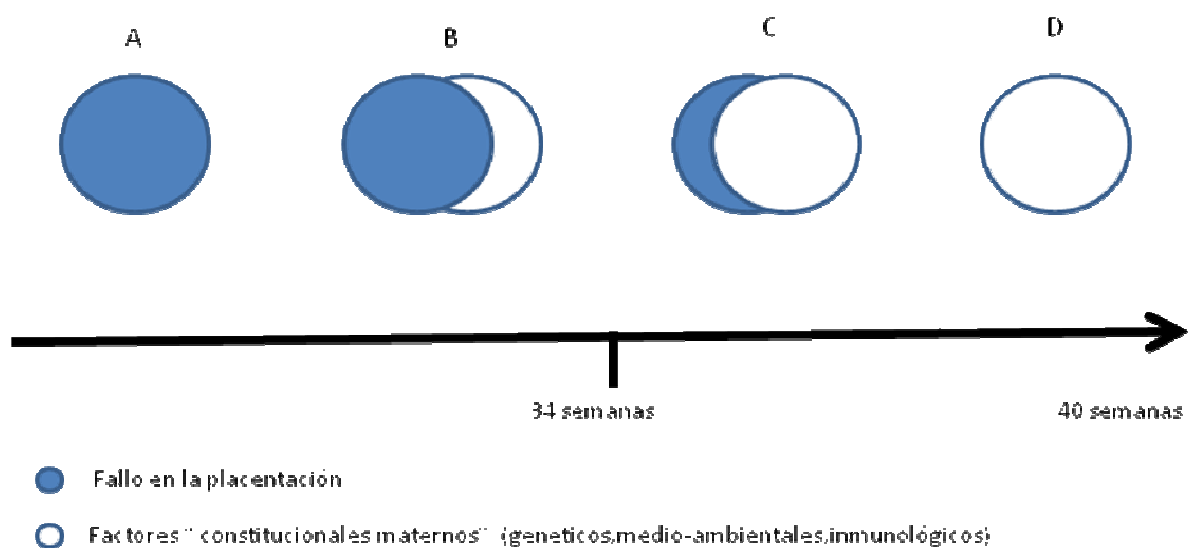
Pese a los grandes avances sucedidos en los últimos años en la Medicina Perinatal, sigue siendo una de las principales causas de mortalidad y morbilidad materna a nivel mundial, especialmente cuando se trata de los casos severos y/o precoces³, estando involucrada en el 15% de las muertes maternas relacionadas con el embarazo^{4,5}. La PE es también una importante causa de morbi-mortalidad perinatal como consecuencia de su asociación con el *abruptio placentae*, el crecimiento intrauterino restringido (CIR) y el parto prematuro iatrogénico^{6,7,8}.

La PE es un trastorno heterogéneo con expresiones clínicas muy variables. En general, cuanto más precoz es el debut de la PE mayor es su gravedad. Por ello, se ha subclasificado en dos subtipos de PE -precoz y tardía- en función del momento del embarazo en el que aparece, los cuales además tienen no solo una diferente expresividad clínica sino también un sustrato etiopatogénico distinto⁹. La PE precoz se relaciona casi invariablemente con una insuficiencia placentaria, se presenta antes de las 34 semanas y se asocia más frecuentemente con resultados adversos maternos y fetales. Representa un 15-20% del total de casos de PE, lo que supone

Introducción

que afecta solamente un 0.3-0.5% de todos los embarazos, pero se asocia con una mortalidad materna 20 veces mayor que la PE tardía⁹, por lo que es el subtipo de PE sobre el que deben concentrarse los mayores esfuerzos preventivos, diagnósticos y terapéuticos. La PE tardía, es decir, la que se presenta más allá de la semana 34 de gestación, es el tipo más frecuente, ya que comprende el 75-80% de los casos de PE afectando al 1.5-4.5% de los embarazos y, cursa habitualmente como formas leves sin repercusión en el pronóstico materno y/o fetal. No prevalece la alteración trofoblástica como principal causante del síndrome sino factores constitucionales maternos (**Figura 1**).

Figura 1. Modelo teórico del espectro clínico y patológico de la preeclampsia en relación con la edad gestacional.



- A: Predominio de fallo de la placentación.
 B: Contribución predominante de un fallo en la placentación.
 C: Contribución similar de ambos factores.
 D: Predominio de factores constitucionales maternos.

A pesar de que muchos grupos de investigación han centrado su interés en el estudio de la PE, con el objetivo de clarificar los aspectos fundamentales

Introducción

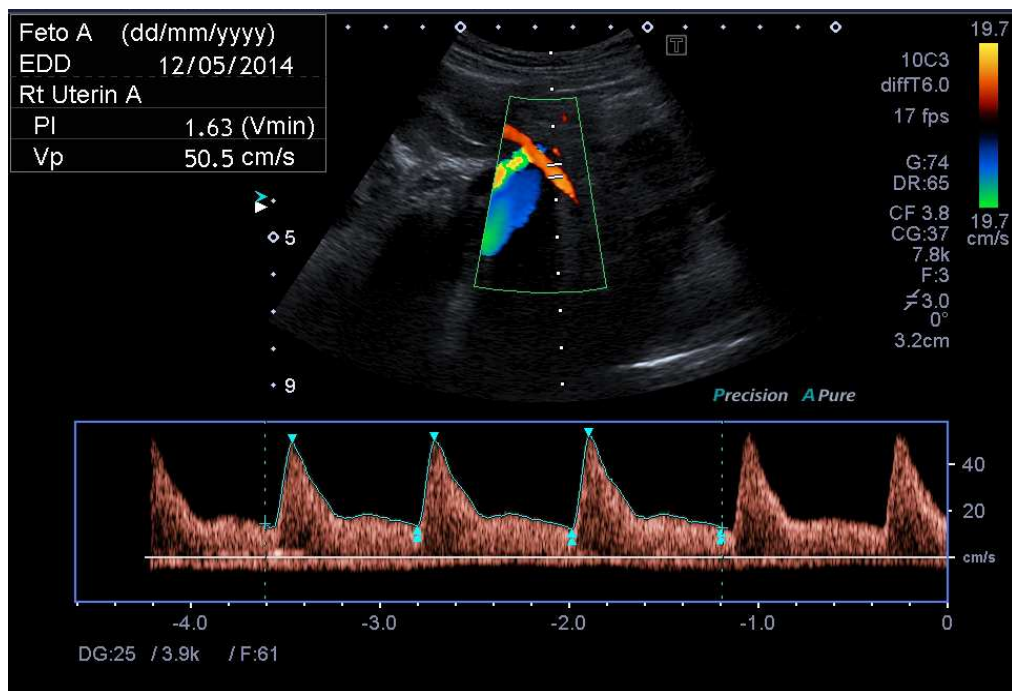
relacionados con bases fisiopatológicas y de establecer unos criterios diagnósticos precisos, esta sigue siendo una enfermedad compleja, impredecible, que habitualmente genera dificultades en su manejo para los clínicos. La principal dificultad que hasta el momento se ha interpuesto en su diagnóstico precoz y la mejora del manejo clínico de la PE es el desconocimiento acerca de aspectos fundamentales relacionados con su etiología y patogenia. Desde que en los años 40 del siglo pasado Ernest Page estableció el concepto según el cual la perfusión placentaria estaba reducida en la PE y que este hecho tenía un papel clave en su patogenia¹⁰, se acepta que el origen de la PE parece encontrarse en la existencia de una placentación anómala. Existe una amplia evidencia a favor de dicha afirmación. Se ha demostrado que la presencia de la placenta es un requisito indispensable para la aparición de la PE, ya que los signos y síntomas de la PE remiten rápidamente tras la expulsión placentaria¹¹. Además, la PE puede ocurrir en ausencia del feto, ya que puede aparecer en gestaciones molares¹², y también en ausencia de útero, ya que se ha descrito la existencia de PE en gestaciones abdominales¹³, pero no en la ausencia de placenta. Situaciones obstétricas como la mola hidatiforme o la gestación múltiple, en las que aparece un incremento relativo de la masa placentaria respecto al flujo placentario, aumentan el riesgo de PE. Además, la aparición de una PE se relaciona con situaciones médicas que condicionan una predisposición a la disfunción vascular, tales como la hipertensión crónica, diabetes mellitus, obesidad, lupus eritematoso sistémico o trombofilias.

Para comprobar la hipótesis placentaria se midió de forma directa el flujo sanguíneo en el espacio intervelloso mediante un estudio con radioisótopos, y se demostró una disminución de flujo placentario en la PE¹⁴. Experimentos en modelos

Introducción

animales consistentes en una hipoperfusión placentaria han resultado en la producción de un síndrome específico de la gestación semejante a la PE¹⁵. Sin necesidad de recurrir a métodos directos, el estudio Doppler de las arterias uterinas (AUt) en mujeres gestantes ha demostrado que existen unas resistencias más elevadas en estos vasos en aquellas mujeres que posteriormente desarrollarán PE¹⁶ (**Figura 2**). Este aumento de las resistencias en las AUt se atribuye a un fallo en la invasión trofoblástica de los segmentos miometriales de las arterias espirales. Esto da lugar a un aumento de las resistencias vasculares que acaba produciendo una insuficiencia e isquemia placentaria.

Figura 2. Identificación de la onda de velocidad de flujo en una arteria uterina (AUt) durante la exploración del segundo trimestre (19-22 semanas) mediante abordaje transabdominal. Obsérvese la insonación de la AUt derecha tras sobrepasar su cruce aparente con la arteria iliaca externa, que lleva un trayecto perpendicular.



En la PE, la remodelación vascular tras la invasión trofoblástica resulta

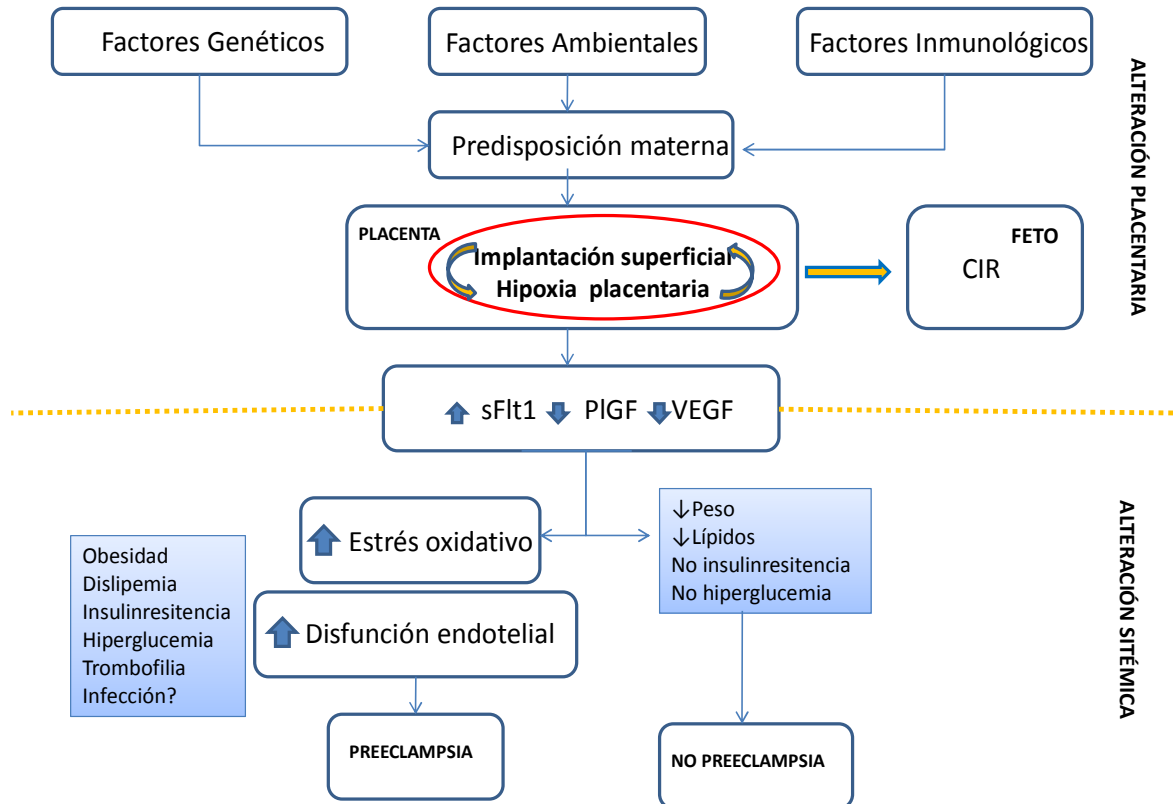
Introducción

insuficiente. La invasión citotrofoblástica se limita a la decidua proximal, sin que ocurra la dilatación de los segmentos miometriales de las arterias espirales. Como consecuencia, se crea un estado de circulación útero-placentaria de alta resistencia, con tendencia a la isquemia placentaria. Además la diferenciación del trofoblasto hacia un patrón invasivo es anormal en las pacientes con PE. Estudios de inmunohistoquímica indican que en la PE el citotrofoblasto muestra una persistencia de la expresión de receptores característicos de células epiteliales y un fallo en la expresión de moléculas de adhesión de fenotipo vascular. Se ha postulado que la anormal invasión trofoblástica endovascular de la PE es secundaria a la incapacidad de las células del citotrofoblasto para cambiar su patrón de expresión de moléculas de adhesión. También se ha hipotetizado que las células “Natural Killer” (NK) y los macrófagos activados pudieran tener un papel en el remodelado vascular durante la gestación y que este proceso estuviera alterado en la PE ¹⁷.

El fallo en la placentación es necesario para la aparición de PE, pero no es suficiente para explicar la alteración endotelial que origina el síndrome materno. Por ello, clásicamente se ha postulado la existencia de una relación entre una deficiente placentación y la inducción de un daño vascular materno que se encontraría mediada por algún factor tóxico liberado a la circulación materna desde una placenta en situación de hipoxia. Gracias a la realización de estudios sobre perfiles de expresión génica, recientemente esta relación se ha atribuido a la aparición de un desequilibrio angiogénico mediado por factores liberados a la circulación materna desde una placenta insuficiente: fundamentalmente un exceso del factor anti-angiogénico “soluble fms-like tyrosin kinase-1” (sFlt-1), que induce una disminución del factor angiogénico “placental growth factor” (PlGF). Además,

determinados aspectos constitucionales maternos podrían influir en la variedad y la gravedad de la clínica¹⁸ (**Figura 3**).

Figura 3. Concepción actual de la fisiopatología de la preeclampsia



Basado en : Sibai BM. Am J Obstet Gynecol 2006

2.2 Definición y diagnóstico de la preeclampsia

Con respecto a su diagnóstico, los criterios actuales para el diagnóstico de PE están basados en una serie de signos y síntomas no específicos de la PE, como son la presencia de hipertensión y proteinuria significativa de nueva aparición a partir de la semana 20 de embarazo, los cuales pueden medirse de forma imprecisa o incluso estar ausentes en el momento de su presentación^{19,20} por lo que pueden retrasar o sobreestimar el diagnóstico, pudiendo así condicionar un aumento final de la morbi-mortalidad materna y fetal^{21,22}.

Introducción

Además, la PE se sigue clasificando en leve o severa en función de una serie de criterios bien definidos aunque no siempre sustentados por la evidencia clínica. Recientemente, se ha cuestionado que todos estos criterios estén realmente relacionados con un peor pronóstico materno y/o fetal: el estudio PIERS (Preeclampsia Integrated Estimate of Risk) ha analizado la relación entre los criterios de severidad y la aparición de fenómenos adversos y ha concluido que criterios como la aparición de cefalea, alteraciones visuales, dolor epigástrico, TAS \geq 160 mm-Hg o proteinuria intensa en tira de orina no se relacionan de forma significativa con un aumento final de la morbi-mortalidad materna y fetal²³.

Asimismo, los criterios actuales no tienen en cuenta la edad gestacional en el momento de la aparición de este trastorno, la cual es indudablemente un criterio de severidad conocido²⁴. De hecho, cada vez se hace mayor énfasis en la diferenciación entre PE tardía y PE precoz, dada la relación inversa entre la edad gestacional de presentación de la PE y la severidad de sus complicaciones.

El diagnóstico diferencial entre la PE y otros trastornos hipertensivos de la gestación y la agudización de otras enfermedades previas puede ser complejo ya que pueden simular el mismo cuadro clínico. Por ejemplo, en el síndrome nefrótico²⁵, nefritis lúpica²⁶, o púrpura trombótica trombocitopénica²⁷. Sin embargo, el diagnóstico diferencial puede ser de vital importancia para decidir si se continúa o no con la gestación, ya que si se trata de alguno de estos últimos diagnósticos diferenciales se puede intentar iniciar un tratamiento causal de dichas entidades y prolongar así la gestación.

Con frecuencia existen casos que cursan con una clínica confusa y atípica de

Introducción

PE. Así, en el síndrome de HELLP y en la eclampsia hasta en un 15-20%²⁸ y 40% de los casos respectivamente²⁹ no existe hipertensión o proteinuria en el momento de su aparición, por lo que atenernos a la definición tradicional de PE puede retrasar su diagnóstico.

Dada la gran heterogeneidad del síndrome con expresiones clínicas muy variables así como su imprevisibilidad de su curso clínico y el alto riesgo de desarrollar complicaciones severas maternas y o fetales, resulta imprescindible el desarrollo de nuevas herramientas de predicción, diagnóstico y pronóstico para detectar precozmente la PE, hacer su diagnóstico diferencial con otras entidades que la mimetizan, y conocer qué casos de PE son los que tienen un mayor riesgo de complicaciones maternas y/o fetales y cuáles son los candidatos adecuados para el manejo expectante. Estos aspectos se desarrollan precisamente en el primer y segundo artículo de esta Tesis Doctoral, en los que se analiza el rendimiento de la combinación multiparamétrica de datos clínicos, analíticos y ecográficos para predecir y diagnosticar la preeclampsia.

2.3 Predicción de la preeclampsia

En la actualidad existe un gran interés en la consecución de un método eficiente de cribado de PE que permitiese categorizar el riesgo de PE en gestantes de forma precoz, identificando así a las mujeres con un mayor riesgo que se podrían beneficiarse de medidas profilácticas como el ácido acetilsalicílico (AAS) en dosis bajas administrado desde el final del primer trimestre o el comienzo del segundo trimestre de la gestación, con tiempo suficiente para actuar sobre el proceso de placentación. Recientes meta-análisis han demostrado que el uso de AAS antes de las 16 semanas en gestantes de alto riesgo de padecer PE reduce el riesgo relativo de

Introducción

su aparición en un 10-18%^{30,31}, siendo esta reducción cercana al 90% en los casos de PE severa³².

La predicción mejora en el segundo trimestre³³, una vez finalizado el proceso de invasión placentaria. Aunque ya no se esté a tiempo de realizar prevención con AAS, la detección precoz de las pacientes de riesgo permite un seguimiento más estricto. Si bien es cierto que en la actualidad no existe ninguna intervención que se haya demostrado eficaz para frenar la historia natural de la PE, sí se ha demostrado que la optimización del manejo médico en centros terciarios y a partir de la evidencia científica y las guías de actuación de PE, disminuye sustancialmente las complicaciones maternas y fetales²³. Asimismo, también permite conseguir una distribución más racional de nuestros recursos y esfuerzos, centrándolos en aquellos casos con mayor riesgo.

Hasta el momento, la identificación de los factores de riesgo conocidos para padecer PE en la primera visita de la gestación es el único cribado de la PE para el que existe consenso^{34,35}. Sin embargo, la presencia de la mayoría de los factores de riesgo conocidos solamente aumenta el riesgo de PE entre 2 y 4 veces respecto a la población general, por lo que su valor predictivo individual es limitado. Además, al emplear factores de riesgo tan habituales como el índice de masa corporal ≥ 30 o la nuliparidad, que se hallan presentes hasta en dos tercios de las embarazadas, se pierde el concepto selectivo del cribado³⁶. Incluso cuando los factores de riesgo se utilizan en un modelo multivariable, sus resultados son subóptimos, detectando el 30% de gestantes que desarrollan PE con una tasa de falsos positivos del 5%³⁷.

Con el fin de mejorar estos resultados, en los últimos años han surgido múltiples estudios prometedores que combinan diferentes marcadores basados en

Introducción

los conocimientos actuales del sustrato patogénico de la PE. Los más utilizados son el estudio Doppler de las arterias uterinas, marcador *sine qua non* de alteración en la implantación placentaria, los factores reguladores de la angiogénesis, la presencia o ausencia de factores constitucionales maternos y la medición de la tensión arterial³⁷. La utilidad de cada uno de estos marcadores se describirá en detalle en el último apartado de esta introducción.

2.4 Manejo clínico de la preeclampsia precoz.

Cuando la PE aparece en una gestación antes de las 34 semanas, la toma de decisiones sobre su manejo clínico resulta controvertida. En la actualidad, la expulsión placentaria tras el parto es el único tratamiento definitivo de la PE, y también la opción más segura para la madre ante la presencia de una PE precoz, pero no siempre es la mejor opción para el feto. Por ello, la mayoría de las guías de consenso actuales recomiendan el manejo expectante de las PE precoces siempre que la madre y el feto permanecen estables, y hasta la semana 34 de gestación³⁸.

Sin embargo, el curso clínico de la PE precoz es especialmente impredecible^{39,40} y la mayoría de los criterios de severidad, como la hipertensión sistólica ≥ 160 mmHg o la proteinuria intensa, no se relacionan de forma significativa con un aumento final de la morbi-mortalidad materna y fetal⁴⁰. En consecuencia, la selección del momento óptimo del parto es a menudo una decisión difícil en la PE precoz, resultando de vital importancia el desarrollo de nuevas herramientas de predicción para conocer qué casos son los que tienen un mayor riesgo y cuáles son los candidatos adecuados para el manejo expectante.

En este sentido, estudios recientes han demostrado que la presencia de un flujo alterado en las arterias uterinas puede ser útil para predecir el pronóstico

neonatal⁴¹, y también se ha descrito también que los valores del cociente sFlt-1/PlGF en las mujeres que desarrollan PE se correlacionan bien con el grado de actividad de la enfermedad, habiéndose establecido un punto de corte de >655 a partir del cual se cuadruplica el riesgo de parto inminente debido a complicaciones maternas y/o deterioro del bienestar fetal⁴². Sin embargo, su potencial pronóstico en relación con las complicaciones fetales es todavía desconocido.

Por todo ello, en el tercer artículo de la presente Tesis nos propusimos evaluar la utilidad de ambos marcadores para predecir las complicaciones severas maternas y neonatales así como el intervalo de tiempo hasta el parto en aquellas gestantes ingresadas por PE precoz.

2.5 Marcadores de riesgo de preeclampsia

La evidencia de que la mayor parte de los fenómenos patogénicos que conducen a la PE preceden en el tiempo al establecimiento de la sintomatología ha generado múltiples intentos por encontrar marcadores clínicos, bioquímicos y ecográficos de los cambios en el entorno placentario y en la circulación materna que fuesen de utilidad para la predicción, diagnóstico y pronóstico de la PE. Los marcadores más extensamente estudiados por estar involucrados en la patogenia de la PE son el estudio Doppler de las AUt maternas y los marcadores reguladores de la angiogénesis, que expondremos a continuación.

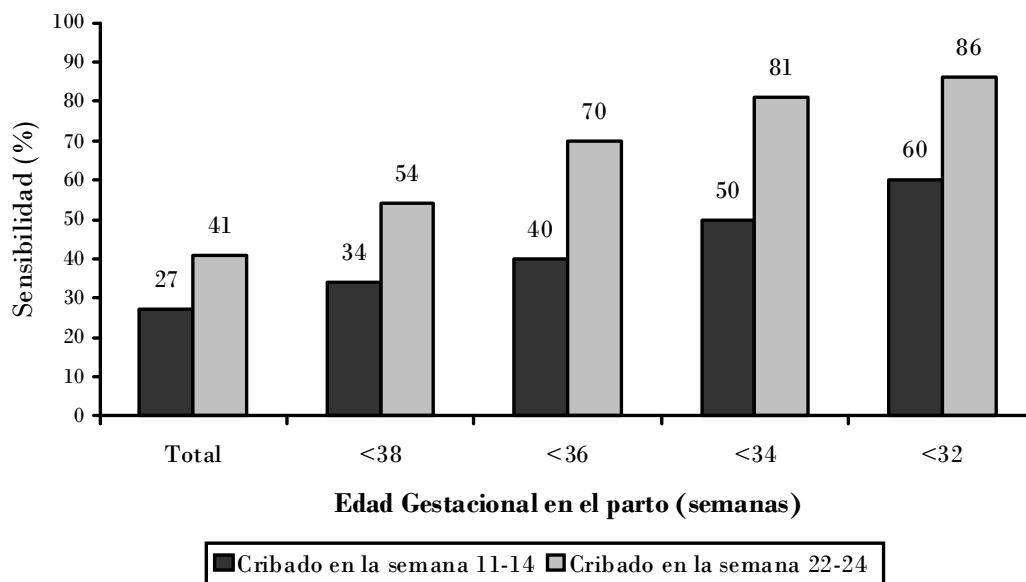
2.5.1 Estudio Doppler de las resistencias en arterias uterinas (Doppler AUt)

El estudio Doppler AUt como marcador subrogado de la invasión placentaria se ha propuesto para mejorar la detección de las gestantes con mayor riesgo de desarrollar una PE, aunque no ha llegado a imponerse como una prueba

Introducción

rutinaria^{43,44}. Esto obedece a dos razones fundamentales: la primera que no todos los ecografistas están familiarizados con su uso y la segunda reside en su bajo valor predictivo positivo (10-30%)⁴⁵, de modo que solamente 1 de cada 6-9 embarazadas con aumento de resistencias en las arterias uterinas acaba padeciendo una PE³⁹. Pero por otra parte, la tasa de detección del cribado mediante Doppler AUt es buena para las formas precoces y severas de PE, aunque no tanto para las tardías y leves. Su sensibilidad es notoriamente mejor si se aplica en el segundo trimestre que en el primero (**Figura 4**). Entre las semanas 11-14 y 18-22 de gestación, alcanza una sensibilidad del 40-50 y del 60-70%, respectivamente, para predecir los casos de PE precoz^{38,46}.

Figura 4. Sensibilidad para predecir preeclampsia mediante el índice de pulsatilidad >percentil 95 de la arteria uterina en el primer y segundo trimestre (modificado de Martin et)⁴⁶.



El peor rendimiento del Doppler AUt en el primer trimestre podría explicarse

Introducción

porque en esta etapa tan precoz la implantación placentaria todavía no ha finalizado, y además existen importantes cambios adaptativos en la implantación placentaria que ocurren entre las semanas 12 y 22 que no se reflejarían solo con una determinación aislada en el primer trimestre. Con el fin de valorar estos cambios, se ha propuesto comparar el estudio Doppler de las AUt entre las semanas 11+0 - 13+6 con el obtenido entre las 19-22 semanas y tener en cuenta la evolución secuencial de las resistencias en las arterias uterinas durante este periodo adaptativo coincidente con la segunda oleada de invasión trofoblástica. Esta estrategia ha demostrado que mejora los resultados obtenidos por la medición aislada de las resistencias en las arterias uterinas en el segundo trimestre para la predicción de la PE precoz en población de bajo riesgo^{47,48}. Dado que el empleo del Doppler de AUt en gestaciones de alto riesgo de PE muestra resultados más discretos⁴⁹, y si consideramos además que estas gestaciones tienen un mayor riesgo de presentar PE, hemos considerado de interés evaluar en el primer artículo que compone la presente Tesis este sencillo pero eficaz abordaje consistente en la evaluación de la evolución secuencial de las resistencias en las arterias uterinas entre el primer y segundo trimestre de la gestación, en gestantes de alto riesgo.

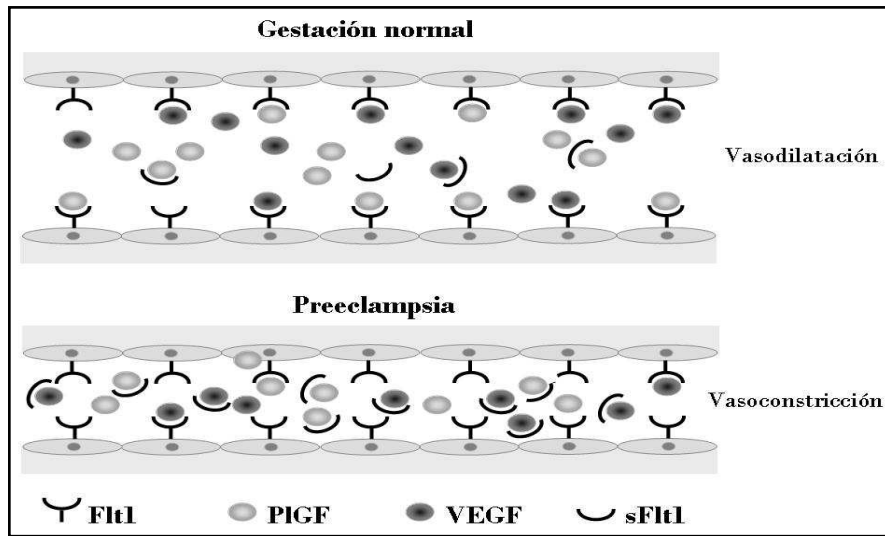
Desde el punto de vista de la utilidad diagnóstica y pronóstica del Doppler AUt, existen muy pocos estudios que hayan evaluado la utilidad del Doppler AUt tras el diagnóstico de PE como ayuda para confirmar su diagnóstico y para la predicción de complicaciones maternas y neonatales. Meler *et al.* demostraron que la alteración del Doppler AUt era el mejor parámetro ecográfico para predecir el pronóstico neonatal, alcanzando una mayor sensibilidad que la arteria umbilical, aunque su especificidad es baja (65%)⁵⁰. Además, las resistencias en las arterias uterinas se

encontraban aumentadas más frecuentemente en las PE precoz que en las tardías: 62% vs. 27%, respectivamente. Por todo ello, proponen que este parámetro podría ser utilizado como un test adicional para predecir el riesgo de resultados adversos maternos y fetales al diagnóstico de la PE. Otros dos estudios demuestran cómo un flujo anormal en las arterias uterinas se asocia de forma significativa con un peor pronóstico neonatal, tanto en la PE precoz⁵¹, como en la tardía⁵², y con un peor pronóstico materno en el caso de la PE precoz. En resumen, el Doppler AUt tras el diagnóstico de PE podría ser de utilidad para confirmar el diagnóstico de PE y para la predicción de complicaciones maternas y o neonatales.

2.5.2 Factores relacionados con la angiogénesis

Actualmente se atribuye el nexo de unión entre una placentación deficiente y la inducción de un daño vascular materno a la aparición de un desequilibrio en la producción y liberación a la circulación materna de factores reguladores de la angiogénesis desde las placentas en situación de isquemia^{53,54}. Así, la liberación masiva del factor anti-angiogénico sFlt-1 a la circulación materna desde una placenta hipóxica resulta ser un factor clave en la patogénesis de la PE⁵⁵. El sFlt-1 es una proteína anti-angiogénica que se adhiere a los dominios de unión de los factores pro-angiogénicos “*vascular endothelial growth factor*” (VEGF) y PlGF, variando su configuración e impidiendo su interacción con los receptores de membrana de las células endoteliales, y por tanto promueve la disfunción endotelial^{53,56} (**Figura 5**).

Figura 5. Esquema representativo del equilibrio normal entre factores angiogénicos circulantes y su desequilibrio en la preeclampsia.



Flt1, fms-like tyrosine kinase 1; PIGF, placental growth factor; VEGF, vascular endothelial growth factor; sFlt1, soluble fms-like tyrosine kinase

Se ha demostrado que placentas en situación de hipoxia expresan altas concentraciones de sFlt-1 y que las gestantes con PE tienen concentraciones circulantes de sFlt-1 más elevadas que aquellas gestantes sin PE. Además, la administración exógena de sFlt-1 a ratas embarazadas induce hipertensión, proteinuria y lesiones histológicas renales de endoteliosis glomerular, hallazgos característicos de la PE⁵⁵. Un hecho destacado es la detección de niveles aumentados de sFlt-1 y disminuidos de PIGF en la sangre periférica materna hasta cinco semanas antes del inicio de la clínica de PE⁵⁶. El aumento de la concentración de sFlt-1 se correlaciona con la severidad de los síntomas⁵⁷, y por último la concentración de sFlt-1 disminuye rápidamente después del parto, lo que se acompaña de una mejoría clínica materna significativa de los síntomas derivados de la PE⁵⁶. Por tanto, se piensa que el exceso de sFlt-1 circulante es el principal responsable de una disfunción endotelial generalizada y consecuentemente del síndrome clínico de la

PE.

La determinación aislada de los marcadores angiogénicos PlGF y sFlt-1 o su combinación, mediante el cálculo del cociente sFlt-1/PlGF, ha demostrado en los últimos años tener utilidad para los siguientes aspectos relacionados con la PE:

- **Utilidad predictiva:** en el primer trimestre ya existen algunos marcadores de PE que se encuentran alterados, pese a que la implantación placentaria no se ha completado. Uno de los marcadores que mejores resultados predictivos ha demostrado en esta edad gestacional es la PlGF⁵⁸. En el estudio desarrollado por el grupo de Nicolaides es el marcador que mejor sensibilidad aporta individualmente para la detección de la PE precoz, con una tasa de detección del 50% para una especificidad del 90%⁵⁹. Sin embargo, los diferentes estudios realizados con sFlt-1 en primer trimestre de la gestación muestran resultados dispares, con una amplia superposición entre los valores encontrados en los casos de PE y en las gestaciones no afectas, por lo que no es un marcador de interés en el primer trimestre, aunque sí se ha demostrado su utilidad predictiva en la segunda mitad del embarazo⁵⁸. La PlGF en combinación con otros marcadores bioquímicos, como la proteína placentaria A asociada al embarazo (PAPP-A), y ecográficos, como el estudio Doppler AUt, ha demostrado alcanzar una sensibilidad y una especificidad cercanas al 90% para la detección de la PE precoz³⁷. Pese a estos resultados tan prometedores, sus resultados no han sido reproducidos por otros grupos y por el momento no se ha implantado en la práctica clínica ni en las guías de consenso por su elevado coste económico, la necesidad de contar con especialistas formados en la medición del Doppler AUt y la falta de estudios clínicos aleatorizados que demuestren que algún tipo de intervención -como el AAS- es útil en las pacientes con cribado positivo.

Introducción

- **Utilidad para el diagnóstico precoz:** entre las 20 y las 26 semanas de gestación, el empleo combinado de sFlt-1, PlGF y Doppler de las arterias uterinas ha demostrado, en diferentes estudios, un excelente rendimiento como prueba de diagnóstico precoz para la PE precoz (< 34 semanas), pero no para la tardía^{60,61,62}. También se ha observado que el cociente sFlt-1/PlGF muestra una capacidad predictiva superior al empleo de los marcadores angiogénicos sFlt-1 y el PlGF por separado⁶³.
- **Utilidad diagnóstica:** dos estudios publicados recientemente han demostrado que el cociente sFlt-1/PlGF tiene una sensibilidad y especificidad altas para el diagnóstico de la PE precoz. Verlohren *et al.*⁶⁴, establecieron un punto de corte único de ≥ 85 , con una sensibilidad del 89% y especificidad del 97% para el diagnóstico de la PE precoz y del 74% y 89% respectivamente para la PE tardía, lo que ha permitido aprobar su comercialización con fines diagnósticos en Europa. Sunderji *et al.* emplearon un punto de corte del cociente sFlt-1/PlGF de ≥ 137 , obteniendo resultados muy similares⁶⁵.

Pese a la utilidad demostrada sobre la determinación del cociente sFlt-1/PlGF como herramienta complementaria para la ayuda al diagnóstico de PE en el segundo trimestre, su implementación en la práctica clínica ha sido hasta el momento escasa, muy probablemente por motivos de índole económica. Sin embargo, ya ha aparecido incluido por primera vez en las guías clínicas de preeclampsia alemanas⁶⁶.

- **Diagnóstico diferencial y de casos atípicos:** la confirmación de un diagnóstico clínico de PE gracias a la certeza diagnóstica que aporta la elevación del cociente sFlt-1/PlGF, puede ser de gran valor en situaciones clínicas particulares. El empleo

Introducción

del cociente sFlt-1/PlGF ha demostrado su especificidad para diferenciar la PE de otras entidades incluidas dentro de la clasificación de los trastornos hipertensivos del embarazo como la hipertensión crónica y la hipertensión gestacional, y con la reagudización de enfermedades que pueden simular el mismo cuadro clínico^{21,22,42}. Por tanto, un cociente sFlt-1/PlGF normal en aquellos cuadros susceptibles de ser confundidos con una PE nos puede ayudar a realizar un diagnóstico preciso y eventualmente a evitar prematuridades iatrogénicas innecesarias. Además, puede ser de utilidad en aquellos casos con una clínica confusa o atípica de PE, como por ejemplo, en el síndrome de HELLP y en la eclampsia, que hasta en un 15-20%⁶⁷ y en el 40% de los casos respectivamente⁶⁸, cursan sin la presencia inicial de hipertensión y/o proteinuria. En ambas complicaciones el cociente sFlt-1/PlGF se muestra muy elevado. También apoya el diagnóstico de PE injertada en gestantes con hipertensión y/o proteinuria previa.

- **Utilidad pronóstica:** otra posible aplicación del cociente sFlt-1/PlGF es en la predicción de complicaciones. Se ha observado que se eleva de forma significativa días antes de la aparición de las complicaciones graves de la PE^{69,70}. Actualmente en los casos de PE precoz se recomienda un manejo expectante, siempre y cuando no exista una complicación que ponga en riesgo inminente la salud de la madre o del feto²². Esta actitud permite prolongar el embarazo y la consiguiente mejora del pronóstico del recién nacido, pero el estado materno puede empeorar de forma inesperada e imprevisible por la aparición de una complicación severa de la PE, por lo que una monitorización de los niveles del cociente sFlt-1/PlGF en estas mujeres podría ayudar a decidir cuánto prolongar el manejo expectante en ellas, sin someterlas al riesgo de desarrollar una complicación severa. Rana *et al*⁷⁰,

Introducción

demonstraron la existencia de una fuerte correlación entre la elevación del cociente sFlt-1/PlGF en gestantes con sospecha de PE y la aparición de eventos adversos que obligan a adelantar la finalización del embarazo. En los casos evaluados antes de la semana 34, el parto tuvo lugar en las siguientes dos semanas en el 86% de los casos con un cociente sFlt-1/PlGF ≥ 85 vs. 16% con cociente sFlt-1/PlGF < 85 (RR 15.2; IC95% 8.0-28.7). Además, el cociente sFlt-1/PlGF fue el mejor predictor de resultados adversos respecto a otros marcadores analíticos tradicionales como las transaminasas, la creatinina, la proteinuria o el ácido úrico. Por tanto, estos marcadores de angiogénesis podrían permitir la estratificación precoz del riesgo de complicaciones en las gestantes con sospecha de PE y reducir así evaluaciones innecesarias e incluso actuaciones iatrogénicas exageradas, a la vez que permitiría centrar los recursos fundamentalmente en aquellas gestantes de mayor riesgo.

Verlohren *et al.* también han descrito la relación inversa entre los valores del cociente sFlt-1/PlGF y el tiempo restante hasta el parto⁴²: en los casos de PE precoz, aquellos con un valor del cociente sFlt-1/PlGF por encima del tercer cuartil (> 655) solamente lograban prolongar el embarazo más allá de las 48 horas en el 29.4% de los casos y más allá de 7 días en el 5.9%, mientras que cuando el cociente sFlt-1/PlGF fue ≤ 655 se prolongaban en el 50% y 30.8% de los casos, respectivamente. Sin embargo en este estudio no se analizó la evolución seriada de estos marcadores y su relación con el pronóstico. En un reciente estudio con una muestra limitada se ha observado que los valores del cociente sFlt-1/PlGF se correlacionan positivamente con el curso clínico de la enfermedad en las pacientes con PE, y que el incremento relativo en sus valores es mucho mayor en los días previos a tener que finalizar la gestación⁷¹.

Introducción

Actualmente es posible disponer de la determinación automatizada del cociente sFlt-1/PlGF, que proporciona resultados en apenas 18 minutos²⁴, y que es el método empleado en los estudios que componen la presente Tesis. Esto facilita su introducción y disponibilidad en la práctica clínica. Rana *et al.* han realizado un estudio de coste-eficacia según el cual el uso clínico del cociente sFlt-1/PlGF para la estratificación del riesgo en mujeres con riesgo de padecer PE puede reducir los costes y ahorrar recursos⁷².

- **Utilidad terapéutica:** por último, el descubrimiento de la implicación de los factores angiogénicos en los mecanismos patogénicos de la PE ha dado lugar a la búsqueda de tratamientos dirigidos hacia estos factores. Un estudio piloto apoya la hipótesis de que la aféresis extracorpórea de sFlt-1 en mujeres con PE de instauración precoz puede disminuir los niveles circulantes de sFlt-1, logrando una atenuación de las manifestaciones clínicas de la PE y permitiendo una prolongación del embarazo con la consiguiente mejora de los resultados maternos y fetales. Los datos preliminares indican además que se trata de una intervención segura para la madre y el feto, aunque hacen falta ensayos clínicos que corroboren estos prometedores resultados⁷³. Otros estudios en modelos animales han demostrado resultados preliminares de gran interés científico sobre la administración de factores proangiogénicos y la atenuación de la clínica de la PE, que en un futuro podrían ser aplicados en humanos⁷⁴. El cociente sFlt-1/PlGF podría ayudar a seleccionar qué gestantes son candidatas al empleo de estos tratamientos basados en la actuación sobre el equilibrio angiogénico, lo cual supone una razón adicional para promover su empleo clínico rutinario.

Todas estas potenciales aplicaciones de los marcadores angiogénicos se

resumen en la **Tabla 1**⁷⁵.

Tabla 1. Potenciales aplicaciones de los factores angiogénicos sFlt-1 y PlGF en la práctica clínica

<p>1. Predicción de la PE en la primera mitad del embarazo:</p> <p>1.1. Primer trimestre (11-14 semanas): PlGF para la selección de gestantes que se pueden beneficiar de medidas profilácticas como la aspirina en baja dosis</p> <p>1.2. Segundo y tercer trimestre: cociente sFlt-1/PlGF para la selección de gestantes que se pueden beneficiar de un seguimiento intensivo</p>
<p>2. Diagnóstico precoz: el cociente sFlt1/PlGF se eleva de forma muy significativa entre 5 y 10 semanas antes de la aparición de los signos y síntomas clínicos.</p>
<p>3. Diagnóstico diferencial (cociente sFlt1/PlGF):</p> <p>3.1. Casos dudosos</p> <p>3.2. Casos atípicos</p>
<p>4. Identificación de los casos favorables para el tratamiento conservador: cociente sFlt1/PlGF</p>
<p>5. Selección de candidatas para futuros tratamientos preventivos y curativos y seguimiento de estos: sFlt-1</p>

PE, preeclampsia; sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase1; PlGF, placental growth factor

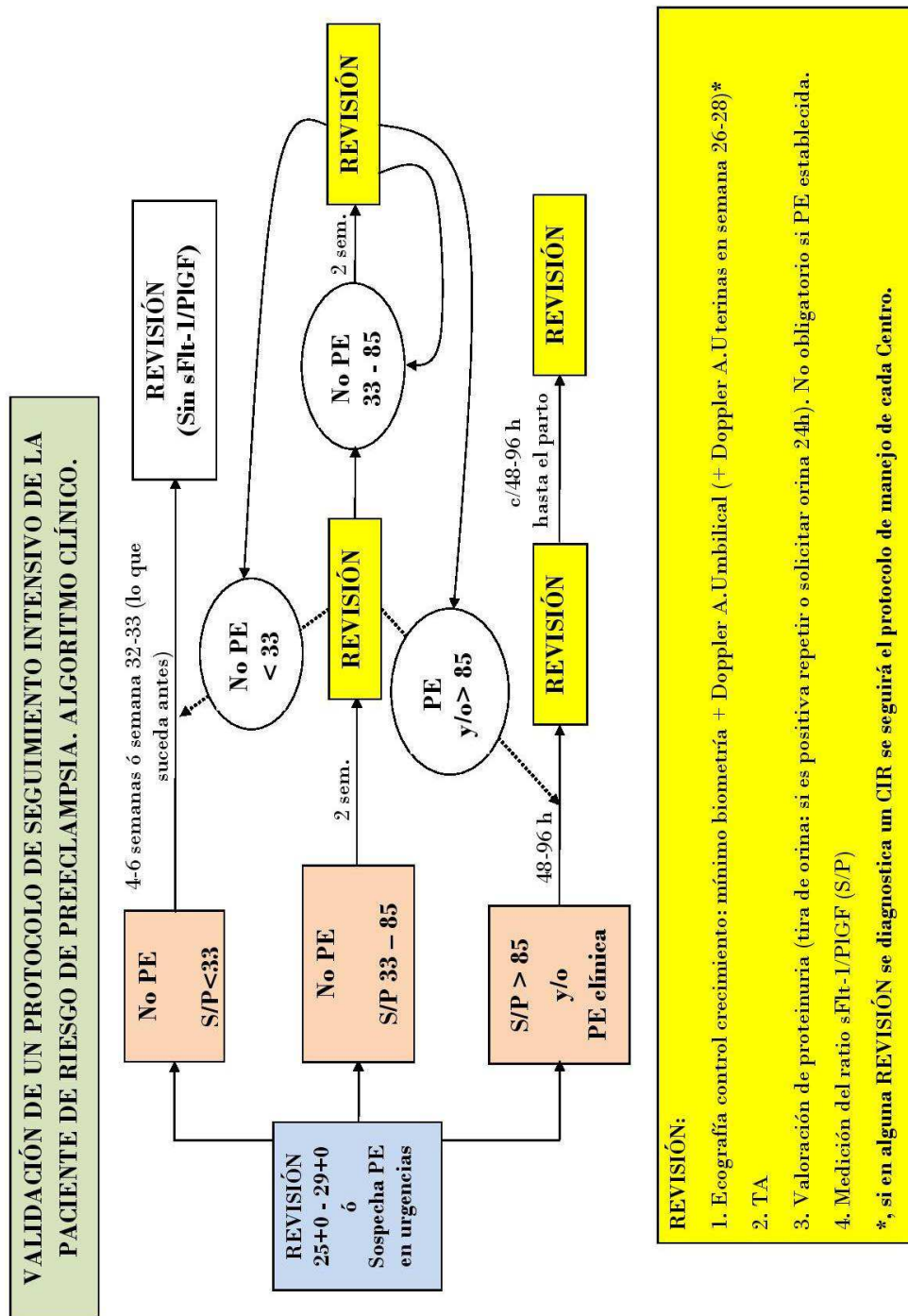
2.6 Integración de los marcadores de angiogénesis en la práctica clínica

Teniendo en cuenta la evidencia existente y la experiencia acumulada en el empleo de los marcadores de angiogénesis que se refleja en esta Tesis, la Unidad de Medicina Fetal del Hospital 12 de Octubre lidera desde comienzos de 2014 un estudio colaborativo entre varios hospitales españoles para validar un protocolo de implementación del cociente sFlt-1/PlGF en la práctica clínica, y que propone su medición hacia la semana 26 en gestantes seleccionadas por su alto riesgo de complicaciones de la placentación en base a su historia y la medición del Doppler AUt. En función de los resultados del cociente sFlt-1/PlGF obtenidos se estratifica el

Introducción

seguimiento de estas pacientes (**Figura 6**). Se espera que de los resultados de este estudio se puedan derivar las conclusiones definitivas que permitan establecer las indicaciones clínicas para la determinación de estos marcadores bioquímicos para la predicción, diagnóstico precoz y seguimiento de las complicaciones de origen placentario.

Figura 6. Algoritmo clínico del protocolo de seguimiento intensivo de la paciente de riesgo de preeclampsia (PE).



3 Hipótesis

Dado que:

1. La PE continúa siendo una de las principales causas de mortalidad y morbilidad materna y fetal en nuestro entorno.
2. La PE es un trastorno complejo, con un espectro clínico de presentación y evolución amplio e impredecible, lo que dificulta su diagnóstico y tratamiento.
3. El estudio Doppler AUt es el mejor marcador conocido para la predicción de la PE, especialmente de sus formas más precoces y severas, pero todavía no se ha determinado su utilidad en gestaciones de alto riesgo de padecer PE.
4. Los factores de equilibrio angiogénico sFlt-1 y PlGF han demostrado su utilidad para establecer el diagnóstico de PE y ya se encuentran disponibles para su empleo en la práctica clínica.
5. Por el momento se desconoce cuál es la utilidad de la determinación de los factores angiogénicos y el estudio Doppler AUt para confirmar o excluir una PE sospechada y para predecir las complicaciones maternas y fetales asociadas al desarrollo de una PE.

Se postula que:

El uso combinado de la información procedente del estudio Doppler AUt y de los factores de equilibrio angiogénico sFlt-1 y PlGF pueden ser de utilidad para la predicción de la PE en gestaciones de alto riesgo, la confirmación o exclusión de la PE en casos de sospecha y para orientar acerca del pronóstico, el tiempo de evolución y la posible aparición de complicaciones en las pacientes que debutan con una PE.

4 Objetivos generales

Objetivo principal:

1. El propósito de este compendio de estudios es evaluar la capacidad del estudio Doppler AUt y de los factores de equilibrio angiogénico s-Flt1 y PlGF para:
 - A. La predicción de PE en gestantes de alto riesgo
 - B. La confirmación o exclusión del diagnóstico de PE
 - C. Determinar el riesgo de aparición de complicaciones maternas y neonatales en aquellas gestantes diagnosticadas de PE.

Objetivos secundarios:

2. Evaluar el rendimiento de modelos semicuantitativos y cuantitativos para la predicción de la PE basados en la evaluación secuencial de las resistencias en las AUt entre las 11+0 - 13+6 y 19+0 - 22+0 semanas, cuando son aplicados en una población de alto riesgo.
3. Conocer la capacidad del estudio Doppler AUt y de los factores angiogénicos, de forma individual y en combinación, para predecir la evolución en los casos de PE, diferenciando entre los casos de aparición precoz (<34 semanas) y tardía (≥ 34 semanas).
4. Estudiar si existe asociación entre los valores de los marcadores estudiados y el tiempo de evolución de la PE desde su diagnóstico hasta el parto.
5. Investigar si alguno de los marcadores estudiados presenta una mayor asociación con determinadas complicaciones (neurológicas, hepáticas y renales) de la PE.
6. Analizar el comportamiento de estos marcadores en otros trastornos también relacionados con anomalías de la placentación como el CIR.

5 Definiciones y estándares comunes para el conjunto de la investigación:

La PE fue definida según la “International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy” (ISSHP)⁷⁶ como la presencia de hipertensión de nueva aparición a partir de la semana 20 de embarazo y que desaparece tras el parto junto con la existencia de una cantidad anormal de proteinuria adecuadamente documentada (≥ 300 mg en orina de 24 horas o en su defecto una muestra de orina con cociente proteínas/creatinina ≥ 30 mg/mmol o con 1+ (30 mg/dL) en tira de orina).

La PE injertada fue diagnosticada según los criterios del NHBPEP cuando: (1) se objetivó una proteinuria ≥ 300 mg en orina de 24 horas de nueva aparición a partir de la semana 20 en una gestante con hipertensión crónica o, (2) apareció un incremento repentino de la tensión arterial en una gestante con alguna enfermedad renal que le provocase una proteinuria significativa antes de la semana 20 o, (3) la gestante desarrolló nuevos signos y/o síntomas asociados con PE severa sobre una enfermedad hipertensiva o renal previa, y (4) se excluyeron apropiadamente otros trastornos que pudieran justificar los signos y síntomas de nueva aparición.

Siguiendo recientes recomendaciones^{77,78} se distinguió entre PE tardía y precoz en función de la edad gestacional en el momento del parto (< 34+0 semanas y $\geq 34+0$ semanas, respectivamente).

El CIR fue definido como un recién nacido pequeño para la edad gestacional (PEG) con un estudio Doppler en arteria umbilical con un IP >percentil 95⁷⁹. PEG fue definido como un peso al nacer <percentil 10 para la edad gestacional. El peso al nacimiento fue convertido a percentiles y ajustado a la edad gestacional al parto y el sexo del recién nacido, según las tablas locales⁸⁰. La edad gestacional fue calculada

según la longitud cráneo-raquis de la ecografía del primer trimestre realizada entre las semanas 11+0 - 13+6 o según el diámetro biparietal si la primera ecografía era realizada en una edad gestacional posterior⁸¹.

Las gestantes diagnosticadas de PE fueron evaluadas inicialmente según un protocolo estándar consistente en la medición de la TA y diuresis, cuantificación de la proteinuria en orina y realización de una analítica completa incluyendo hemograma, pruebas de coagulación y determinación sérica de ácido úrico, creatinina, albúmina, LDH y enzimas hepáticas. El control fetal fue realizado mediante la evaluación ecográfica de la biometría fetal, cantidad de líquido amniótico y de las resistencias en el flujo de la arteria umbilical y, en gestaciones >24+0 semanas, también mediante monitorización cardiotocográfica.

Se indicó la finalización de la gestación antes de alcanzar la semana 34+0 en presencia de PE severa y al menos un criterio adicional de empeoramiento clínico⁸²: edema agudo de pulmón, hipertensión arterial refractaria ($\geq 160/110$ mmHg a pesar de las dosis máximas recomendadas de al menos 2 fármacos antihipertensivos), síndrome de HELLP completo o incompleto, fracaso renal agudo (oliguria < 500mL/24h y/o creatinina sérica >1,2 mg/dL), coagulopatía intravascular diseminada, abruptio placentae y/o signos de pérdida del bienestar fetal (flujo diastólico reverso en arteria umbilical y/o patrones de registro cardiotocográfico intranquilizadores).

Tras alcanzar las 34+0 semanas, se finalizó la gestación en los casos de PE severa, mientras que en las formas leves se permitió la prolongación del embarazo hasta las 37 semanas de gestación.

6 Resúmenes de las publicaciones

Primera publicación (P1): Valor predictivo de los modelos secuenciales del Doppler de las arterias uterinas en gestantes con alto riesgo de preeclampsia

Referencia: Herraiz, I., Escribano, D., Gómez-Arriaga, P. I., Hernández-García, J. M., Herraiz, M. A., & Galindo, A. Predictive value of sequential models of uterine artery Doppler in pregnancies at high risk for pre-eclampsia. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2012; 40: 68-74.

DOI: 10.1002/uog.10147

ISSN: 0960-7692

Tipo de estudio: observacional, comparativo, prospectivo y de cohortes

Nivel de evidencia: II-2

Factor de impacto: 3.557

Categoría: OBSTETRICS & GYNECOLOGY

Posición: 8/78 (Q1) (Journal Citation Report)

Citado por: 7 artículos originales

Resumen de la primera publicación:

Título: Valor predictivo de modelos secuenciales del Doppler de las arterias uterinas en gestantes con alto riesgo de preeclampsia.

Hipótesis: la evaluación secuencial de las resistencias en las AUt entre el primer trimestre (1T): 11+0 - 13+6 y el segundo trimestre (2T): 19+0 - 22+0 semanas permite conocer de forma subrogada la evolución de la implantación placentaria durante la segunda oleada trofoblástica. Puesto que las alteraciones de esta etapa de la placentación se han asociado con la aparición de PE, se postula que mediante la evaluación de la evolución del Doppler AUt entre el 1T y el 2T se puede predecir el riesgo de padecer PE en una población con factores predisponentes.

Objetivo: evaluar el rendimiento de modelos previamente descritos para la predicción de la PE basados en la evaluación secuencial de las resistencias en las AUt entre el 1T y 2T, cuando son aplicados en una población de alto riesgo.

Métodos: estudio prospectivo observacional de 135 gestaciones únicas con al menos uno de los siguientes criterios de alto riesgo: PE previa y/o CIR, hipertensión crónica, diabetes pregestacional, enfermedad renal crónica, índice de masa corporal (IMC) >30 kg/m², trombofilia o enfermedad autoinmune (lupus eritematoso sistémico, síndrome antifosfolípido o artritis reumatoide).

Se excluyeron del análisis las gestaciones interrumpidas antes de la semana 22 de gestación y las portadoras de anomalías cromosómicas y/o malformaciones mayores.

Se midió el IPm-AUt en las semanas 11+0 - 13+6 y 19+0 - 22+0 y se valoró su

evolución secuencial utilizando un modelo semicuantitativo y otro cuantitativo. El modelo **semicuantitativo** clasifica a las gestantes en cuatro grupos en función del resultado normal (IPm-AUt <percentil 90) o alterado (IPm-AUt ≥percentil 90), tanto en el primer como en el segundo trimestre (**Tabla 1-P1**). El modelo **cuantitativo** valora de la mejoría o empeoramiento relativo de las resistencias entre el 1T y 2T mediante el cálculo del Log ratio entre el IPm-AUt en 2T en múltiplos de la mediana (MoM) y el IPm-AUt del 1T en MoM (Log ratio 2T/1T) (**Tabla 2-P1**).

Tabla 1-P1. Modelo semicuantitativo para la valoración secuencial del estudio Doppler de las arterias uterinas entre el primer y segundo trimestre

Grupo 1: IPm-AUt normal en 1T y 2T

Grupo 2 : IPm-AUt normal en 1T y alterado en 2T

Grupo 3 : IPm-AUt alterado en 1T y normal en 2T

Grupo 4 : IPm-AUt alterado en 1T y 2T

Dada la naturaleza de alto riesgo en la población de estudio se consideraron alterados valores del IPm-AUt > percentil 90 para la edad gestacional según los valores de referencia previamente establecidos⁸².

1T: primer trimestre (11+0 – 13+6 semanas de gestación); 2T: segundo trimestre (19+0 – 22+0 semanas de gestación); IPm-AUt: índice de pulsatilidad medio en las arterias uterinas.

Tabla 2-P1. Modelo cuantitativo para la valoración secuencial del estudio Doppler de las AUt entre el primer y segundo trimestre por pasos: (a) cálculo del índice de pulsatilidad medio en arterias uterinas (IPm-AUt) expresado en múltiplos de la mediana (MoM) y ajustado por la edad gestacional en la ecografía del primer trimestre (1T) y (b) del segundo trimestre (2T). (c) cálculo del logaritmo del cociente entre el IPm-AUt (MoM) en 2T en MoM y el IPm-AUt (MoM) en 1T (Log ratio 2T/1T)⁴⁸.

Variable	Ecuación
(a) IPm-AUt (MoM) en 1T	$\text{Log (IPm-AUt en 1T)}_{\text{esperado}} = 0.438 - (0.003 \times \text{EG en días})$ $\text{Log IPm-AUt en 1T (MoM)} = \text{Log IPm-AUt en 1T (observado / esperado)} = \log (\text{IPm-AUt en 1T})_{\text{observado}} - \log (\text{IPm-AUt en 1T})_{\text{esperado}}$ $\text{IPm-AUt en 1T (MoM)} = 10^{\text{Log IPm-AUt en 1T (MoM)}}$
(b) IPm-AUt (MoM) en 2T	$\text{Log (IPm-AUt en 2T)}_{\text{esperado}} = 0.268 - (0.002 \times \text{GA en días})$ $\text{Log IPm-AUt en 2T (MoM)} = \text{Log IPm-AUt en 2T (observado / esperado)} = \log (\text{IPm-AUt en 2T})_{\text{observado}} - \log (\text{IPm-AUt en 2T})_{\text{esperado}}$ $\text{IPm-AUt en 2T (MoM)} = 10^{\text{Log IPm-AUt en 2T (MoM)}}$
(c) Log ratio 2T-1T	$\text{Log ratio 2T-1T} = \text{Log IPm-AUt en 2T (MoM)} - \text{Log IPm-AUt en 1T (MoM)}$

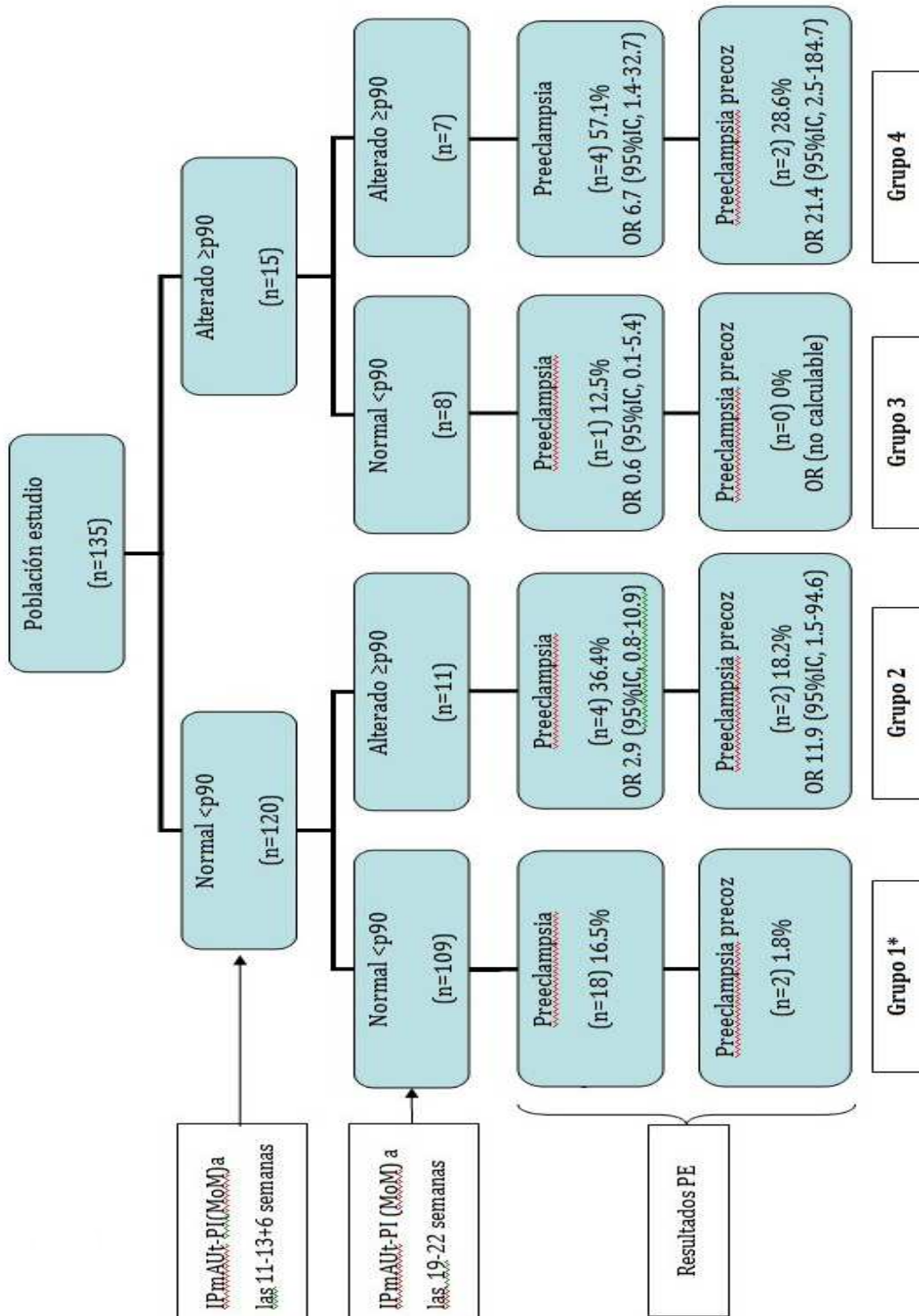
EG, edad gestacional.

Se evaluó el rendimiento diagnóstico de dichos modelos para predecir la aparición de PE tardía y precoz. Los resultados obtenidos en estas pruebas no fueron revelados a los tocólogos ni a las gestantes y por tanto no influyeron en el manejo obstétrico posterior.

Las comparaciones entre los tres grupos se realizaron mediante las pruebas de Chi-cuadrado o exacta de Fisher (variables cualitativas) y ANOVA o prueba Kruskal-Wallis (variables cuantitativas), según estuviera indicado. La significación se estableció para un valor de $p < 0.05$. La exactitud diagnóstica de este modelo fue evaluada mediante el estudio del área bajo la curva ROC y comparada mediante la prueba de Hanley y McNeil. Los datos se analizaron usando los programas estadísticos SPSS 17.0 (Statistical Packages for the Social Sciences, versión 17.0, Chicago, IL, US) y MedCalc (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

Resultados: se incluyeron para el análisis a 135 gestaciones de alto riesgo con seguimiento completo. El 20% (27/135) desarrollaron una PE: 21 de ellas (15.6%) tardía y 6 de ellas (4.4%) precoz. Mediante la estrategia semicuantitativa, el grupo de gestantes que obtuvo el riesgo más alto de PE precoz fue el que presentó un IPm-AUt \geq percentil 90 tanto en el 1T como en el 2T (Grupo 4) en comparación con el grupo con IPm-AUt normal en 1T y 2T (Grupo 1) (OR 21.4; IC95% 2.5-184.7). Las gestantes con un IPm-AUt $<$ percentil 90 en el 1T pero que pasó a ser un IPm-AUt \geq percentil 90 en el 2T (Grupo 2) también mostraron un mayor riesgo de desarrollar PE precoz en comparación con el Grupo 1 (OR 11.9; IC95% 1.5-94,6) (**Figura 1-P1**).

Figura 1-P1. Resultados de 135 gestaciones únicas con factores de alto riesgo de PE, en función del IPm-AUt obtenido en primer y segundo trimestre de gestación.



Grupo 4 vs Grupo 1 para PE $P < 0,05$ (test chi-cuadrado). Grupo 2 y Grupo 4 vs Grupo 1 para PE precoz, ambos $P < 0,05$ (test chi-cuadrado). Grupo 1 fue el grupo de referencia para el cálculo de los odds ratio (OR). MoM, múltiplos de la mediana.

Utilizando el modelo cuantitativo, el Log ratio 2T/1T fue más elevado en los casos de PE precoz en comparación con las gestaciones sin PE de forma significativa, observándose en todos los casos de PE precoz un empeoramiento relativo en el IPm-AUt (MoM) entre el 1T y 2T. También hemos podido comprobar que este modelo secuencial mejora los resultados predictivos obtenidos por el IPm-AUt (MoM) individualmente en 1T y 2T (**Tabla 3-P1**).

Tabla 3-P1. Comparación de la precisión de la prueba de cribado para la predicción de preeclampsia (PE) tardía y precoz en gestaciones de alto riesgo mediante el índice de pulsatilidad medio en arterias uterinas (IPm-AUt) en primer trimestre (1T) y segundo trimestre (2T) y el cálculo del Log ratio entre el IPm-AUt en 2T y el IPm-AUt del 1T en múltiplos de la mediana (MoM) (Log ratio 2T/1T).

Rendimiento del test de cribado	PE tardía	PE precoz
AUC (media (95% IC))		
IPm-AUt (MoM)en 1T	0.528 (0.391 – 0.665)	0.517 (0.200 – 0.833)
IPm-AUt (MoM)en 2T	0.590 (0.441 – 0.740)	0.767 (0.484 – 1.000)
Log ratio 2T-1T	0.599 (0.458 – 0.741)	0.853 (0.749 – 0.956)
Tasas de detección (%) para el 10% de TFP		
IPm-AUt (MoM)en 1T	14.3	33.3
IPm-AUt (MoM)en 2T	19.0	66.7
Log ratio 2T-1T	19.0	50.0
Tasas de detección (%) para el 25 (%) de TFP		
IPm-AUt (MoM)en 1T	28.6	50.0
IPm-AUt (MoM)en 2T	47.6	66.7
Log ratio 2T-1T	47.6	100.0

AUC, área bajo la curva; IC, intervalo de confianza; TFP, tasa de falsos positivos

Discusión: los hallazgos de este estudio muestran que el Doppler de AUt se comporta de forma diferente en poblaciones de alto riesgo que en la población general⁴⁹.

Aplicando el modelo semicuantitativo en nuestra población de alto riesgo observamos que la presencia de un IPm-AUt alterado tanto en 1T como en 2T (Grupo 4) estaba asociada a un mayor riesgo de presentar PE precoz respecto al Grupo 1 con IPm-AUt normales en ambos periodos. Sin embargo, en aquellas gestantes que tenían alterado el Doppler AUt en el 1T pero éste se normalizaba en el 2T (Grupo 3), no se observó un riesgo incrementado de PE, a diferencia de lo que había sido previamente publicado en la población general, en la que estas gestantes normalizadoras del Doppler AUt en 2T tenían aún así un mayor riesgo de presentar PE⁴⁸. Cuando se analizan solo los casos de PE precoz, las gestantes que tuvieron una segunda oleada de invasión trofoblástica fisiológica (Grupos 1 y 3) tuvieron una incidencia de PE precoz similar a la observada en la población general (<2%) frente a aquellas pacientes en las que se produjo una invasión trofoblástica anómala (Grupos 2 y 4), que presentaron un riesgo de 10-20 veces mayor de padecer PE precoz que la población general⁴⁸.

La aplicación del modelo secuencial mejora los resultados predictivos obtenidos por el Doppler AUt en 1T y 2T de forma individual. Con esta estrategia, incluso los dos casos de PE precoz con un IPm-AUt normal en ambos trimestres mostraban un empeoramiento relativo de las resistencias entre el 1T y 2T. Por lo que, aunque la medición en 2T parece ser más discriminativa en la evaluación del verdadero riesgo de PE en las gestantes de alto riesgo, el estudio en el 1T puede también proporcionar información útil para su predicción cuando se analiza secuencialmente con el del 2T. Así, la reasignación del riesgo de PE mediante el

empleo del Log ratio 2T/1T podría ayudar a la distribución de los recursos de una forma racional, centrandó nuestra atención en el grupo de pacientes con un incremento en el Log ratio 2T/1T.

Las principales limitaciones que presenta el estudio son, en primer lugar, su reducido tamaño muestral, un problema observado también en otros estudios similares publicados ya que resulta difícil reclutar una cohorte amplia de gestantes con factores de alto riesgo en un solo centro. En segundo lugar, el diseño observacional de este estudio imposibilita conocer la influencia de la aspirina sobre las resistencias en las AUt y sobre la incidencia de PE, ya que su administración no fue randomizada.

Conclusión: la persistencia de resistencias uterinas aumentadas y/o su empeoramiento a lo largo de la primera mitad del embarazo son los escenarios que se asocian de forma más estrecha con el desarrollo de PE precoz en gestantes con factores de alto riesgo.

Publicación 1

Ultrasound Obstet Gynecol 2012; 40: 68–74

Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.10147



Predictive value of sequential models of uterine artery Doppler in pregnancies at high risk for pre-eclampsia

I. HERRAIZ*, D. ESCRIBANO*, P. I. GÓMEZ-ARRIAGA*, J. M. HERNÁNDEZ-GARCÍA*, M. A. HERRAIZ† and A. GALINDO*

*Fetal Medicine Unit-SAMID, Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario '12 de Octubre', Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain; †Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario 'Clínico San Carlos', Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

KEYWORDS: Doppler; high-risk pregnancy; prediction; pre-eclampsia; uterine arteries

ABSTRACT

Objective To evaluate the performance of models described previously for the prediction of pre-eclampsia (PE), based on the sequential evaluation of uterine artery resistance at 11–13 weeks and 19–22 weeks, in a high-risk population.

Methods This was a prospective study in 135 women with singleton pregnancies and at least one of the following high-risk conditions: PE and/or intrauterine growth restriction in a previous pregnancy, chronic hypertension, pregestational diabetes, renal disease, body mass index > 30 kg/m², autoimmune disease (systemic lupus erythematosus, antiphospholipid syndrome or rheumatoid arthritis) and thrombophilia. Mean uterine artery pulsatility index (mUtA-PI) at 11–13 and at 19–22 weeks' gestation was measured and analyzed according to quantitative and semi-quantitative models, to predict late PE (resulting in delivery ≥ 34 weeks) and early PE (delivery < 34 weeks).

Results Late PE developed in 21 (15.6%) pregnancies and early PE in six (4.4%). Using mUtA-PI, the detection rates of late and early PE for a false-positive rate of 10% were 14.3% and 33.3%, respectively, at 11–13 weeks, and 19.0% and 66.7%, respectively, at 19–22 weeks. Using a semi-quantitative approach, the group of pregnant women with mUtA-PI ≥ 90th percentile at both 11–13 and 19–22 weeks had a greater risk for early PE (odds ratio, 21.4 (95% CI, 2.5–184.7)) compared with the group with mUtA-PI < 90th percentile at both periods. Using a quantitative approach, there was relative worsening in the mUtA-PI (multiples of the median) from the first to the second trimester in all cases of early PE.

Conclusion The application of semi-quantitative and especially quantitative models to evaluate sequential

changes in uterine artery Doppler findings between the first and second trimesters could be of additional value in assessing high-risk women regarding their true risk of developing early PE. Copyright © 2012 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

INTRODUCTION

Pre-eclampsia (PE) affects about 2–8% of pregnancies. Early PE, resulting in delivery before 34 weeks of gestation, accounts for fewer than 25% of all cases of PE, thus complicating only about 0.5–2% of pregnancies. However, these cases tend to have the worst outcomes¹.

About 5–10% of all pregnant women have risk factors for developing PE, such as prior PE and/or intrauterine growth restriction (IUGR), chronic hypertension, diabetes mellitus, chronic renal disease, certain autoimmune diseases and thrombophilias, high body mass index (BMI) and multiple pregnancy, increasing the incidence of early PE to 3–5% in these women². Therefore, about a third of cases of early PE occur in women with such high-risk factors. However, most of these high-risk patients, who usually undergo intensified surveillance during their pregnancies, never develop PE. Hence, the application of a screening test for PE in a population with *a priori* high-risk factors for its development may be of particular interest in order to achieve a more accurate stratification of risk.

Recently, various screening tests have been published, some of them reporting a sensitivity and specificity as high as > 90% for the detection of early PE^{3,4}. However, most of them have been described in general populations and have not been validated in high-risk groups. Among these tests, one of the most promising and simple approaches results from evaluation of the sequential changes of uterine artery resistance between the first and second trimesters of pregnancy^{5,6}. The aim of our study was to analyze the

Correspondence to: Dr A. Galindo, Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario '12 de Octubre', Avda. Córdoba s/n, Madrid 28041, Spain (e-mail: agalindo.hdoc@salud.madrid.org)

Accepted: 4 November 2011

characteristics (ROC) curves (AUC) were used to assess predictive values and compared using the Hanley and McNeil test. Data were analyzed using statistical packages SPSS version 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) and MedCalc (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

RESULTS

This analysis included 135 high-risk women with complete follow-up. Twenty percent (27/135) of women developed PE; 21/135 (15.6%) developed late PE and 4.4% (6/135) developed early PE (Figure 1). Table 1 summarizes the demographic characteristics of the study population, comparing unaffected, late PE and early PE pregnancies. Women who subsequently developed early PE were more likely to have had previous PE/IUGR or to have more than one high-risk factor, but there were no significant differences for the other variables. Pregnancy outcomes are shown in Table 2.

The distribution of mUtA-PI (MoM) values in the first and second trimesters in unaffected, late PE and early PE pregnancies is shown in Figure S1. In the unaffected group, the first-trimester mUtA-PI (MoM) median (interquartile range (IQR)) was 1.04 (0.79–1.25) and the 90th percentile was 1.47, and in the second trimester these values were 1.00 (0.82–1.25) and 1.49, respectively. These median values for the unaffected group were not significantly different in the first trimester from those observed in late (0.99 (0.85–1.29)) and early (1.08 (0.57–1.55)) PE groups; nor were they different in the second trimester from those observed in the late PE group (1.20 (0.83–1.47)). However, the median value in the

second trimester of early PE cases (2.00 (0.97–2.20)) was significantly increased relative to the unaffected group ($P < 0.01$).

Figure 1 depicts the semi-quantitative evaluation of mUtA-PI (MoM) in the first and second trimesters of gestation, following the previously described classification into Groups 1–4. Pregnant women in Group 4 had a significantly higher risk of developing PE and early PE when compared with those in Group 1 ($P < 0.05$). Women in Group 2 also showed a trend towards a higher risk of developing PE ($P = 0.16$) but the difference only reached statistical significance for early PE ($P < 0.05$).

The quantitative evaluation of the sequential changes in mUtA-PI (MoM) between the first and second trimesters using log ratio 2T-1T is illustrated in Figure S2. The median (IQR) of log ratio 2T-1T in unaffected pregnancies was 0.01 (–0.08 to 0.08), in late PE cases it was 0.07 (–0.06 to 0.14) and in early PE cases it was 0.16 (0.09 to 0.34). Compared with in unaffected pregnancies, log ratio 2T-1T was significantly higher only in early PE cases ($P < 0.01$). Figure 2 shows the ROC curves for the prediction of late PE and early PE by means of mUtA-PI at first and second-trimester scans and log ratio 2T-1T, and the screening characteristics derived from these ROC curves are summarized in Table 3. According to the AUCs, the best accuracy for prediction of early PE was obtained by log ratio 2T-1T, although significant differences were not found. Although mUtA-PI (MoM) in the second trimester was slightly superior when the false-positive rate was fixed at 10%, log 2T-1T was the only screening test to detect all early PE cases when the false-positive rate threshold was raised to 25%.

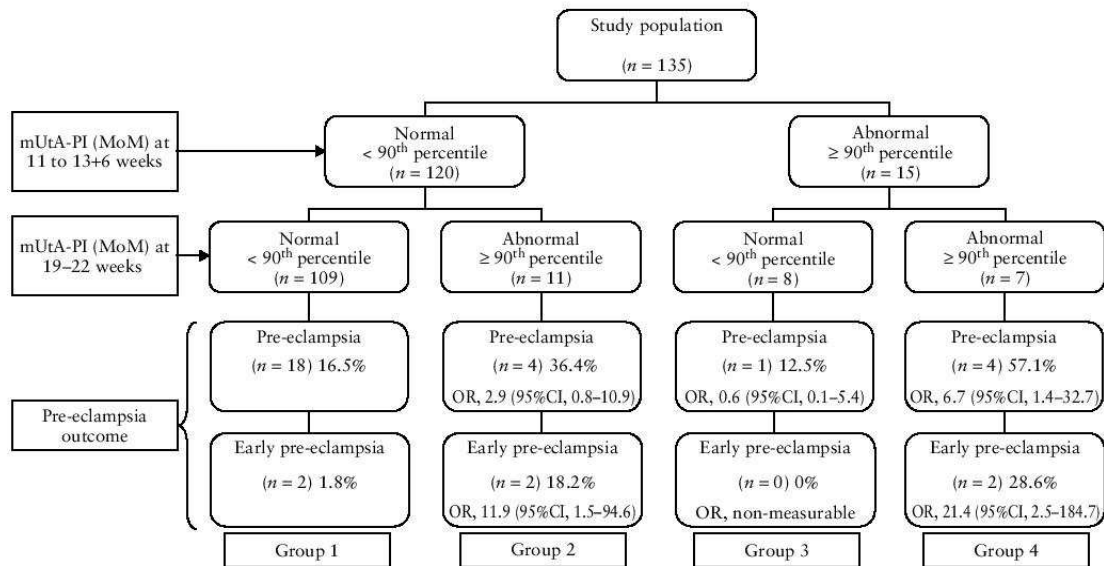


Figure 1 Outcome of our study population of 135 women with singleton pregnancies at high risk for pre-eclampsia, according to uterine artery Doppler in first and second trimesters of pregnancy. Group 4 vs Group 1 for pre-eclampsia, $P < 0.05$ (chi-square test). Group 2 and Group 4 vs Group 1 for early pre-eclampsia, both $P < 0.05$ (chi-square test). Group 1 was the reference group for calculation of odds ratios (OR). MoM, multiples of the median.

Uterine artery changes in pregnancies at high risk for PE

71

Table 1 Characteristics of pregnancies included in the study according to occurrence of late (delivery ≥ 34 weeks) and early (delivery < 34 weeks) pre-eclampsia (PE)

Characteristic	Unaffected (n = 108)	Late PE (n = 21)	Early PE (n = 6)
Maternal age at recruitment (years)	33.1 \pm 4.3	33.3 \pm 3.9	36.7 \pm 4.6
Ethnic group			
Caucasian	88.9	90.5	100
Afro-Caribbean	0.9	0.0	0.0
Hispanic	8.3	9.5	0.0
Arabian	1.9	0.0	0.0
Nulliparous	44.4	33.3	50.0
Body mass index (kg/m ²)	27.0 \pm 5.9	29.5 \pm 9.0	27.4 \pm 6.1
Cigarette smoker	18.5	14.3	0
Family history of PE	4.9	5.0	0
Aspirin intake during pregnancy	39.8	57.1	83.3
Presenting risk factor			
Previous PE/IUGR*	25.9	38.1	66.7
Chronic hypertension	25.0	33.3	50.0
Pregestational DM	11.1	19.0	16.7
Pregestational body mass index > 30 kg/m ²	31.5	33.3	33.3
Renal disease	2.8	4.8	16.7
Autoimmune disease	15.7	14.3	0
Thrombophilia	16.7	19.0	16.7
Two or more factors involved*	25.9	47.6	83.3

Data are presented as mean \pm SD or %. * $P < 0.05$, Fisher's exact test, unaffected *vs* early PE groups. IUGR, intrauterine growth restriction; DM, diabetes mellitus.

Table 2 Pregnancy outcome of the study cohort (n = 135) according to occurrence of late (delivery ≥ 34 weeks) and early (delivery < 34 weeks) pre-eclampsia (PE)

Characteristic	Unaffected (n = 108)	Late PE (n = 21)	Early PE (n = 6)
GA at delivery (weeks)*†	38.1 \pm 2.6	37.4 \pm 2.1	31.2 \pm 2.5
Birth weight (g)*†	3045 \pm 516	2922 \pm 482	1644 \pm 599
Birth weight percentile	53 \pm 30	60 \pm 38	43 \pm 27
Umbilical artery pH	7.26 \pm 0.12	7.23 \pm 0.12	7.13 \pm 0.20
Preterm delivery (< 34 weeks)*†	4 (3.7)	0 (0)	6 (100)
Small-for-gestational age	8 (7.3)	4 (19.0)	1 (16.7)
Placental abruption	1 (0.9)	0 (0)	1 (16.7)
Perinatal death	3 (2.8)	0 (0)	1 (16.7)

Data are presented as mean \pm SD or n (%). * $P < 0.05$, Fisher's exact test, unaffected *vs* early PE groups. † $P < 0.05$, Fisher's exact test, late PE *vs* early PE groups. GA, gestational age.

DISCUSSION

This research further develops the concept that uterine artery Doppler performs differently in women at high risk for PE compared with the general population, and this should be taken into account in the prediction of PE¹³.

The reason for observed differences between these high-risk women and the general population might be related to (1) the tool itself (uterine artery Doppler), (2) the timing of its application (first or second trimester) and/or (3) the intrinsic characteristics of PE in high-risk pregnancies. Regarding the first point (the tool itself: uterine artery Doppler), it has been argued that in women with constitutional predisposition, the vascular remodeling of the spiral arteries could be hampered¹⁴, resulting in higher resistance in the uterine arteries. However, although a significantly higher prevalence of notching

has been found in women with prior PE, resistance was not increased when compared with controls¹⁵. This was further confirmed in our study, in which the distributions of mUtA-PI in the first and second trimesters corresponded well with those described in unselected pregnancies^{5,6}. Therefore, mUtA-PI may be applied in high-risk women as described in the general population⁶.

Regarding the second point (timing), when exploring the feasibility of using uterine artery Doppler in the prediction of PE, the available information reveals that its performance is poorer in high-risk than in low-risk pregnancies, regardless of whether it is used in the first or the second trimester^{13,16,17}. Remarkably, first-trimester values were very similar in normal and PE pregnancies. Our results correlate well with previous reports, showing that late PE cannot be predicted in high-risk women using uterine artery Doppler and finding the sensitivity for the

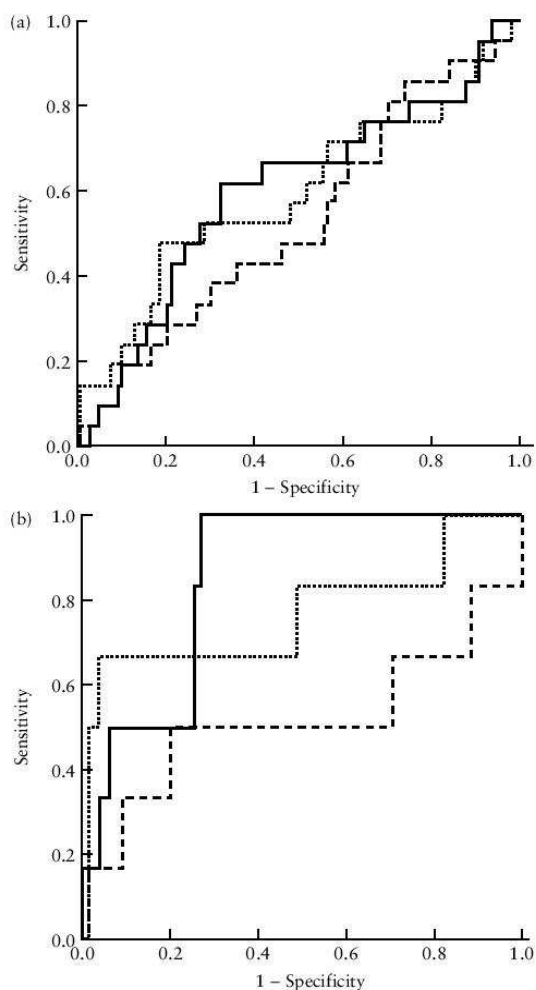


Figure 2 Receiver–operating characteristics (ROC) curves for detection of late pre-eclampsia (a) and early pre-eclampsia (b) using mean uterine artery pulsatility index (mUtA-PI) in multiples of the median (MoM) at first-trimester scan (11–13 weeks’ gestation, —), mUtA-PI in MoM at second-trimester scan (19–22 weeks’ gestation, - - -), and log ratio of second-trimester mUtA-PI in MoM to first-trimester mUtA-PI in MoM (— · —).

prediction of early PE at 90% specificity to be 33% in the first trimester and 66% in the second trimester, below the 50% and 81%, respectively, reported in unselected pregnancies⁷.

There is a consensus that impairment of deep invasion of the myometrial arterial segments after the steep rise in placental oxygen at 10–12 weeks is the most likely mechanism involved in early PE¹⁸. Therefore, the predictive value of sequential strategies assessing changes in uterine artery resistance through the first half of pregnancy has been explored on the basis that these changes should reflect the evolution of this process of deep placentation¹⁹. These models have reported excellent results for the prediction of early PE in the general population^{5,6} but, as far as we know, their performance in high-risk pregnancies has never before been examined.

The semi-quantitative strategy that we applied to our high-risk pregnancies showed that abnormal mUtA-PI in both examinations (Group 4) was associated with the highest risk of developing PE, but in those gestations in which abnormal mUtA-PI in the first trimester had become normal by the second (Group 3) the risk of PE was not increased compared with the group with normal mUtA-PI in both scans (Group 1). This disagrees with studies in low-risk women, in which the abnormal first-trimester but normal second-trimester mUtA-PI group was more predisposed to developing PE⁶. In contrast, in our Group 2 (normal first-trimester but abnormal second-trimester mUtA-PI) there was a substantial increase in risk of having PE, as has also been observed in low-risk women⁶. It should be noted that, given the high-risk nature of our study population, the overall incidence of PE was much higher in all groups when compared with low-risk women. However, when analyzing early PE cases separately, pregnant women with a presumably physiological second wave of trophoblast invasion (Groups 1 and 3) had a very low risk of developing early PE (<2%), an incidence similar to that observed in the general population. However, in patients with presumably impaired trophoblast invasion (Groups 2 and 4), the incidence of early PE was very high (10–20-fold increase) compared with in the general population⁶.

The advantages of taking into account sequential changes in mUtA-PI are best evidenced by our quantitative strategy. With this approach, even in the two cases of

Table 3 Comparison of screening performance for late (delivery ≥ 34 weeks) and early (delivery < 34 weeks) pre-eclampsia (PE) in high-risk pregnancies, by mean uterine artery pulsatility index (mUtA-PI) at first- and second-trimester scans and log ratio of second-to-first-trimester mUtA-PI in multiples of the median (MoM) (log ratio 2T-1T)

Screening test	AUC (mean (95% CI))		Detection rate (%) for 10% FPR		Detection rate (%) for 25% FPR	
	Late PE	Early PE	Late PE	Early PE	Late PE	Early PE
1 st trimester mUtA-PI (MoM)	0.528 (0.391–0.665)	0.517 (0.200–0.833)	14.3	33.3	28.6	50.0
2 nd trimester mUtA-PI (MoM)	0.590 (0.441–0.740)	0.767 (0.484–1.000)	19.0	66.7	47.6	66.7
Log ratio 2T-1T	0.599 (0.458–0.741)	0.853 (0.749–0.956)	19.0	50.0	47.6	100.0

AUC, area under the receiver–operating characteristics curve; FPR, false-positive rate.

early PE with normal mUtA-PI in both examinations, we detected a relative worsening in mUtA-PI (MoM) from the first to the second trimester, by means of the log ratio 2T-1T. Therefore, although measurement in the second trimester seems to be more discriminative in assessing the true risk of early PE in high-risk pregnancies, the first trimester scan also provides valuable information for its prediction. In fact, all cases of early PE were detected by means of log ratio 2T-1T when the false-positive rate was fixed at 25%. Although this cut-off may not seem sufficiently discerning, its utility for screening should be considered, taking into account that the source is already a high-risk population. Therefore, regarding the third point (intrinsic characteristics of PE in high-risk pregnancies), our study shows that the performance of log ratio 2T-1T enables a better reassessment of risk in women with *a priori* high-risk factors for developing early PE, and that defective deep placentation plays a critical role in the pathogenesis of early PE in high-risk women. This is further evidenced by the fact that daily low-dose aspirin intake is most likely to be beneficial for the prevention of PE when it is administered to women at high risk for PE and is started early in pregnancy²⁰.

Despite there being a lack of evidence to demonstrate whether the use of uterine artery Doppler in high-risk pregnancies improves maternal–fetal outcome²¹, expert monitoring of PE patients has been shown to be associated with reduced maternal risk²². However, the limited resources for such monitoring require further selection of the true high-risk patients in order to improve our efficiency. In this sense, we believe that the improved reassignment of risk provided by log ratio 2T-1T may help to redirect resources rationally, focusing attention on the group of patients with increased log ratio 2T-1T but without exposing those with normal results to any increased risk.

We acknowledge two main limitations in our study. First, the sample size was relatively small, a problem common in previous series also. However, it is not easy to recruit pregnancies with true high-risk factors for PE (i.e. those associated with at least a three-fold increase in risk)^{1,2}. It is important to keep in mind the restrictive criteria that were used for inclusion of our patients, with all of them having at least one major risk condition, which were responsible for our high incidence (20%) of PE. Second, in this observational study, the influence of aspirin on the evolution of resistance in the uterine arteries and the incidence of PE cannot be quantified, as aspirin intake was not randomized. However, a clinical trial with aspirin is probably impossible due to ethical concerns derived from the widespread practice of giving aspirin to all pregnant women at high risk for PE.

In conclusion, the application of semi-quantitative and especially quantitative models to evaluate sequential changes in uterine artery Doppler findings between the first and second trimesters could be of additional value in assessing high-risk women regarding their true risk of developing early PE. This information may be useful to improve our prenatal resources and clinical efficiency.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by grant FIS (PI07/0538) from the Spanish Ministry of Health and by a grant from the Fundación Mutua Madrileña (No. 2009/140).

REFERENCES

1. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005; 365: 785–799.
2. Catov JM, Ness RB, Kip KE, Olsen J. Risk of early or severe pre-eclampsia related to pre-existing conditions. *Int J Epidemiol* 2007; 36: 412–419.
3. Poon LCY, Kametas NA, Maiz N, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. *Hypertension* 2009; 53: 812–818.
4. Harrington K. Early screening for pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 37: 623–624.
5. Gómez O, Figueras F, Martínez JM, del Río M, Palacio M, Eixarch E, Puerto B, Coll O, Cararach V, Vanrell JA. Sequential changes in uterine artery blood flow pattern between the first and second trimesters of gestation in relation to pregnancy outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 28: 802–808.
6. Plasencia W, Maiz N, Poon L, Yu C, Nicolaides KH. Uterine artery Doppler at 11+0 to 13+6 weeks and 21+0 to 24+6 weeks in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 32: 138–146.
7. Martin AM, Bindra R, Curcio P, Cicero S, Nicolaides KH. Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler at 11–14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 18: 583–586.
8. Albaiges G, Missfelder-Lobos H, Lees C, Parra M, Nicolaides KH. One-stage screening for pregnancy complications by color Doppler assessment of the uterine arteries at 23 weeks' gestation. *Obstet Gynecol* 2000; 96: 559–564.
9. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy* 2001; 20: IX–XIV.
10. Magee LA, Helewa ME, Moutquin JM, von Dadelszen P. SOGC guidelines: diagnosis, evaluation and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can* 2008; 30 (Suppl): 1–48.
11. Campbell S. First-trimester screening for pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005; 26: 487–489.
12. Figueras F, Meler E, Iraola A, Eixarch E, Coll O, Figueras J, Francis A, Gratacos E, Gardosi J. Customized birthweight standards for a Spanish population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; 136: 20–24.
13. Herraiz I, Arbués J, Camaño I, Gómez-Montes E, Grañeras A, Galindo A. Application of a first-trimester prediction model for pre-eclampsia based on uterine arteries and maternal history in high-risk pregnancies. *Prenat Diagn* 2009; 29: 1123–1129.
14. Roberts JM, Catov JM. Preeclampsia more than 1 disease: or is it? *Hypertension* 2008; 51: 989–990.
15. Prefumo F, Fratelli N, Ganapathy R, Bhide A, Frusca T, Thilaganathan B. First trimester uterine artery Doppler in women with previous pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; 87: 1271–1275.
16. Parretti E, Mealli F, Magrini A, Cioni R, Mecacci F, La Torre P, Periti E, Scarselli G, Mello G. Cross-sectional and longitudinal evolution of uterine artery Doppler velocimetry for the prediction of pre-eclampsia in normotensive women with specific risk factors. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22: 160–165.
17. Nossens JS, Morris RK, Ter RG, Mol BW, van der Post JA, Coomarasamy A, Zwinderman AH, Robson SC, Bindels PJ,

- Kleijnen J, Khan KS. Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis. *CMAJ* 2008; 178: 701–711.
18. Brosens I, Pijnenborg R, Vercruyse L, Romero R. The “great obstetrical syndromes” are associated with disorders of deep placentation. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 204: 193–201.
19. Burton GJ, Woods AW, Jauniaux E, Kingdom JCP. Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta* 2009; 30: 473–482.
20. Bujold E, Roberge S, Lacasse Y, Bureau M, Audibert F, Marcoux S, Forest JC, Guiguère Y. Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2010; 116: 402–414.
21. Stampalija T, Gyte GM, Alfirevic Z. Utero-placental Doppler ultrasound for improving pregnancy outcome. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; 9: CD008363.
22. Menzies J, Magee LA, Li J, MacNab YC, Yin R, Stuart H, Baraty B, Lam E, Hamilton T, Lee SK, von Dadelszen P. Instituting surveillance guidelines and adverse outcomes in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2007; 110: 121–127.

SUPPORTING INFORMATION ON THE INTERNET

The following supporting information may be found in the online version of this article:


 **Figures S1 and S2** Box-and-whisker plots showing distribution of values expressed as multiples of the median (MoM) of mean uterine artery pulsatility index (mUtA-PI) at first-trimester (11–13 weeks’ gestation) and second-trimester (19–22 weeks’ gestation) scan (Figure S1) and showing distribution of log ratio of second-trimester mUtA-PI in MoM to first-trimester mUtA-PI in MoM (log ratio 2T-1T) (Figure S2) in unaffected pregnancies and in those complicated by late and early pre-eclampsia.

Table S1 Regression models used to calculate mean uterine artery pulsatility index (mUtA-PI) expressed as multiples of the median (MoM) adjusted by gestational age at first- and second-trimester scans and log ratio of second- to first-trimester mUtA-PI in MoM (log ratio 2T-1T)⁶.

Segunda publicación (P2): Doppler de arterias uterinas y cociente sFlt-1/PlGF: utilidad para el diagnóstico de la preeclampsia.

Referencia: Gómez-Arriaga PI, Herraiz I, López-Jiménez EA, Gómez-Montes E, Denk B, Galindo A. Uterine artery Doppler and sFlt-1/PlGF ratio: usefulness in diagnosis of pre-eclampsia. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology 2013; 41: 530-537.

DOI: 10.1002/uog.12400

ISSN: 0960-7692

Tipo de estudio: observacional, comparativo, prospectivo.

Nivel de evidencia: II-2

Factor de impacto: 3.557

Categoría: OBSTETRICS & GYNECOLOGY

Posición: 8/78 (Q1) (Journal Citation Report)

Citado por: 4 artículos originales

Resumen de la segunda publicación:

Hipótesis: la utilización del Doppler AUt y del cociente sFlt-1/PlGF puede ser de utilidad para el diagnóstico preciso de la PE, ayudando a optimizar la actitud médica ante una PE.

Objetivos: los objetivos de este estudio son: (1) evaluar la utilidad de la medición automatizada del cociente sFlt-1/PlGF y el IPm-AUt, para confirmar o excluir el diagnóstico de PE cuando se sospecha clínicamente y (2) analizar los valores de ambos marcadores en el momento del diagnóstico de PE.

Métodos: desde noviembre de 2007 hasta Febrero de 2012, aquellas gestantes con sospecha o diagnóstico confirmado de PE atendidas en nuestro centro fueron incluidas en un protocolo de investigación (**Anexo 1** y **Anexo 2**) en el que se evaluó el IPm-AUt y el cociente sFlt-1/PlGF de forma añadida al protocolo convencional de estudio ante un caso de PE. A todas las pacientes se les informó de que los resultados de estas pruebas no influirían en el manejo obstétrico.

La sospecha de PE fue establecida ante la nueva aparición en la segunda mitad de la gestación de cualquiera de los siguientes: (a) hipertensión severa (TA \geq 160/100 mmHg); (b) hipertensión (TA \geq 140/90 mmHg) o proteinuria significativa (>300 mg en orina de 24 horas ó +1 en dos tiras de orina consecutivas) más al menos uno de los siguientes criterios: cefalea persistente, alteraciones visuales, alteración del estado mental, epigastralgia, elevación de enzimas hepáticas o PEG; (c) CIR antes de las 34 semanas.

Todas las pacientes que cumplían los criterios de inclusión fueron tratadas según los protocolos de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO)⁸⁴.

Además, se realizó una única valoración del IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF dentro de un periodo no superior a 10 días antes o después de la confirmación del diagnóstico de PE. En pacientes con sospecha de PE, se realizó una nueva medición del IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF en el momento de la confirmación de la PE.

Se consideraron alterados el IPm-AUt y el cociente sFlt-1/PlGF cuando sus valores se encontraban por encima del percentil 95 (p95) para la edad gestacional^{64,83}. Además, se consideró un valor fijo de 85 en el cociente sFlt-1/PlGF (independientemente de la edad gestacional) como punto de corte fijo para considerar que un test era positivo.

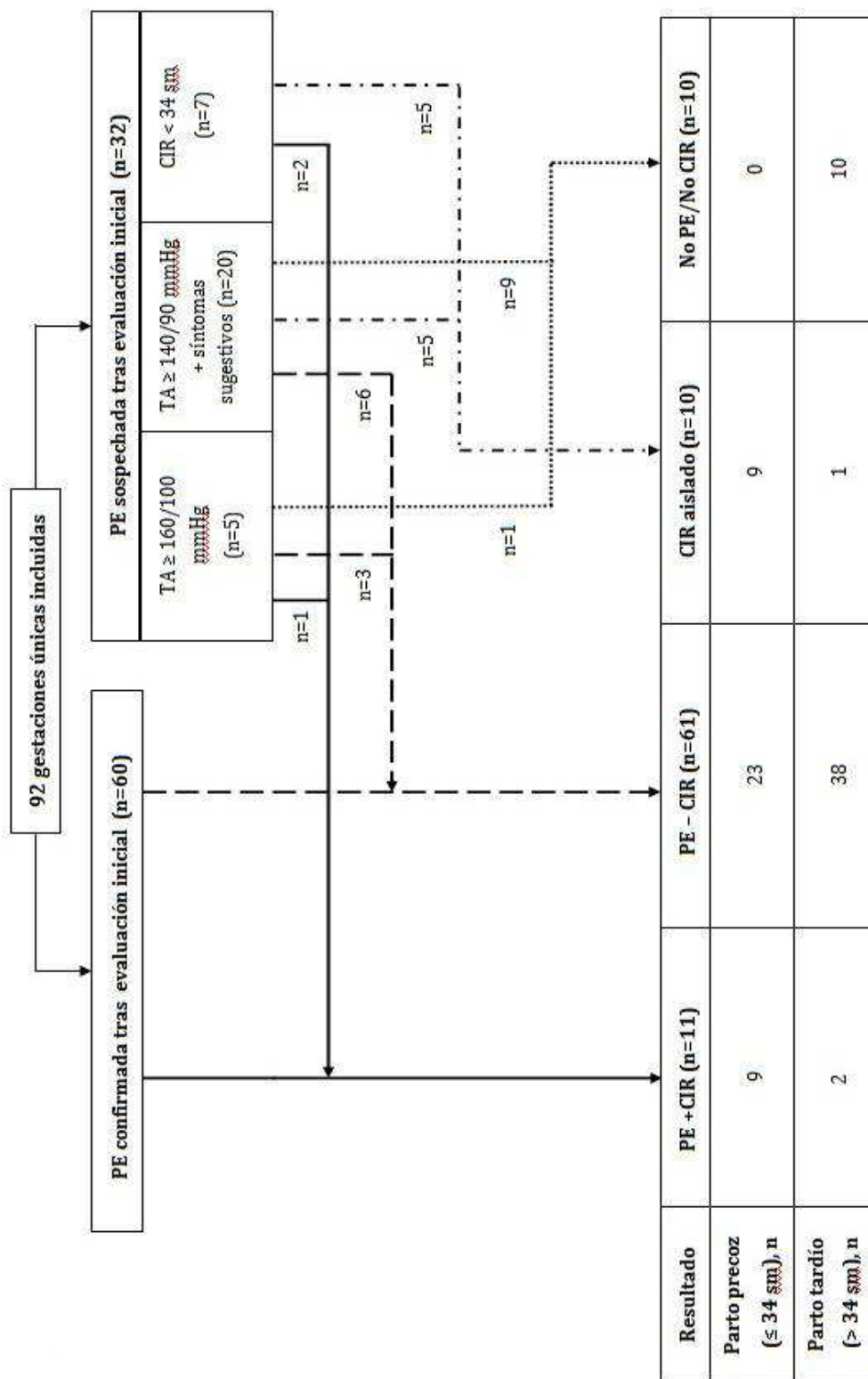
Tras el parto, todas las pacientes fueron clasificados en 4 grupos en función de la presencia (+) o ausencia (-) de PE y/o CIR. A su vez, los casos de PE fueron subclasificados en precoces y tardíos dependiendo de la edad gestacional en el momento del parto (< 34+0 semanas y ≥ 34+0 semanas, respectivamente).

En los casos con diagnóstico confirmado de PE, las comparaciones univariantes entre casos de PE precoz y tardía fueron realizados mediante las pruebas T-Student o Mann-Whitney para las variables continuas y mediante las pruebas de Chi-cuadrado o exacta de Fisher para las variables categóricas. Las comparaciones estadísticas entre los cuatro grupos en función de la presencia o ausencia de PE y/o CIR se realizaron utilizando las pruebas paramétricas (Chi-cuadrado, prueba t de Student, ANOVA de una vía) o no paramétricas (test exacto de Fisher, U de Mann-Whitney, test de Kruskal-Wallis) correspondientes. La significación se estableció para un valor de $p < 0.05$ siendo todas las pruebas de dos colas. Los datos se analizaron usando el programa estadístico SPSS 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, US).

Resultados: en total se evaluaron 92 gestaciones únicas. En la evaluación inicial, la PE fue diagnosticada en 60 gestantes y sospechada en 32. Entre las sospechadas, en 12/32 (37%) la PE fue confirmada posteriormente y en 10/32 (31%) se diagnosticó la presencia de un CIR sin PE. En los otros 10 casos no se confirmó la presencia ni de PE ni de CIR. Por lo tanto, finalmente se incluyeron 72 casos de PE confirmada, 40 de ellos fueron PE tardías y 32 PE precoces. En la **Figura 1-P2** se representa la evolución diagnóstica desde la inclusión hasta al diagnóstico final.

No se encontraron diferencias significativas entre los 4 grupos respecto a las características maternas, excepto por la presencia de una mayor tasa de madres fumadoras en el grupo de PE -/CIR +. La tensión arterial en el momento de la evaluación inicial fue más elevada en las pacientes con PE, aunque solo alcanzó diferencias significativas entre el grupo de PE +/CIR - y los grupos sin PE. La edad gestacional al parto y peso al nacimiento fueron menores en los grupos afectados de CIR. Hubo cuatro muertes fetales intrauterinas, todas ellas en fetos diagnosticados de CIR. En tres casos la muerte fetal ocurrió antes de las 25 semanas y en el otro a las 27+3 semanas con un peso de 415g. Ocurrieron dos muertes neonatales, ambas asociadas a una la prematuridad extrema: una ocurrió en el grupo de PE +/CIR - a las 22+1 semanas y con un peso al nacimiento de 240 g, y la otra en el grupo de PE -/CIR +, a las 23+6 semanas con un peso de 500g. No hubo muertes perinatales en las gestaciones cuyo parto ocurrió $\geq 28+0$ semanas.

Figura 1-P2. Diagrama de flujo que describe la evolución diagnóstica de la población inicial desde el momento de su inclusión en el estudio hasta el diagnóstico final.



PE, preeclampsia; TA, tensión arterial; CIR, crecimiento intrauterino restringido; sm, semanas.

En el análisis del grupo de pacientes con sospecha de PE, la precisión diagnóstica de los valores del IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF para confirmar o excluir el diagnóstico de PE y/o CIR se muestran en la **Tabla 1-P2**.

Tabla 1-P2. Precisión diagnóstica de las diferentes combinaciones del IPm-AUt y el cociente sFlt-1/PlGF para la confirmación de PE y para la confirmación de PE y/o CIR, excluyendo las gestaciones diagnosticadas inicialmente de CIR.

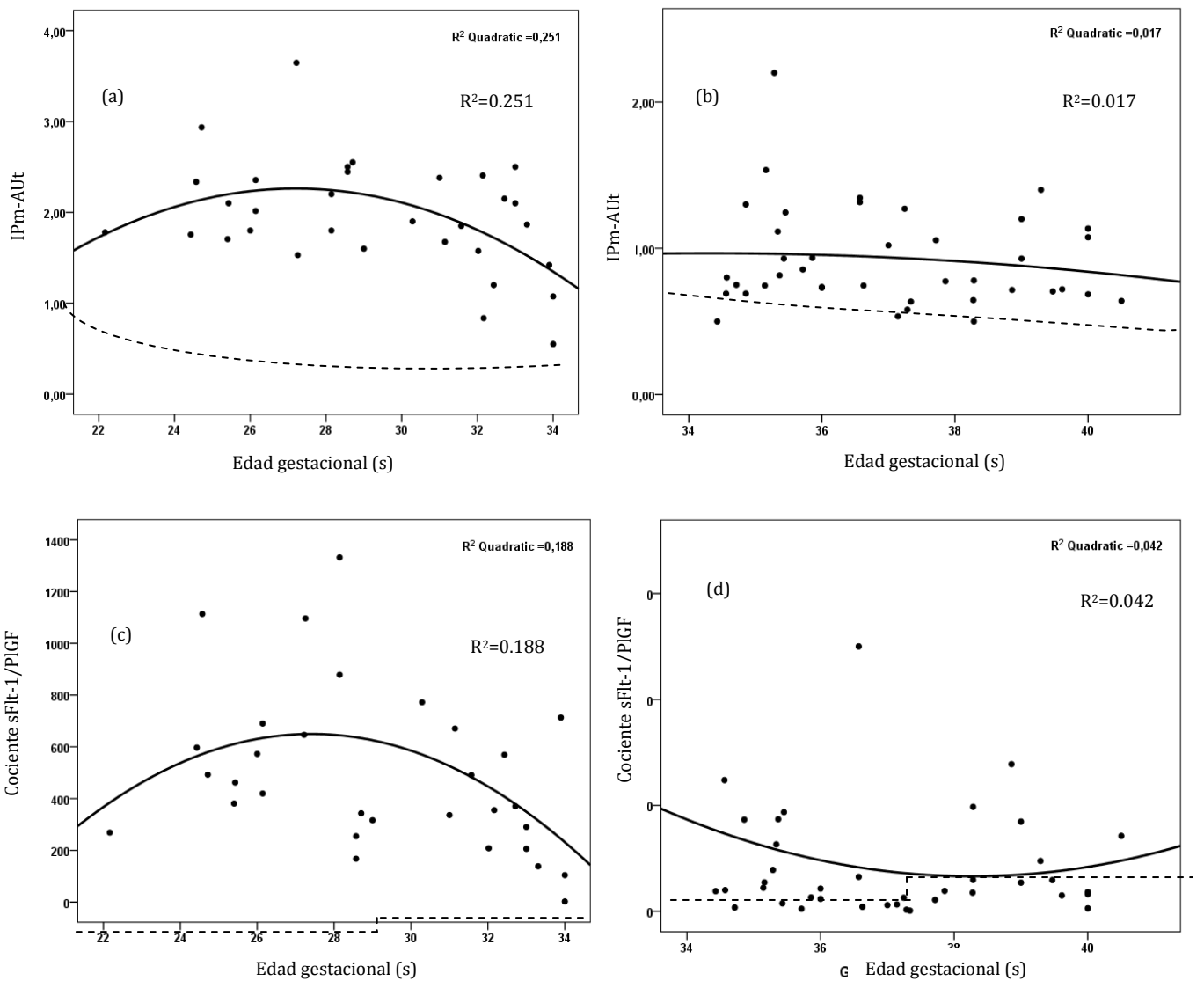
Parámetro	Confirmación de PE y/o CIR				
	Sens (%)	Esp (%)	VPP (%)	VPN (%)	LR+ (IC 95%)
IPm-AUt >p95	60	60	69	50	1.5 (0.6-3.6)
sFlt-1/PlGF >85	53	90	89	56	5.3 (0.8-36.3)
sFlt-1/PlGF >p95	53	100	100	59	10.7 (0.7-165.6)
IPm-AUt o sFlt-1/PlGF > p95	67	60	71	54	1.7 (0.7-3.9)
IPm-AUt y sFlt-1/PlGF >p95	47	100	100	56	9.3 (0.6-146.8)

CIR, crecimiento intrauterino restringido; Esp, especificidad; IPm-AUt, índice de pulsatilidad medio en las arterias uterinas; LR+, likelihood ratio positivo; PE, preeclampsia; Sens, sensibilidad; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo.

En todos los casos de sospecha con cociente sFlt-1/PlGF >p95 se confirmó posteriormente la existencia de PE y/o CIR, si bien casi en el 53% de los casos de PE confirmada de acuerdo con los criterios clásicos el cociente sFlt-1/PlGF era <p95 en el momento de la sospecha. En gestaciones en las que se excluyó PE y CIR, el IPm-AUt presentó valores patológicos en el 40%, mientras que el cociente sFlt-1/PlGF resultó normal en el 100% de los casos.

En el análisis del grupo de 72 pacientes con diagnóstico confirmado de PE, la distribución de los valores del IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF en función de la edad gestacional al parto se representa en la **Figura 2-P2**.

Figura 2-P2. Distribución de los valores del IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF en función de la edad gestacional al parto en las 72 pacientes con diagnóstico confirmado de PE: (a) IPm-AUt en < 34 semanas; (b) IPm-AUt en ≥ 34 semanas; (c) sFlt-1/PlGF en < 34 semanas; (d) sFlt-1/PlGF en ≥ 34 semanas.



Las curvas de mejor ajuste se representan mediante líneas continuas y las líneas punteadas representan el p95 del IPm-Aut⁸⁵ y el p95 del cociente sFlt-1/PlGF²⁴. S:semanas.

Se observaron diferencias significativas entre los casos de PE precoz (n=32) vs. PE tardía (n=40) para los valores de IPm-AUt (1.95 vs. 0.92, p< 0.01) y del cociente sFlt-1/PlGF (508 vs. 95, p< 0.01). La relación entre los valores del IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF y el resultado final se muestran en las **Tablas 3-P2 y 4-P2**.

Tabla 3-P2. Valores del índice de pulsatilidad medio de las arterias uterinas (IPm-AUt) , soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1), placentar growth factor (PlGF) y del cociente sFlt-1/PlGF según el grupo del estudio de aquellas gestantes cuyo parto ocurrió < 34+0 semanas de gestación.

<i>Parámetro</i>	PE(+)/CIR(+) (n=9)	PE(+)/CIR(-) (n=23)	PE(-)/CIR(+) (n=9)	PE(-)/CIR(-) (n=0)	<i>p</i>
IPm-AUt	2.11 (0.43)	1.89 (0.66)	1.86 (0.48)	-	NS
sFlt-1	9668 (3267)	14661 (7367)	6391 (5958)	-	<0.01 ^a
PlGF	23 (12)	49 (72)	58 (71)	-	NS
sFlt-1/PlGF	476 (195)	520 (359)	308 (424)	-	NS
sFlt-1/PlGF >85, n(%)	9 (100)	22 (96)	4 (44)	-	<0.01 ^a y <0.05 ^b
IPm-AUt > p95, n(%)	9 (100)	21 (91)	8 (89)	-	NS
sFlt-1/PlGF > p95, n(%)	9 (100)	22 (96)	6 (67)	-	NS
Ambos > p95, n(%)	9 (100)	20 (87)	6 (67)	-	NS
Al menos uno > p95, n(%)	9 (100)	23 (100)	8 (89)	-	NS

Los datos cuantitativos se expresaron como medias (desviación estándar). PE, preeclampsia; CIR, crecimiento intrauterino restringido; p, percentil. Comparaciones realizadas entre las columnas: ^aPE(+)/CIR(+) vs. PE(+)/CIR(-); ^b PE(+)/CIR(+) vs. PE(-)/CIR(+)

Tabla 4-P2. Valores del índice de pulsatilidad medio de las arterias uterinas (IPm-AUt), soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1), placentar growth factor (PIGF) y el cociente sFlt-1/PIGF según el grupo del estudio de aquellas gestantes cuyo parto ocurrió $\geq 34+0$ semanas de gestación.

<i>Parámetro</i>	PE(+)/CIR(+) (n=2)	PE(+)/CIR(-) (n=38)	PE(-)/CIR(+) (n=1)	PE(-)/CIR(-) (n=10)	<i>p</i>
IPm-AUt	1.03 (0.39)	0.92 (0.34)	1.62 (-)	0.90 (0.30)	NS
sFlt-1	4985 (5109)	7624 (5948)	10644 (-)	4857 (1913)	NS
PIGF	122 (103)	212 (263)	47 (-)	272 (281)	NS
sFlt-1/PIGF	90 (117)	95 (134)	229 (-)	39 (33)	NS
sFlt-1/PIGF > 85, n (%)	1 (50)	11 (29)	1 (100)	1 (10)	NS
IPm-AUt > p 95, n (%)	1 (50)	14 (37)	1 (100)	4 (40)	NS
sFlt-1/PIGF > p 95, n (%)	1 (50)	10 (26)	1 (100)	0 (0)	NS
Ambos > p 95, n (%)	1 (50)	4 (11)	1 (100)	0 (0)	NS
Al menos uno > p 95, n (%)	1 (50)	20 (53)	1 (100)	4 (40)	NS

Los datos cuantitativos se expresaron como medias (desviación estándar). PE, preeclampsia; CIR, crecimiento intrauterino restringido; p, percentil.

En todos los casos de PE cuyo parto ocurrió ≤ 32 semanas (n=22) tanto el IPm-AUt como el cociente sFlt-1/PIGF se encontraban alterados de forma invariable. Sin embargo, entre las 32 y 34 semanas de gestación hubo tres falsos negativos de los 10 casos observados en este periodo: 2/10 (20%) mostraron un IPm-AUt normal y 1/10 (10%) tuvieron un cociente sFlt-1/PIGF normal (1/10). La utilidad clínica tanto del IPm-AUt como del ratio sFlt-1/PIGF más allá de la semana 34 fue limitada en los cuatro grupos del estudio.

Discusión: en el contexto de una sospecha de PE, ninguno de los marcadores estudiados fue de ayuda para confirmar o excluir el desarrollo posterior de una PE.

En el caso del IPm-AUt, el número de falsos positivos fue inaceptablemente elevado en aquellos pacientes que no desarrollaron PE (65%) y en los que no desarrollaron PE ni CIR (40%). Sin embargo, la obtención de un cociente sFlt-1/PlGF $>$ p95 muestra una especificidad muy alta (100%) para el diagnóstico de PE y/o CIR, aunque con una baja sensibilidad (53%). Estos resultados no mejoraron con la combinación de ambos marcadores. Por lo tanto, en el contexto de una sospecha de PE, solamente la obtención de un cociente sFlt-1/PlGF elevado podría tener utilidad diagnóstica⁷⁰, aunque no nos permite diferenciar entre PE y CIR.

En los casos de PE confirmada, nuestro principal hallazgo es que la PE precoz se asocia de forma prácticamente invariable con valores elevados del cociente sFlt-1/PlGF y del IPm-AUt, pero dichas asociaciones se vuelven débiles cuando el diagnóstico de PE se realiza después de la semana 34⁸⁶. Por tanto, estos marcadores pueden resultar de interés para confirmar o descartar el diagnóstico de PE en formas atípicas de PE o en pacientes con enfermedades predisponentes en las que el diagnóstico diferencial puede plantear dudas.

Otro hallazgo de este estudio es la observación de valores muy elevados del cociente sFlt-1/PlGF en casos con CIR precoz sin PE, aunque los niveles de sFlt-1 son menores que en los casos de PE precoz. Esto es probablemente debido a que ambas entidades (PE y CIR precoz) comparten como sustrato patogénico una placentación insuficiente que da lugar a un desequilibrio angiogénico. Además, el cociente sFlt-1/PlGF no nos permitió diferenciar entre la presencia o ausencia de CIR tras el diagnóstico de una PE precoz y, por ello, en todos estos casos la biometría fetal así como la realización de un estudio Doppler sigue siendo imprescindible.

Las principales limitaciones de este estudio son, en primer lugar, el reducido tamaño muestral de casos de PE incluidos, lo que impide establecer la distribución

precisa del IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF al diagnóstico en función de la edad gestacional. En segundo lugar, la determinación del cociente sFlt-1/PlGF se realizó de forma transversal en el momento del diagnóstico y no se pueden extraer conclusiones acerca de la evolución del cociente sFlt-1/PlGF y el desarrollo de la PE. En tercer lugar, dado que es un estudio observacional, no es posible extrapolar conclusiones firmes acerca de las ventajas clínicas derivadas del empleo de estos marcadores.

Conclusión: nuestro estudio proporciona nueva información sobre las implicaciones del IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF $>p95$ en el momento del diagnóstico de PE que puede ser de utilidad para el diseño de nuevas estrategias para implementar estos marcadores en la práctica clínica diaria, principalmente concentrándose en la PE precoz, en la que ha demostrado unos mejores resultados. Asimismo, este artículo arroja luz sobre el concepto cada vez más consolidado de que la elevación del cociente sFlt-1/PlGF no es indicativo inequívocamente de la existencia de una PE sino que es un marcador de alteración placentaria y en este sentido, este estudio ha constatado la alteración del cociente también en las gestaciones complicadas con CIR pero sin PE.

Publicación 2

Ultrasound Obstet Gynecol 2013; 41: 530–537
Published online 11 April 2013 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.12400

Uterine artery Doppler and sFlt-1/PlGF ratio: usefulness in diagnosis of pre-eclampsia

P. I. GÓMEZ-ARRIAGA*, I. HERRAIZ*, E. A. LÓPEZ-JIMÉNEZ†, E. GÓMEZ-MONTES*, B. DENK‡ and A. GALINDO*

*Fetal Medicine Unit-SAMID, Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario '12 de Octubre', Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain; †Department of Clinical Biochemistry, Hospital Universitario '12 de Octubre', Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain; ‡Roche Diagnostics, Clinical Operations, Professional Diagnostics, Penzberg, Germany

KEYWORDS: diagnosis; placental growth factor; pre-eclampsia; soluble fms-like tyrosine kinase 1; uterine arteries

ABSTRACT

Objective To evaluate the usefulness of the mean pulsatility index of the uterine arteries (mPI-UtA) and automated measurement of the soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1)/placental growth factor (PlGF) ratio on suspicion or at diagnosis of pre-eclampsia (PE).

Methods Patients with singleton pregnancies with PE (n = 60) diagnosed according to current recommendations, or with suspected PE (n = 32) defined by (1) blood pressure (BP) $\geq 160/100$ mmHg, (2) BP $\geq 140/90$ mmHg or proteinuria, together with suggestive clinical symptoms or (3) intrauterine growth restriction (IUGR) at $< 34 + 0$ weeks, were enrolled and mPI-UtA and the sFlt-1/PlGF ratio were measured. Values $> 95^{\text{th}}$ centile were considered abnormal. All cases were classified according to occurrence of PE and/or IUGR and sub-classified, depending on gestational age at delivery, as early ($< 34 + 0$ weeks) or late ($\geq 34 + 0$ weeks).

Results PE was confirmed in 72 cases, in which 32 early deliveries occurred. Isolated IUGR was diagnosed in nine early cases and one late case, while the remaining 10 cases were late deliveries without PE or IUGR. In pregnancies in which PE and IUGR were excluded, mPI-UtA was abnormal in 40% but the sFlt-1/PlGF ratio was normal in 100%. In early PE, mPI-UtA at diagnosis was abnormal in 100% of cases with IUGR and in 91% without IUGR, while sFlt-1/PlGF was abnormal in 100% and 96%, respectively. In late PE, mPI-UtA was abnormal in 50% and 37% of cases with and without IUGR while the sFlt-1/PlGF ratio was abnormal in 50% and 26%, respectively.

Conclusion Abnormal mPI-UtA and sFlt-1/PlGF ratio are common in early PE. In late PE, mPI-UtA is normal

in most cases and thus not diagnostically useful. The sFlt-1/PlGF ratio shows high specificity but low sensitivity to confirm PE when suspected. Copyright © 2013 ISUOG. Published by John Wiley & Sons Ltd.

INTRODUCTION

Pre-eclampsia (PE) is a heterogeneous multisystem disorder in pregnancy, characterized by the occurrence of endothelial damage in multiple organs. Despite the fact that many research groups worldwide have focused attention on this condition, aiming to clarify its underlying pathogenic basis and to establish suitable diagnostic criteria, the pathophysiology of PE is still largely unknown and clinicians often face difficulties in diagnosing it.

The etiology of PE remains elusive, although a current hypothesis attributes endothelial dysfunction to an impaired placentation resulting in excessive release of anti-angiogenic factors (soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1)) in the maternal circulation which capture free pro-angiogenic factors (vascular endothelial growth factor and placental growth factor (PlGF))¹.

Current criteria for diagnosing PE are based on non-specific signs (new onset of hypertension and proteinuria in the second half of pregnancy), which may be measured inaccurately or even absent^{2,3} at clinical presentation, leading to delayed or false-positive diagnoses and potentially compromising maternal and fetal safety^{4,5}. Furthermore, diagnostic criteria do not take into account the gestational age at presentation, which is certainly a criterion of severity^{6,7}. In addition, differential diagnosis may be difficult in pregnant women with pre-existing diseases that mimic the key symptoms of PE. Therefore, identification of easily available additional markers based on the etiology of the disease could be clinically useful in

Correspondence to: Prof. A. Galindo, Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario '12 de Octubre', Avda Córdoba s/n, Madrid 28041, Spain (e-mail: agalindo.hdoc@salud.madrid.org)

Accepted: 9 December 2012

diagnosing reliably PE. Promisingly, a single cut-off of 85 for the sFlt-1/PlGF ratio was found to have a high degree of accuracy for diagnosis of PE throughout pregnancy⁸.

The aims of this study were 1) to evaluate the usefulness of automated measurement of the sFlt-1/PlGF ratio^{8,9} and uterine artery Doppler, a well-known surrogate marker of placental development but rarely tested at the time of diagnosis^{10,11}, for confirming or ruling out PE when clinically suspected and, 2) to evaluate the performance of both variables at different gestational ages with respect to confirmed outcomes.

METHODS

Study population

From November 2007 to February 2012, women attending our center with singleton pregnancies with suspected or confirmed PE were enrolled. The women recruited until March 2011 have been included also in a European multicenter research project evaluating automated determination of the sFlt-1/PlGF ratio⁸. Subsequently, and in order to expand the cohort of preterm cases, 19 additional pregnant women with suspected or confirmed PE at < 34 + 0 weeks' gestation were actively recruited using the same inclusion criteria. Exclusion criteria were the presence of fetal congenital malformations or chromosomal abnormalities and loss to follow-up. The study was approved by the local ethics committee.

Recruitment of subjects

Pregnant women presenting for suspected or confirmed PE and fulfilling the inclusion criteria were invited to participate in a research study involving Doppler assessment of the uterine arteries and angiogenic state (sFlt-1/PlGF ratio) in addition to standard care. All patients were informed that results of these tests would not influence their obstetric management and they gave written, informed consent before participation.

PE and its severity were diagnosed according to the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP) definition¹² and intrauterine growth restriction (IUGR) was defined as a small-for-gestational age (SGA) neonate in conjunction with a Doppler pulsatility index (PI) in the umbilical artery above the 95th centile¹³. SGA was defined as a birth weight < 10th centile for gestational age. Birth weight was converted into a centile after correction for gestational age at delivery and sex of the neonate, according to local charts¹⁴. The calculation of gestational age was derived from the crown-rump length measured at the 11 + 0 to 13 + 6-week scan or from the biparietal diameter if the first scan was performed later¹⁵.

Suspicion of PE was always established in the second half of pregnancy according to three different scenarios: (1) new-onset severe hypertension (blood pressure $\geq 160/100$ mmHg); (2) new-onset hypertension (blood pressure $\geq 140/90$ mmHg) or proteinuria together

with the presence of at least one of the following: persistent headache, visual disturbances, altered mental status, epigastric pain, abnormal liver enzymes or SGA fetus; (3) IUGR at < 34 + 0 weeks' gestation. In all cases of suspected PE, confirmation of PE was made according to the abovementioned criteria.

Measurements

At recruitment, all pregnant women underwent a standard work-up consisting of blood pressure determination, quantification of protein excretion and a complete laboratory evaluation including hemogram, coagulation profile and serum determination for uric acid, creatinine, albumin, lactic acid dehydrogenase and liver enzymes in maternal peripheral blood. Fetal surveillance was by ultrasound assessment of fetal growth, amniotic fluid volume and Doppler assessment of the umbilical arteries and, in pregnancies of > 24 + 0 weeks, also by fetal heart rate tracing.

In addition, Doppler recordings of the maternal uterine arteries and an extra sample of maternal blood to determine the levels of sFlt-1 and PlGF were obtained. Measurements for final analysis of PE cases were all acquired within 10 days before or after PE was confirmed. In patients in whom PE was initially only suspected, a new Doppler assessment of the uterine arteries was performed and the sFlt-1/PlGF ratio determined when PE was later confirmed, and these were the results used for final analysis of all confirmed cases of PE.

Measurements of the uterine artery Doppler waveform were carried out by experienced sonographers with high-quality equipment (Siemens-Antares (Siemens Medical Solutions, Mountain View, CA, USA) or Voluson E8 (GE Medical Systems, Zipf, Austria)) by means of transabdominal ultrasound examination as previously reported¹⁶. The PI was measured, and the mean PI of both uterine arteries (mPI-UtA) was calculated.

Maternal blood was collected by venipuncture in tubes without anticoagulant. After clotting, samples were centrifuged at 2000 g and serum was pipetted and stored at -80°C until testing. The sFlt-1 and PlGF concentrations of each sample were determined in parallel. Single measurements were performed using an automated assay system (Elecys[®] or Cobas[®] 6000 e701 module, Roche Diagnostics, Penzberg, Germany) for sFlt-1 (Elecys sFlt-1, sFlt-1) and PlGF (Elecys PlGF, human PlGF). For each sample, the sFlt-1/PlGF ratio (value of sFlt-1 measured in pg/mL divided by the value of PlGF measured in pg/mL) was calculated and expressed in absolute values.

Reference and cut-off values

Both abnormal mPI-UtA and the sFlt-1/PlGF ratio were defined as values above the 95th centile for gestational age, according to previously described reference values from normal pregnancies^{8,17}. As a reference, the 95th centiles at 28, 32 and 36 weeks for mPI-UtA are 1.17, 1.04 and 0.95,

respectively, and for the sFlt-1/PlGF ratio they are 17, 86 and 92, respectively. In addition, a fixed (independent of gestational age) value of 85 for the sFlt-1/PlGF ratio was also used as the cut-off for a positive test as previously described⁸.

Outcomes

Maternal and/or fetal indications for expeditious delivery (<48 hours) at <34+0 weeks were severe PE plus one additional criterion of clinical worsening¹⁸. Immediate delivery was also indicated in severe PE at ≥ 34 weeks, while in milder forms expectant management was recommended until 37+0 weeks.

All recruited patients were classified after delivery into four groups according to the occurrence or absence of PE and/or IUGR. Following current recommendations⁵ PE and IUGR were subclassified as either early or late according to gestational age at delivery (<34+0 weeks and $\geq 34+0$ weeks, respectively).

Statistical analysis

In the subgroup of patients with suspected PE at recruitment, diagnostic accuracy of the mPI-UtA and sFlt-1/PlGF ratio for confirmation of only PE and PE and/or IUGR, using selected cut-offs, was evaluated in terms of sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and positive likelihood ratio.

In cases with a final diagnosis of PE, comparisons between early and late PE were made with an unpaired *t*-test or chi-square test as appropriate. Scatterplots were produced for mPI-UtA and sFlt-1/PlGF values against gestational age at delivery in cases of early and late PE.

In the entire group of patients, comparisons between the four final outcome groups (PE with IUGR (PE+/IUGR+), PE without IUGR (PE+/IUGR-), isolated IUGR (PE-/IUGR+) and suspected but not confirmed PE (PE-/IUGR-)) were made using one-way ANOVA with post-hoc Bonferroni testing for continuous variables, and chi-square or Fisher's exact test with Bonferroni correction for categorical variables. *P*-values for all tests were two-sided and the criterion for statistical significance was *P* < 0.05. Data were analyzed using the statistical package SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTS

Overall, 92 pregnancies were evaluated. At initial examination, PE was present in 60 cases and suspected in 32; in 12/32 (37%) of these patients PE was later confirmed, in 10/32 (31%) patients IUGR without PE was diagnosed, and in the remaining 10 neither PE nor IUGR were found. Therefore, a total of 72 women with singleton pregnancies with confirmed PE were enrolled, of whom 40 had late PE and 32 early PE. A flow-chart showing the process from initial recruitment to final outcome assignment is presented in Figure 1.

Prenatal characteristics and postnatal results of the study population according to final outcome are presented in Table 1. No significant differences were found among the four outcome groups concerning main baseline maternal characteristics, except a higher proportion of smokers was found in the PE-/IUGR+ group. As expected, blood pressure at recruitment was more elevated in those with a final diagnosis of PE, although significant differences were reached only between the PE+/IUGR- group and the groups without PE. Gestational age at delivery and birth weight were much lower in groups with IUGR fetuses. There were four stillbirths (all affected by IUGR, three delivered before 25 weeks and one delivered at 27+3 weeks, weighing only 415 g) and two neonatal deaths (both associated with extreme prematurity: one in the PE+/IUGR- group, delivered at 22+1 weeks, weighing 240 g, and the other in the PE-/IUGR+ group, delivered at 23+6 weeks, weighing 500 g). There were no perinatal deaths in pregnancies delivered at $\geq 28+0$ weeks and no maternal deaths in the entire study group.

We analyzed separately the subgroup of 32 patients enrolled with suspicion of PE. The diagnostic accuracy of mPI-UtA and the sFlt-1/PlGF ratio for confirming or ruling out PE only and PE and/or IUGR in these cases is shown in Table 2. None of the markers or their combinations allowed confirmation of PE. However, the finding of a sFlt-1/PlGF ratio > 95th centile demonstrated 53% sensitivity and 100% positive predictive value to confirm PE and/or IUGR (when this cut-off was reached at the time of suspicion, diagnosis of PE and/or IUGR was subsequently confirmed in all cases) with 100% specificity (sFlt-1/PlGF was normal in all pregnancies in which PE and IUGR were definitively excluded).

We then studied the subgroup of 72 patients with a confirmed diagnosis of PE. The distribution of mPI-UtA and sFlt-1/PlGF ratio values according to gestational age at delivery in early and late PE is shown in Figures 2 and 3. When comparing early and late PE, early cases exhibited higher mean values of mPI-UtA (1.95 vs 0.92, respectively; *P* < 0.01) and sFlt-1/PlGF (508 vs 95, respectively; *P* < 0.01). The mPI-UtA Doppler was abnormal in 30/32 (94%) and 15/40 (38%) cases in early and late PE, respectively (*P* < 0.01). Similarly, the sFlt-1/PlGF ratio was abnormal in 31/32 (97%) and 11/40 (28%) cases, respectively (*P* < 0.01).

Finally, we analyzed all patients according to definitive outcome. The mPI-UtA values and angiogenic factors in each outcome group according to gestational age at delivery (< or $\geq 34+0$ weeks) are shown in Tables 3 and 4. Pregnancies delivered at <34+0 weeks were all affected by PE and/or IUGR and non-significant differences were found among groups with respect to most of the studied markers (Table 3). The only exception was significantly higher values of sFlt-1 in the PE+/IUGR- group compared with the PE-/IUGR+ group, and there was also a non-significant trend toward lower values of PlGF in the PE+/IUGR+ group. As a result, the sFlt-1/PlGF ratio was not discriminatory between IUGR and

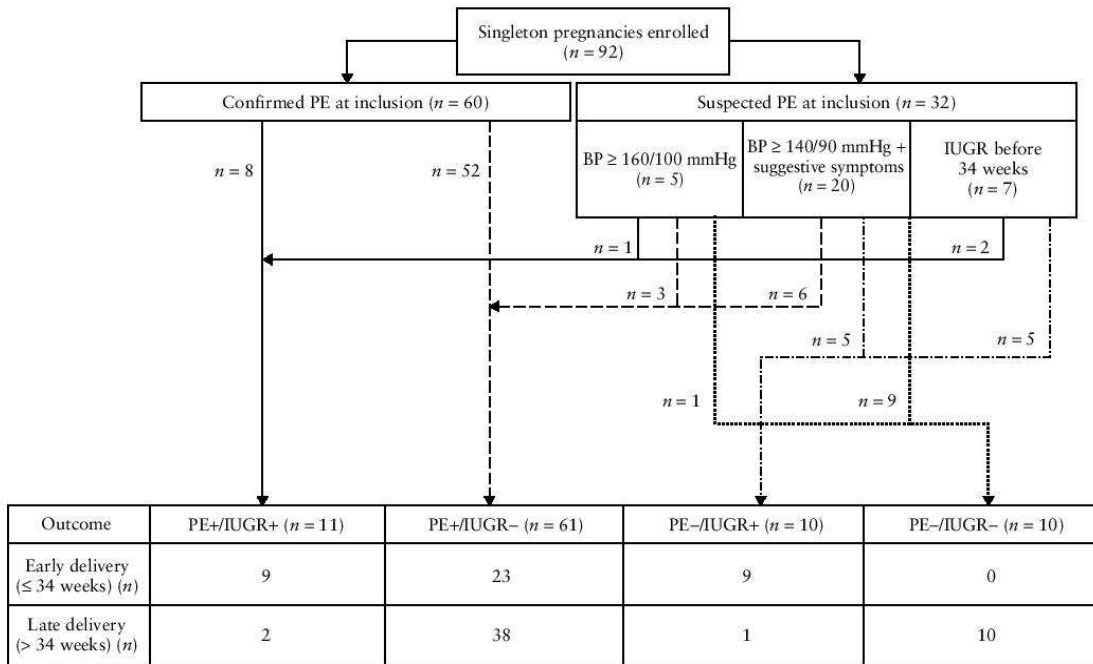


Figure 1 Flow chart describing study population from initial status at enrolment with suspected or confirmed pre-eclampsia (PE) to final outcome assignment, according to occurrence of PE and intrauterine growth restriction (IUGR). BP, blood pressure.

PE in early cases. Either mPI-UtA or the sFlt-1/PlGF ratio was abnormal in all early PE cases (n = 32) but, while both markers were abnormal in all cases in the PE+/IUGR+ group, 9% of cases (2/23) in the PE+/IUGR- group had a normal mPI-UtA and 4% (1/23) had a normal sFlt-1/PlGF ratio. Interestingly, in all cases of PE with delivery at ≤ 32 weeks (n = 22) both sFlt-1/PlGF and mPI-UtA values were abnormal. The three false-negative cases were observed among women delivering between 32 and 34 weeks; in this 2-week period of early PE, 20% had a normal mPI-UtA (2/10) and 10% had a normal sFlt-1/PlGF ratio (1/10). In women delivering at ≥ 34 + 0 weeks, no significant differences were found in values of any of the parameters among the four outcome groups.

DISCUSSION

In the setting of suspected PE, none of the studied markers was helpful in confirming or excluding the final diagnosis of PE. In the case of mUtA-PI, false-positive measurements were unacceptably high in those patients who did not develop PE (65%) and in those without PE or IUGR (40%). However, the finding of a sFlt-1/PlGF ratio > 95th centile was shown to have high specificity but low sensitivity for the diagnosis of PE and/or IUGR since it was normal in all patients of the final outcome subgroup of PE-/IUGR- and only false-positive results for the confirmation of PE were observed in the final

outcome subgroup of PE-/IUGR+. These results were not improved by the combination of mPI-UtA and sFlt-1/PlGF. Therefore, in the setting of suspected PE, only the sFlt-1/PlGF ratio may be diagnostically useful¹⁹, although in our experience it does not allow differentiation between the outcomes of PE and IUGR.

In the setting of confirmed PE, our main finding is that either abnormal mPI-UtA and/or sFlt-1/PlGF values are seen consistently in early PE, but that this association becomes weaker beyond 34 weeks. Certainly, in late pregnancy the measurement of the mPI-UtA was not useful for ruling out PE, which corresponds with accumulating evidence demonstrating that defective placentation plays a limited role in the pathogenesis of late PE^{6,20}. Similarly, the angiogenesis-related factors showed poor sensitivity for the diagnosis of late PE, while demonstrating very high specificity²¹. Certainly, after 34 weeks, both the single cut-off of 85 and the 95th centile of the sFlt-1/PlGF ratio were suboptimal. This concern has been previously raised, leading some to propose a revision of these cut-offs²¹.

In early PE, however, values above the 95th centile of at least one marker (mPI-UtA or sFlt-1/PlGF) should be expected. Although in very early cases both markers are always abnormal, providing the opportunity to use them interchangeably, it is in the latter weeks of the early period (weeks 32–34) that the complementary role of these parameters becomes more evident, given the false-negative results that can be obtained with either one of them. In this sense, it seems that, as pregnancy advances,

Table 1 Maternal and perinatal characteristics of the study population according to occurrence of pre-eclampsia (PE) and intrauterine growth restriction (IUGR)

Characteristic	PE+/IUGR+ (n = 11)	PE+/IUGR- (n = 61)	PE-/IUGR+ (n = 10)	PE-/IUGR- (n = 10)	P
Baseline					
Maternal age at recruitment (years)	31.1 ± 5.2	31.5 ± 5.8	31.1 ± 5.9	31.2 ± 6.4	NS
Pregestational BMI (kg/m ²)	26.6 ± 4.1	27.5 ± 6.6	25.8 ± 6.0	26.6 ± 5.7	NS
Race or ethnic group					
Caucasian	8 (73)	40 (66)	10 (100)	5 (50)	
Afro-Caribbean	1 (9)	7 (11)	0 (0)	1 (10)	
Hispanic	2 (18)	9 (15)	0 (0)	3 (30)	NS
Arabian	0 (0)	4 (7)	0 (0)	0 (0)	
Asian	0 (0)	1 (2)	0 (0)	1 (10)	
Nulliparous	4 (36)	29 (48)	7 (70)	7 (70)	NS
Cigarette smoker	0 (0)	4 (7)	6 (60)	0 (0)	< 0.01†
Aspirin intake during pregnancy	1 (9)	3 (5)	1 (10)	0 (0)	NS
<i>In-vitro</i> fertilization	0 (0)	1 (2)	1 (10)	1 (10)	NS
Medical history					
Previous PE	1 (9)	5 (8)	0 (0)	1 (11)	NS
Previous IUGR	2 (18)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	NS
Chronic hypertension	1 (9)	9 (15)	1 (10)	3 (30)	NS
Pregestational diabetes mellitus	0 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	NS
Renal disease	0 (0)	2 (3)	1 (10)	0 (0)	NS
Blood pressure at recruitment (mmHg)					
Systolic	157.8 ± 18.6	159.2 ± 16.8	139.8 ± 28.6	145.6 ± 12.6	0.01‡
Diastolic	94.4 ± 7.8	97.9 ± 10.4	81.6 ± 18.0	86.3 ± 11.0	0.02‡, < 0.01§
Perinatal outcome					
Gestational age at delivery (weeks)	28.6 ± 3.9	34.5 ± 4.2	28.2 ± 4.1	38.9 ± 1.2	0.01§, < 0.01¶¶**
Delivery before 34 weeks	9 (82)	23 (38)	9 (90)	0 (0)	< 0.01¶¶**
Birth weight (g)	890.8 ± 153.0	2253.20 ± 944.3	852 ± 337.5	3196 ± 402.0	< 0.01‡§¶**
Birth weight (centile)	3.3 ± 3.5	39.0 ± 32.7	1.7 ± 2.2	58.1 ± 25.7	< 0.01‡¶¶**
SGA	11 (100)	14 (23)	10 (100)	1 (10)	< 0.01‡¶¶**
5-min Apgar score < 7*	1 (9)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	NS
Umbilical artery pH < 7.00*	0 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	NS
Stillbirth	2 (18)	0 (0)	2 (20)	0 (0)	NS
Neonatal death	0 (0)	1 (2)	1 (10)	0 (0)	NS

Data are expressed as mean ± SD or n (%). *In liveborn fetuses. Data were compared across all columns: †PE-/IUGR+ vs all other groups; ‡PE-/IUGR+ vs PE+/IUGR-; §PE-/IUGR- vs PE+/IUGR-; ¶PE-/IUGR- vs PE-/IUGR+ and PE+/IUGR+; **PE+/IUGR- vs PE+/IUGR+. BMI, body mass index; NS, not significant; SGA, small-for-gestational age.

Table 2 Diagnostic accuracy of different combinations of mean pulsatility index of the uterine arteries (mPI-UtA) and soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1/PlGF) values for confirmation of pre-eclampsia (PE) and confirmation of PE and/or intrauterine growth restriction (IUGR)

Parameter	Confirmation of PE* (n = 32)					Confirmation of PE and/or IUGR† (n = 25)				
	Sn (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	LR+ (95% CI)	Sn (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	LR+ (95% CI)
mPI-UtA > 95 th centile‡	58	35	35	58	0.9 (0.5–1.6)	60	60	69	50	1.5 (0.6–3.6)
sFlt-1/PlGF ratio > 85	50	70	50	70	1.7 (0.7–4.0)	53	90	89	56	5.3 (0.8–36.3)
sFlt-1/PlGF ratio > 95 th centile‡	50	65	46	68	1.4 (0.6–3.3)	53	100	100	59	10.7 (0.7–165.6)
Either mPI-UtA or sFlt-1/PlGF ratio > 95 th centile‡	67	35	38	64	1.0 (0.6–1.7)	67	60	71	54	1.7 (0.7–3.9)
Both mPI-UtA and sFlt-1/PlGF ratio > 95 th centile‡	42	65	42	65	1.2 (0.5–2.9)	47	100	100	56	9.3 (0.6–146.8)

*In all patients with suspected PE, based on BP ≥ 160/100 mmHg, BP ≥ 140/90 mmHg plus suggestive symptoms or IUGR before 34 weeks. †In patients with suspected PE excluding those already diagnosed with IUGR. ‡According to gestational age. LR+, positive likelihood ratio; mPI-UtA, mean pulsatility index of both uterine arteries; NPV, negative predictive value; PlGF, placental growth factor; PPV, positive predictive value; sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase; Sn, sensitivity; Sp, specificity.

the diagnostic performance of these tools becomes weaker, a trend that is even more evident in late pregnancy. It is worth noting that in early PE the sFlt-1/PlGF ratios were so high that there was hardly any overlap with the values described in normal pregnancies⁸. This explains why the

cut-off of 85 yielded results in early pregnancy similar to those obtained using the 95th centile, although the former is a stricter cut-off at this stage of pregnancy and the 95th centile should, theoretically, better allow detection of small but significant deviations from the normal range.

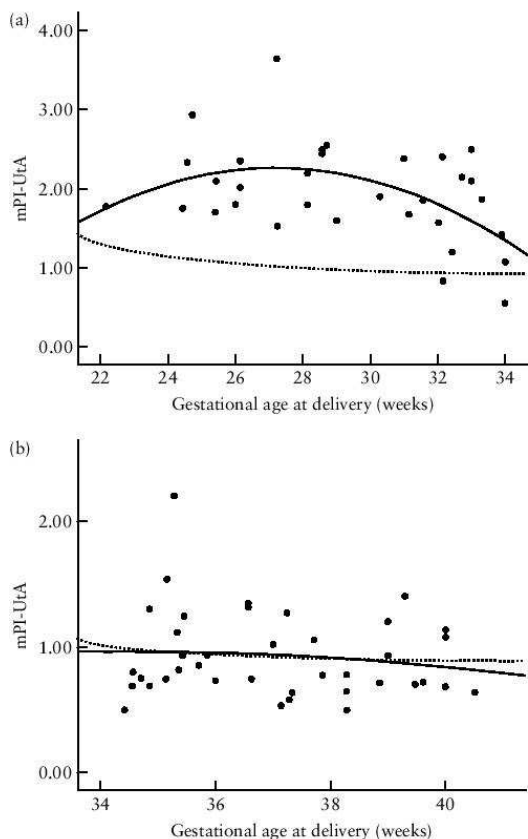


Figure 2 Scatterplots showing distribution of individual values of mean pulsatility index of both uterine arteries (mPI-UtA) in 72 cases of pre-eclampsia, obtained from Doppler examination at diagnosis (± 10 days), in relation to gestational age at delivery, for pregnancies with delivery at: (a) $< 34 + 0$ weeks and (b) $\geq 34 + 0$ weeks. Lines of best fit are represented by solid curves ((a) $R^2 = 0.251$; (b) $R^2 = 0.017$). Dotted curves show 95th centile of mPI-UtA according to gestational age for a reference population¹⁷.

These findings are of particular interest in the clinical assessment of women with very early preterm pregnancies presenting with atypical or superimposed forms of PE. In this scenario, a first-step measurement of the mPI-UtA is a reasonable choice when a trained sonographer is available, since this is an easy-to-perform and non-invasive test. If the mPI-UtA is normal, the diagnosis of PE should be questioned. If the mPI-UtA is either abnormal or not obtainable, or if doubts persist, we propose that the automated measurement of the sFlt-1/PlGF ratio be performed, with the result currently being available in less than 20 min^{8,22}. The results may reflect three main situations. First, if the ratio is increased far beyond the 95th centile (e.g. *c.* 600) it is highly likely that a placenta-related complication leading to spontaneous delivery or requiring induced delivery before 34 weeks will be diagnosed, thereby calling for measures to improve maternal and fetal outcome^{23,24}. Such high values have

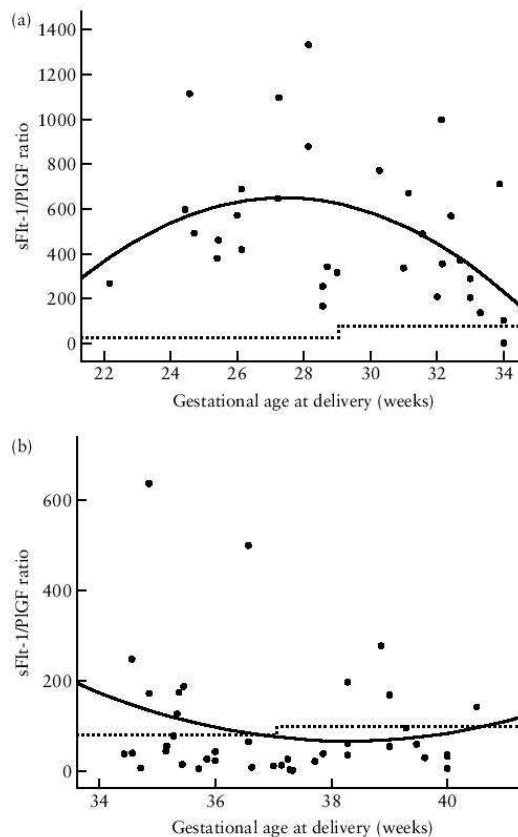


Figure 3 Scatterplots showing distribution of individual values of soluble fms-like tyrosine kinase 1/placental growth factor (sFlt-1/PlGF) ratio in 72 cases of pre-eclampsia, obtained from maternal serum at time of diagnosis (± 10 days), in relation to gestational age at delivery, for pregnancies with delivery at: (a) $< 34 + 0$ weeks and (b) $\geq 34 + 0$ weeks. Lines of best fit are represented by solid curves ((a) $R^2 = 0.188$; (b) $R^2 = 0.042$). Dotted curves show 95th centile of sFlt-1/PlGF according to gestational age for a reference population⁸.

been found to be associated with imminent delivery (within < 48 hours) in more than two thirds of cases²⁵. Second, if the ratio is high but close to the 95th centile (e.g. *c.* 100), a high degree of certainty that PE and/or IUGR will develop is justified⁸. However, imminent delivery is unlikely and expectant management should be encouraged in the absence of clinical complications. Nevertheless, serial assessments of the ratio might help to determine whether imminent delivery is likely. Third, if the sFlt-1/PlGF ratio is within normal limits, previous reports have suggested that this may be reassuring concerning the maternal status²⁶, although further investigation is needed to establish more accurate cut-off values. However, close surveillance, focused particularly on the fetus, should be undertaken in any case since IUGR cannot be ruled out.

Interestingly, analysis of the entire group of cases showed that very high sFlt-1/PlGF ratios can also be

Table 3 Values of mean pulsatility index of the uterine arteries (mPI-UtA), soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1), placental growth factor (PlGF) and sFlt-1/PlGF ratio, according to study group, in participants who delivered at < 34 + 0 weeks of gestation

Parameter	PE+/IUGR+ (n = 9)	PE+/IUGR- (n = 23)	PE-/IUGR+ (n = 9)	PE-/IUGR- (n = 0)	P
mPI-UtA	2.11 ± 0.43	1.89 ± 0.66	1.86 ± 0.48	—	NS
sFlt-1	9668 ± 3267	14 661 ± 7367	6391 ± 5958	—	< 0.01*
PlGF	23 ± 12	49 ± 72	58 ± 71	—	NS
sFlt-1/PlGF ratio	476 ± 195	520 ± 359	308 ± 424	—	NS
sFlt-1/PlGF ratio > 85	9 (100)	22 (96)	4 (44)	—	< 0.01*, < 0.05†
mPI-UtA > 95 th centile	9 (100)	21 (91)	8 (89)	—	NS
sFlt-1/PlGF ratio > 95 th centile	9 (100)	22 (96)	6 (67)	—	NS
Both mPI-UtA and sFlt-1/PlGF ratio > 95 th centile	9 (100)	20 (87)	6 (67)	—	NS
Either mPI-UtA or sFlt-1/PlGF ratio > 95 th centile	9 (100)	23 (100)	8 (89)	—	NS

Data are given as mean ± SD or n (%) and compared across all columns. *PE+/IUGR- vs PE-/IUGR+; †PE+/IUGR+ vs PE-/IUGR+. IUGR, intrauterine growth restriction; NS, not significant; PE, pre-eclampsia.

Table 4 Values of mean pulsatility index of the uterine arteries (mPI-UtA), soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1), placental growth factor (PlGF) and sFlt-1/PlGF ratio, according to study group, in participants who delivered at ≥ 34 + 0 weeks of gestation

Parameter	PE+/IUGR+ (n = 2)	PE+/IUGR- (n = 38)	PE-/IUGR+ (n = 1)	PE-/IUGR- (n = 10)	P
mPI-UtA	1.03 ± 0.39	0.92 ± 0.34	1.62 ± —	0.90 ± 0.30	NS
sFlt-1	4985 ± 5109	7624 ± 5948	10 644 ± —	4857 ± 1913	NS
PlGF	122 ± 103	212 ± 263	47 ± —	272 ± 281	NS
sFlt-1/PlGF ratio	90 ± 117	95 ± 134	229 ± —	39 ± 33	NS
sFlt-1/PlGF ratio > 85	1 (50)	11 (29)	1 (100)	1 (10)	NS
mPI-UtA > 95 th centile	1 (50)	14 (37)	1 (100)	4 (40)	NS
sFlt-1/PlGF ratio > 95 th centile	1 (50)	10 (26)	1 (100)	0 (0)	NS
Both mPI-UtA and sFlt-1/PlGF ratio > 95 th centile	1 (50)	4 (11)	1 (100)	0 (0)	NS
Either mPI-UtA or sFlt-1/PlGF ratio > 95 th centile	1 (50)	20 (53)	1 (100)	4 (40)	NS

Data are given as mean ± SD or n (%) and compared across all columns. IUGR, intrauterine growth restriction; NS, not significant; PE, pre-eclampsia.

found in early IUGR fetuses outside the context of PE, although in these cases sFlt-1 values are usually lower than those in early PE. This finding concurs with previous reports^{27,28} and challenges recent studies that have reported that such values are specific for PE^{25,29} but which did not specifically assess IUGR. The likely explanation for this finding is that both early PE and IUGR involve defective placentation leading to angiogenic imbalance. It might be speculated that these patients would have developed PE with advancing gestation if severe IUGR had not led to the induction of delivery. In fact, two of our seven cases presenting with early IUGR and with extremely high sFlt-1/PlGF ratios (343 and 597) showed mild hypertension and proteinuria immediately before delivery. Furthermore, the sFlt-1/PlGF ratio did not allow differentiation between the presence or absence of IUGR when early PE was diagnosed and, therefore, in these cases fetal biometry and Doppler investigation remain mandatory for the detection of IUGR.

We acknowledge three main limitations of this study. First, the small sample size of PE cases precludes accurate establishment of the distribution and centiles of mPI-UtA and sFlt-1/PlGF ratios at diagnosis of PE according to gestational age. Second, we have performed only a cross-sectional study with measurements of the mPI-UtA and the sFlt-1/PlGF ratio when diagnosing PE and, therefore, this study does not provide data on their evolution and development of the disorder. Third,

given the observational nature of the study, we have not carried out any intervention in relation to the markers; accordingly, our proposals for practical application of the markers are speculative.

In summary, this study provides new information about the implications of the mPI-UtA and the sFlt-1/PlGF ratio at the time of diagnosing PE that may be of value in designing new strategies to implement these markers in the clinical setting, mainly focusing on early PE, with regard to which they have shown greater potential.

DISCLOSURES

B.D. is employed by Roche Diagnostics, Penzberg, Germany. None of the other authors has a conflict of interest.

ACKNOWLEDGMENT

The study was supported by a grant from the Fundación Mutua Madrileña (No. 2009/140).

REFERENCES

1. Steegers EAP, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet* 2010; 376: 631–644.
2. Pettit F, Brown MA. The management of pre-eclampsia: what we think we know. *Eur J Obstet Gynecol* 2012; 160: 6–12.

3. Cote AM, Firoz T, Mattman A, Lam EM, von Dadelszen P, Magee LA. The 24-hour urine collection: gold standard or historical practice? *Am J Obstet Gynecol* 2008; **199**: 625.
4. Lowe SA, Brown MA, Dekker GA, Gatt S, McLintock CK, McMahon LP, Mangos G, Moore MP, Muller P, Paech M, Walters B. Guidelines for the management of hypertensive disorders of pregnancy 2008. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2009; **49**: 242–246.
5. Magee LA, Helewa M, Moutquin JM, von Dadelszen P. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can* 2008; **30** (Suppl): S1–48.
6. Raymond D, Peterson E. A critical review of early-onset and late-onset pre-eclampsia. *Obstet Gynecol Surv* 2011; **66**: 497–506.
7. Barton JR, O'Brien JM, Bergauer NK, Jacques DL, Sibai BM. Mild gestational hypertension remote from term: progression and outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2001; **184**: 979–983.
8. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, Pape J, Dudenhausen JW, Denk B, Stepan H. An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2010; **202**: 161.e1–161.e11.
9. Sunderji S, Gaziano E, Wothe D, Rogers LC, Sibai B, Karumanchi SA, Hodges-Savola C. Automated assays for sVEGFR1 and PlGF as an aid in the diagnosis of preterm pre-eclampsia: a prospective clinical study. *Am J Obstet Gynecol* 2010; **202**: 40.e1–40.e7.
10. Meler E, Figueras F, Bennasar M, Gomez O, Crispi F, Gratacós E. The prognostic role of uterine artery Doppler investigation in patients with severe early-onset pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2010; **202**: 559.e1–559.e4.
11. Ghi T, Youssef A, Piva M, Contro E, Segata M, Guasina F, Gabrielli S, Rizzo N, Pelusi G, Pilu G. The prognostic role of uterine artery Doppler studies in patients with late-onset pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2009; **201**: 36.e1–36.e5.
12. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy* 2001; **20**: IX–XIV.
13. Baschat AA, Gembruch U. The cerebroplacental Doppler ratio revisited. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; **21**: 124–127.
14. Figueras F, Meler E, Iraola A, Eixarch E, Coll O, Figueras J, Francis A, Gratacós E, Gardosi J. Customized birthweight standards for a Spanish population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; **136**: 20–24.
15. Verburg BO, Steegers EAP, De Ridder M, Snijders RJM, Smith E, Hofman A, Moll HA, Jaddoe VWV, Witteman JCM. New charts for ultrasound dating of pregnancy and assessment of fetal growth: longitudinal data from a population-based study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; **31**: 388–396.
16. Albaiges G, Missfelder-Lobos H, Lees C, Parra M, Nicolaidis KH. One-stage screening for pregnancy complications by color Doppler assessment of the uterine arteries at 23 weeks' gestation. *Obstet Gynecol* 2000; **96**: 559–564.
17. Gómez O, Figueras F, Fernández S, Bennasar M, Martínez JM, Puerto B, Gratacós E. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11–41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; **32**: 128–132.
18. Sibai BM, Barton JR. Expectant management of severe pre-eclampsia remote from term: patient selection, treatment, and delivery indications. *Am J Obstet Gynecol* 2007; **196**: 514.e1514.e9.
19. Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, Lim KH, Wenger JB, Thadhani R, Karumanchi SA. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected pre-eclampsia. *Circulation* 2012; **125**: 911–919.
20. Roberts JM, Catov JM. Preeclampsia more than 1 disease: or is it? *Hypertension* 2008; **51**: 989–990.
21. Benton SJ, Hu Y, Xie F, Kupfer K, Lee SW, Magee LA, von Dadelszen P. Angiogenic factors as diagnostic tests for pre-eclampsia: a performance comparison between two commercial immunoassays. *Am J Obstet Gynecol* 2011; **205**: 469.e1469.e8.
22. Lapaire O, Shennan A, Stepan H. The pre-eclampsia biomarkers soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor: current knowledge, clinical implications and future application. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010; **151**: 122–129.
23. Publications Committee, Society for Maternal-Fetal Medicine, Sibai BM. Evaluation and management of severe pre-eclampsia before 34 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol* 2011; **205**: 191–198.
24. Magee L, Sawchuck D, Synnes A, von Dadelszen P. SOGC clinical practice guideline. Magnesium sulphate for fetal neuroprotection. *J Obstet Gynaecol Can* 2011; **33**: 516–529.
25. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H, Calda P, Holzgreve W, Galindo A, Engels T, Denk B, Stepan H. The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol* 2012; **206**: 58.e158.e8.
26. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of pre-eclampsia. *N Engl J Med* 2004; **350**: 672–683.
27. Wallner W, Sengenberger R, Strick R, Strissel PL, Meurer B, Beckmann MW, Schlembach D. Angiogenic growth factors in maternal and fetal serum in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. *Clin Sci* 2007; **112**: 51–57.
28. Schlembach D, Wallner W, Sengenberger R, Stiegler E, Mörtl M, Beckmann MW, Lang U. Angiogenic growth factor levels in maternal and fetal blood: correlation with Doppler ultrasound parameters in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; **29**: 407–413.
29. Perni U, Sison C, Sharma V, Helseth G, Hawfield A, Suthanthiran M, August P. Angiogenic factors in superimposed pre-eclampsia. A longitudinal study of women with chronic hypertension during pregnancy. *Hypertension* 2012; **59**: 740–746.

Tercera publicación (P3): Doppler de arterias uterinas y cociente sFLT-1/PlGF: Utilidad pronóstica en la preeclampsia de presentación precoz.

Referencia: Gómez-Arriaga PI, Herraiz I, López-Jiménez EA, Escribano D, Denk B, Galindo A. Uterine artery Doppler and sFlt-1/PlGF ratio: prognostic value in early-onset pre-eclampsia. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2014; 43: 525–532

DOI:10.1002/uog.13224

ISSN: 0960-7692

Tipo de estudio: observacional, comparativo, prospectivo y de cohortes

Nivel de evidencia: II-2

Factor de impacto: 3.557

Categoría: OBSTETRICS & GYNECOLOGY

Posición: 8/78 (Q1) (Journal Citation Report)

Resumen de la tercera publicación:

Hipótesis: los casos de PE precoz y severa tienen peores resultados maternos y perinatales. Se puede contemplar la realización de una actitud expectante tras su diagnóstico en casos seleccionados siempre que se realice en el contexto de un hospital terciario y con la adecuada vigilancia materna y fetal. Se ha observado que los biomarcadores de angiogénesis sFlt-1/PlGF pueden estar en relación con la gravedad y el pronóstico de la PE, por lo que podrían ser de utilidad para optimizar la selección de los casos de PE susceptibles de manejo expectante en edades gestacionales precoces (<34+0 semanas).

Objetivo: evaluar la utilidad de la medición del IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF para la predicción de resultados adversos maternos y perinatales así como del intervalo de tiempo restante hasta el momento del parto en gestantes diagnosticadas de PE de aparición precoz en las que se propone un manejo expectante.

Métodos: desde noviembre de 2007 hasta noviembre de 2012, aquellas gestantes con sospecha o diagnóstico confirmado de PE atendidas en nuestro centro terciario fueron incluidas en un protocolo de investigación en el que se evaluó el IPm-AUt y el cociente sFlt-1/PlGF de forma adicional al protocolo convencional de estudio ante un caso de PE. El estudio fue aprobado por el comité ético del hospital (**Anexo 3**). A todas las pacientes se les informó de que los resultados de estas pruebas no influirían en el manejo obstétrico, y antes de participar en este estudio dieron su consentimiento informado por escrito (**Anexo 4**).

Inicialmente todas las mujeres fueron evaluadas según un protocolo estándar

consistente en la medición de la tensión arterial y diuresis, cuantificación de la proteinuria en orina y realización de una analítica completa incluyendo hemograma, pruebas de coagulación y determinación sérica de ácido úrico, creatinina, albúmina, LDH y enzimas hepáticas. El control fetal fue realizado mediante la evaluación ecográfica de la biometría fetal, cantidad de líquido amniótico y de las resistencias en el flujo de la arteria umbilical y, en gestaciones >24+0 semanas, también mediante monitorización cardiotocográfica.

Se incluyeron gestaciones únicas con el diagnóstico confirmado de PE precoz y con un seguimiento completo. Se excluyeron del análisis todos aquellos casos en los que se procedió a la finalización inmediata de la gestación tras la evaluación inicial por la presencia de al menos uno de los siguientes criterios: edema agudo de pulmón, hipertensión arterial refractaria ($\geq 160/110$ mmHg a pesar de alcanzar las dosis máximas recomendadas de al menos 2 fármacos antihipertensivos), síndrome de HELLP completo o incompleto, fracaso renal agudo (oliguria $< 500\text{mL}/24\text{h}$ y/o creatinina sérica $>1,2$ mg/dL), coagulopatía intravascular diseminada, abrupcio placentae y/o signos de pérdida del bienestar fetal (flujo diastólico reverso en arteria umbilical y/o patrones de registro cardiotocográfico intranquilizadores).

Todas las pacientes que cumplían los criterios de inclusión fueron tratadas según los protocolos de la SEGO vigentes⁸⁴. Además, se realizó una única valoración del IPm-AUt y del cociente sFlt-1/PlGF dentro de un periodo no superior a 1 semana desde el momento del diagnóstico siguiendo una metodología previamente descrita. Se indicó la finalización de la gestación antes de alcanzar la semana 34+0 en presencia de PE severa y al menos un criterio adicional de empeoramiento clínico⁸². Tras alcanzar las 34+0 semanas, se finalizó la gestación en los casos de PE severa, mientras que en las formas leves se permitió la prolongación del embarazo hasta las

37 semanas de gestación.

Los resultados adversos maternos fueron definidos como aquellas complicaciones relacionadas con la PE manejada de forma expectante que conllevaron una finalización inmediata de la gestación por riesgo materno, y que no estaban presentes en la evaluación inicial. Los resultados adversos neonatales fueron definidos por la presencia de alguno de las siguientes criterios: Apgar a los 5 minutos <7 , pH en arteria umbilical al nacimiento <7.00 , morbilidad neonatal significativa (hemorragia intraventricular grado ≥ 3 , cualquier grado de leucomalacia periventricular, encefalopatía hipóxico-isquémica, enterocolitis necrotizante, fracaso renal definido como por una creatinina plasmática >1.5 mg/dL o un fallo cardiaco que requiriese tratamiento con agentes inotropos) o la muerte perinatal.

Los datos fueron expresados en forma de media (DE) o porcentaje (%). Las comparaciones univariantes se realizaron mediante las pruebas T-Student o Mann-Whitney para las variables continuas y mediante las pruebas de Chi-cuadrado o exacta de Fisher para las variables categóricas. Se utilizó un análisis de regresión logística para la construcción de un modelo predictivo de resultados adversos. La exactitud diagnóstica de este modelo fue evaluada mediante el estudio del área bajo la curva ROC. Para estudiar la relación entre el IPm-AUt y el cociente sFlt-1/PlGF y el intervalo de tiempo hasta el parto se emplearon diagramas de caja representativos de los valores de estos marcadores en aquellas pacientes cuyo parto se produjo en ≤ 48 horas, >48 horas y <7 días y ≥ 7 días. Además, los casos fueron dicotomizados tomando como punto de corte el tercer cuartil (Q3) de los valores del IPm-AUt (establecido en 2.17 según nuestros propios datos) y del cociente sFlt-1/PlGF (previamente establecido como >655)⁴² y se realizó un análisis de supervivencia (Kaplan-Meier) para explorar la relación entre el tiempo restante hasta el parto y la

pertenencia al grupo con un alto nivel ($>Q3$) o con un bajo nivel ($\leq Q3$) de IPm-AUt y cociente sFlt-1/PlGF. La significación se estableció para un valor de $p < 0.05$ siendo todas las pruebas de dos colas. Los datos se han analizado usando el programa estadístico SPSS 17.0 (SPSS, Chicago, IL, US).

Resultados: se evaluaron 51 gestaciones únicas con PE precoz. Se identificaron resultados adversos maternos en el 51% (26/51) de ellas. No hubo ningún caso de complicaciones neurológicas (eclampsia e ictus), rotura hepática, coagulación intravascular diseminada, o muerte materna. Se observaron efectos adversos perinatales en el 27% (14/51) (**Tabla 1-P3**). Hubo tres muertes intrauterinas fetales (dos de estos fetos estaban diagnosticados de CIR y la muerte fetal ocurrió antes de la semana 25, y el otro caso fue diagnosticado a las 26+1 semanas y en ese momento presentaba ya signos de fracaso cardiaco, con cardiomegalia y disminución de la contractilidad cardiaca) y dos muertes neonatales, ambas asociadas a una prematuridad extrema (en un recién nacido de 22+1 semanas y 240g, y en otro de 26+1 semanas y 455g). No hubo muertes perinatales en las gestaciones cuyo parto tuvo lugar más allá de la semana 27+0.

Ninguna de las características basales de las pacientes resultó ser estadísticamente significativa para la predicción de resultados adversos, incluyendo la existencia de antecedentes médicos de alto riesgo. Tras el diagnóstico de PE, la edad gestacional en el momento de la presentación se relacionó inversamente con la aparición de resultados adversos, tanto maternos como perinatales. Sin embargo, ni la tensión arterial diastólica ni los niveles de proteinuria se asociaron de forma significativa con malos resultados. La tensión arterial sistólica sí se asoció con los resultados adversos maternos, pero esta asociación dejó de ser significativa al no

tener en cuenta la hipertensión refractaria como resultado adverso. En cuanto a los marcadores estudiados, tanto el IPm-AUt como el cociente sFlt-1/PlGF mostraron una asociación significativa con la aparición de resultados perinatales adversos, pero no alcanzaron diferencias significativas para las complicaciones maternas.

Tabla 1-P3. Resultados adversos maternos y perinatales ocurridos en la población de estudio (n=51)

Resultados adversos maternos	
Hipertensión refractaria, n (%)	7 (13.7)
Fracaso renal agudo, n (%)	10 (19.6)
Edema de pulmón, n (%)	4 (7.8)
Síndrome de HELLP, n (%)	11 (21.6)
Abruptio placentae, n (%)	3 (5.9)
Algún resultado adverso materno, n (%)	26 (51.0)
Resultados adversos perinatales	
Morbilidad neonatal significativa, n (%):	6 (11.8)
Hemorragia intraventricular ≥grado III	1 (2.0)
Leucomalacia periventricular	2 (3.9)
Encefalopatía hipóxico-isquémica	0 (0)
Enterocolitis necrotizante	3 (5.9)
Fracaso renal agudo	1 (2.0)
Fallo cardíaco	2 (3.9)
Puntuación de Apgar a los 5 min <7, n (%)*	5 (10.4)
pH arteria umbilical <7.00, n (%)*	1 (2.1)
Muerte intrauterina, n (%)	3 (5.9)
Muerte neonatal, n (%)	2 (3.9)
Algún resultado adverso perinatal, n (%)	14 (27.5)

Datos cuantitativos expresados como medias (desviación estándar).

* En recién nacidos vivos.

En la **Tabla 2-P3** se muestran los valores de estos dos marcadores para las diferentes complicaciones maternas y perinatales. Se observó que el desarrollo de complicaciones maternas no se asociaba con el tiempo de prolongación del embarazo, pero la presencia de complicaciones perinatales sí disminuía significativamente al aumentar el tiempo de prolongación del embarazo. Por último, ni la presencia de CIR ni el percentil del peso al nacer demostraron tener una influencia significativa en el establecimiento de resultados maternos y perinatales adversos.

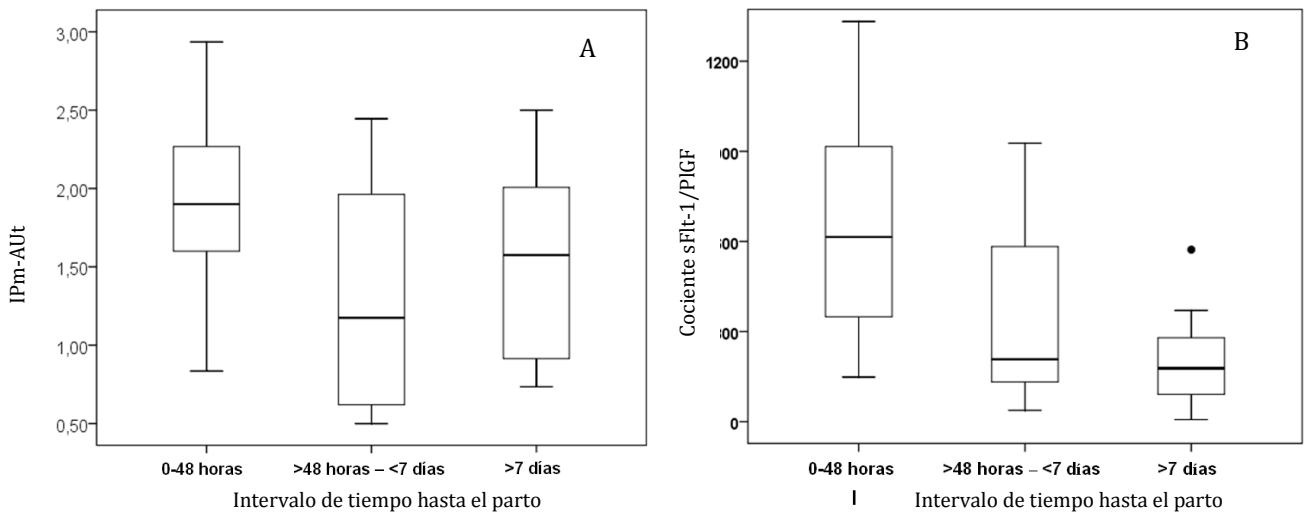
Se realizó un análisis predictivo de evolución gestacional adversa de acuerdo con los datos obtenidos en el análisis univariante, de modo que la edad gestacional al diagnóstico, el IPm-AUt y el cociente sFlt-1/PIGF fueron las variables seleccionadas para el desarrollo de un modelo multivariable para la predicción de los resultados adversos perinatales (RAP) en el momento del diagnóstico de la PE precoz, y cuya ecuación es:

$$\text{Riesgo de RAP (\%)} = \frac{1}{1 + e^{-[12.7 + (-0.04 \times \text{IPmAUt}) + (-0.51 \times \text{EG}) + (0.001 \times \text{sFlt1/PIGF})]}} \times 100$$

Este modelo se ajusta bien al área bajo la curva ROC (0.89, intervalo de confianza al 95% 0.79-0.99). Sin embargo, con los datos de este estudio no se ha podido desarrollar un modelo predictivo adecuado para predecir los resultados adversos maternos.

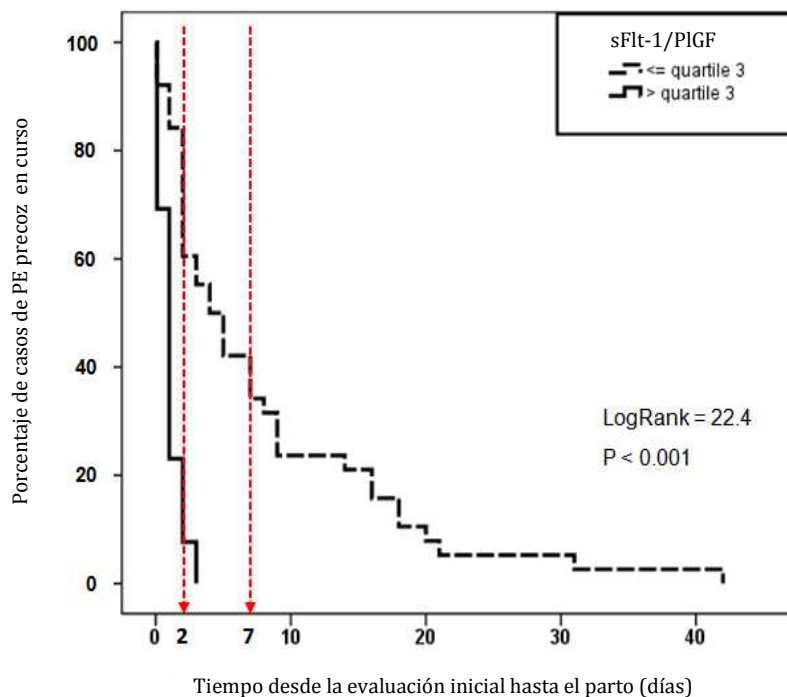
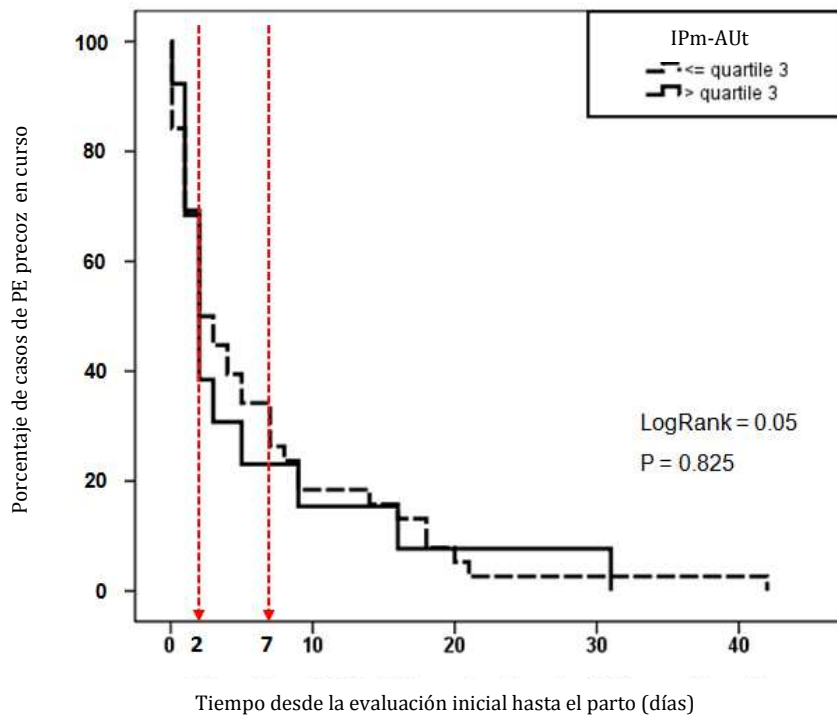
En cuanto al análisis del intervalo de tiempo hasta el parto, en los subgrupos de casos de PE precoz cuyo parto se produjo en ≤ 48 horas, >2 días y <7 días y ≥ 7 días, la media (DE) del IPm-AUt fue de 1.96 (0.58), 1.31 (0.74) y 1.55 (0.63) ($p > 0.05$), respectivamente y la media (DE) del cociente sFlt-1/PIGF fue de 679 (492), 351 (312) y 202 (149) ($p < 0.01$), respectivamente. La distribución de los valores de ambos marcadores se muestra en la **Figura 1-P3**.

Figura 1-P3. Diagramas de caja representativos de la distribución de los valores de **(A)** el índice de pulsatilidad medio en las arterias uterinas (IPmAUt) y **(B)** el cociente sFlt-1/PlGF en los casos de preeclampsia (PE) precoz agrupados en función del intervalo de tiempo desde el diagnóstico de la PE hasta el parto en ≤ 48 horas, >48 horas y <7 días y ≥ 7 días



El análisis de supervivencia de Kaplan-Maier mostró que solamente el cociente sFlt-1/PlGF presentaba una relación significativa con el intervalo de tiempo restante hasta el parto ($p < 0.001$). Tal como se ilustra en la **Figura 2-P3**, el 92% (12/13) de los casos con un cociente sFlt-1/PlGF $>Q3$ parieron en las primeras 48 horas y el caso restante apenas alcanzó tres días de tratamiento expectante, mientras que en el grupo con cociente sFlt-1/PlGF $\leq Q3$, el 60% (23/38) de las pacientes continuaban embarazadas tras 48 horas y el 40% (16/38) tras 7 días.

Figura 2-P3. Curvas de Kaplan-Maier representativas del tiempo que transcurre desde el diagnóstico de la preeclampsia (PE) precoz hasta el momento del parto, en función de **(A)**, un valor del índice de pulsatilidad medio en las arterias uterinas $> Q3$ (2.17 según datos propios) vs. $\leq Q3$ o de **(B)**, un valor del cociente sFlt-1/PlGF $> Q3$ (>655) vs. $\leq Q3$



Discusión: entre los principales hallazgos de nuestro estudio se encuentra, en primer lugar, que la existencia de resultados perinatales adversos puede predecirse en el momento del diagnóstico de PE con una sensibilidad del 79% y una especificidad del 90%, combinando la información aportada por la edad gestacional al diagnóstico, los valores del IPm-AUt y los valores del cociente sFlt-1/PlGF obtenidos en ese momento. Sin embargo, ninguna de las variables estudiadas, incluyendo tanto los marcadores IPm-AUt y cociente sFlt-1/PlGF como los clásicos criterios de severidad de la PE, consiguen predecir adecuadamente si la madre puede sufrir algún tipo de complicación durante el manejo expectante de la PE precoz. En segundo lugar, la demostración de un cociente sFlt-1/PlGF >Q3 (655) es un buen indicador de la necesidad de finalizar el embarazo de forma inminente, mientras que por debajo de este límite es posible completar la maduración pulmonar fetal en el 60% de los casos y alcanzar más de una semana de prolongación del embarazo en el 40%.

Los resultados de nuestro estudio indican que el cociente sFlt-1/PlGF se eleva especialmente antes de la aparición de aquellas complicaciones que obligan a finalizar el embarazo en los casos de PE precoz. Sin embargo, esto no es así en el caso del IPm-AUt. Esta relación entre el cociente sFlt-1/PlGF y el riesgo de parto inminente podría resultar de interés para optimizar el manejo obstétrico y el asesoramiento en aquellas gestaciones complicadas con una PE precoz, ya que podría ayudar a seleccionar mejor a las candidatas a una actitud expectante, a anticiparnos a la aparición de complicaciones y en definitiva a disminuir la morbilidad y mortalidad materna y fetal que acompaña a esta patología.

La información proporcionada por el modelo desarrollado para predecir la aparición de un resultado adverso perinatal puede ser también de utilidad para

completar el asesoramiento a aquellas mujeres que padecen una PE precoz y que puedan sopesar mejor los posibles riesgos y beneficios asociados a la adopción de una actitud expectante.

La principal limitación de este estudio es que la determinación del cociente sFlt-1/PlGF se realizó de forma transversal en el momento del diagnóstico y no se pueden extraer conclusiones sobre la evolución del cociente sFlt-1/PlGF en las PE precoces manejadas de forma expectante. Sin embargo, los resultados obtenidos inducen a pensar que los valores más elevados del cociente sFlt-1/PlGF se obtuvieron en aquellos casos diagnosticados en una etapa más avanzada del trastorno, mientras que los valores menos elevados en los que fue posible prolongar más tiempo la gestación podrían corresponder a los casos diagnosticados en una fase más precoz de la enfermedad. En el caso del IPm-AUt, no parece que tenga utilidad para el seguimiento ya que no se relaciona con la inminencia del parto. De todo ello se deriva la necesidad de estudiar en el futuro el papel de la medición seriada del cociente sFlt-1/PlGF una vez establecido el diagnóstico de PE precoz para conocer si mediante su monitorización es posible ayudar a decidir cuánto se debe prolongar el manejo expectante sin someter a estas madres al riesgo de una complicación grave. En resumen, la combinación de la información aportada por el IPm-AUt y especialmente por el cociente sFlt-1/PlGF tras el diagnóstico de PE precoz puede resultar de interés para la optimización del manejo de este trastorno.

Conclusión: en la PE precoz, la edad gestacional y los valores de IPmAUt y del cociente sFlt/PlGF obtenidos en el momento del diagnóstico se relacionan con los resultados perinatales adversos. El cociente sFlt-1/PlGF está inversamente relacionado con el intervalo de tiempo que transcurre hasta el parto y cuando es >655 se asocia a la aparición de complicaciones maternas o perinatales inminentes.

Publicación 3

Ultrasound Obstet Gynecol 2014; 43: 525–532
Published online 27 March 2014 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.13224



Uterine artery Doppler and sFlt-1/PlGF ratio: prognostic value in early-onset pre-eclampsia

P. I. GÓMEZ-ARRIAGA*, I. HERRAIZ*, E. A. LÓPEZ-JIMÉNEZ†, D. ESCRIBANO*, B. DENK‡ and A. GALINDO*

*Fetal Medicine Unit-SAMID, Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario '12 de Octubre', Madrid, Spain;

†Department of Clinical Biochemistry, Hospital Universitario '12 de Octubre', Madrid, Spain; ‡Roche Diagnostics, Clinical Operations Professional Diagnostics, Penzberg, Germany

KEYWORDS: early-onset pre-eclampsia; placental growth factor; prognosis; soluble fms-like tyrosine kinase-1; uterine arteries

ABSTRACT

Objective To evaluate the performance of the mean uterine artery pulsatility index (UtA-PI) and the automated measurement of the soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1)/placental growth factor (PlGF) ratio for the prognostic assessment of both maternal and perinatal outcomes, and the time-to-delivery interval in early-onset ($\leq 34 + 0$ weeks) pre-eclampsia (PE) cases with attempted expectant management.

Methods Fifty-one singleton pregnancies with early-onset PE were enrolled in the study. Mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio were measured at diagnosis. The association of each marker and their combinations with adverse maternal and perinatal outcomes was assessed by univariable comparisons and multivariable logistic regression analysis and time-to-delivery interval by survival analysis.

Results Twenty-six (51%) had adverse maternal outcome and 14 (27%) had adverse perinatal outcome. At the time of onset of PE, only gestational age was significantly related to maternal complications. Gestational age at onset, mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio were significantly associated with perinatal complications, their combination reaching a sensitivity of 64% with 95% specificity, and an area under the receiver–operating characteristics curve of 0.89 (95% CI, 0.79–0.99). Regarding the time until delivery, 92% (12/13) of cases with sFlt-1/PlGF ratio > 655 and 39% (15/38) of cases with a ratio ≤ 655 delivered within the first 48 h, 8% (1/13) and 19% (7/38), respectively, delivered between 48 h and 7 days and 0% (0/13) and 42% (16/38), respectively, delivered after 7 days.

Conclusion Mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio in combination with gestational age are useful for the prognostic assessment of perinatal complications at

the time of diagnosis of early-onset PE, but this combination has limited value for the prediction of maternal complications. Moreover, sFlt-1/PlGF ratio > 655 is closely related to the need to deliver within 48 h. Copyright © 2013 ISUOG. Published by John Wiley & Sons Ltd.

INTRODUCTION

Early-onset pre-eclampsia (PE), currently considered as PE that develops before 34 weeks' gestation¹, represents a minor subset of PE cases, affecting about 1 in 250 pregnancies², but remains a major obstetric challenge because this group of patients is at the highest risk for maternal and perinatal adverse outcome^{3,4}.

Delivery is the definitive treatment for PE and the safest option for the mother, but it is not always the best option for the fetus. Current guidelines support expectant management for early-onset PE if both the mother and fetus remain stable until 34 weeks' gestation⁵. However, the clinical course of early-onset PE is particularly unpredictable and most of the commonly used criteria of severity, such as the magnitude of hypertension and proteinuria, correlate poorly with maternal and fetal outcome^{6,7}. As a result, timely delivery is often a difficult decision in early-onset PE. Therefore, it is of paramount importance to develop new tools to predict which cases are at greatest risk and which are suitable for expectant management in the setting of early-onset PE. Recent studies have shown that abnormal uterine artery Doppler may be useful in the prediction of adverse fetal outcome, with even higher sensitivity than umbilical artery Doppler, but its specificity is very low^{8,9}. Similarly, it has been reported that the magnitude of the imbalance between anti-angiogenic (soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1)) and pro-angiogenic (placental growth factor (PlGF)) factors

Correspondence to: Prof. A. Galindo, Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario '12 de Octubre', Avda. Córdoba s/n, Madrid 28041, Spain (e-mail: agalindo.hdoc@salud.madrid.org)

Accepted: 1 October 2013

correlates well with disease activity, with a cut-off value of the sFlt-1/PlGF ratio greater than 655 increasing the risk for imminent delivery. However, its prognostic potential for fetal complications it is still unknown¹⁰.

The aim of this study was to evaluate the usefulness of the combination of the mean uterine artery pulsatility index (UtA-PI) and the automated measurement of sFlt/PlGF ratio to predict severe maternal and neonatal complications as well as the expected time-to-delivery in pregnant women admitted with early-onset PE.

METHODS

From November 2007 pregnant women with suspected or confirmed PE attending our center have been enrolled in an ongoing research project for the assessment of uterine artery Doppler and angiogenic state (sFlt-1/PlGF ratio) in addition to standard care. For the present study we analyzed early-onset PE cases recruited up to December 2012. All patients were informed that the results of these tests would not influence their obstetric management and they gave their written, informed consent before participating in the study. Patients recruited until November 2010 were also included in a European multicenter research project for the evaluation of an automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio¹¹. The study was approved by the local ethics committee.

PE and its severity were diagnosed according to the definition of the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP)¹². Early-onset PE was established when the diagnosis of PE was reached before 34 + 0 weeks' gestation, since this is the period in which expectant management of severe and non-severe PE may be considered^{5,13}. Intrauterine growth restriction (IUGR) was defined as a small-for-gestational-age (SGA) newborn together with an umbilical artery PI above the 95th percentile¹⁴. SGA was defined as a birth weight of < 10th percentile for gestational age. Birth weight was converted into a percentile after correction for gestational age at delivery and sex of the newborn, according to local charts¹⁵. Gestational age was based on crown-rump length measured at the 11 + 0 to 13 + 6 weeks' scan or from the biparietal diameter if the first scan was performed later¹⁶.

At first consultation after enrolment all women underwent a standard work-up consisting of maternal blood pressure, urine output measurement, quantification of protein excretion and complete laboratory evaluation including hemogram, coagulation profile and serum determination for uric acid, creatinine, albumin, lactic acid dehydrogenase and liver enzymes. Fetal surveillance was performed by ultrasound assessment of fetal growth, amniotic fluid volume and umbilical artery Doppler and, in pregnancies over 24 + 0 weeks, also by fetal heart rate tracing.

For the purpose of this study only singleton pregnancies with confirmed early-onset PE and measurement of both mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio at the time of diagnosis were assessed. Whenever persistent symptoms

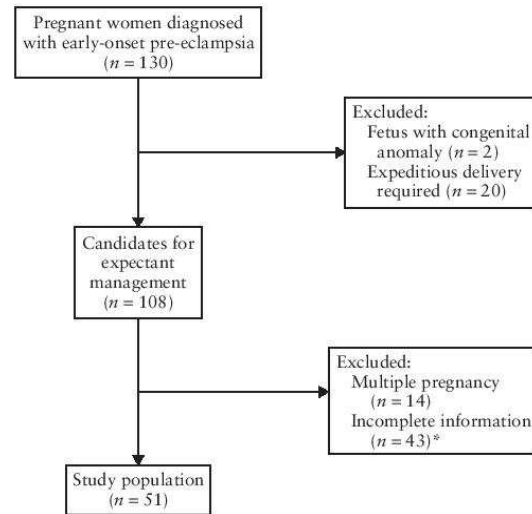


Figure 1 Flow chart of patient selection among pregnancies with confirmed early-onset pre-eclampsia attending our center from November 2007 to December 2012. *Either uterine artery pulsatility index or ratio of soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio was not available.

of severe PE, eclampsia, pulmonary edema, refractory hypertension (defined as $\geq 160/110$ mmHg despite maximum recommended doses of at least two antihypertensive agents)⁷, complete and incomplete HELLP syndrome¹⁷, acute renal failure (oliguria < 500 mL/24 h and/or serum creatinine > 1.2 mg/dL), disseminated intravascular coagulation, placental abruption and/or non-reassuring fetal testing (umbilical artery reversed diastolic flow and/or loss of beat-to-beat variability, late decelerations, prolonged bradycardia or sinusoidal pattern) were diagnosed, expedient delivery was indicated and these cases were also excluded from further analysis. Pregnancies in which there were fetal congenital anomalies were also excluded. Figure 1 is a flow-chart of the study population.

All eligible patients were managed according to Spanish guidelines¹⁸. Briefly, antihypertensive therapy was administered to maintain systolic blood pressure at 130–150 mmHg and diastolic blood pressure at 80–100 mmHg. Magnesium sulfate for maternal seizure prophylaxis was initially administered in cases of severe PE and discontinued after 24 h if neurological symptoms were absent. From February 2012, magnesium sulfate for fetal neuroprotection was also considered in those cases at risk for imminent delivery before 31 + 6 weeks. Corticoids for fetal lung maturity (betamethasone 12 mg/day for 2 days) were administered in pregnancies at or beyond 24 + 0 weeks after parental counseling. Maternal surveillance included assessment of blood pressure, urinary output and signs of maternal complications every 4 h as well as laboratory testing every 48–72 h or more often depending on clinical symptoms and laboratory findings. Fetal surveillance included heart-rate monitoring, performed at least daily, and Doppler examination of the umbilical

artery at least every 3 days. In addition, a single evaluation of UtA-PI and levels of sFlt1 and PlGF were obtained within a period of 7 days after the diagnosis of PE. Detailed methodology for such measurements has been described elsewhere, and we have provided mean UtA-PI values in multiples of the median adjusted by gestational age^{19,20}. Clinicians were blinded to the results of the sFlt-1/PlGF ratio. In the case of mean UtA-PI, results were available in the sonographic reports but were not taken into consideration when making clinical management decisions.

Indications for delivery before 34 + 0 weeks' gestation were severe PE plus one additional criterion of clinical worsening¹³. After 34 + 0 weeks delivery was also considered in severe PE, while in the milder forms expectant management was recommended until 37 weeks.

Adverse maternal outcome was defined as the development during expectant management of any of the PE-related complications that were considered an indication for expeditious delivery but that were not already present at initial evaluation. Adverse neonatal outcome was defined by the presence of any of the following: 5-min Apgar score < 7, umbilical artery pH at birth < 7.00, fetal or neonatal death or significant neonatal morbidity (intraventricular hemorrhage \geq Grade 3, any grade of periventricular leukomalacia, hypoxic ischemic encephalopathy, necrotizing enterocolitis, acute renal failure (defined by serum creatinine > 1.5 mg/dL) or cardiac failure requiring inotropic agents).

Statistical analysis

Univariable comparisons were performed using the *t*-test or Mann–Whitney *U*-test for continuous variables and the chi-square or Fisher's exact test for categorical variables. Logistic regression analysis was used to construct predictive models for adverse outcome. The accuracy of these models was assessed using area under receiver–operating characteristics (ROC) curves, from which sensitivities, specificities and predictive values were derived. For the time-to-delivery analysis, the values of mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF were described in the subgroups of patients who delivered before 48 h, between 48 h and 7 days and after 7 days. Cases were dichotomized at the third quartile (Q3) of the mean UtA-PI in early-onset PE (established at > 2.17 using our own data) and at the Q3 of the sFlt-1/PlGF ratio (previously established at > 655)¹⁰. Survival analysis (Kaplan–Meier plots and log-rank tests) was conducted to explore relationships between time-to-delivery and the high-level (> Q3) and low-level (\leq Q3) groups of mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio. *P* for all tests was two-sided and *P* < 0.05 was considered statistically significant. Data were analyzed using statistical package SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTS

During the study period the incidence of early-onset PE was 0.5% (130 cases/25 788 deliveries). Ninety-four

cases were singleton pregnancies and candidates for expectant management, but in 43 of them information about mean UtA-PI and/or sFlt-1/PlGF ratio was not obtained. Overall, 51 singleton pregnancies affected with early-onset PE were evaluated for this study (Figure 1). We found no significant differences in the percentage of adverse maternal and perinatal outcome between the study group and the group of cases with incomplete data, except for the increased rate of HELLP syndrome in the former group (21.6% vs 4.6%, respectively) (Table S1). Regarding the study group, adverse maternal outcome was present in 51% (26/51) women. No cases of adverse neurological events (including eclampsia and ictus), hepatic rupture, disseminated intravascular disease or maternal mortality occurred. Adverse perinatal outcome was observed in 27% (14/51). Mean length of stay in the neonatal intensive care unit was 18.9 ± 22.5 days. There were three stillbirths; two of them affected by severe IUGR died before 25 weeks, and another case with early PE diagnosed at 26 + 1 weeks and a normally grown fetus that had severe cardiac failure with cardiomegaly, systolic dysfunction and reverse diastolic flow in the umbilical artery died a few hours after the diagnosis. There were also two neonatal deaths, both associated with extreme prematurity: one delivered at 22 + 1 weeks weighing 240 g, and the other at 26 + 1 weeks weighing 455 g. There were no perinatal deaths in pregnancies delivered after 27 + 0 weeks.

The main characteristics of the study population according to the occurrence of adverse maternal and perinatal outcomes, including the values of mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio at diagnosis of early-onset PE, are presented in Table 1. None of the baseline characteristics was significantly predictive of adverse outcome, including the presence of high-risk medical conditions. Similarly, at diagnosis of early-onset PE, neither diastolic blood pressure nor levels of proteinuria were significantly related to adverse maternal or perinatal outcome. Higher systolic blood pressure was associated with adverse maternal outcome, but this association became not significant when patients with refractory hypertension (a criterion of adverse maternal outcome associated by definition with very high systolic blood pressure) were not taken into account when comparing the groups with and without adverse maternal outcome, reflecting that adverse maternal outcome is not related to systolic blood pressure. Furthermore, the association with SGA and IUGR as well as birth-weight percentile did not influence the maternal and perinatal outcome. However, gestational age at presentation was inversely related to adverse maternal and perinatal outcome. Regarding the studied markers, both mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio were significantly higher in those cases affected by adverse perinatal outcome but no significant differences were found in relation to the presence of adverse maternal outcome. Further details regarding the values of these two markers in each maternal and perinatal complication are shown in Table 2.

According to the univariable analyses, only gestational age at diagnosis was significantly associated with adverse

Table 1 Main characteristics of 51 pregnant women with early-onset pre-eclampsia (PE) according to presence or absence of maternal and perinatal complications

Characteristic	All early-onset PE cases (n = 51)	Maternal complications			Perinatal complications		
		Present (n = 26)	Absent (n = 25)	P	Present (n = 14)	Absent (n = 37)	P
Baseline							
Maternal age at recruitment (years)	31.7 ± 5.3	31.9 ± 4.8	31.6 ± 6.0	NS	33.2 ± 4.5	31.2 ± 5.6	NS
Pregestational BMI (kg/m ²)	27.4 ± 6.4	26.4 ± 7.5	28.4 ± 5.2	NS	26.4 ± 6.7	27.8 ± 6.4	NS
Race/ethnic group				NS			NS
Caucasian	35 (68.6)	17 (65.4)	18 (72.0)		10 (71.4)	25 (67.6)	
Afro-Caribbean	4 (7.8)	3 (11.5)	1 (4.0)		2 (14.3)	2 (5.4)	
Hispanic	10 (19.6)	6 (23.1)	4 (16.0)		2 (14.3)	8 (21.6)	
Arabian	2 (3.9)	—	2 (8.0)		—	2 (5.4)	
Parity				NS			NS
Nulliparous	25 (49.0)	17 (65.4)	8 (32.0)		6 (42.9)	19 (51.4)	
Parous without previous PE	22 (43.1)	8 (30.8)	14 (56.0)		6 (42.9)	16 (43.2)	
Parous with previous PE	4 (7.8)	1 (3.8)	3 (12.0)		2 (14.3)	2 (5.4)	
Cigarette smoker	3 (5.9)	2 (7.7)	1 (4.0)	NS	—	3 (8.1)	NS
Aspirin intake during pregnancy	3 (5.9)	1 (3.8)	2 (8.0)	NS	2 (14.3)	1 (2.7)	NS
Medical history							
Chronic hypertension	7 (13.7)	4 (15.4)	3 (12.0)	NS	4 (28.6)	3 (8.1)	NS
Renal disease	1 (2.0)	1 (3.8)	—	NS	1 (7.1)	—	NS
Pregestational diabetes mellitus	—	—	—	—	—	—	—
Thrombophilia	2 (3.9)	1 (3.8)	1 (4.0)	NS	1 (7.1)	1 (2.7)	NS
Any predisposing condition	9 (17.6)	5 (19.2)	4 (16.0)	NS	5 (35.7)	4 (10.8)	NS
At diagnosis of PE							
Gestational age (weeks)	29.3 ± 3.7	27.9 ± 3.7	30.7 ± 3.1	< 0.01	25.7 ± 3.4	30.6 ± 2.8	< 0.01
Blood pressure (mmHg)							
Systolic	161.1 ± 18.1	168.6 ± 17.9	153.2 ± 15.0	< 0.01	169.4 ± 17.4	158.0 ± 17.6	< 0.05
Diastolic	98.6 ± 9.9	100.3 ± 10.1	96.9 ± 9.5	NS	99.1 ± 10.0	98.5 ± 10.0	NS
24-h proteinuria (g)*	2.3 ± 2.5	3.1 ± 3.2	1.6 ± 1.4	NS	3.7 ± 2.5	2.1 ± 2.5	NS
Mean UtA-PI	1.73 ± 0.66	1.86 ± 0.59	1.59 ± 0.71	NS	2.05 ± 0.46	1.61 ± 0.69	< 0.05
Mean UtA-PI MoM	2.18 ± 0.76	2.28 ± 0.67	2.08 ± 0.84	NS	2.34 ± 0.48	2.12 ± 0.84	NS
Mean UtA-PI ≥ Q3	13 (25.5)	9 (34.6)	4 (16.0)	NS	5 (35.7)	8 (21.6)	NS
sFlt1/PlGF ratio	478 ± 442	537 ± 362	417 ± 512	NS	708 ± 570	391 ± 354	< 0.05
sFlt1/PlGF ratio ≥ Q3	13 (25.5)	9 (34.6)	4 (16.0)	NS	5 (35.7)	8 (21.6)	NS
At delivery							
Gestational age (weeks)	30.3 ± 3.9	29.0 ± 3.6	31.7 ± 3.6	< 0.01	26.3 ± 3.1	31.8 ± 3.0	< 0.001
Main reason for delivery < 34 weeks				< 0.001 †; < 0.0 ‡§			< 0.01 †; < 0.05 ¶
Severe PE	13 (25.5)	—	13 (52.0)		—	13 (35.1)	
Maternal complications	18 (35.3)	18 (69.2)	—		8 (57.1)	10 (27.0)	
Severe IUGR	10 (19.6)	3 (11.5)	7 (28.0)		4 (28.6)	6 (16.2)	
Non-reassuring fetal testing	10 (19.6)	5 (19.2)	5 (20.0)		2 (14.3)	8 (21.6)	
Delivery at ≥ 34 + 0 weeks' gestation	12 (23.5)	3 (11.5)	9 (36.0)	< 0.05	—	12 (32.4)	< 0.05
Time-to-delivery interval (days)	6.8 ± 8.7	6.3 ± 9.8	7.2 ± 7.7	NS	2.9 ± 3.5	8.2 ± 9.7	< 0.01
Birth weight (g)	1302 ± 600	1099 ± 493	1514 ± 637	< 0.01	752 ± 372	1510 ± 537	< 0.001
Birth weight percentile	15 ± 21	12 ± 15	18 ± 26	NS	10 ± 14	17 ± 23	NS
SGA	32 (62.7)	15 (57.7)	17 (68.0)	NS	9 (64.3)	23 (62.2)	NS
Cesarean section	42 (82.4)	23 (88.5)	19 (76.0)	NS	10 (71.4)	32 (86.5)	NS

Data are presented as n (%) or mean ± SD. *Only available in 29 (57%) cases. †Severe PE vs maternal complications. ‡Severe PE vs non-reassuring fetal testing. §Maternal complications vs non-reassuring fetal testing. ¶Severe PE vs severe IUGR. BMI, body mass index; IUGR, intrauterine growth restriction; MoM, multiples of the median; NS, not significant; sFlt1/PlGF, soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio; Q3, third quartile; SGA, small-for-gestational age; UtA-PI, uterine artery pulsatility index.

Prognostic value of sFlt-1/PlGF and UtA Doppler

529

Table 2 Gestational age (GA), mean uterine artery pulsatility index (UtA-PI) and soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor (sFlt-1/PlGF) ratio at onset of pre-eclampsia according to maternal and perinatal outcome in 51 pregnant women with early-onset pre-eclampsia

Adverse outcome	n (%)	GA (weeks)			UtA-PI			sFlt1/PlGF ratio		
		Outcome present	Outcome absent	P	Outcome present	Outcome absent	P	Outcome present	Outcome absent	P
Maternal										
Refractory hypertension	7 (13.7)	26.8 ± 4.5	29.7 ± 3.4	0.05	1.61 ± 0.55	1.74 ± 0.68	NS	472 ± 439	479 ± 447	NS
Acute renal failure	10 (19.6)	27.1 ± 3.3	29.8 ± 3.6	<0.05	1.99 ± 0.59	1.66 ± 0.67	NS	649 ± 360	437 ± 454	NS
Pulmonary edema	4 (7.8)	25.8 ± 1.4	29.6 ± 3.6	<0.05	2.13 ± 0.34	1.69 ± 0.67	NS	414 ± 214	483 ± 457	NS
HELLP syndrome	11 (21.6)	28.7 ± 3.2	29.4 ± 3.8	NS	2.00 ± 0.60	1.65 ± 0.66	NS	538 ± 364	462 ± 463	NS
Placental abruption	3 (5.9)	30.3 (28.7–31.9)	29.2 ± 3.7	NS	2.05 (1.70–2.17)	1.71 ± 0.68	NS	927 (295–1095)	460 ± 441	NS
Any complication	26 (51.0)	27.9 ± 3.7	30.7 ± 3.1	<0.01	1.86 ± 0.59	1.59 ± 0.71	NS	537 ± 362	417 ± 512	NS
Perinatal										
5-min Apgar score < 7	5 (10.4)*	24.6 ± 3.3	30.2 ± 3.0	<0.01	1.94 ± 0.56	1.67 ± 0.67	NS	944 ± 909	417 ± 350	NS
Neonatal morbidity	6 (11.8)	26.5 ± 2.7	30.0 ± 3.4	<0.05	2.10 ± 0.37	1.64 ± 0.67	NS	602 ± 291	454 ± 473	NS
Stillbirth	3 (5.9)	24.3 (21.6–26.0)	29.6 ± 3.5	<0.01	1.95 (1.76–2.94)	1.70 ± 0.66	NS	597 (492–615)	473 ± 455	NS
Neonatal death	2 (3.9)	23.1 (20.4–25.9)	29.5 ± 3.5	<0.05	2.07 (1.78–2.36)	1.71 ± 0.67	NS	344 (269–420)	484 ± 450	NS
Any complication	14 (27.5)	25.7 ± 3.4	30.6 ± 2.8	<0.01	2.05 ± 0.46	1.61 ± 0.69	<0.05	708 ± 570	391 ± 354	<0.05

GA, UtA-PI and sFlt1/PlGF ratio are presented as mean ± SD or, for small samples ($n \leq 3$), as median (range). *Percentage calculated with respect to liveborn fetuses ($n = 48$).

Table 3 Description of logistic regression model including gestational age (GA, in weeks), uterine artery pulsatility index (UtA-PI) and soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor (sFlt-1/PlGF) ratio at diagnosis of pre-eclampsia for the prediction of adverse perinatal outcome in 51 pregnant women with early-onset pre-eclampsia

Variable	B (SE)	Adjusted odds ratio (95% CI)	P
Constant	12.78 (5.22)		
GA	-0.51 (0.17)	0.60 (0.43–0.83)	<0.01
Mean UtA-PI	-0.04 (0.79)	0.96 (0.20–4.53)	NS
sFlt1/PlGF ratio	0.001 (0.001)	1.001 (1.000–1.003)	NS

B, estimated coefficient.

maternal outcome, performing modestly with an area under the ROC curve of 0.72 (95% CI, 0.58–0.86). Adverse perinatal outcome was also mainly associated with gestational age at diagnosis, but in this case the sFlt-1/PlGF ratio obtained at diagnosis seemed to provide additional (although non-significant) prognostic value. Their combination in the multivariable model described in Table 3 for the occurrence of adverse perinatal outcome showed a good fit, confirmed by an area under the ROC curve of 0.89 (95% CI, 0.79–0.99) (Figure 2). Figure 2 also provides ROC curves for the prediction of adverse perinatal outcome for each marker in isolation and in different combinations, while Table 4 shows their diagnostic accuracy for fixed specificity and sensitivity of 95%.

In the subgroups of early-onset PE cases delivering before 48 h, between 2 days and 7 days and after 7 days, the mean (SD) UtA-PIs were 1.96 (0.58), 1.31 (0.74) and 1.55 (0.63), and the mean (SD) sFlt-1/PlGF ratios were 680 (492), 351 (311) and 202 (149), respectively. Kaplan–Meier analysis demonstrated that only sFlt-1/PlGF ratio was significantly associated with time to delivery ($P < 0.001$). Figure 3 illustrates that 92% (12/13) cases with sFlt-1/PlGF ratio > Q3 delivered within the first 48 h and the remaining case only reached 3 days of expectant management, whereas 61% (23/38) cases in the group with sFlt-1/PlGF ratio \leq Q3 remained pregnant after 48 h and 42% (16/38) after 7 days. Interestingly, the time of pregnancy prolongation was inversely related to perinatal complications without significantly affecting maternal outcome (Table 1).

DISCUSSION

The main objective of expectant management for early-onset PE is to improve perinatal outcome without compromising maternal safety. In our 5-year cohort of early-onset PE cases, expectant management was attempted in 83% (108/130) of cases, and an average time of pregnancy prolongation of 7 days was reached, which is in agreement with previous studies reporting 5–14 days of prolongation²¹. It is noteworthy, however, that in 53% of women in this study expectant management could not

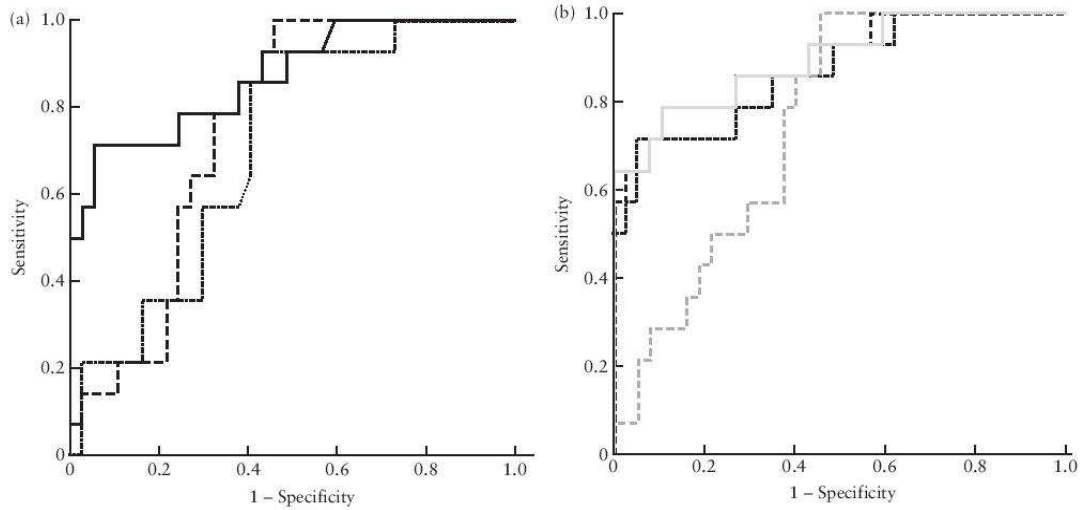


Figure 2 Receiver–operating characteristics curves for prediction of adverse perinatal outcome in 51 pregnant women with confirmed early-onset pre-eclampsia: (a) using gestational age (GA, —), uterine artery pulsatility index (UtA-PI,) and ratio of soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor (sFlt-1/PlGF ratio, ---) at diagnosis; (b) using different combinations of GA, UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio: GA + UtA-PI (— · — · —); GA + sFlt-1/PlGF ratio (— — —); UtA-PI + sFlt-1/PlGF ratio (— · — · —); GA + UtA-PI + sFlt-1/PlGF ratio (—).

Table 4 Comparison of screening performance of gestational age (GA, in weeks), uterine artery pulsatility index (UtA-PI) and soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor (sFlt-1/PlGF) ratio at diagnosis of pre-eclampsia, and their combinations, for prediction of adverse perinatal outcome at fixed specificity of 95% and fixed sensitivity of 95% in 51 pregnant women with early-onset pre-eclampsia

Predictive test	Adverse perinatal outcome for:						
	AUC (95% CI)	Specificity of 95%			Sensitivity of 95%		
		Sensitivity (95% CI)	PPV (95% CI)	NPV (95% CI)	Specificity (95% CI)	PPV (95% CI)	NPV (95% CI)
GA	0.87 (0.76–0.98)	43 (19–70)	76 (36–95)	82 (66–91)	57 (40–72)	45 (27–64)	97 (76–99)
Mean UtA-PI	0.71 (0.56–0.86)	21 (6–51)	61 (17–93)	76 (61–87)	27 (14–44)	32 (19–49)	94 (58–99)
sFlt1/PlGF ratio	0.75 (0.62–0.88)	14 (3–20)	51 (9–91)	75 (59–86)	54 (37–70)	43 (26–62)	97 (76–99)
GA + mean UtA-PI	0.87 (0.75–0.98)	57 (30–81)	81 (44–96)	86 (70–94)	38 (23–55)	36 (21–54)	95 (66–99)
GA + sFlt1/PlGF ratio	0.89 (0.79–0.99)	64 (36–86)	83 (48–97)	88 (73–95)	57 (40–72)	45 (27–64)	97 (76–99)
Mean UtA-PI + sFlt1/PlGF ratio	0.75 (0.62–0.88)	7 (0–17)	34 (18–87)	73 (58–84)	54 (37–70)	43 (26–62)	97 (76–99)
GA + mean UtA-PI + sFlt1/PlGF ratio	0.89 (0.79–0.99)	64 (36–86)	83 (48–97)	88 (73–95)	41 (25–58)	37 (22–55)	96 (68–99)

AUC, area under receiver–operating characteristics curve; NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value.

be extended beyond 48 h owing to unstable maternal or fetal conditions. This reflects the fact that the course of early-onset PE is particularly unpredictable and, therefore, that new prognostic tools are needed to better identify cases in which safe prolongation of pregnancy may be achieved.

Regarding the maternal prognosis, we observed that the earlier the onset of PE the higher the risk of maternal complications, which is in agreement with other series³, but a specific cut-off of gestational age could not be identified for accurately predicting which women are safe from complications. The addition of mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio measured at the time of diagnosis of PE did not improve the predictive capacity, with no specific maternal complication significantly associated with an increase in either of them. Although the limited sample

size may have contributed to this lack of significance, the wide deviation observed in the values of both markers leads us to suggest that a more likely explanation is that one single measurement at the time of PE detection may be insufficient to predict maternal complications in women having in common early-onset PE but who may be at very different stages of the disease.

Regarding the perinatal prognosis, it is well known that gestational age at onset of PE is highly correlated with outcome, and this has been further confirmed in our study. The usefulness of both mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio for prognostic assessment in early-onset PE has been recently highlighted, suggesting that not only gestational age but also placental insufficiency and angiogenic imbalance may have a role in perinatal outcome^{8,22}. We have taken a step forward by showing

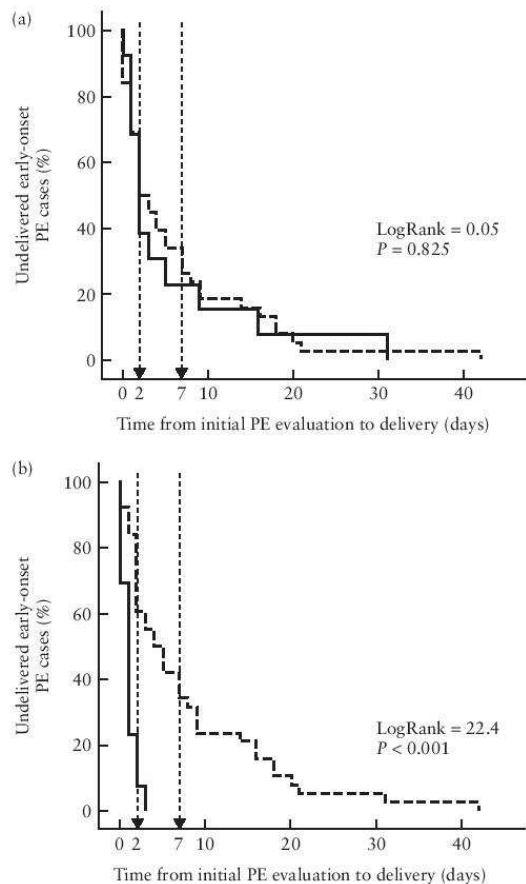


Figure 3 Kaplan–Meier graphs showing time from diagnosis of early-onset pre-eclampsia (PE) to delivery, comparing: (a) patients with mean uterine artery pulsatility index (UtA-PI) > third quartile (Q3, —) (2.17 according to own data) and those with mean UtA-PI ≤ Q3 (---); (b) patients with fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor (sFlt-1/PlGF) ratio > Q3 (—) (655) and those with sFlt-1/PlGF ratio ≤ Q3 (---). Vertical dashed arrows indicate data at 2 days and 7 days.

that the addition of these parameters to gestational age at diagnosis could improve the prognostic accuracy, with sFlt-1/PlGF ratio showing more promising results than mean UtA-PI, although our study is probably underpowered and larger studies are needed to establish more firmly the role of the sFlt-1/PlGF ratio. With regard to the dilemma of opting for cut-offs yielding high sensitivity or high specificity, the former would allow adverse perinatal outcome to be ruled out for patients below the cut-off, and the latter would more strongly indicate the development of perinatal complications in patients above the cut-off. The combination of gestational age and sFlt-1/PlGF ratio would improve sensitivity in the second scenario, with good positive and negative predictive values (83% and 88%, respectively) and, as such, could help inform a decision regarding whether to pursue expectant management.

Concerning the prediction of expected time to delivery, mean UtA-PI demonstrated no usefulness. In contrast, it is in this context that the greatest utility of the sFlt-1/PlGF ratio was demonstrated. Our results reproduce those obtained in the multicenter study by Verlohren *et al.*¹⁰, showing that values > Q3 were almost invariably associated with the imminent necessity of inducing delivery in the first 48 h after early PE diagnosis. On the other hand, values ≤ Q3 are associated with a significant prolongation of pregnancy, 61% of patients remaining pregnant beyond the first 48 h and 42% beyond one week after diagnosis. This is of paramount importance because 75% of patients with early-onset PE belong to this category and may benefit from prolongation of pregnancy, at least in the short term, without exposing them or their fetus to an excessively high risk. However, it is worth noting that 40% of cases with values ≤ Q3 also required delivery in the first 48 h. This percentage could be reduced by using individualized rather than a single cut-off, since first, women with predisposing conditions may develop complications with milder angiogenic imbalance and second, the sFlt-1/PlGF ratio associated with the requirement of imminent delivery may differ throughout the early-onset PE period^{19,23}.

We acknowledge some limitations of our study. First, the relatively small sample size precluded assessment of the ability of our model to predict adverse perinatal outcome in a validation group. Second, mean UtA-PI and/or sFlt-1/PlGF ratio were not obtained in 43/94 (46%) of the cohort of eligible cases, which may introduce a source of bias. However, we found that only HELLP syndrome, and no other maternal or perinatal complication, was overrepresented in patients included in the study when compared with the 43 excluded from the study. Moreover, this particular complication was not significantly related to gestational age at PE presentation – which according to our results is the only factor useful for the prediction of maternal complications – so it is unlikely that such excluded cases introduced a major bias to our analysis. Third, we performed a single measurement of mean UtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio at the time of diagnosing early-onset PE and, therefore, further studies are needed to analyze the dynamic evolution of these markers through the course of expectant management. In view of our time-to-delivery analysis, we believe that serial assessment of the sFlt-1/PlGF ratio, but not mean UtA-PI, may have a role in predicting the time remaining until delivery²⁴. Lastly, given the observational nature of this work, further studies are necessary to demonstrate whether implementation of these markers may improve management decisions in early-onset PE.

ACKNOWLEDGMENT

The study was supported by a grant from the Fundación Mutua Madrileña (No. 2009/140).

Disclosure


B.D. is employed by Roche Diagnostics, Penzberg, Germany.

REFERENCES

1. Raymond D, Peterson E. A critical review of early-onset and late-onset pre-eclampsia. *Obstet Gynecol Surv* 2011; **66**: 497–506.
2. Catov JM, Ness RB, Kip KE, Olsen J. Risk of early or severe pre-eclampsia related to pre-existing conditions. *Int J Epidemiol* 2007; **36**: 412–419.
3. Bombrys AE, Barton JR, Habli M, Sibai BM. Expectant management of severe preeclampsia at 27(0/7) to 33(6/7) weeks' gestation: maternal and perinatal outcomes according to gestational by weeks at onset of expectant management. *Am J Perinatol* 2009; **26**: 441–446.
4. Bombrys AE, Barton JR, Nowacki EA, Habli M, Pinder L, How H, Sibai BM. Expectant management of severe preeclampsia at less than 27 weeks' gestation: maternal and perinatal outcomes according to gestational age by weeks at onset of expectant management. *Am J Obstet Gynecol* 2008; **199**: 247.e1–6.
5. Magee LA, Helewa ME, Moutquin JM, von Dadelszen P. SOGC guidelines; diagnosis, evaluation and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can* 2008; **30**(Suppl): 1–48.
6. Côté AM, Firoz T, Mattman A, Lam EM, von Dadelszen P, Magee LA. The 24-hour urine collection: gold standard or historical practice? *Am J Obstet Gynecol* 2008; **199**: 625.e1–6.
7. Menzies J, Magee LA, Macnab YC, Ansermino JM, Li J, Douglas MJ, Gruslin A, Kyle P, Lee SK, Moore MP, Moutquin JM, Smith GN, Walker JJ, Walley KR, Russell JA, von Dadelszen P. Current CHS and NHBPEP criteria for severe preeclampsia do not uniformly predict adverse maternal or perinatal outcomes. *Hypertens Pregnancy* 2007; **26**: 447–462.
8. Meler E, Figueras F, Mula R, Crispi F, Benassar M, Gómez O, Gratacós E. Prognostic role of uterine artery Doppler in patients with preeclampsia. *Fetal Diagn Ther* 2010; **27**: 8–13.
9. Kafkaslı A, Türkçüoğlu I, Turhan U. Maternal, fetal and perinatal characteristics of preeclampsia cases with and without abnormalities in uterine artery Doppler indexes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2013; **26**: 936–940.
10. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moerl M, Zeisler H, Calda P, Holzgreve W, Galindo A, Engels T, Denk B, Stepan H. The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol* 2012; **206**: 58.e1–8.
11. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moerl MG, Pape J, Dudenhausen JW, Denk B, Stepan H. An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2010; **202**: 161.e1–e11.
12. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy* 2001; **20**: IX–XIV.
13. Sibai BM, Barton JR. Expectant management of severe preeclampsia remote from term: patient selection, treatment, and delivery indications. *Am J Obstet Gynecol* 2007; **196**: 514.e1–9.
14. Baschat AA, Gembruch U. The cerebroplacental Doppler ratio revisited. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; **21**: 124–127.
15. Figueras F, Meler E, Iraola A, Eixarch E, Coll O, Figueras J, Francis A, Gratacós E, Gardosi J. Customized birthweight standards for a Spanish population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; **136**: 20–24.
16. Verburg BO, Steegers EAP, De Ridder M, Snijders RJM, Smith E, Hofman A, Moll HA, Jaddoe VVW, Witteman JCM. New charts for ultrasound dating of pregnancy and assessment of fetal growth: longitudinal data from a population-based study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; **31**: 388–396.
17. Sibai BM, Taslimi MM, el-Nazer A, Amon E, Mabie BC, Ryan GM. Maternal–perinatal outcome associated with the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets in severe preeclampsia–eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1986; **155**: 501–509.
18. SEGO. Protocolos Asistenciales en Obstetricia. Trastornos hipertensivos del embarazo 2006. <http://www.sego.es>. [Accessed 20 June 2013].
19. Gómez Arriaga PI, Herraiz I, López-Jimenez EA, Gómez-Montes E, Denk B, Galindo A. Uterine artery Doppler and sFlt-1/PlGF ratio: usefulness in diagnosis of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; **41**: 530–537.
20. Gómez O, Figueras F, Fernández S, Benassar M, Martínez JM, Puerto B, Gratacós E. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11–41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; **32**: 128–132.
21. Haddad B, Sibai BM. Expectant management in pregnancies with severe pre-eclampsia. *Semin Perinatol* 2009; **33**: 143–151.
22. Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, Lim KH, Wenger JB, Thadhani R, Karumanchi SA. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation* 2012; **125**: 911–919.
23. Silasi M, Cohen B, Karumanchi SA, Rana S. Abnormal placentation, angiogenic factors, and the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2010; **37**: 239–253.
24. Schoofs K, Grittner U, Engels T, Pape J, Denk B, Henrich W, Verlohren S. The importance of repeated measurements of the sFlt-1/PlGF ratio for the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction. *J Perinat Med* 2014; **42**: 61–68.

SUPPORTING INFORMATION ON THE INTERNET

The following supporting information may be found in the online version of this article:

-  **Table S1** Adverse maternal and perinatal outcomes of pregnancies with early-onset pre-eclampsia that were eligible for expectant management during the study period. Comparisons are made between the study population ($n = 51$) and the cases excluded due to incomplete information about mean uterine artery pulsatility index and/or sFlt-1/PlGF ratio ($n = 43$)



This article has been selected for Journal Club.

A slide presentation, prepared by Dr Katherine Goetzinger, one of UOG's Editors for Trainees, is available online.


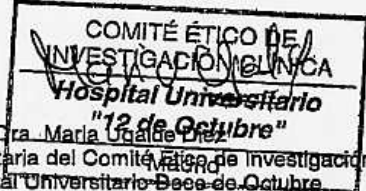
7 Conclusiones

1. La predicción de la preeclampsia en gestantes de alto riesgo mediante el empleo del estudio Doppler de las arterias uterinas, tanto en el primer como en el segundo trimestre, obtiene unos resultados más modestos que los descritos en la población general. Sin embargo, la evaluación semi-cuantitativa y cuantitativa de la evolución de las resistencias en las arterias uterinas entre el primer y el segundo trimestre mejora los resultados predictivos. Así, en la serie de gestantes incluidas para la presente Tesis, esta estrategia permitió detectar todos los casos de preeclampsia precoz para una tasa de falsos positivos del 25%. Por el contrario, la aparición de PE tardía no fue predecible mediante el estudio Doppler de las arterias uterinas.
2. El diagnóstico de la preeclampsia se asocia de forma prácticamente invariable con la existencia de valores anormalmente elevados de las resistencias en las arterias uterinas y del cociente sFlt-1/PlGF antes de las 32 semanas, pero entre la semana 32 y 34 comienzan a aparecer falsos negativos en estos marcadores, y su utilidad más allá de semana 34 es mucho menor para la confirmación del diagnóstico de preeclampsia ya que se encuentran elevados en menos de la mitad de los casos.
3. La existencia de resultados perinatales adversos en las gestaciones afectas de preeclampsia se relacionó principalmente con la edad gestacional al diagnóstico y, de forma menor, con los valores del Doppler en las arterias uterinas y del cociente sFlt-1/PlGF. Mediante la combinación de estas variables se pudo predecir la aparición de resultados perinatales adversos en el momento del diagnóstico de PE con una sensibilidad del 64% y una especificidad del 95%. Sin embargo, ninguna de las variables estudiadas,

4. incluyendo tanto los marcadores IPm-AUt y cociente sFlt-1/PlGF como los clásicos criterios de severidad de la PE, consiguen predecir adecuadamente si la madre puede sufrir algún tipo de complicación durante el manejo expectante de la PE precoz.
5. La elevación extrema del cociente sFlt-1/PlGF por encima de 655 se asocia en la mayoría de los casos (92% según el estudio de esta Tesis) a la aparición de complicaciones que obligan a finalizar el embarazo de forma inminente en las siguientes 48 horas. Sin embargo, el estudio Doppler de las arterias uterinas no permite predecir el tiempo de embarazo restante.
6. Ni los valores de las resistencias en las arterias uterinas ni los del cociente sFlt-1/PlGF se asociaron de forma significativa con la aparición de algún tipo de complicación concreta (neurológica, hepática o renal) de la preeclampsia.
7. La elevación de las resistencias en las arterias uterinas y del cociente sFlt-1/PlGF se comportaron como indicadores de disfunción placentaria, no permitiendo discernir inequívocamente entre la existencia de preeclampsia o crecimiento intrauterino restringido. Por tanto, en todos los casos en los que se detecte una elevación de estos marcadores resulta imprescindible el estudio fetal tanto biométrico como hemodinámico

8 Anexos

8.1 Aprobación del Comité de ética de la primera publicación.

 <p>Hospital Universitario 12 de Octubre SaludMadrid</p>	 Comunidad de Madrid
	Comité Ético de Investigación Clínica
	Nº REF: <u>06/237</u>
<p>Dra. MARIA UGALDE DIEZ, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Universitario Doce de Octubre.</p>	
<p>CERTIFICA:</p>	
<p>Que este Comité en su reunion de fecha 19 de diciembre de 2006 y una vez evaluado el Proyecto de Investigación titulado CRIBADO COMBINADO DE LA PREECLAMPSIA EN EL PRIMER TRIMESTRE DE GESTACIÓN, cuyo Investigador Principal es el Dr. Alberto Galindo Izquierdo, decide APROBAR.</p>	
<p>Lo que firmo en Madrid, a 21 de diciembre de 2006,</p>	
	
<p>Fdo.: Dra. Maria Ugalde Diez Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica Hospital Universitario Doce de Octubre</p>	
<p>AVDA. DE CÓRDOBA, 6/N, SECRETARÍA DE GESTIÓN DE ENSAYOS CLÍNICOS, HOSPITAL MATERNO INFANTIL, SOTANO - 2, 28041 MADRID ceic@h12o.es TEL/FAX 91.390.85.46</p>	

8.2 Consentimiento informado de la primera publicación.

INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE Y FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio:	Cribado combinado de la preeclampsia en el primer trimestre de gestación
Investigadores principales:	Dr. Alberto Galindo Izquierdo / Dr. Ignacio Herraiz García Hospital Universitario 12 de Octubre. Servicio de Obstetricia y Ginecología. Avda de Córdoba s/n. 28041. Madrid. Teléfono de contacto: 649093722

Introducción

Por la presente le invitamos a participar en un estudio de investigación. Usted tiene derecho a saber cuál es el objetivo de este estudio, cómo se selecciona a los pacientes, qué procedimientos se emplearán, cuáles son los posibles beneficios y qué es lo que se espera de usted. A esto lo llamamos "*consentimiento informado*". El presente formulario de consentimiento le proporcionará información sobre esta investigación. Se le solicitará que lea atentamente este consentimiento y que le pregunte al médico o personal del estudio todo aquello que no comprenda. Cuando haya comprendido la información y haya decidido participar, se le solicitará que firme este consentimiento y se le entregará una copia del mismo.

Duración y condiciones del estudio

La duración del estudio abarca desde la primera visita a la consulta hasta el alta después del parto. Durante este tiempo, el médico recogerá información respecto de sus antecedentes médicos personales, los resultados de sus pruebas analíticas y ecográficas, el parto y del estado del recién nacido.

Las pruebas que se incorporan a las habitualmente realizadas durante el embarazo son:

- Estudio Doppler de ambas arterias umbilicales en la ecografía del primer y segundo trimestre
- En los análisis del primer trimestre: medición en sangre de los niveles de PCR (proteína C reactiva), Inhibina A y factores relacionados con la angiogénesis (PIGF, sFlt1)

Ninguna de estas pruebas supone más extracciones de sangre de las habituales. Los sueros de las 3 analíticas rutinarias del embarazo se almacenarán para posibles comprobaciones posteriores y estudios futuros de nuevos marcadores durante un periodo de 5 años.

Su participación en este estudio no afectará en modo alguno a su embarazo ni a la atención médica que reciba.

Los participantes en el presente estudio garantizarán la confidencialidad de los datos obtenidos. En ningún caso se revelará la identidad de las pacientes o se divulgará información a partir de la

cual puedan ser identificadas.

Incorporación

Alrededor de 150 gestantes participarán en este estudio. Para ser elegida como participante en el estudio, debe confirmarse la siguiente información:

- Deberá acudir a las citas indicadas por su tocólogo, independientemente de que realice simultáneamente un control de su embarazo por un centro privado o de otro tipo.
- Deberá informar a su tocólogo sobre la utilización de cualquier medicación o tratamiento durante su embarazo.

Visitas del estudio

Las mismas que debe realizar para el control de su embarazo.

Nueva información

Toda nueva información importante que surja durante el estudio le será informada.

Posibles beneficios

Tal vez usted no obtenga ningún beneficio directo de este estudio debido a que la información recabada no será utilizada para cambiar la actitud terapéutica. La información obtenida de esta investigación podrá beneficiar a otros para adquirir un mejor conocimiento del desarrollo y la detección de la hipertensión provocada por el embarazo y también podrá proporcionar información para proporcionar un mejor tratamiento a aquellas gestantes con mayor riesgo de desarrollar hipertensión durante el embarazo.

Posibles riesgos derivados del estudio

No existen.

Remuneración por su participación en el estudio

Usted no recibirá pago alguno por participar en este estudio. Este hospital se hará cargo del costo de las pruebas adicionales a que será sometida.

Participación voluntaria / Retiro del estudio

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria. Usted puede negarse a seguir en este estudio en cualquier momento. Su decisión no afectará en modo alguno a la calidad de su actual o futuro tratamiento médico ni a su participación en estudios de investigación a realizarse en el futuro en este centro.

El médico podrá dar por terminada su participación en el estudio en caso de considerarlo necesario para su bienestar.

Objetivo de la investigación

El principal objetivo de este estudio es conocer si es posible predecir la aparición de hipertensión provocada por el embarazo, mediante el estudio de una serie de análisis bioquímicos y ecográficos realizados durante el primer trimestre del embarazo.

Consentimiento del paciente

He leído las declaraciones y demás información detallada en este formulario de consentimiento. Todas mis preguntas concernientes al presente estudio me fueron contestadas. Entiendo que puedo rehusar a participar en este estudio de investigación.

Entiendo que recibiré una copia de este formulario de consentimiento firmado y fechado.

Con la firma de este formulario no renuncio a ninguno de mis derechos legales como participante de un estudio de investigación.

Acepto participar en el estudio titulado: "Estudio Prospectivo de Observación para evaluar la eficacia de un programa de cribado de la preeclampsia en el primer trimestre"

Firma del paciente	Nombre del paciente	Fecha
--------------------	---------------------	-------

(En letra de imprenta)

Firma de la madre/padre/tutor	Nombre de la madre/padre/tutor	Fecha
-------------------------------	--------------------------------	-------

(Si correspondiese)

8.3 Aprobación del Comité de Ética de la segunda y tercera publicación.



Comunidad de Madrid

Comité Ético de Investigación Clínica

CODIGO INTERNO: 07/236

Dra. MARIA UGALDE DIEZ, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Universitario Doce de Octubre.

CERTIFICA:

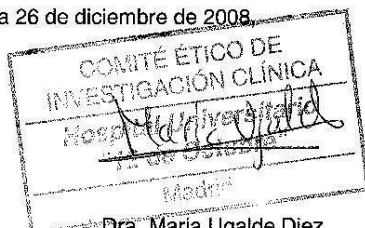
Que este Comité, en la sesión celebrada el día **23/10/2007**, ha analizado la Modificación (versión 2.0, issued: July, 23, 2008) del Proyecto de Investigación titulado:

DIAGNOSTICO DE LA PREECLAMPSIA MEDIANTE ELECYS ASSAYS PARA SFLT-1 (SOLUBLE FMS-KIKE TYROSIN KINASE) AND PLGF (PLACENTAL GROWTH FACTOR)

cuyo Investigador Principal es el Dr.. **Alberto GALINDO IZQUIERDO**, del Servicio de **OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA**

entendiendo que dicha Modificación se ajusta a las normas éticas esenciales y criterios deontológicos que rigen en este Centro, cumpliendo los requisitos metodológicos necesarios, y que es viable en todos sus términos, por lo que la ha considerado adecuada y ha decidido su **APROBACIÓN**.

Lo que firmo en Madrid, a 26 de diciembre de 2008



Dra. María Ugalde Diez
Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica
Hospital Universitario Doce de Octubre

8.4 Consentimiento informado de la segunda y tercera publicación.

**Estudio prospectivo multicéntrico:
Diagnostico de preeclampsia por medio de nuevos marcadores de laboratorio (Elecsys
sFlt-1 y PIGF)**

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Hospital 12 de Octubre
GmbH
Servicio de Obstetricia y Ginecología
Servicio de Análisis Clínicos
Avda. de Córdoba, s/n
28041 Madrid

en cooperación con

Roche Diagnostics
Clinical Trials CD
82372 Penzberg

Nombre de la paciente

Fecha de nacimiento

ID-paciente

Información general

He leído la información para el paciente en relación con el estudio arriba mencionado.
En conversación personal y detallada con el medico responsable del estudio:

Sr:

Teléfono:

He sido informada comprensiblemente acerca del estudio que se pretende realizar. He entendido el contenido de esta conversación. He tenido la oportunidad de preguntar por cualquier detalle de este estudio y tiempo suficiente para tomar mi decisión sin ser influida. De momento no me han surgido más preguntas. En caso de que tenga alguna pregunta que realizar en el futuro, el médico responsable estará a mi disposición.

Consentimiento para el uso y recogida de las muestras de sangre y orina

Estoy de acuerdo con la retirada de mi sangre y orina. Estoy de acuerdo en que, bajo la responsabilidad del Hospital 12 de Octubre y el médico responsable del estudio, mis muestras de sangre se utilizarán exclusivamente de forma codificada según se explica en la información para el paciente. Las muestras de sangre se codificarán de tal manera que la información sobre mi identidad solamente la podrá conocer el médico responsable utilizando una lista de referencia con los códigos utilizadas. Estoy de acuerdo en que, bajo estas condiciones, mis muestras sean traspasadas a Roche Diagnostics.

Soy consciente de que no puedo solicitar compensaciones, derechos de autor ni otras formas de participación en los beneficios y ventajas financieras que se puedan obtener en base a la investigación con mi sangre.

Consentimiento sobre la protección de los datos privados

Estoy de acuerdo con la recogida de mis datos y su evaluación estadística en el

contexto de este estudio. El traspaso de estos datos a Roche Diagnostics y posteriormente a sus propios laboratorios donde se realizan las mediciones se llevará a cabo solamente de forma codificada. De acuerdo con las regulaciones legales sobre datos personales: nombre, fecha de nacimiento, identificación del paciente (ID-paciente), dichos datos serán conservados durante al menos 15 años por el Hospital 12 de Octubre. Mis datos personales y clínicos serán manejados con confidencialidad.

Soy consciente de que por razones de control, las personas que hayan sido autorizadas por el patrocinador de este estudio podrán tener acceso a mis archivos médicos. Estoy de acuerdo en este derecho al acceso a mis archivos médicos que solamente se concede para los propósitos de este estudio.

En caso de que mi parto ocurra en otro centro, autorizo al médico responsable del estudio a recoger de dicho centro los datos que sean relevantes acerca de mi embarazo, mi parto y de la posterior evolución materna y fetal/neonatal.

Por la presente, doy mi consentimiento de acuerdo con los puntos arriba especificados para tomar parte en este estudio de forma voluntaria.

Conozco que puedo revocar mi consentimiento de participación en este estudio en cualquier momento, sin necesidad de justificar las razones. Este revocamiento debe ser comunicado directamente al médico responsable del estudio. La negación a participar no tendrá consecuencias negativas para los cuidados médicos que estoy recibiendo actualmente. Tras la revocación del consentimiento, todas mis muestras de sangre y orina serán eliminadas y cualquier dato que hubiese sido evaluado será borrado de los archivos del estudio.

He recibido una copia de este consentimiento informado, así como de la información al paciente.

Fecha

Firma de la paciente

La paciente ha sido informada por mí acerca del estudio previsto de forma clara y comprensible.

Fecha
estudio

Firma del medico responsable del

9 Referencias

- ¹ Steegers EAP, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2010; 376: 633-44.
- ² Catov JM, Ness RB, Kip KE, Olsen J. Risk of early or severe pre-eclampsia related to pre-existing conditions. *Int J Epidemiol*. 2007; 36: 412-19.
- ³ Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. *Semin Perinatol*. 2012; 36: 56-59.
- ⁴ Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gümezoglu AM, Van Look PFA. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet*. 2006; 367: 1066-74.
- ⁵ Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol*. 2009; 33: 130-37.
- ⁶ Friedman SA, Schiff E, Kao L, Sibai BM. Neonatal outcome after preterm delivery for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1995; 172: 1785-88.
- ⁷ Backes CH, Markham K, Moorehead P, Cordero L, Nankervis CA, Giannone PJ. Maternal preeclampsia and neonatal outcomes. *J Pregnancy*. 2011;2011:214365. doi: 10.1155/2011/214365. Epub 2011 Apr 4.
- ⁸ Gruslin A, Lemyre B. Pre-eclampsia: fetal assessment and neonatal outcomes. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol*. 2011; 25: 491-507.
- ⁹ von DP, Magee LA, Roberts JM. Subclassification of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2003; 22: 143-48.
- ¹⁰ Khong TY, De Wolf F, Robertson WB, Brosens I. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by preeclampsia and small for date gestational age infants. *BJOG*. 1986; 93: 1049-59.
- ¹¹ Silasi M, Cohen B, Karumanchi SA, Rana S. Abnormal placentation, angiogenic factors, and the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Clin N Am*. 2010; 37: 239-53.
- ¹² Scott JS. Pregnancy toxemia associated with hydrops foetalis, hydatidiform mole and hydramnios. *J Obstet Gynaecol Br Emp*. 1958; 65: 689-701.
- ¹³ Piering WF, Garancis JG, Becker CG, Beres JA, Lemann J Jr. Pre-eclampsia related to a functioning extrauterine placenta: report of a case and 25 year follow-up. *Am J Kidney Dis*. 1993; 21: 310-13.

-
- ¹⁴ Kaar K, Jouppila P, Kuikka J, Luotola H, Toivanen J, Rekonen A. Intervillous blood flow in normal and complicated late pregnancy measured by means of an intravenous ¹³³Xe method. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1980; 59: 7–10.
- ¹⁵ Khalil RA, Granger JP. Vascular mechanisms of increased arterial pressure in preeclampsia: lessons from animal models. *Am J Physiol.* 2002; 283: 29–45.
- ¹⁶ Papageorghiou AT, Yu CK, Cicero S, Bower S, Nicolaides KH. Second trimester uterine artery Doppler screening in unselected populations: a review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002;12:78–88.
- ¹⁷ King A, Hiby SE, Verma S, Burrows T, Gardner L, Loke YW. Uterine NK cells and trophoblast HLA class I molecules. *Am J Reprod Immunol.* 1997; 37: 459–62.
- ¹⁸ Levine RJ, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol.* 2005; 48: 372-86.
- ¹⁹ Pettit F, Brown MA. The management of pre-eclampsia: what we think we know. *Eur J Obstet Gynecol.* 2012; 160: 6 - 12.
- ²⁰ Côté AM, Firoz T, Mattman A, Lam EM, von Dadelszen P, Magee LA. The 24-hour urine collection: gold standard or historical practice? *Am J Obstet Gynecol.* 2008; 199: 625-26.
- ²¹ Lowe SA, Brown MA, Dekker GA, Gatt S, McLintock CK, McMahon LP, Mangos G, Moore MP, Muller P, Paech M, Walters B. Guidelines for the management of hypertensive disorders of pregnancy. 2008. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2009; 49: 242 - 46.
- ²² Magee L, Helewa M, Moutquin JM, von Dadelszen P. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can.* 2008; 30 (Suppl 3): s1 - 48.
- ²³ Menzies J, Magee LA, Li J, Macnab YC, Yin R, Stuart H, Baraty B, Lam E, Hamilton T, Lee SK, von Dadelszen P. Instituting surveillance guidelines and adverse outcomes in preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2007; 110: 121–27.
- ²⁴ Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, Pape J, Dudenhausen JW, Denk B, Stepan H. An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2010; 202:161.e1–161.e11.

-
- ²⁵ Masuyama H, Suwaki N, Nakatsukasa H, Masumoto A, Tateishi Y, Hiramatsu Y. Circulating angiogenic factors in preeclampsia, gestational proteinuria, and preeclampsia superimposed on chronic glomerulonephritis. *Am J Obstet Gynecol.* 2006; 194: 551-56.
- ²⁶ Qazi U, Lam C, Karumanchi SA, Petri M. Soluble Fms-like tyrosine kinase associated with preeclampsia in pregnancy in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2008; 35: 631-34.
- ²⁷ Young B, Levine RJ, Salahuddin S, Qian C, Lim KH, Karumanchi SA, et al. The use of angiogenic biomarkers to differentiate non-HELLP related thrombocytopenia from HELLP syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010; 23: 366-70.
- ²⁸ Stone JH. HELLP syndrome: hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets. *JAMA.* 1998; 12: 559-62.
- ²⁹ Douglas KA, Redman CW: Eclampsia in the United Kingdom. *BMJ.* 1994; 309:1395-400.
- ³⁰ Askie LM, Duley L, Henderson-Smith DJ, Stewart LA. Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet.* 2007; 369: 1791-98.
- ³¹ Henderson JT, Whitlock EP, O'Connor E, Senger CA, Thompson JH, Rowland MG. Low-dose aspirin for prevention of morbidity and mortality from preeclampsia: a systematic evidence review for the US Preventive Task Force. *Ann Intern Med.* 2014; 160:695-703.
- ³² Roberge S, Giguere Y, Villa P, Nicolaides KH, Vainio M, Forest JC, von Dadelzen P, Vaiman D, Tapp S, Bujold E. Early administration of low-dose aspirin for the prevention of severe and mild preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Am J Perinatol.* 2012; 29: 551-56.
- ³³ Kusanovic JP, Romero R, Chaiworapongsa T, Erez O, Mittal P, Vaisbuch E et al. A prospective cohort study of the value of maternal plasma concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in early pregnancy and midtrimester in the identification of patients destined to develop preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009; 22: 1021-38.

-
- ³⁴ Milne F, Redman C, Walker J, Baker P, Bradley J, Cooper C, de Swiet M, Fletcher G, Jokinen M, Murphy D, Nelson-Piercy C, Osgood V, Robson S, Shennan A, Tuffnell A, Twaddle S, Waugh J. The pre-eclampsia community guideline (PRECOG): how to screen for and detect onset of pre-eclampsia in the community. *BMJ*. 2005; 330: 576-80.
- ³⁵ SEGO. Protocolos Asistenciales en Obstetricia. Asistencia prenatal al embarazo normal.2002. <http://www.sego.es>. [Último acceso: 20 Junio 2014].
- ³⁶ Poon LC, Kametas NA, Chelemen T, Leal A, Nicolaides KH. Maternal risk factors for hypertensive disorders in pregnancy: a multivariate approach *J Hum Hypertens*. 2010; 24: 104-10.
- ³⁷ Akelokar R, Syngelaki A, Sarquis R, Zvanca M, Nicolaides KH. Intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11 - 13 weeks. *Prenat Diagn*. 2011; 31: 66-74.
- ³⁸ Publications Committee, Society for Maternal-Fetal Medicine, Sibai BM. Evaluation and management of severe preeclampsia before 34 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol*. 2011; 205:191-98.
- ³⁹ Haddad B, Sibai BM. Expectant management in pregnancies with severe pre-eclampsia. *Semin Perinatol*. 2009; 33:143-51.
- ⁴⁰ Menzies J, Magee LA, Macnab YC, Ansermino JM, Li J, Douglas MJ, Gruslin A, Kyle P, Lee SK, Moore MP, Moutquin JM, Smith GN, Walker JJ, Walley KR, Russell JA, von Dadelszen P. Current CHS and NHBPEP criteria for severe preeclampsia do not uniformly predict adverse maternal or perinatal outcomes. *Hypertens Pregnancy*. 2007; 26: 447-62.
- ⁴¹ Meler E, Figueras F, Mula R, Crispi F, Benassar M, Gómez O, Gratacós E. Prognostic role of uterine artery Doppler in patients with preeclampsia. *Fetal Diagn Ther*. 2010; 27: 8-13.
- ⁴² Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H, Calda P, Holzgreve W, Galindo A, Engels T, Denk B, Stepan H. The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol*. 2012; 206: 58.e1-58.e8.

- ⁴³ Cnossen JS, Morris RK, Ter RG, Mol BW, van der Post JA, Coomarasamy A, Zwinderman AH, Robson SC, Bindels PJ, Kleijnen J, Khan KS. Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis. *CMAJ*. 2008; 178: 701-11.
- ⁴⁴ Conde-Agudelo A, Lindheimer M. Use of Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia. *CMAJ*. 2008; 179: 53-54.
- ⁴⁵ Albaiges G, Missfelder-Lobos H, Lees C, et al. One-stage screening for pregnancy complications by color Doppler assessment of the uterine arteries at 23 weeks' gestation. *Obstet Gynecol*. 2000; 96: 559-64.
- ⁴⁶ Martin AM, Bindra R, Curcio P, Cicero S, Nicolaides KH. Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001; 18: 583-86.
- ⁴⁷ Gómez O, Figueras F, Martínez JM, del Río M, Palacio M, Eixarch E, Puerto B, Coll O, Cararach V, Vanrell JA. Sequential changes in uterine artery blood flow pattern between the first and second trimesters of gestation in relation to pregnancy outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006; 28: 802-08.
- ⁴⁸ Plasencia W, Maiz N, Poon L, Yu C, Nicolaides KH. Uterine artery Doppler at 11 + 0 to 13 + 6 weeks and 21 + 0 to 24 + 6 weeks in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008; 32: 138-46.
- ⁴⁹ Herraiz I, Arbués J, Camaño I, Gómez-Montes E, Grañeras A, Galindo A. Application of a first-trimester prediction model for pre-eclampsia based on uterine arteries and maternal history in high-risk pregnancies. *Prenat Diagn*. 2009; 29: 1123-29.
- ⁵⁰ Meler E, Figueras F, Mula R, Crispi F, Benassar M, Gómez O, Gratacós E. Prognostic role of uterine artery Doppler in patients with preeclampsia. *Fetal Diagn Ther*. 2010; 27: 8-13.
- ⁵¹ Meler E, Figueras F, Benassar M, Gomez O, Crispi F, Gratacos E. The prognostic role of uterine artery Doppler investigation in patients with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2010; 202: 559.e1-559.e4.
- ⁵² Ghi T, Youssef A, Piva M, Contro E, Segata M, Guasina F, et al. The prognostic role of uterine artery Doppler studies in patients with late-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2009; 201: 36.e1-36.e5.

- ⁵³ Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003; 111: 649-58.
- ⁵⁴ Tischer E, Mitchell R, Hartman T, Silva M, Gospodarowicz D, Fiddes JC et al. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple proteins forms are encoded through alternative exon splicing. *J Biol Chem*. 1991; 266:11947-54.
- ⁵⁵ Steinberg G, Khankin EV, Karumanchi SA. Angiogenic factors and preeclampsia. *Thrombosis Res* 2009;123 (Supl 2):s93-99.
- ⁵⁶ Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004; 350: 672-83.
- ⁵⁷ Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, Bujold E, Mee Kim Y, Goncalves LF et al. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. Young Investigator Award. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 190: 1541-47.
- ⁵⁸ Widmer M, Villar J, Benigni A, Conde-Agudelo A, Karumanchi SA, Lindheimer M. Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review *Obstet Gynecol*. 2007; 109: 168-80.
- ⁵⁹ Akolekar R, Zaragoza E, Poon LC, Pepes S, Nicolaides KH. Maternal serum placental growth factor at 11 + 0 to 13 + 6 weeks of gestation in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008; 32: 732-39.
- ⁶⁰ Stepan H, Unversucht A, Wessel N, Faber R. Predictive value of maternal angiogenic factors in second trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion. *Hypertension*. 2007; 49: 818-24.
- ⁶¹ Crispi F, Llorba E, Domínguez C, Martín-Gallán P, Cabero L, Gratacós E. Predictive value of angiogenic factors and uterine artery Doppler for early- versus late-onset pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008; 3: 303-09.
- ⁶² Diab AE, El-Behery MM, Ebrahiem MA, Shehata AE. Angiogenic factors for the prediction of pre-eclampsia in women with abnormal midtrimester uterine artery Doppler velocimetry. *Int J Gynaecol Obstet*. 2008; 102: 146-51.
- ⁶³ De Vivo A, Baviera G, Giordano D, et al. PlGF and sFlt-1 as markers for predicting pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2008; 87: 837-42.

- ⁶⁴ Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, Pape J, Dudenhausen JW, Denk B, Stepan H. An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2010 ; 202: 161.e1-161.e11.
- ⁶⁵ Sunderji S, Gaziano E, Wothe D, Rogers LC, Sibai B, Karumanchi SA, Hodges-Savola C. Automated assays for sVEGF R1 and PlGF as an aid in the diagnosis of preterm preeclampsia: a prospective clinical study. *Am J Obstet Gynecol.* 2010; 202: 40.e1-40.e7.
- ⁶⁶ Kuse-Föhl S, Klockenbusch W, Rath W, Schauf B, Schlembach D, Stepan H, Walther T. Leitlinie: Diagnostik und Therapie hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen. Disponible en: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/015-018l_S1_Diagnostik_Therapie_hypertensiver_Schwangerschaftserkrankungen_2014-01.pdf. [Último acceso: 20 Junio 2014].
- ⁶⁷ Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of HELLP syndrome. *Obstet.Gynecol.* 2004; 103: 981-91.
- ⁶⁸ Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2005; 365: 785-99.
- ⁶⁹ Schaarschmidt W¹, Rana S, Stepan H. The course of angiogenic factors in early- vs. late-onset preeclampsia and HELLP syndrome. *J Perinat Med.* 2013; 41: 511-16.
- ⁷⁰ Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, Lim KH, Wenger JB, Thadhani R, Karumanchi SA. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation.* 2012; 125: 911-19.
- ⁷¹ Schaarschmidt W, Rana S, Stepan H. The course of angiogenic factors in early- vs. late-onset preeclampsia and HELLP syndrome. *J Perinat Med.* 2013; 41: 511-16.
- ⁷² Schnettler W, Dukhovny D, Wenger J, Salahuddin S, Ralston S, Rana S. Cost and resource implications with serum angiogenic factor estimation in the triage of pre-eclampsia *BJOG.* 2013; 120: 1224-32.
- ⁷³ Thadhani R, Kisner T, Hagmann H, Bossung V, Noack S, Schaarschmidt W, Jank A, Kribs A, Cornely AO, Kreyssig C, Hemphill L, Rigby AC, Khedkar S, Lindner TH, Mallmann P, Stepan H, Karumanchi SA, Benzing T. Pilot study of extracorporeal removal of soluble Fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia. *Circulation.* 2011; 124: 940-50.

- ⁷⁴ Gilbert JS, Verzwyvelt J, Colson D, Arany M, Karumanchi SA, Granger JP. Recombinant vascular endothelial growth factor 121 infusion lowers blood pressure and improves renal function in rats with placental ischemia-induced hypertension. *Hypertension*. 2010; 55: 380-85.
- ⁷⁵ Sibai BM. Biomarker for hypertension-preeclampsia: are we close yet?. *Am J Obstet Gynecol*. 2007; 197: 1-2.
- ⁷⁶ Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy* 2001; 20: IX – XIV.
- ⁷⁷ Raymond D, Peterson E. A critical review of early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv*. 2011; 66: 497–506.
- ⁷⁸ Magee LA, Helewa ME, Moutquin JM, von Dadelszen P. SOGC guidelines; diagnosis, evaluation and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can*. 2008; 30 (Suppl): s1–48.
- ⁷⁹ Baschat AA, Gembruch U. The cerebroplacental Doppler ratio revisited. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003; 21: 124–27.
- ⁸⁰ Figueras F, Meler E, Iraola A, Eixarch E, Coll O, Figueras J, Francis A, Gratacós E, Gardosi J. Customized birthweight standards for a Spanish population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008; 136: 20–24.
- ⁸¹ Verburg BO, Steegers EAP, De Ridder M, Snijders RJM, Smith E, Hofman A, Moll HA, Jaddoe VWV, Witteman JCM. New charts for ultrasound dating of pregnancy and assessment of fetal growth: longitudinal data from a population-based study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008; 31: 388–96.
- ⁸² Sibai BM, Barton JR. Expectant management of severe preeclampsia remote from term: patient selection, treatment, and delivery indications. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196: 514.e1-514.e9.
- ⁸³ Gómez O, Figueras F, Fernández S, Bennasar M, Martínez JM, Puerto B, Gratacós E. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11–41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008; 32: 128–32.
- ⁸⁴ SEGO. Protocolos Asistenciales en Obstetricia. Trastornos hipertensivos del embarazo 2006. <http://www.sego.es>. [Accessed 20 June 2013].

⁸⁵ Gómez O, Figueras F, Fernández S, Bennasar M, Marínez JM, Puerto B, Gratacós E. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11-41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008; 32:128-132.

⁸⁶ Benton SJ, Hu Y, Xie F, Kupfer K, Lee SW, Magee LA, von Dadelszen P. Angiogenic factors as diagnostic tests for pre-eclampsia: a performance comparison between two commercial immunoassays. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; 205: 469.e1-469.e8.