



**UNIVERSIDAD DE OVIEDO**

**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR**

**Programa de Doctorado en Biología Molecular y Celular**

**Título:**

**NUEVOS MARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO  
Y PRONÓSTICO DE LA PREECLAMPSIA  
PRECOZ Y TARDÍA**

**Autora:**

**Indira Álvarez Fernández**

**Octubre, 2015**





**UNIVERSIDAD DE OVIEDO**

**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR**

**Programa de Doctorado en Biología Molecular y Celular**

**Título:**

**NUEVOS MARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO  
Y PRONÓSTICO DE LA PREECLAMPSIA  
PRECOZ Y TARDÍA**

**Autora:**

**Indira Álvarez Fernández**

**Octubre, 2015**







## RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: NUEVOS MARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DE LA PREECLAMPSIA PRECOZ Y TARDÍA.	Inglés: NEW BIOMARKERS IN THE DIAGNOSIS AND PROGNOSIS OF EARLY- AND LATE- ONSET PREECLAMPSIA.
2.- Autor	
Nombre: INDIRA ÁLVAREZ FERNÁNDEZ	DNI/Pasaporte/NIE:
Programa de Doctorado: Biología Molecular y Celular	
Órgano responsable: Departamento de Bioquímica y Biología Molecular	

### RESUMEN (en español)

La preeclampsia (PE) es un trastorno hipertensivo del embarazo definido como la aparición de hipertensión y proteinuria a partir de la semana 20 de gestación. Constituye un problema de salud de primera línea debido a su elevada incidencia (5-10%) y a la importante morbi-mortalidad materna y fetal, especialmente en los casos que debutan antes de las 34 semanas de gestación (PE precoz) que en las que lo hacen posteriormente (PE tardía). Aunque el diagnóstico inmediato de la PE es crucial para minimizar el desarrollo de complicaciones, éste se basa en datos clínicos y de laboratorio que son inespecíficos y no siempre correlacionan con la gravedad de la enfermedad. Por ello, es necesario el desarrollo de nuevos biomarcadores que solventen estos problemas y que resulten de ayuda en la toma de decisiones clínicas.

El objetivo principal de esta Tesis Doctoral ha sido evaluar el papel de los marcadores reguladores de la angiogénesis (factor de crecimiento placentario, PIGF; forma soluble de la tirosina quinasa-1, sFlt-1 y cociente sFlt-1/PIGF) y de un marcador cardiovascular (fragmento amino-terminal del pro-péptido natriurético tipo B, NT-proBNP) en comparación con los marcadores clásicamente utilizados (transaminasas y ácido úrico) en el diagnóstico de la PE precoz y tardía, y en el pronóstico de desenlace adverso, entendido como parto inminente en la primera semana post-ingreso o muerte fetal o neonatal. Además, se ha analizado la capacidad de los marcadores bioquímicos fracción beta libre de la gonadotropina coriónica humana ( $\beta$ hCG) y proteína plasmática A asociada al embarazo (PAPP-A) en el cribado de la enfermedad durante el primer trimestre de gestación. Finalmente, se ha estudiado la existencia de una posible relación entre la PE y la deficiencia de vitamina D determinada en diferentes momentos del embarazo.

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo de cohortes en el Hospital Universitario Central de Asturias en el que se incluyeron 340 gestantes que acudieron al Servicio de Urgencias obstétricas con signos y/o síntomas de PE. Se determinaron las concentraciones séricas de los marcadores de estudio y se realizó una revisión de las historias clínicas, recogiendo variables relativas al momento del ingreso en Urgencias y al parto, entre ellas, el desarrollo de PE o de desenlace adverso. Se clasificó a las gestantes en función de la edad gestacional al ingreso en  $<34$  y  $\geq 34$  semanas de gestación, para analizar el rendimiento de los marcadores en la PE precoz y tardía, respectivamente.

El cociente sFlt-1/PIGF demostró ser el marcador de mayor utilidad en el diagnóstico de PE precoz y tardía, de manera que los puntos de corte de 23 y 45, respectivamente, ofrecieron mayor sensibilidad que la obtenida con los marcadores utilizados actualmente en la valoración de la gestante con sospecha de la enfermedad, como el ácido úrico o las transaminasas. Sin embargo, el NT-proBNP demostró una utilidad limitada en el diagnóstico de PE, ya que no logró superar la sensibilidad y especificidad mostradas por el ácido úrico. Además, tanto el cociente sFlt-1/PIGF como el NT-proBNP resultaron útiles en la identificación de gestantes con riesgo de desenlace adverso que acudieron a Urgencias Obstétricas antes de las 34 semanas



de gestación, ya que los respectivos puntos de corte de 178 y 219 pg/mL, permitieron detectar los casos de parto inminente en la primera semana tras el ingreso, muerte fetal o muerte neonatal con elevada especificidad. Por otra parte, aunque se encontraron concentraciones séricas de PAPP-A disminuidas en las gestantes que posteriormente desarrollaron PE precoz, el uso de este biomarcador de manera aislada no parece útil en el cribado precoz de la enfermedad. Finalmente, se detectó una asociación entre la deficiencia de vitamina D en el momento del ingreso en Urgencias y el desarrollo de PE tardía, aunque no de PE precoz.

### RESUMEN (en Inglés)

Preeclampsia (PE) is a hypertensive disorder of pregnancy characterized by the new onset of hypertension and proteinuria after 20 weeks of gestation. PE is a disease of special concern, due to its high incidence (5-10%) and its significant maternal and fetal morbi-mortality, especially in women presenting before 34 weeks of gestation (early-onset PE) than in those who present symptoms later (late-onset PE). Although patients at risk of developing PE require immediate management to prevent the risk of complications, diagnosis mainly relies on clinical and laboratory findings which are in most cases unspecific and do not correlate with the severity of the disease. Therefore, new biomarkers are needed to solve these problems and to help in clinical decision making.

The main objective of this Thesis has been to evaluate the role of pro- / anti-angiogenic biomarkers (placental growth factor, PIGF; soluble fms-like tyrosine kinase-1, sFlt-1 and sFlt-1/PIGF ratio) and a cardiovascular biomarker (N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, NT-proBNP) in comparison with classical biomarkers (transaminases and uric acid) in the diagnosis of early- and late-onset PE and prognosis of adverse outcome, defined as imminent delivery within the first week since presentation at triage, fetal demise or neonatal death. Moreover, it has been analyzed whether the biochemical markers free beta human chorionic gonadotropin ( $\beta$ hCG) and pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) are useful in the screening of the disease during the first trimester of gestation. Finally, it has been studied the hypothetical relationship between PE and vitamin D deficiency, determined at different times during gestation.

A retrospective cohort study was conducted at the Hospital Universitario Central de Asturias including 340 pregnant women who were admitted at the Obstetrical Triage with either signs or symptoms of PE. Serum levels of studied biomarkers were determined and clinical variables were registered from patient's records at sampling and delivery times. The main clinical outcomes studied were development of PE and adverse outcome. Women were classified according to the gestational age at presentation in  $<34$  y  $\geq 34$  weeks, to evaluate the performance of the biomarkers in early- and late-onset PE; respectively.

The sFlt-1/PIGF ratio was the most useful biomarker in the diagnosis of early- and late-onset PE, as the proposed cut-offs of 23 and 45, respectively, offered higher sensitivity and specificity than that obtained with classical biomarkers. However, NT-proBNP demonstrated a limited ability in diagnosing PE, since it could not improve the sensitivity and specificity achieved with the use of the classical biomarker uric acid. Moreover, both sFlt-1/PIGF ratio and NT-proBNP were helpful tools in the identification of women at high risk of adverse outcome before 34 weeks of gestation, as the respective cut points of 178 and 219 pg/mL could predict complications such as imminent delivery within the first week since presentation at triage or fetal and neonatal death with high specificity. On the other hand, women who later developed early-onset PE revealed lower PAPP-A levels, although the performance of this determination alone was insufficient for its application in first trimester screening of the disease. Finally, late- but not early-onset PE was associated with vitamin D deficiency measured at clinical presentation.







# AGRADECIMIENTOS

A Francisco V. Álvarez y Belén Prieto, directores de esta Tesis, por la confianza depositada en mí para llevar a cabo este proyecto, por vuestra dedicación, por tantas y tantas horas invertidas y porque sin vuestra ayuda, no habría sido posible llegar hasta aquí.

A Ana I. Escudero y Yolanda Ruano, del Servicio de Ginecología y Obstetricia, por vuestra contribución a la hora de poner en marcha este trabajo y por vuestra paciencia y disposición para ayudarme a resolver las miles de dudas que me abordaron a lo largo de este período.

A Verónica Rodríguez, por todo el tiempo que has dedicado a este trabajo, y sobre todo, por hacerlo siempre con la mejor de las sonrisas.

A las casas comerciales Roche Diagnostics y DiaSorin, por creer en este proyecto y por contribuir al mismo aportando los reactivos necesarios para llevarlo a cabo.

Al personal del Servicio de Bioquímica, ya que de una manera u otra me habéis facilitado el camino a lo largo de estos cuatro años; y en especial, a mis compañeros de residencia, por todas las horas y los cafés que hemos compartido y que cada día me ayudaron a recargar las pilas.

A mis padres, pilares indiscutibles de mi vida, por vuestro apoyo incondicional y por las fuerzas que siempre me habéis dado para luchar por mis objetivos y para mirar hacia delante. Ya fuera en la cercanía o en la distancia, vuestras palabras, vuestros consejos, han sido la energía que me ha impulsado hasta aquí.

A Rebeca, hermana y amiga, porque en cierto modo eres la culpable de que me haya embarcado en esta aventurilla y por los miles de dolores de cabeza que me has ayudado a superar; en definitiva por ser el mejor de los ejemplos en lo profesional, y sobre todo, en lo personal.

A Pascu, por tu incansable paciencia, por los kilómetros que te has echado a la espalda y las horas de sueño a las que has renunciado en estos años con tal de apoyarme sin descanso en este viaje. A tu lado hasta el más duro de los caminos se volvería increíblemente fácil.

A mis amigos, a todos los que directa o indirectamente, consciente o inconscientemente hayáis aportado vuestro granito de arena durante todo este tiempo, y de entre ellos, en especial a Pozo, por la vida que me han dado nuestras risas, nuestras peleas, nuestras discusiones sobre lo más trascendente y lo más absurdo... por ser ese hermano que nunca tuve pero al que con el tiempo pude adoptar.



# ÍNDICE

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>5</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>7</b>
1. Preeclampsia y otros estados hipertensivos del embarazo	9
1.1. Epidemiología	9
1.2. Factores de riesgo	10
1.3. Fisiopatología	12
1.3.1. Remodelado de las arterias uterinas	12
1.3.2. Factores inmunológicos	15
1.3.3. Factores genéticos	17
1.3.4. Inducción de un estado anti-angiogénico	18
1.3.5. Respuesta multisistémica materna	20
1.3.6. Teoría unificada	22
1.4. Diagnóstico	24
1.4.1. Criterios diagnósticos clásicos	24
1.4.2. Criterios diagnósticos actualizados	25
1.5. Complicaciones	26
1.5.1. Complicaciones maternas	26
1.5.2. Complicaciones perinatales	28
1.6. Manejo clínico	29
1.6.1. Predicción y prevención	30
1.6.2. Tratamiento	31
2. Nuevos marcadores de diagnóstico y pronóstico	32
2.1. Marcadores bioquímicos clásicos	32
2.1.1. Pruebas de función hepática	32
2.1.2. Ácido úrico	33
2.2. Marcadores reguladores de la angiogénesis	34
2.3. Marcadores cardiovasculares	35
2.1. Marcadores bioquímicos del cribado de cromosomopatías de primer trimestre	36
2.2. Vitamina D	37

<b>JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS</b>	<b>39</b>
1. Justificación del trabajo	41
2. Hipótesis	42
<b>OBJETIVOS</b>	<b>45</b>
Objetivo principal	47
Objetivos secundarios	47
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>49</b>
1. Diseño del estudio	51
1.1. Criterios de inclusión	51
1.2. Criterios de exclusión	51
1.3. Población de estudio	52
1.4. Tratamiento preanalítico de muestras	52
1.5. Consideraciones éticas	53
2. Definiciones clínicas	53
3. Variables recogidas de las historias clínicas	54
4. Métodos analíticos	56
4.1. PIGF, sFlt-1 y NT-proBNP	56
4.2. 25(OH)D	58
5. Análisis estadístico	59
<b>RESULTADOS</b>	<b>61</b>
1. Marcadores de diagnóstico de PE y pronóstico de complicaciones obstétricas en Urgencias	63
1.1. Características de la población	63
1.2. Variables analíticas en el diagnóstico de PE	65
1.2.1. Marcadores clásicos	65
1.2.2. Marcadores reguladores de la angiogénesis	66
1.2.3. NT-proBNP	74
1.2.4. Análisis multivariante	81
1.3. Variables analíticas en el pronóstico de complicaciones obstétricas	84
1.3.1. Predicción de parto inminente	84
1.3.2. Predicción de desenlace adverso	89

2. Marcadores de cribado de PE en primer trimestre	92
2.1. Características de la población	92
2.2. hCG y PAPP-A en el cribado de PE	94
3. Deficiencia de vitamina D y PE	95
3.1. Características de la población	95
3.2. Vitamina D y PE	96
3.3. Análisis multivariante	99
<b><u>DISCUSIÓN</u></b>	<b>101</b>
1. Marcadores en el diagnóstico de PE y pronóstico de complicaciones obstétricas en el Servicio de Urgencias Obstétricas	103
1.1. Marcadores clásicos	103
1.2. Marcadores reguladores de la angiogénesis	106
1.3. NT-proBNP	111
1.4. Modelo multivariante	115
2. Marcadores de cribado de PE en primer trimestre	117
3. Deficiencia de vitamina D y PE	120
4. Limitaciones y fortalezas del estudio	124
<b><u>CONCLUSIONES</u></b>	<b>127</b>
<b><u>BIBLIOGRAFÍA</u></b>	<b>131</b>



# LISTA DE ABREVIATURAS

**$\beta$ hCG**: Fracción  $\beta$  libre de la gonadotropina coriónica humana

**25(OH)D**: 25-hidroxivitamina D

**AAS**: Proteína amiloide A sérica

**ALT**: Alanina-aminotransferasa

**AST**: Aspartato-aminotransferasa

**AUC**: Área bajo la curva

**BNP**: Péptido natriurético tipo B

**CIR**: Retraso del crecimiento intrauterino

**CV**: Coeficiente de variación

**DBP**: Proteína de unión de vitamina D

**DPP**: Desprendimiento prematuro de placenta

**FIV**: Fecundación in vitro

**Fit-1**: Tirosina quinasa-1 (Receptor-1 del factor de crecimiento endotelial vascular)

**HELLP**: Hemólisis, Enzimas Hepáticas elevadas, Plaquetas Disminuidas

**HTA**: Hipertensión arterial

**IC95%**: Intervalo de confianza al 95%

**IFN- $\gamma$** : Interferón-gamma

**IGF**: Factor de crecimiento insulinoide

**IGFBP**: Proteínas fijadoras del factor de crecimiento insulinoide

**IIC**: Intervalo intercuartílico

**IL**: Interleukina

**IMC**: Índice de masa corporal

**IRC**: Insuficiencia renal crónica

**KDR**: Receptor con dominio inserto-quinasa

**LDH**: Lactato deshidrogenasa

**LR**: Razón de probabilidad

**MDH**: Malato deshidrogenasa

**MoM**: Múltiplos de la mediana

**NT-proBNP**: Fragmento amino terminal del pro-péptido natriurético tipo B

**OR**: *Odds ratio*

**PAPP-A**: Proteína A plasmática asociada al embarazo

**PCR**: Proteína C reactiva

**PE**: Preeclampsia

**PIGF**: Factor de crecimiento placentario



**ROC:** *Receiver Operating Characteristic*

**sEng:** Fracción soluble de la endoglina

**sFlt-1:** Forma soluble de la tirosina quinasa-1

**TAD:** Tensión arterial diastólica

**TAS:** Tensión arterial sistólica

**TNF-  $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral alfa

**UCIN:** Unidad de Cuidados Intensivos Neonatal

**VCAM-1:** Molécula de adhesión celular vascular 1

**VDR:** Receptor de la vitamina D

**VEGF:** Factor de crecimiento endotelial vascular

**VPN:** Valor predictivo negativo

**VPP:** Valor predictivo positivo

# **INTRODUCCIÓN**



## 1. Preeclampsia y otros estados hipertensivos del embarazo

Los estados hipertensivos del embarazo engloban una serie de entidades clínicas caracterizadas por la aparición de hipertensión arterial (HTA) durante la gestación. La gran repercusión clínica de estos trastornos radica en su elevada frecuencia y en su asociación con el desarrollo de complicaciones para la gestante y para el feto.

Se pueden clasificar en cuatro categorías [1]:

- ◆ **HTA crónica.** Tensión arterial elevada que precede a la gestación, diagnosticada en las primeras 20 semanas del embarazo o que, apareciendo más tarde, se mantiene más allá de 12 semanas tras el parto.
- ◆ **Hipertensión gestacional.** Aparición de HTA a partir de las 20 semanas de gestación y que desaparece antes de las 12 semanas post-parto.
- ◆ **Preeclampsia (PE) – eclampsia.** Definida clásicamente por la aparición de HTA y proteinuria a partir de la semana 20 de gestación. La eclampsia es una complicación de la PE caracterizada por el desarrollo de convulsiones tónico-clónicas que no se pueden atribuir a otra causa.
- ◆ **HTA crónica con PE sobreañadida.** HTA preexistente que desarrolla proteinuria a partir de la semana 20 de gestación.

La clasificación correcta de las gestantes con HTA en cada una de estas categorías es crucial, ya que además de diferir en cuanto a su definición y características clínicas, presentan distinto pronóstico y requieren un manejo clínico diferente.

La PE es la responsable de un mayor número de complicaciones, y de hecho, más allá de ser una simple elevación de tensión arterial, se considera un síndrome multiorgánico con afectación de diversos sistemas. La PE se puede clasificar, en función de la edad gestacional en la que se instaura, en PE precoz (antes de las 34 semanas de gestación) y PE tardía (a las 34 semanas o posteriormente). La importancia de esta clasificación va más allá de etiquetar la enfermedad, ya que estos subtipos difieren en cuanto a fisiopatología, complicaciones derivadas y manejo clínico.

### 1.1. Epidemiología

Los trastornos hipertensivos del embarazo aparecen hasta en el 5 – 10% de las gestaciones [2]. En un informe publicado por la Organización Mundial de la Salud, la

HTA se situó como la segunda causa de mortalidad materna en todo el mundo durante el período comprendido entre 2003 y 2009, siendo responsable del 14% de los fallecimientos y tan solo por detrás de la hemorragia [3].

En concreto, la PE complica entre el 3 y el 10% de las gestaciones, aunque la falta de estandarización en cuanto a su diagnóstico y las diferencias entre las poblaciones estudiadas dificultan las estimaciones [2]. En España, el mayor estudio realizado hasta la fecha, por Comino [4], situó la incidencia de PE en torno al 1,4%; un resultado semejante fue observado más recientemente por Cortés *et al.* [5] en un estudio desarrollado en el Hospital de Valladolid.

En los últimos años, se ha observado un incremento en los casos de PE en diferentes países [6], lo que convierte a esta enfermedad en un problema de salud de primera línea, más aún teniendo en cuenta la gravedad de sus complicaciones. En el período 2006 – 2010, el 8,9% de las muertes maternas tuvieron como causa la PE (4,8%) o la eclampsia (4,1%) [7]. La mayor incidencia registrada en los países en vías de desarrollo, junto con la dificultad del acceso al sistema sanitario y la menor disponibilidad de recursos, provocan que el número y la gravedad de complicaciones derivadas de la PE en estos países sean aún mayores [8].

## **1.2. Factores de riesgo**

Existen diversas condiciones y patologías que predisponen en mayor o menor medida a desarrollar la enfermedad, de las cuales, destacan las siguientes:

- ◆ **Edad materna:** El riesgo de desarrollar PE aumenta con la edad materna, así como en gestantes menores de 20 años, llegando dicho riesgo a ser el doble en gestantes con más de 40 años [9].
- ◆ **Etnia afroamericana:** Las mujeres afroamericanas sufren un riesgo mayor de padecer PE frente a las de etnia caucásica, mientras que el riesgo disminuye en las gestantes hispánicas y asiáticas [10].
- ◆ **Nuliparidad:** La nuliparidad llega a triplicar el riesgo de desarrollar PE con respecto a las gestantes multíparas [9].
- ◆ **Historia previa de PE:** Las gestantes que hayan sufrido PE en un embarazo previo tienen un riesgo hasta 25 veces superior de volver a desarrollarla en posteriores gestaciones con respecto a las mujeres que han tenido embarazos normales. Además, una historia clínica de PE en la familia de

la embarazada (y en menor medida del padre), también predispone al desarrollo de la enfermedad [11].

◆ **Técnicas de reproducción asistida:** Las mujeres que recurren a técnicas de reproducción asistida experimentan un mayor riesgo de desarrollar PE, un riesgo que, según algunos estudios, es mayor cuando se utilizan espermatozoides u óvulos de donante [12,13].

◆ **Gestación múltiple:** La incidencia de PE es mayor en los casos de embarazos gemelares que en gestaciones sencillas, y mayor aún en el caso de trillizos [9,14].

◆ **Sobrepeso y obesidad:** La obesidad y el sobrepeso predisponen al desarrollo de PE, de modo que el riesgo aumenta a medida que lo hace el índice de masa corporal (IMC), siendo hasta 6 veces superior en las gestantes con obesidad mórbida respecto a las gestantes con normopeso [15].

◆ **Enfermedades concomitantes:** Existen diferentes condiciones médicas que, si están presentes previamente a la gestación, predisponen al desarrollo de PE. Por ejemplo:

- HTA crónica: La existencia de HTA previa al embarazo incrementa el riesgo de desarrollar PE en torno a 10 veces con respecto a las mujeres normotensas [16].
- Enfermedad renal: La insuficiencia renal crónica (IRC) predispone al desarrollo de PE, de manera que la incidencia de la misma aumenta de acuerdo al grado de disfunción renal [17].
- Diabetes mellitus: Las gestantes con diabetes pre-existente (tipo 1 y tipo 2) tienen más probabilidad de desarrollar PE. Análogamente, se ha demostrado una asociación con la diabetes gestacional, aumentando el riesgo de PE con el mal control de la glucemia [18,19].
- Enfermedades autoinmunes: Las gestantes con enfermedades autoinmunes tienen un riesgo de sufrir PE en el embarazo, especialmente en los casos de lupus eritematoso sistémico y síndrome antifosfolípido, aunque también en otras patologías del tejido conectivo [20,21].
- Trombofilias: La incidencia de PE es mayor en gestantes con algunos tipos de trombofilias, como la presencia de factor V Leiden,

polimorfismo G20210A de factor II, polimorfismo C677T de la metilentetrahidrofolato reductasa, anticuerpos anticardiolipina, anticoagulante lúpico o hiperhomocisteinemia [22].

El conocimiento de estos factores de riesgo es importante para un adecuado manejo clínico. Por un lado, algunos factores como el IMC, pueden modificarse previamente a la gestación y de esa manera minimizar el riesgo. Por otra parte, aquellas situaciones que no pueden modificarse, al menos pueden tenerse en consideración para efectuar un mayor control durante la gestación y adelantarse en el diagnóstico de la enfermedad.

### **1.3. Fisiopatología**

La fisiopatología de la PE aún no está totalmente dilucidada. Sin duda se trata de una patología compleja, cuya etiología parece tener una naturaleza multifactorial. En los últimos años se han descrito diversas condiciones que pueden ser las responsables en distinto grado del desarrollo de la enfermedad. De entre ellos, la alteración de la placentación parece jugar un papel central, aunque también hay que considerar otros factores de índole genética e inmunológica así como los factores predisponentes comentados en la sección anterior. Todos esos elementos, en conjunto, desencadenan la patología que, si bien comienza a nivel placentario, provoca una afectación multisistémica, haciéndose especialmente patente a nivel renal, hepático y neurológico.

#### **1.3.1. Remodelado de las arterias uterinas**

La formación de la placenta es un proceso clave en la gestación, ya que este órgano es el responsable de asegurar una adecuada perfusión sanguínea desde la madre al feto y, en consecuencia, de permitir el desarrollo normal de éste. La placenta se constituye a partir de células de origen fetal denominadas citotrofblastos, que se desarrollan formando las vellosidades trofoblásticas, unas estructuras que albergan los vasos sanguíneos del feto. Las arterias espirales, ramas de la arteria uterina materna, drenan la sangre oxigenada desde la circulación materna hacia el espacio intervelloso, donde los nutrientes son incorporados a la circulación fetal.

Los citotrofblastos tienen la capacidad de diferenciarse hacia células especializadas en diversas funciones propias de la placenta, como son el transporte de sustancias o la secreción hormonal. Existe un tipo especial de citotrofblastos que se caracterizan por la adquisición de un fenotipo invasor, los denominados trofoblastos

extravellosos. Éstos son claves en el establecimiento de la circulación materno-fetal, ya que participan en el remodelado de las arterias espirales actuando a dos niveles:

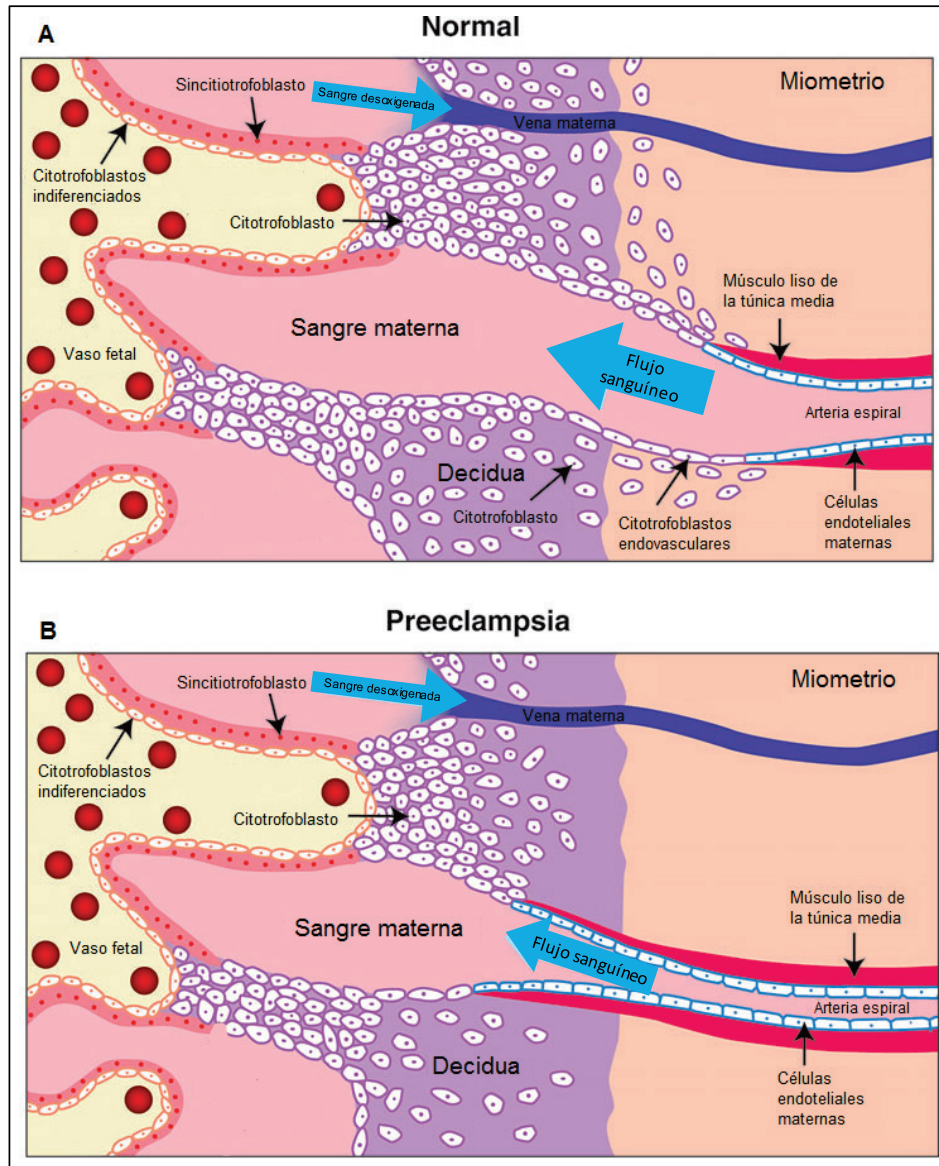
- ◆ Los **citotrofoblastos intersticiales** invaden el estroma de la decidua alcanzando el miometrio superficial en torno a la octava semana tras la concepción. Posteriormente, la invasión continúa para profundizar en capas más internas del miometrio. A medida que los citotrofoblastos penetran en el estroma, modifican sus propiedades y se transforman en células con un fenotipo mesenquimático, capaces además de modificar la matriz que los rodea.
- ◆ Los **citotrofoblastos endovasculares** invaden el lumen de las arterias espirales maternas en un proceso que implica la rotura de la pared arterial, comenzando por la región de la decidua (semanas 4 – 6) para avanzar posteriormente hacia la zona del miometrio (semana 10). A continuación, los citotrofoblastos migran hacia el lumen de las arterias y se transforman adquiriendo un fenotipo endotelial, que les permite reemplazar el endotelio original por otro adaptado a los nuevos requerimientos de la gestación.

Este proceso modifica las arterias espirales, de manera que el endotelio, el músculo liso y la lámina media son destruidos y sustituidos por tejido fibrinoide. Además, la formación de una nueva capa endotelial por parte de los citotrofoblastos transforma a las arterias espirales en vasos sanguíneos laxos, con un diámetro mayor y que oponen una resistencia menor al flujo, permitiendo un incremento de hasta 10 veces en el aporte sanguíneo hacia el espacio intervelloso, lo que asegura una perfusión placentaria adecuada para el desarrollo normal del feto (Figura 1A). La adecuada invasión por parte de los citotrofoblastos es un proceso altamente regulado por numerosos factores: tensión de oxígeno, factores de crecimiento, hormonas y microARNs que actúan a través de complejas vías de señalización molecular [23].

No hay duda de que la placenta es el órgano central en el desarrollo de la PE, de hecho, la patología sólo se produce cuando la placenta está presente y sólo remite cuando ésta es eliminada. En algunos casos de PE, se ha demostrado que la capacidad invasiva de los citotrofoblastos se encuentra limitada. De esta manera, la invasión intersticial sólo alcanza las capas más superficiales de la decidua sin profundizar en el miometrio, mientras que la invasión endovascular es tan rudimentaria que no se logra una verdadera transformación de las arterias espirales. Además, los citotrofoblastos invasivos mantienen las características propias de las células progenitoras (moléculas de adhesión, etc.) y no llegan a diferenciarse hacia el fenotipo



endotelial característico de la placentación normal [23,24]. Como consecuencia, no se produce el remodelado de las arterias espirales, de modo que éstas mantienen un calibre reducido y una resistencia aumentada, lo que limita el flujo sanguíneo hacia el feto (Figura 1B).



**Figura 1. Placentación en gestaciones normales (A) y con PE (B).** En circunstancias normales (A) un tipo de citotroblastos fetales invaden las arterias espirales maternas donde adquieren un fenotipo endotelial e inducen el remodelado de las arterias en vasos sanguíneos de gran calibre que permiten un flujo sanguíneo adecuado para favorecer el crecimiento fetal. En la PE (B), los citotroblastos no tienen capacidad invasiva, por lo que no se produce la transformación de las arterias espirales, que permanecen como vasos de pequeño calibre y ofrecen una gran resistencia al flujo sanguíneo (Modificado de Karumanchi *et al.* [25]).

Esta perfusión inadecuada provoca fluctuaciones en el aporte de oxígeno generando una situación de isquemia placentaria, determinante en el desarrollo de la PE. El estudio comparativo entre placentas procedentes de mujeres con gestaciones

normales y casos de PE corrobora esta hipótesis, puesto que las placentas de las gestaciones patológicas presentan un mayor número de lesiones como consecuencia de la hipoxia placentaria. De entre estas lesiones, destacan la presencia de un mayor número de nudos sincitiales (signo de inmadurez de la placenta) así como de infartos placentarios (consecuencia de la limitación del flujo sanguíneo), un aumento de la eritroblastosis (presumiblemente como respuesta fisiológica a la hipoxia) y una incidencia incrementada de vasculopatía decidual [26]. La vasculopatía decidual, que comprende a su vez la presencia de otras cuatro lesiones placentarias (arteriolas espirales no transformadas, necrosis del tejido fibrinoide, aterosclerosis y trombosis de los vasos útero-placentarios), podrían ser el resultado de una invasión trofoblástica deficiente unida a una disfunción inmunológica [26,27]. Cualquiera que sea la causa exacta de esta vasculopatía, lo cierto es que la obstrucción de los vasos, debida a la aterosclerosis y la necrosis, así como el estado pro-inflamatorio que inducen estas situaciones, compromete aún más la perfusión sanguínea agravando la enfermedad [28].

### **1.3.2. Factores inmunológicos**

Son muchas las hipótesis que relacionan al sistema inmunológico con el desarrollo de PE. En primer lugar, algunas de las células que forman parte de este sistema, como las células Natural Killer (NK) o los macrófagos, participan regulando el proceso de la placentación. En concreto, un tipo de células NK denominadas células NK uterinas, migran a la decidua donde, mediante la producción de citoquinas y factores de crecimiento [interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento placentario (PIGF) o angiopoyetina-1, entre otros] estimulan la angiogénesis durante la formación de la decidua, inducen a los citotrofblastos invasivos y participan en la remodelación de las arterias espirales [29]. En gestantes con PE, se ha demostrado el predominio de células NK uterinas con fenotipo aberrante y con una producción de citoquinas inusual, lo que podría impedir que establecieran las interacciones adecuadas con los citotrofblastos y por tanto, provocar una placentación deficiente [30,31].

Otra función importante del sistema inmunológico durante la gestación es la generación de un estado especial de inmunotolerancia que permite la interacción entre dos tejidos que provienen de individuos diferentes: el embrión y el útero materno. En este sentido, el embarazo se considera un “estado inmunológico tipo Th2”, ya que se favorece la proliferación de ese tipo de linfocitos, que junto con los linfocitos T reguladores, inducen un estado de relativa inmunosupresión que evita la reacción

materna frente a los tejidos fetales. En la PE, estas poblaciones de linfocitos muestran un número y actividad disminuidos, y en cambio, incrementa la producción de linfocitos Th1 y Th17. Estas subpoblaciones de linfocitos están implicadas en la producción de citoquinas como la interleukina-2 (IL-2), el IFN- $\gamma$  o el factor de crecimiento tumoral beta (TGF- $\beta$ ), lo que limita la autotolerancia e induce un estado pro-inflamatorio que favorece el desarrollo de la enfermedad [32]. El mecanismo de la inmunotolerancia también podría explicar por qué las gestantes nulíparas tienen un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad. Se ha postulado que, durante el primer embarazo, el sistema inmune materno trata de mostrar tolerancia frente a los antígenos fetales de origen paterno, y que en gestaciones posteriores, las células T de memoria inducen la inmunotolerancia frente a esos antígenos con mayor rapidez, y por tanto disminuye el riesgo de desarrollar PE [33]. Esta explicación, también podría justificar por qué las gestaciones con donación de ovocitos tienen mayor riesgo de PE frente a las gestaciones por fecundación *in vitro* (FIV) con ovocitos propios [34].

Numerosos estudios se refieren a la PE como a una respuesta inflamatoria sistémica excesiva, en la que la isquemia útero-placentaria amplificaría la activación y producción de mediadores de la inflamación. De acuerdo con esta hipótesis, las gestantes con PE muestran leucocitosis con predominio de neutrófilos, elevación de citoquinas pro-inflamatorias [IL-6 o factor de necrosis tumoral alfa (TNF-  $\alpha$ )], activación de los sistemas de complemento y coagulación o elevación de marcadores de fase aguda como la proteína C reactiva (PCR) o la amiloide A sérica (AAS) [35]. Si bien se sabe que la PCR juega un papel en la fisiopatología del proceso inflamatorio, se desconocen las acciones de la AAS [36]. Las concentraciones de PCR y AAS se mueven paralelamente, pero se ha descrito que la AAS es un marcador más sensible de la enfermedad inflamatoria [37]. El elevado estrés oxidativo al que se ve sometida la placenta de las gestantes con PE parece contribuir al incremento de la respuesta inflamatoria. Las gestantes con PE cursan con una elevación en el índice de estrés oxidativo y una menor actividad antioxidante para hacerle frente, lo que induce la peroxidación lipídica, la carbonilación de proteínas y el daño al ADN [38]. La combinación de inflamación, estrés oxidativo y un estado de hiperlipidemia, contribuye al desarrollo de aterosis en las arterias espirales no transformadas, de una forma análoga a lo que ocurre en la aterosclerosis de las arterias coronarias, lo que favorece la infiltración leucocitaria, depósito de lipoproteínas LDL oxidadas, acumulación de células espumosas y necrosis del tejido fibrinoide [28].

El desarrollo de PE también se ha relacionado con la producción de autoanticuerpos. En concreto, se ha demostrado la presencia de anticuerpos capaces

de unirse y activar el receptor de angiotensina II tipo 1 en gestantes con PE. Esta unión favorece el desarrollo de HTA, la producción de citoquinas pro-inflamatorias, de especies reactivas del oxígeno o de factores anti-angiogénicos, como la forma soluble de la tirosina quinasa-1 (sFlt-1) o de la endoglina (sEng); todas ellas condiciones descritas en la PE [39].

### 1.3.3. Factores genéticos

El desarrollo de la PE tiene un componente genético, en el que tanto los genes maternos como fetales juegan un importante papel. Esto justificaría por qué las mujeres con familiares de primer o segundo grado que hayan sufrido una PE tienen un riesgo mayor (5 y 2 veces, respectivamente) que las que no tienen historia familiar de PE; de la misma manera que el riesgo también es mayor cuando el padre haya nacido tras una gestación con PE [40]. La importancia de este componente es tal, que algunos estudios de segregación familiar aseguran que los genes condicionan en más del 50% la susceptibilidad individual de desarrollar la enfermedad [41].

Triche *et al.* [42] han publicado recientemente un extensivo análisis de toda la literatura científica en la que se ha relacionado la PE con factores genéticos. Además de identificar los genes asociados con la enfermedad, los clasificaron según su origen (fetal, materno o materno-fetal) y según la gravedad de la enfermedad.

- ◆ De entre los genes fetales asociados con la PE, destacan los que tienen funciones relacionadas con el crecimiento celular, morfogénesis, interacción celular o transducción de señales. Precisamente, muchos de ellos desarrollan su función durante la placentación, como es el caso de los genes *TGFβ*, *IGF* (factor de crecimiento insulinoide), *VEGF* o *FGF* (factor de crecimiento de fibroblastos).
- ◆ Muchos de los genes maternos asociados con la PE están relacionados con la función del sistema inmunológico (regulación de la respuesta inflamatoria, mediadores de la respuesta inmune, muerte celular, etc). Cabe destacar el gen *STOX1*, que ha sido mencionado en múltiples estudios y que actúa como un factor de transcripción clave en la disfunción de los trofoblastos [43]. Otro de los genes identificados es el *MTHFR*, que codifica para la enzima metilen-tetrahidrofolato reductasa, implicada en el metabolismo de la metionina y la homocisteína; sin embargo, existe cierta controversia respecto a si los polimorfismos de esta enzima están o no relacionados con la PE [44,45].

◆ En cuanto a los genes materno-fetales, destacan los que codifican para factores reguladores de la angiogénesis durante la placentación, como el sFlt-1, el VEGF o el PlGF; mediadores de la inflamación (TNF, IL-4, -6 y -8) o reguladores de la apoptosis celular (es el caso del receptor Fas y su ligando, que median la apoptosis en procesos inmunológicos o durante la invasión trofoblástica).

#### **1.3.4. Inducción de un estado anti-angiogénico**

Uno de los mecanismos propuestos para explicar el desarrollo de la PE ha sido la existencia de un estado anti-angiogénico en la gestante. Esta situación se produce por la alteración del equilibrio entre factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos, destacando los siguientes:

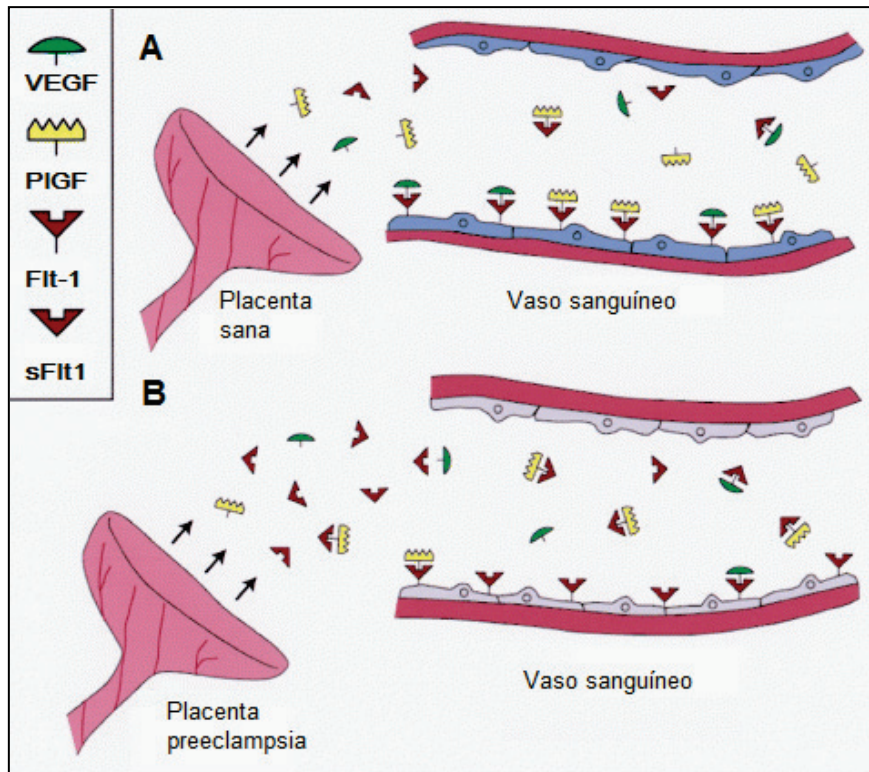
◆ El **VEGF-A** es un factor de crecimiento que actúa sobre las células endoteliales estimulando la angiogénesis, induciendo el crecimiento celular, reduciendo la apoptosis, incrementando la permeabilidad vascular y favoreciendo la vasodilatación mediada por óxido nítrico. Estas funciones las desarrolla a través de la unión a receptores de membrana específicos, que pueden ser el receptor de VEGF tipo 1 [la tirosina quinasa tipo-1 (Flt-1)] o el receptor de VEGF tipo 2 [también llamado receptor con dominio inserto-quinasa (KDR)] [46].

◆ El **PlGF** pertenece a la familia VEGF y comparte un 42% de la secuencia de aminoácidos con el VEGF-A. Se expresa fundamentalmente en la placenta (aunque también en corazón y pulmones) donde estimula la angiogénesis, de manera directa por unión al receptor Flt-1 de las células endoteliales, y de forma indirecta mediante inducción de la secreción de VEGF-A por los monocitos [46].

◆ El **sFlt-1**, que también pertenece a la familia VEGF, es la forma truncada del receptor Flt-1. El receptor completo tiene una región extracelular a la que se unen los ligandos, un dominio transmembrana y una región intracelular con actividad tirosina quinasa. Se expresa en numerosos tejidos incluyendo células endoteliales, monocitos-macrófagos y citotrofoblastos. El *splicing* alternativo del gen que codifica para este receptor genera el sFlt-1, que conserva la región extracelular pero ha perdido los dominios transmembrana e intracelular. Como mantiene la capacidad de unión a los ligandos, el sFlt-1 secuestra el VEGF-A y el PlGF circulantes, impidiendo que éstos se unan a sus receptores específicos y bloqueando de esta forma la angiogénesis [46].

◆ La **sEng** es la forma truncada de la endoglina (CD105), un co-receptor cuyos ligandos pertenecen a la familia del TGF- $\beta$  (en concreto TGF- $\beta$ 1 y TGF- $\beta$ 3). Se expresa fundamentalmente en el endotelio, la placenta y las células mesenquimales, y es esencial en el mantenimiento de la homeostasis vascular y en la regulación de la diferenciación celular. La sEng se genera tras procesamiento proteolítico del receptor y contribuye a la inestabilidad vascular, aunque se desconoce el mecanismo exacto por el que esto ocurre. Se ha postulado que es debido al secuestro del TGF- $\beta$  circulante (y el consecuente bloqueo de su actividad), aunque recientemente se ha planteado que podrían estar involucrados otros mediadores, como la endotelina-1 [47].

Se ha demostrado que las gestantes que desarrollan PE muestran niveles más bajos de PIGF y VEGF junto a concentraciones más elevadas de sFlt-1 y sEng que las gestantes que no desarrollan la enfermedad, y que estos cambios son más intensos cuanto mayor es la gravedad de la misma [48–51]. El papel de estos factores en la fisiopatología de la enfermedad ha sido demostrado *in vitro* y en modelos animales. Maynard *et al.* [52] demostraron que el sFlt-1 bloquea la angiogénesis *in vitro*, y que la administración exógena de sFlt-1 a ratas preñadas produce daño endotelial, HTA y proteinuria, características clásicas de la PE. Un estudio similar realizado por Bergmann *et al.* [53] corroboró esos hallazgos, y además mostró que el deterioro renal y la HTA en los animales podían revertir mediante el aporte de VEGF. De manera semejante, Venkatesha *et al.* [54] demostraron que la sEng inhibía la angiogénesis y generaba HTA en ratas preñadas, efectos que se amplificaban con la co-administración de sFlt-1. El mecanismo a través del cual el sFlt-1 provoca el daño endotelial parece ser el secuestro del PIGF y VEGF circulantes (Figura 2), tal y como ha sido descrito en modelos *in vitro* [55,56]. Esta teoría, además, explicaría por qué pacientes oncológicos que reciben terapia con anticuerpos anti-VEGF desarrollan síntomas semejantes a los de gestantes con PE (HTA, proteinuria, microangiopatía renal) [57]. Teniendo en cuenta que el VEGF es esencial en el desarrollo de los vasos fenestrados del glomérulo renal, hígado y plexo coroideo, la inhibición de su actividad explicaría las manifestaciones renales, hepáticas y neurológicas de la PE [58]. Además, el sFlt-1 ha demostrado su capacidad para inducir HTA en ratas preñadas por medio de la producción de especies reactivas del oxígeno, lo que podría contribuir a su vez a la excesiva respuesta inflamatoria observada en la PE [59]. Por su parte, la sEng podría actuar inhibiendo la vasodilatación mediada por óxido nítrico o a través de la activación del vasoconstrictor endotelina-1, de manera independiente o en conjunto con el sFlt-1 [54,60].



**Figura 2. Mecanismo de actuación del sFlt-1, PIGF y VEGF en el desarrollo de PE.** La placenta de una gestante sana (A) produce cantidades reguladas de sFlt-1, PIGF y VEGF, que son liberados a la circulación sanguínea. El PIGF y el VEGF circulantes se unen al receptor de membrana Flt-1, lo que induce la angiogénesis y asegura una función endotelial adecuada. La placenta de las gestantes con PE (B) produce un exceso de sFlt-1 que fija el PIGF y el VEGF circulantes, impidiendo su unión a los receptores de membrana, lo que desencadena la disfunción endotelial característica de la enfermedad (Modificado de Karumanchi *et al.* [25]).

### 1.3.5. Respuesta multisistémica materna

La PE constituye un síndrome multisistémico, más que una enfermedad aislada, en el que varios órganos y sistemas se van a ver afectados, destacando las alteraciones vasculares, renales, hepáticas, hematológicas, neurológicas y cardiopulmonares.

- ♦ La **HTA** es una de las principales características de la PE. La disfunción endotelial en las gestantes con PE provoca una respuesta alterada a los diferentes reguladores del tono vascular (sensibilidad incrementada a angiotensina, disminución de la producción de óxido nítrico o prostaciclina, incremento de tromboxano o endotelina-1, etc.). Como consecuencia, se produce un aumento de la resistencia vascular y una vasoconstricción generalizada, lo que lleva al incremento de la presión arterial [61].
- ♦ El **sistema renal** es uno de los más afectados en el desarrollo de PE. La lesión característica en los riñones de las gestantes con PE es la endoteliosis glomerular. Ésta se caracteriza por un aumento del volumen glomerular como

consecuencia del estrechamiento y de la oclusión del lumen de los capilares producida por la inflamación de las células endoteliales y mesangiales. Además, es frecuente encontrar depósitos de fibrina, especialmente en los casos más graves, y pérdida de las fenestraciones de las células endoteliales [62]. Estos cambios alteran la permeabilidad de los capilares glomerulares y reducen la superficie de filtración, lo que se traduce en una disminución de la filtración glomerular. Además, los podocitos, que contribuyen a mantener la integridad de la barrera de filtración renal impidiendo el paso de macromoléculas, también muestran importantes alteraciones en las gestantes con PE. En biopsias renales se ha demostrado un alto índice de vacuolización en estas células, que puede contribuir a la apoptosis y pérdida de las mismas, lo que explicaría la podocituria observada en gestantes con PE [63]. Todos estos cambios son responsables de la proteinuria, uno de los principales signos de la enfermedad.

- ◆ Las alteraciones **hepáticas** son frecuentes en la PE además de ser criterio diagnóstico de una de sus complicaciones más graves, el síndrome de HELLP (Hemólisis, elevación de Enzimas Hepáticas, disminución de Plaquetas). El daño endotelial que ocurre en la PE afecta también a los sinusoides hepáticos, provocando importantes lesiones. A nivel histológico se pueden observar depósitos de fibrina, presencia de trombos en los capilares, hemorragia del parénquima hepático y áreas de necrosis; lo que contribuye a la obstrucción de los capilares y a la interrupción del flujo sanguíneo [64].

- ◆ Las principales alteraciones **hematológicas** que pueden observarse en el curso de la PE son la anemia hemolítica microangiopática y la trombocitopenia [65]. La disminución de las plaquetas podría deberse a un aumento en el consumo de las mismas por unión al endotelio dañado o a su excesiva activación mediada por el sistema de la coagulación y la producción de trombina. La activación de la coagulación desencadena la formación de pequeños trombos que provocan la oclusión de los pequeños vasos, de manera que los glóbulos rojos se fragmentan al tratar de atravesarlos, generando la anemia hemolítica [66].

- ◆ La afectación **neurológica** en la PE se manifiesta con dolor de cabeza, alteración de la consciencia y alteraciones visuales, llegando a provocar convulsiones en el caso de la eclampsia. Aunque se desconoce el motivo exacto que lleva al desarrollo de estas alteraciones, las diversas teorías apuntan a la HTA y la disfunción endotelial como los principales responsables.



Una de las teorías plantea que se produce un vasoespasmo en la vasculatura cerebral en respuesta a la HTA grave y, como consecuencia, se origina una reducción en el flujo sanguíneo, edema cerebral, isquemia y, en casos graves, infarto del tejido cerebral. Otra teoría supone que los incrementos repentinos de la tensión arterial exceden la capacidad reguladora de la vasculatura cerebral dando lugar a regiones de vasoconstricción y de vasodilatación. Esta situación clínica, que conduce a un incremento de la presión hidrostática, hiperperfusión y extravasación del plasma, también puede producirse en pacientes con HTA, con independencia de la PE, y se conoce como síndrome de encefalopatía posterior reversible [67].

♦ La alteración **cardiopulmonar** característica de la PE es el edema pulmonar, que se produce como consecuencia del incremento de la permeabilidad capilar. En algunos casos, conlleva además una disfunción ventricular que agrava y facilita la aparición del edema [66].

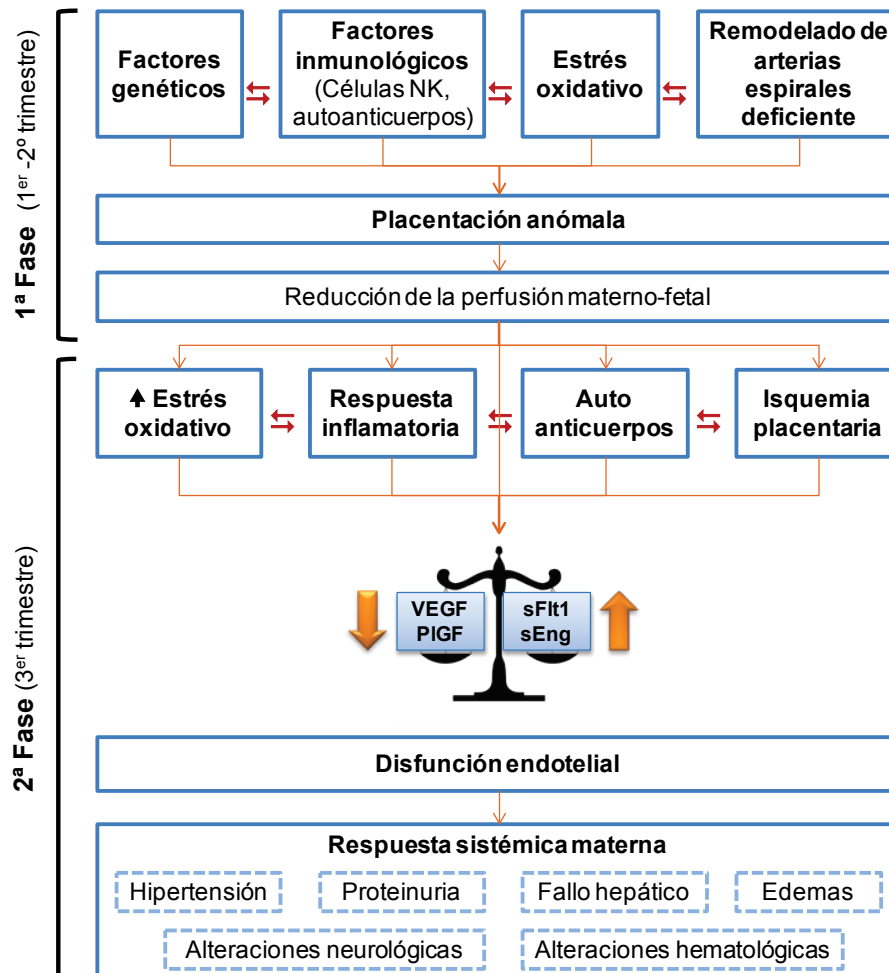
#### **1.3.6. Teoría unificada**

En los últimos años se ha tratado de proponer un modelo único que explique cómo, cada uno de los mecanismos descritos en los apartados anteriores, contribuyen de manera orquestada al desarrollo de la PE [58,68,69]. De acuerdo con este modelo, se pueden distinguir dos fases en la patogénesis de la PE (Figura 3):

♦ La **primera fase** tiene lugar en el primer y segundo trimestres del embarazo. Durante esta etapa, la predisposición genética e inmunológica (incluyendo la incompatibilidad materno-fetal, las alteraciones en las células NK y en la liberación de citoquinas o la producción de autoanticuerpos dirigidos contra el receptor de angiotensina II tipo 1) en consonancia con un microambiente desfavorable (elevado estrés oxidativo), provocan la incapacidad de los citotrofoblastos para invadir la decidua materna y para llevar a cabo el remodelado de las arterias espirales. El resultado es una placentación deficiente que compromete la perfusión materno-fetal, lo que genera una situación de isquemia útero-placentaria.

♦ La **segunda fase**, que transcurre en el tercer trimestre, es la consecuencia de la placentación anómala. La alteración de la circulación materno-fetal provoca fluctuaciones en la tensión de oxígeno en la placenta, de manera que se suceden fases de hipoxia y fases de reperfusión. Esta situación agrava el estrés oxidativo e induce una respuesta inflamatoria excesiva. En conjunto, la isquemia placentaria, el estado pro-inflamatorio y la presencia de

autoanticuerpos provocan una alteración en el equilibrio entre factores pro-angiogénicos (disminuyen PIGF y VEGF) y anti-angiogénicos (aumentan sFlt-1 y sEng) producidos por la placenta. El balance anti-angiogénico resultante contribuye al desarrollo de la disfunción endotelial responsable de las manifestaciones clínicas de la PE en los órganos afectados: HTA, proteinuria, fallo hepático, alteraciones neurológicas y alteraciones hematológicas.



**Figura 3. Teoría unificada de la fisiopatología de la PE.** En una primera fase (primer y segundo trimestres), la predisposición genética, factores inmunológicos, un entorno oxidativo y la alteración del remodelado de las arterias uterinas provocan una placentación anómala que limita la perfusión placentaria. Como resultado, en una segunda fase (tercer trimestre), se genera una isquemia placentaria que empeora el estrés oxidativo y la producción de autoanticuerpos, induce una respuesta inflamatoria y desencadena un estado anti-angiogénico. El resultado es la disfunción endotelial responsable de los signos característicos de la PE.

Este mecanismo puede ser común a otras complicaciones obstétricas como el retraso del crecimiento intrauterino (CIR), el desprendimiento prematuro de placenta (DPP) o la muerte fetal. De acuerdo con esta teoría, el desarrollo de una u otra patología estaría condicionado por el grado de la disfunción placentaria, las necesidades fetales y el momento en el que se produjese la alteración [58].

A pesar del intento de simplificar la fisiopatología de la PE según el modelo descrito, no hay que olvidar que la etiología es multifactorial y que, los distintos subtipos de la enfermedad pueden responder a mecanismos diferentes. Así, se ha propuesto que la relación entre el defecto de placentación y el desarrollo de la enfermedad es más fuerte para la PE precoz, mientras que la PE tardía estaría condicionada en mayor medida por la predisposición materna [70–72].

#### **1.4. Diagnóstico**

El signo más habitual con el que se presenta la PE es la HTA y, dependiendo de los casos, puede acompañarse de signos o síntomas que evidencien la disfunción de otros órganos afectados: dolor epigástrico o en el cuadrante superior derecho (reflejo de la disfunción hepática), edemas (consecuencia de la alteración en la permeabilidad vascular), mareos y alteraciones visuales como fotopsias o visión borrosa o dolor de cabeza (manifestaciones de la alteración neurológica), oliguria (debida al daño renal) o edema pulmonar. Ante estas características, es necesaria una profunda evaluación para realizar el diagnóstico adecuado.

##### **1.4.1. Criterios diagnósticos clásicos**

La PE se ha definido clásicamente como la aparición de HTA y proteinuria a partir de la semana 20 de gestación. Por tanto, HTA y proteinuria son, en principio, los criterios que deben cumplirse para establecer el diagnóstico de PE [73].

- ◆ La **HTA** se define como la tensión arterial sistólica (TAS)  $\geq 140$  mmHg y/o tensión arterial diastólica (TAD)  $\geq 90$  mmHg, medida en dos ocasiones separadas al menos por 4 horas, a partir de las 20 semanas de gestación en una mujer sin HTA previamente diagnosticada; o bien una TAS  $\geq 160$  mmHg y/o TAD  $\geq 110$  mmHg, medida en dos ocasiones separadas por unos minutos, con el fin de administrar terapia antihipertensiva lo más rápidamente posible.
- ◆ La **proteinuria** se define como la excreción de  $\geq 300$  mg de proteína en orina de 24 horas; o bien un cociente proteína/creatinina  $\geq 0,3$  (medidas ambas en mg/dL). Debido a la variabilidad de los métodos cualitativos, se desaconseja la determinación de proteinuria con tiras reactivas, salvo en ausencia de métodos cuantitativos disponibles, en cuyo caso se utilizaría un valor de 1+ para el diagnóstico de proteinuria.

### 1.4.2. Criterios diagnósticos actualizados

Los criterios clásicos han sido puestos en entredicho en diversas ocasiones. Por un lado, algunos autores han cuestionado el punto de corte utilizado para establecer el diagnóstico de proteinuria y han propuesto modificarlo [74]. Por otro lado, hay que considerar la existencia de casos de presentación atípica de la enfermedad, que serían desestimados utilizando los criterios clásicos. En este sentido, se han descrito casos de hipertensión gestacional sin proteinuria que se comportan como casos de PE (atendiendo a complicaciones tanto maternas como fetales) [75]. Incluso, se estima que la HTA o la proteinuria pueden estar ausentes en el 10 – 15% de las gestantes que desarrollan síndrome de HELLP, y hasta en el 38% de las que desarrollan eclampsia, cuando se considera que estas dos entidades son formas graves de PE [76].

En 2013, el *American College of Obstetricians and Gynecologists* [73] revisó los criterios diagnósticos de PE, admitiendo que existe la enfermedad cuando, en ausencia de proteinuria, se presentan HTA *de novo* junto con uno de los siguientes:

- ◆ Trombocitopenia, entendida como recuento de plaquetas inferior a 100000/ $\mu$ L.
- ◆ Insuficiencia renal, determinada por una concentración sérica de creatinina superior a 1,1 mg/dL; o bien, un incremento de la creatinina sérica del doble, en ausencia de otra enfermedad renal.
- ◆ Alteración de la función hepática, definida como una elevación de las enzimas hepáticas (transaminasas) del doble sobre el valor normal.
- ◆ Edema pulmonar.
- ◆ Síntomas cerebrales o visuales.

Asimismo, se definió la “**PE con criterios de gravedad**”, siendo suficiente el hallazgo de una de las siguientes características:

- ◆ TAS  $\geq$ 160 mmHg y/o TAD  $\geq$ 110 mmHg, medida en dos ocasiones separadas al menos por 4 horas, mientras la paciente está en reposo.
- ◆ Trombocitopenia.
- ◆ Alteración de la función hepática, manifestada por la elevación de las enzimas hepáticas (doble de la concentración normal); dolor epigástrico o en el cuadrante superior derecho persistente, que no responde a medicación ni se puede justificar por otro motivo; o ambos.

- ◆ Insuficiencia renal progresiva (evaluada en base a la creatinina sérica).
- ◆ Edema pulmonar
- ◆ Aparición de alteraciones neurológicas (visuales o cerebrales).

### **1.5. Complicaciones**

La PE a menudo deriva en importantes complicaciones tanto maternas como fetales, aunque la gravedad de las mismas depende de varios factores:

- ◆ Edad gestacional en el momento de la presentación clínica. En este sentido tanto la morbilidad como la mortalidad materna y fetal o neonatal, es mayor en los casos de PE precoz que en los de PE tardía [77,78].
- ◆ Gravedad de la enfermedad. Aquellos casos que se presentan con las características típicas de la PE grave tienen un peor pronóstico.
- ◆ Manejo clínico. Una rápida actuación y la disponibilidad de recursos minimizan la aparición de complicaciones. Por eso, en los países en vías de desarrollo la morbilidad y mortalidad es mayor que en países con mayor desarrollo socio-económico.
- ◆ Enfermedades subyacentes. La presencia de condiciones clínicas pre-existentes como la HTA crónica pueden favorecer el desarrollo de complicaciones [79].

#### **1.5.1. Complicaciones maternas**

La PE es una de las principales causas de ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos durante el puerperio. Las gestantes que desarrollan PE, tiene un riesgo entre 10 y 30 veces superior de sufrir complicaciones graves con respecto a las que no desarrollan la enfermedad [2]. Algunas de las complicaciones más comunes son en realidad manifestaciones graves y persistentes de la propia PE, como son la insuficiencia renal (1 – 5%), el fallo hepático (<1%) que, en los casos más graves puede llegar a provocar hematomas subcapsulares o rotura hepática [80], o la disfunción pulmonar (1 – 5%) manifestada como un agravamiento del edema (más frecuente), síndrome de distrés respiratorio o insuficiencia respiratoria, que puede requerir incluso ventilación mecánica [76].

El síndrome de HELLP es una de las complicaciones que se observan con mayor frecuencia en la PE (10 – 20%) e incluso algunos autores consideran este síndrome como una forma grave de la propia enfermedad. De acuerdo con los criterios estrictos

del Sistema de Clasificación de Tennessee, el síndrome de HELLP se evidencia por hemólisis intravascular [lactato deshidrogenasa (LDH)  $\geq 600$  U/L], elevación de transaminasas hepáticas [aspartato-aminotransferasa (AST)  $\geq 70$  U/L] y trombocitopenia (recuento de plaquetas  $\leq 100000/\mu\text{L}$ ). A su vez, el síndrome de HELLP tiene asociada una importante morbilidad materno-fetal, independientemente de que ocurra asociado a la PE o no. Las complicaciones son en su mayoría compartidas por ambas condiciones clínicas, tanto en el caso de las maternas (coagulación intravascular diseminada, insuficiencia renal aguda, DPP, hematomas e infecciones, ascitis, edema pulmonar, eclampsia o edema cerebral) como las fetales y neonatales (partos pretérmino hasta en el 70% de los casos, CIR o muerte perinatal) [81].

La coagulación intravascular diseminada afecta igualmente al 10 – 20% de las gestantes con PE. Esta complicación supone la activación descontrolada del sistema de la hemostasia y la consecuente formación de microtrombos que pueden afectar a diferentes órganos, y que se asocia a un consumo exagerado de los mediadores de la coagulación y a una alteración en su síntesis, lo que termina induciendo hemorragias descontroladas. En la PE, la disfunción endotelial, la producción de citoquinas y la activación plaquetaria son los impulsores de esta complicación. La coagulación intravascular diseminada tiene una importante morbilidad materna asociada a las hemorragias, que pueden requerir transfusiones y en los casos más graves, pueden provocar la muerte materna [82].

Una de las complicaciones más graves de la PE es el desarrollo de convulsiones y/o coma que, si no tiene otra explicación, es lo que constituye la eclampsia. Ésta se produce por una excesiva afectación neurológica, y de hecho habitualmente estas gestantes presentan dolores de cabeza y alteraciones visuales en el momento del ingreso. Además, los análisis de imagen muestran edema cerebral y afectación de la sustancia blanca en la región parieto-occipital, en el contexto del síndrome de encefalopatía posterior reversible, previamente mencionado. El adecuado manejo clínico de la PE ha permitido que la incidencia de la eclampsia haya disminuido en el mundo occidental, mientras que en los últimos años sí ha experimentado un ligero ascenso en los países en vías de desarrollo. La mortalidad debida a la eclampsia también muestra diferencias geográficas, desde el 1,8% de los países desarrollados hasta el 14% en aquéllos con menos recursos. De nuevo, las complicaciones maternas y fetales descritas para la PE, se observan con elevada frecuencia en este subconjunto de gestantes [83].

El DPP es una complicación observada en el 1 – 4% de las PE, que a su vez supone un importante riesgo para la madre y el feto. En realidad se considera que el

solapamiento entre la PE y esta complicación, más que una relación causa-efecto, responde a un mecanismo subyacente común: la isquemia placentaria. Una placentación deficiente provoca la necrosis del tejido decidual y la hemorragia de los vasos sanguíneos. Los principales riesgos de esta condición son la hemorragia y la necesidad de transfusiones para la madre así como las complicaciones de un posible parto pretérmino para el feto [84].

La PE también incrementa el riesgo de sufrir un accidente cerebrovascular, isquémico o hemorrágico. Aunque es una complicación poco frecuente, se estima que el 25 – 45% de los accidentes cerebrovasculares que tienen lugar durante la gestación tienen la PE como desencadenante. Diversos factores contribuyen a su desarrollo: la HTA, la disfunción endotelial, la activación plaquetaria y la activación de la cascada de coagulación [85].

Además, en los últimos años también se ha descrito una relación entre la PE y el desarrollo de complicaciones a largo plazo. Las gestantes que desarrollan PE tienen un mayor riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares en el futuro, como HTA crónica, cardiopatía isquémica, accidentes cerebrovasculares o tromboembolismos [86]. En este sentido, la gravedad y la recurrencia de la PE se asocian con una mayor probabilidad de eventos cardiovasculares adversos así como con un mayor número de hospitalizaciones derivadas de los mismos [87]. Este riesgo podría estar relacionado con la presencia de factores predisponentes como la obesidad central o la hiperglucemia, y es que estas gestantes también asocian una mayor probabilidad de desarrollar síndrome metabólico [88]. El seguimiento a largo plazo de gestantes con PE también ha demostrado un mayor riesgo de desarrollar diabetes, incluso cuando no habían sufrido diabetes gestacional durante el embarazo [89].

### **1.5.2. Complicaciones perinatales**

Dado que la expulsión de la placenta es el único tratamiento efectivo para la PE, en ocasiones es necesaria la indicación del parto para asegurar el bienestar de la madre. Sin embargo, cuando esta medida debe tomarse antes de las 37, y especialmente antes de las 35 semanas de gestación, el resultado es un parto pretérmino que puede tener importantes consecuencias para el neonato. En primer lugar, la mortalidad perinatal es mayor en estos casos, y mayor aún cuanto más precoz sea el parto. Además, estos neonatos tienen un mayor riesgo de desarrollar otras complicaciones, como alteraciones pulmonares (fundamentalmente el síndrome de distrés respiratorio por la falta de maduración pulmonar), hemorragia intracraneal (debida a la inestabilidad vascular), alteraciones gastrointestinales (enterocolitis

necrotizante), retinopatía, así como problemas de crecimiento y desarrollo neurológico. Además, estas alteraciones podrían tener secuelas a largo plazo, de modo que los partos pretérmino se han relacionado con enfermedades cardiovasculares, renales, pulmonares y neurológicas en la edad adulta [90].

En torno al 10 – 25% de las PE se asocian con el desarrollo de CIR, aunque de nuevo esta relación puede responder a la existencia de un mecanismo fisiopatológico común. De hecho, el CIR se desencadena en la mayoría de los casos debido a un aporte sanguíneo deficiente durante la gestación, aunque también existen factores genéticos o infecciosos. El CIR es una de las principales causas de muerte fetal así como de prematuridad, con todas las consecuencias que esto conlleva como se ha mencionado previamente [91].

Aunque es poco frecuente (<1%) hay que considerar que la disminución del flujo sanguíneo al que se ve sometido el feto en una gestación con PE, además de dificultar el crecimiento, puede afectar al desarrollo neurológico y causar daños derivados de la hipoxia.

La muerte fetal es, sin duda, la complicación más grave de la PE. La mortalidad fetal está íntimamente relacionada con la prematuridad, con un incremento del riesgo en caso de PE frente a no-PE que va desde 69 veces en semana 25 a 7 veces a las 34 semanas de gestación. En los casos de gestaciones a término, la mortalidad disminuye notablemente, pero aún así sigue siendo más elevada en los casos de PE, con riesgos en torno a 2 – 3 veces mayor en los casos de PE que en las gestaciones no complicadas [92].

Los niños que nacen de madres con PE también pueden sufrir complicaciones a largo plazo. En concreto, se ha descrito una mayor probabilidad de desarrollar HTA o accidentes cerebrovasculares (hasta el doble), especialmente cuando la PE ha sido precoz. Además, este riesgo parece ser independiente de la prematuridad, y más bien, parece responder a la deficiente placentación que derivó en la PE. La exposición al ambiente inflamatorio, a los factores anti-angiogénicos y a la hipoxia podrían ser los responsables del riesgo posterior de enfermedad cardiovascular [93].

## **1.6. Manejo clínico**

El manejo clínico debe enfocarse a tres niveles diferentes. El primer nivel de actuación supone identificar a la población que está en riesgo de desarrollar PE (predicción). El siguiente paso implica tomar las medidas adecuadas para evitar, en ese grupo de gestantes, que llegue a desarrollarse la enfermedad (prevención).



Finalmente, en aquellos casos en los que se manifiesta la PE, deben ponerse en marcha los recursos necesarios para minimizar las consecuencias de la enfermedad (tratamiento).

### **1.6.1. Predicción y prevención**

Históricamente, la identificación de la población en riesgo de PE se ha realizado en base a variables maternas, conocidas desde el inicio de la gestación y que incrementan el riesgo de desarrollar la enfermedad (historia de PE previa, gestación múltiple, síndrome antifosfolípido, o presencia de otras patologías como HTA crónica, IRC o diabetes). El conocimiento de la fisiopatología de la PE ha permitido identificar nuevos marcadores que han sido propuestos como predictores de la enfermedad: marcadores bioquímicos clásicos (ácido úrico, creatinina), placentarios [proteína A plasmática asociada al embarazo (PAPP-A), sFit-1, PIGF] y marcadores ecográficos (Doppler de arterias uterinas). En los últimos años se han propuesto numerosos modelos de predicción precoz de PE en el primer trimestre de gestación que incorporan algunos de estos parámetros [94–97]. Sin embargo, hasta la fecha no alcanzan el rendimiento deseado y no existe evidencia suficiente para su implantación [73,98].

Por otra parte, también se han dirigido esfuerzos hacia la prevención de la PE en población de riesgo. El momento idóneo para llevar a cabo la profilaxis debería situarse antes de la semana 16, ya que es entonces cuando se produce la mayor parte de la transformación de las arterias espirales cuya disfunción induce la PE. Las mayores expectativas se han situado sobre el uso de la aspirina. Un meta-análisis reciente que evaluó 29 ensayos clínicos aleatorizados, afirma que la administración de aspirina a bajas dosis (60 – 100 mg) en población con alto riesgo de PE reduce la incidencia de la enfermedad en un 29%, de parto pretérmino en un 19% y de CIR en un 20%. De acuerdo con este estudio, la profilaxis con aspirina no incrementa la incidencia de complicaciones materno-fetales como aborto espontáneo, hemorragia post-parto o ante-parto, hemorragia neonatal o muerte perinatal; aunque sí se observa un ligero aumento en el riesgo de DPP (un 35%) [99]. Tras valorar beneficios y daños de la administración de aspirina en gestantes, varias organizaciones han actualizado sus recomendaciones al respecto. El *American College of Obstetricians and Gynecologists* en su boletín de 2013 recomienda la administración diaria de bajas dosis de aspirina (60 – 80 mg) a gestantes con historia de PE precoz o con varios episodios de PE en su historia clínica, comenzando en la etapa final del primer trimestre de gestación [73]. La *U.S. Preventive Services Task Force* recomienda desde

2014 la administración de aspirina a bajas dosis (81 mg/día) a partir de la semana 12 de gestación a gestantes con alto riesgo de PE (valorado dicho riesgo en base a características clínicas como PE previa, gestación múltiple o enfermedades subyacentes) [100].

### **1.6.2. Tratamiento**

Una vez instaurada la PE, deben tomarse las medidas adecuadas para minimizar los riesgos, lo cual requiere la participación de un equipo multidisciplinar. El tratamiento definitivo de la PE requiere la eliminación de la placenta pero, para ello, es necesario estabilizar la situación de la madre. Por tanto, los objetivos primarios son: tratar la HTA, evitar las convulsiones y optimizar el momento del parto.

La primera línea de actuación ante un diagnóstico de PE es realizar un seguimiento estrecho de la paciente, para lo que se recomienda su ingreso si bien, ante un cuadro leve, existe la posibilidad de llevar a cabo control ambulatorio. El estudio de la gestante con PE debe incluir un control analítico en el que se valore hemograma, iones, pruebas de función renal y hepática, coagulación y proteinuria, además de la valoración del bienestar fetal (mediante ecografía, Doppler) [101].

El control de la HTA en la gestante con PE tiene como objetivo evitar complicaciones derivadas como la hemorragia intracerebral, la encefalopatía hipertensiva, la isquemia cardíaca, el fallo cardíaco o los accidentes cerebrovasculares. Las embarazadas con hipertensión gestacional o PE leve deben tomar la tensión arterial al menos dos veces a la semana. Ante valores de TAS  $\geq 160$  mmHg o diastólica  $\geq 110$  mmHg ( $\geq 100$  mmHg en algunas guías), debe iniciarse tratamiento antihipertensivo. Los fármacos hipotensores de primera línea son el labetalol, la hidralacina o la alfametildopa, sin que existan ventajas especiales para uno u otro [73,101].

El sulfato de magnesio es el fármaco de elección en el tratamiento de las convulsiones de la eclampsia. Además, en gestantes con PE grave, la administración de sulfato de magnesio reduce el riesgo de eclampsia en más de la mitad. Por ello en caso de PE grave, se recomienda este tratamiento, que debe mantenerse durante 24 – 48 horas post-parto [73,98].

La decisión de finalizar el parto implica sopesar el beneficio de continuar el embarazo hasta que se alcance la madurez fetal; frente al riesgo que implica para la madre el hecho de continuar la gestación. En aquellos casos de PE sin características de gravedad y en los que no exista otro motivo que justifique la inducción del parto, se

recomienda una actitud expectante hasta las 37 semanas, y a partir de ese momento, finalizar la gestación. Sin embargo se contempla la finalización de la gestación a partir de las 34 semanas cuando lo exijan las condiciones maternas o fetales, pero siempre después de la estabilización de la madre. En los casos de PE precoz grave se recomienda una actitud conservadora hasta al menos las 34 semanas de gestación; aunque puede ser necesaria la finalización en caso de empeoramiento de la situación materna o fetal (como HTA persistente, pródromos de eclampsia, edema pulmonar, CIR grave o pérdida fetal). En esos casos, se requiere la administración previa de corticosteroides para acelerar la maduración pulmonar fetal [73,102].

## **2. Nuevos marcadores de diagnóstico y pronóstico**

Actualmente el diagnóstico de la PE se basa en síntomas y signos clínicos variables e inespecíficos, y que en algunos casos no correlacionan con la gravedad de la enfermedad. Además, los criterios aceptados no permiten la detección de casos de PE atípica en los que signos tan básicos como la HTA pueden no estar presentes. Otro problema que debe considerarse es la dificultad de detectar la PE en las gestantes con HTA o proteinuria pre-existentes. Por todos estos motivos, reviste gran interés encontrar un marcador que resulte útil en la detección de la PE y que permita orientar al clínico respecto a la gravedad y pronóstico de la misma.

### **2.1. Marcadores bioquímicos clásicos**

Durante muchos años, los principales marcadores bioquímicos disponibles en los laboratorios clínicos para la valoración de las gestantes con PE han sido las pruebas de función hepática y el ácido úrico.

#### **2.1.1. Pruebas de función hepática**

El estudio bioquímico de la función hepática requiere la determinación, entre otras pruebas, de las enzimas AST y alanina-aminotransferasa (ALT). Estas enzimas se encuentran fundamentalmente en el hígado, aunque también en el riñón, los músculos y el corazón. Cuando se produce un daño en los hepatocitos, estas enzimas son liberadas al torrente sanguíneo y por tanto se puede detectar un incremento en las concentraciones séricas de las mismas. Por eso, la determinación de ALT y AST es útil en la detección de lesiones hepáticas inducidas por infecciones víricas o por tóxicos, entre otras muchas causas.

En gestantes con PE se recomienda determinar ALT y AST para evaluar si existe disfunción hepática, puesto que es uno de los criterios de gravedad de la enfermedad así como indicativo de un posible síndrome de HELLP. Más allá de la valoración de la función hepática, se ha planteado la utilidad de estos marcadores en el diagnóstico de la PE. Sin embargo, la elevación de las transaminasas sólo ocurre en aproximadamente el 10% de los casos, por lo que no se consideran marcadores sensibles en el diagnóstico de la enfermedad [64]. Por otra parte, teniendo en cuenta que estos marcadores se elevan en casos graves, con afectación hepática e incluso multiorgánica, se ha evaluado su papel en el pronóstico de complicaciones, tanto maternas como fetales. Se ha demostrado que la alteración de las pruebas de función hepática se relaciona con signos de mayor gravedad en gestantes con PE (valores de tensión arterial más elevados, mayor grado de proteinuria, recuentos de plaquetas más bajos, mayor uso de corticosteroides y sulfato de magnesio) y que pueden acarrear más complicaciones para los neonatos (partos a una edad gestacional más precoz, peso neonatal más bajo) [103]. Las pruebas de función hepática son, por tanto, predictores moderados de complicaciones maternas, y en menor medida de complicaciones fetales. En general, la especificidad supera con creces a la sensibilidad, por lo que la presencia de valores de estas pruebas en el rango de la normalidad no permite excluir el riesgo de complicaciones [104].

### **2.1.2. Ácido úrico**

El ácido úrico es el producto final del catabolismo de las bases púricas, siendo la xantina oxidasa la enzima que cataliza su transformación. Parte de las purinas que lo originan provienen de la dieta, el resto del metabolismo endógeno. Por tanto, pueden encontrarse concentraciones elevadas de ácido úrico en la sangre como consecuencia de una ingesta excesiva de purinas, un aumento de su síntesis, un incremento en el catabolismo de ácidos nucleicos, daño tisular o disminución de la excreción urinaria. En consecuencia, se asocia con diversas patologías como la gota, la IRC o las leucemias, entre otras.

Durante la etapa más temprana de la gestación, las concentraciones séricas de ácido úrico disminuyen un 25 – 35% debido al incremento en su excreción urinaria inducido por estrógenos, al incremento en la filtración glomerular y al efecto de hemodilución propio del embarazo. Sin embargo, hacia el tercer trimestre, el ácido úrico vuelve a aumentar progresivamente hasta alcanzar valores de 4 – 5 mg/dL a término [105]. Además, se han encontrado incrementos en las concentraciones de ácido úrico de las gestantes con PE, por lo que se ha planteado su utilidad en el

diagnóstico de la enfermedad [106]. La elevación sérica de ácido úrico también se ha relacionado con el pronóstico de la PE y el desarrollo de complicaciones, tanto maternas como fetales [107].

Se ha postulado que, en las gestantes con PE, dicha elevación podría deberse a los daños que se producen en los diferentes órganos y tejidos o a la afectación renal y la disminución de la filtración glomerular, lo que podría explicar por qué sus niveles son más elevados en los casos más graves. Sin embargo, dado que la elevación de la concentración de ácido úrico se anticipa en algunos casos a la presentación clínica, este metabolito podría jugar un papel en la fisiopatología de la enfermedad. En este sentido, se ha planteado que el ácido úrico puede actuar directamente en la placenta y en la vasculatura materna, contribuyendo a la génesis de un ambiente pro-inflamatorio y con un alto estrés oxidativo, disminuyendo la vasodilatación mediada por óxido nítrico o induciendo daño endotelial [105].

## **2.2. Marcadores reguladores de la angiogénesis**

Una de las claves en la fisiopatología de la PE es la producción alterada de factores placentarios que inducen un estado anti-angiogénico en la gestante, en presencia de la enfermedad. La elevación en la concentración de sFlt-1 junto a la disminución de PIGF observada en estas gestantes, ha llevado a proponer a estos factores y al cociente entre ambos (sFlt-1/PIGF) como marcadores diagnósticos de la PE [108,109]. Aunque los resultados son, en general, prometedores, especialmente en lo que respecta a la PE precoz, existen importantes diferencias entre los distintos estudios: las poblaciones estudiadas son heterogéneas, se han utilizado métodos analíticos diferentes y existe variabilidad con respecto a los puntos de corte descritos [109–113]. Los primeros trabajos que utilizaron el inmunoensayo por electroquimioluminiscencia de Roche (sFlt-1 & PIGF Elecsys®, Roche Diagnostics) utilizaban un punto de corte único de 85, independientemente de la edad gestacional [109,112]. Posteriormente se propusieron nuevos puntos de corte, recomendados por el fabricante, para la ayuda al diagnóstico de la PE: un cociente sFlt-1/PIGF de 33 para excluir PE independientemente de la edad gestacional, y 85 o 110 para establecer el diagnóstico de PE precoz o tardía, respectivamente. Estos puntos de corte implican asumir una amplia zona gris que puede ser más o menos relevante según la población estudiada, y aunque un reciente estudio los aplica con buenos resultados [114], se requiere su validación por estudios adicionales. Recientemente, a partir de los resultados del estudio PROGNOSIS [115] el fabricante ha propuesto un punto de corte único para dicho cociente, un valor de 38, para la predicción a corto plazo de PE, que

permitiría la exclusión del diagnóstico a una semana o la inclusión en grupo de riesgo a cuatro semanas [116]. Sin embargo, estos resultados, presentados recientemente en un congreso internacional [117], no han sido aún corroborados por otros grupos.

### **2.3. Marcadores cardiovasculares**

Aunque la PE tiene su origen en la placenta, los principales efectos se observan a nivel del endotelio materno [52]. La disfunción endotelial presente en estas pacientes desencadena la incapacidad para adaptarse a los cambios hemodinámicos característicos del embarazo, como son el incremento del volumen plasmático y la disminución de la resistencia vascular sistémica. Las consecuencias inmediatas en las gestantes con PE son, por tanto, una disminución del gasto cardíaco, incremento de la presión arterial, reducción del volumen plasmático, aumento de la resistencia vascular y vasoconstricción generalizada [118]. Estas alteraciones vasculares suponen un importante estrés a nivel cardíaco, lo que podría explicar por qué las gestantes que desarrollan PE tienen un riesgo aumentado de padecer enfermedades cardiovasculares en el futuro [86,87]. Por ello, algunos autores han planteado que los marcadores actualmente utilizados para evaluar estrés cardíaco, y que participan en la regulación del tono vascular y del balance hídrico, podrían ser también útiles en el diagnóstico de PE [119–121].

El péptido natriurético tipo B (BNP) es una hormona vasoactiva, que actúa como antagonista del eje renina-angiotensina-aldosterona y del sistema nervioso simpático, favoreciendo la vasodilatación, la diuresis y la natriuresis. Se libera en los ventrículos en forma del precursor pro-BNP, cuya proteólisis libera el fragmento activo BNP (77-108) y el fragmento amino-terminal NT-proBNP (1-76). Éste último ha sido ampliamente utilizado en el diagnóstico y pronóstico de la insuficiencia cardíaca, y recientemente, se ha evaluado la relación de este péptido natriurético con el desarrollo de PE, encontrándose niveles de NT-proBNP más elevados en gestaciones con PE respecto a las gestaciones sin complicaciones [122–126]. Sin embargo, pocos grupos han comparado los valores de este marcador de manera diferencial en PE precoz y PE tardía y, quienes lo han hecho, han utilizado muestras poblacionales muy pequeñas [127,128]. Además, hasta ahora no se ha evaluado el rendimiento del NT-proBNP como marcador diagnóstico y pronóstico de la PE, lo que resultaría interesante al tratarse de un parámetro ampliamente disponible en los laboratorios de Urgencias.

## **2.1. Marcadores bioquímicos del cribado de cromosopatías de primer trimestre**

La **PAPP-A** es una proteína producida fundamentalmente por la placenta cuya síntesis comienza en el primer trimestre del embarazo y continúa aumentando hasta el final de la gestación. Se trata de una metaloproteinasa de la superfamilia de las metzincinas, que participa en la proteólisis de las proteínas fijadoras del factor de crecimiento insulinoide (IGFBP), especialmente la IGFBP-4. De este modo, la actividad de la PAPP-A permite la liberación del IGF incrementando su biodisponibilidad y favoreciendo su actividad [129].

La **gonadotropina coriónica humana** es también una hormona producida por la placenta, constituida por dos cadenas: una cadena  $\alpha$ , que presenta una alta homología con otras hormonas hipofisarias (tirotrópica, hormona foliculoestimulante y hormona luteinizante), y una cadena  $\beta$  específica. Su producción alcanza el máximo en la semana 10, momento a partir del cual comienza a disminuir hasta el final del embarazo. Sus funciones son claves para el mantenimiento de la gestación durante el primer trimestre, ya que participa en la implantación del embrión, el mantenimiento del cuerpo lúteo, la estimulación del crecimiento del trofoblasto o la inhibición de la contracción del miometrio [130].

La principal utilidad de determinar la fracción  $\beta$  libre de la gonadotropina coriónica humana ( $\beta$ hCG) y de la PAPP-A durante el primer trimestre de gestación, forma parte, junto con la medida de la translucencia nucal por ecografía, del test combinado para el cribado de cromosopatías (trisomías 21 y 18). Esto se debe a que se ha asociado el descenso de PAPP-A y el aumento de  $\beta$ hCG a un mayor riesgo de que la gestante porte un feto con trisomía 21 mientras que, si ambos marcadores están disminuidos, incrementa el riesgo de que el feto presente trisomía 18 [131]. Dado que este sistema de cribado se ofrece a toda la población de gestantes, sería muy interesante investigar si estos marcadores pueden ser útiles en el diagnóstico de PE, ya que las gestantes podrían beneficiarse de la detección precoz de la enfermedad sin que supusiera un coste adicional.

Las alteraciones en las concentraciones séricas de estos marcadores (en especial las de la PAPP-A), también han sido descritas en gestantes con fetos sin aneuploidías, pero que han sufrido alguna complicación obstétrica o perinatal como trastornos hipertensivos del embarazo, CIR, neonatos con bajo peso para la edad gestacional, pérdida fetal o partos pretérmino [132]. Se ha planteado que la disfunción placentaria característica de la PE podría dar lugar a una producción alterada de estos

marcadores, aunque los resultados son controvertidos. Por un lado, algunos estudios han mostrado una elevación de  $\beta$ hCG en gestantes que posteriormente desarrollan PE [133], mientras que otros describen una disminución en ese grupo de gestantes [134]. Por otra parte, algunos estudios no son capaces de encontrar una asociación entre la PAPP-A y la PE [133,134], mientras que otros describen concentraciones disminuidas de esta proteína en gestantes que posteriormente desarrollan la enfermedad y especialmente cuando es precoz y grave, tal y como demuestra un reciente meta-análisis realizado por Allen *et al.* [135]. Los resultados son, en todo caso, controvertidos como para poder utilizar estos marcadores en un programa de cribado precoz de la PE. La combinación de la PAPP-A y la  $\beta$ hCG con otros parámetros clínicos, bioquímicos y ecográficos, ha mejorado el rendimiento en el diagnóstico precoz, aunque no lo suficiente para su aplicación en la práctica clínica [94,95].

## 2.2. Vitamina D

La vitamina D es una hormona esteroidea esencial en el metabolismo fosfo-cálcico de manera que regula la absorción intestinal de estos minerales, su excreción renal, la mineralización del hueso y contribuye a la homeostasis del calcio al regular también la producción de la hormona paratiroidea. Éstas son las conocidas como *funciones clásicas* pero, desde hace unos años, se ha comprobado que también participa de manera relevante en muchos otros procesos, desarrollando las denominadas *funciones no clásicas* de la vitamina D. Entre ellas, destacan la regulación de la producción hormonal, de la función inmunológica o de la proliferación y diferenciación celular. Por tanto, aunque históricamente la deficiencia de vitamina D ha sido relacionada casi exclusivamente con el raquitismo y la osteomalacia, en la actualidad también se asocia con otras patologías como el cáncer, las enfermedades autoinmunes o la diabetes mellitus [136].

Durante la gestación, la vitamina D podría jugar un papel clave, ya que se ha descrito mayor incidencia de complicaciones, como diabetes gestacional, neonatos con bajo peso o vaginosis bacteriana, en gestantes que presentaban niveles bajos de vitamina D [137]. Se ha planteado que la vitamina D participa en la regulación de la producción hormonal necesaria durante la placentación, un proceso clave en la fisiopatología de la PE [138,139]. Además, el receptor de vitamina D (VDR) y la enzima 1- $\alpha$ -hidroxilasa, que participa en la conversión de la 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] en su forma activa, la 1,25-dihidroxivitamina D, también se expresan en la placenta y la decidua, lo que sugiere que la vitamina D ejerce una función en el entorno materno-fetal [140].



De acuerdo con esta hipótesis, algunos autores han demostrado que la deficiencia de vitamina D incrementa el riesgo de desarrollar PE [141–144], mientras que otros no han sido capaces de corroborar esos hallazgos, especialmente cuando la toma de muestra se realizaba durante el primer trimestre [145–148]. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, tanto la población estudiada como los métodos analíticos utilizados en estos trabajos, son muy variables, por lo que se requieren más estudios para dilucidar la utilidad real de la vitamina D como marcador o mediador en la PE.

# **JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS**



## **1. Justificación del trabajo**

A día de hoy, la PE constituye un problema de salud de primera línea en todos los países del mundo. Esto se debe a su elevada incidencia (hasta el 10% según las series estudiadas) y a la importante morbilidad y mortalidad tanto fetal como materna, especialmente en los casos en los que la enfermedad se presenta de forma más precoz. Por ello, una vez que comienzan los primeros signos y síntomas de la enfermedad, resulta crucial identificarla. De este modo, una rápida atención (seguimiento intensivo de la gestante, administración de terapia antihipertensiva, profilaxis con sulfato de magnesio, maduración pulmonar fetal mediante esteroides, etc.) permitiría disminuir la morbilidad y mortalidad tanto materna como fetal. Los criterios diagnósticos utilizados actualmente son, en algunos casos, inespecíficos y no siempre correlacionan con la gravedad de la enfermedad, por lo que se requiere el desarrollo de nuevos marcadores que resulten de ayuda en la toma de decisiones clínicas.

Aunque en los últimos años se ha planteado la utilización de los marcadores reguladores de la angiogénesis en el diagnóstico de PE (especialmente del cociente sFlt-1/PIGF), aún existe una gran controversia con respecto a los puntos de corte que deben utilizarse para confirmar o excluir la enfermedad. Además, la mayor parte de los estudios se han realizado comparando poblaciones de gestantes completamente sanas respecto a gestantes con PE ya diagnosticada. Sin embargo, este escenario es poco realista, y no permite demostrar la utilidad real de estos marcadores para identificar la enfermedad en gestantes que acudan a Urgencias con signos y/o síntomas de la enfermedad.

Una limitación de los marcadores reguladores de la angiogénesis es que su uso en los laboratorios clínicos aún es muy limitado. Por ello, sería interesante encontrar otros marcadores de uso más extendido y que pudieran ofrecer un rendimiento aceptable en el diagnóstico de la enfermedad. Aunque se han detectado concentraciones séricas de NT-proBNP más elevadas en gestantes con PE respecto a gestantes sanas, aún no se ha evaluado su capacidad en el diagnóstico o pronóstico del síndrome en gestantes con sospecha de la enfermedad.

Por otro lado, cuanto más precoz sea la identificación de la enfermedad, mayor será el beneficio que puede obtenerse. Por ello, sería interesante la identificación de marcadores que permitieran detectar el riesgo de desarrollar la enfermedad antes de su instauración. Se ha planteado la utilización de los marcadores  $\beta$ hCG y PAPP-A en la predicción de PE en el primer trimestre de gestación, ya que actualmente se

determinan en el cribado de cromosomopatías, por lo que no supondría un coste adicional. Sin embargo, los resultados obtenidos hasta ahora son contradictorios, por lo que se requieren más estudios que permitan extraer conclusiones sólidas.

Hay que tener presente que la PE es un síndrome multifactorial y que se han descrito diferentes factores de riesgo que pueden desencadenar su desarrollo. La identificación de estos factores es importante para minimizar riesgos o al menos monitorizar adecuadamente a las gestantes afectadas. En los últimos años se ha postulado la existencia de una relación entre la deficiencia de vitamina D y la enfermedad. Sin embargo los resultados aún son controvertidos, probablemente por las diferencias en la población estudiada, especialmente con respecto a la edad gestacional a la que se detecta la deficiencia, por lo que se requieren más estudios que abarquen esta cuestión.

Además, aunque PE precoz y tardía se consideran formas distintas de la enfermedad (tanto en cuanto a su fisiopatología como a sus consecuencias), la mayor parte de los estudios no distinguen entre ambas entidades, lo que puede sesgar la información disponible acerca de la utilidad de los marcadores estudiados.

## **2. Hipótesis**

Durante el desarrollo de la PE se produce una disfunción placentaria que da lugar a la producción alterada de factores reguladores de la angiogénesis, como el PIGF y el sFlt-1. Por ello, la determinación de los mismos y del cociente entre ambos (sFlt-1/PIGF) podría ser útil en el diagnóstico de PE y el pronóstico de complicaciones obstétricas en gestantes que acuden a Urgencias con sospecha de la enfermedad. Teniendo en cuenta que PE precoz y tardía constituyen formas diferentes de la enfermedad y sabiendo que los marcadores PIGF y sFlt-1 varían en función de la edad gestacional, la aplicación de puntos de corte diferentes en cada caso podría aumentar el rendimiento de los mismos.

Dado que la PE está asociada a concentraciones elevadas de péptidos natriuréticos, el desarrollo de complicaciones cardiovasculares y de partos pretérmino podrían estar relacionados con dichas elevaciones. Sería interesante comprobar si las concentraciones elevadas de NT-proBNP podrían predecir el desarrollo de una PE grave y estar asociadas con complicaciones del embarazo

Los marcadores  $\beta$ hCG y PAPP-A, determinados actualmente como parte del cribado de cromosomopatías del primer trimestre del embarazo, son de origen

placentario, por lo que su producción también podría encontrarse alterada en los casos de PE. Por ello, podrían ser útiles en la identificación precoz de las gestantes en riesgo de desarrollar posteriormente la enfermedad.

La vitamina D desarrolla importantes funciones durante el embarazo, de manera que su deficiencia se ha relacionado con diversas complicaciones obstétricas. La deficiencia de vitamina D podría constituir un factor de riesgo en el desarrollo de PE, por lo que la determinación de 25(OH)D en diferentes momentos de la gestación podría ser útil para identificar a las gestantes con mayor riesgo de desarrollar la enfermedad.



# **OBJETIVOS**





### **Objetivo principal**

Evaluar y comparar el rendimiento de los nuevos marcadores de PE reguladores de la angiogénesis (PIGF, sFlt-1 y cociente sFlt-1/PIGF), y un marcador cardiovascular (NT-proBNP) con los parámetros clásicos (AST, ALT y ácido úrico) en el diagnóstico de PE en la gestante que acude a Urgencias Obstétricas con sospecha de la enfermedad, diferenciando entre PE precoz y tardía.

### **Objetivos secundarios**

- 1.** Determinar si los marcadores clásicos, el cociente sFlt-1/PIGF y el NT-proBNP son útiles en el pronóstico de complicaciones obstétricas (predicción de parto inminente o muerte fetal/neonatal temprana) en gestantes que acuden a Urgencias, especialmente en aquellas que se presentan a una edad inferior a 34 semanas de gestación.
- 2.** Evaluar la capacidad de los marcadores  $\beta$ hCG y PAPP-A para pronosticar el desarrollo de la PE precoz y tardía en el primer trimestre de gestación.
- 3.** Evaluar la relación entre la deficiencia de vitamina D en distintos momentos de la gestación y el desarrollo de PE precoz o tardía.



# **MATERIAL Y MÉTODOS**



## **1. Diseño del estudio**

Se realizó un estudio retrospectivo de cohortes en el Hospital Universitario Central de Asturias en el que se incluyeron gestantes que acudieron al Servicio de Urgencias Obstétricas por sospecha de PE, entre enero de 2010 y marzo de 2014. El diseño del estudio fue doble ciego, de modo que el personal de laboratorio procesó las muestras sin conocer las características clínicas de las participantes, y los resultados obtenidos para los marcadores evaluados no fueron informados a los clínicos.

### **1.1. Criterios de inclusión**

Se incluyeron 378 gestantes que presentaron, al ingreso, al menos una de las siguientes condiciones:

- ◆ Tensión arterial elevada, evidenciada en la consulta de control ambulatorio o en el domicilio.
- ◆ Proteinuria.
- ◆ Doppler de arterias uterinas alterada (índice de pulsatilidad superior al percentil 95 o presencia de “notch” diastólico).
- ◆ Dolor de cabeza sin respuesta a analgésicos.
- ◆ Alteraciones visuales (fotopsias o visión borrosa)
- ◆ Edemas graves en manos, pies o cara.

### **1.2. Criterios de exclusión**

Se excluyeron un total de 38 gestantes de acuerdo a los siguientes criterios:

- ◆ Edad gestacional inferior a 20 semanas (n=4).
- ◆ Síndrome antifosfolípido (n=2).
- ◆ Lupus eritematoso sistémico (n=1).
- ◆ Ausencia de datos relativos al parto (n=15).
- ◆ Sospecha de PE sin confirmación mediante análisis de orina (n=6).
- ◆ Diagnóstico de PE realizado antes del ingreso en Urgencias (n=10).

### **1.3. Población de estudio**

En total, la población analizada estaba constituida por 340 gestantes con edad gestacional comprendida entre 20 y 41 semanas de gestación. Se clasificó a las gestantes en función de la edad gestacional al ingreso en  $<34$  y  $\geq 34$  semanas de gestación, para analizar por separado PE precoz y tardía, respectivamente.

De acuerdo con los objetivos propuestos, el trabajo se dividió en tres bloques, siendo el grupo de participantes en cada caso el que se muestra a continuación:

**1) Estudio de marcadores de diagnóstico de PE y pronóstico de complicaciones obstétricas.** El total de gestantes (n=340) fueron incluidas en esta parte del trabajo. De las 340 participantes en el estudio, el 94% (n=318) fueron incluidas por presentar HTA (bien en el domicilio, en la consulta de control o en el propio ingreso), ya fuera aislada o en combinación con algún otro criterio de inclusión. En el 6% restante de los casos, los motivos de inclusión fueron cefalea (n=7), proteinuria (n=4), edemas (n=4), fotopsias (n=4), dolor epigástrico (n=2) y Doppler de arterias uterinas alterada (n=1).

**2) Estudio de marcadores de primer trimestre en el cribado de PE.** De la población global (n=340) se excluyeron las gestaciones múltiples (n=40) y se seleccionaron las gestantes que habían participado en el programa de cribado de cromosomopatías de primer trimestre (9 – 12 semanas de gestación), de las que se disponía de los resultados de los marcadores  $\beta$ hCG y PAPP-A (n=259).

**3) Estudio del papel de la vitamina D en el desarrollo de PE.** Esta parte del trabajo se realizó con las gestantes que acudieron a Urgencias entre enero de 2010 y marzo de 2013 (n=257).

### **1.4. Tratamiento preanalítico de muestras**

Para el estudio de marcadores en el diagnóstico de PE y pronóstico de complicaciones obstétricas se tomaron especímenes de sangre de todas las gestantes en el momento del ingreso en Urgencias en tubo sin anticoagulante con gel separador. Se enviaron al Laboratorio de Respuesta Rápida y se centrifugaron inmediatamente a 1200g durante 10 minutos. Se separó el suero sobrenadante, en el que se determinaron AST, ALT y ácido úrico, entre otras pruebas solicitadas para el manejo asistencial de las pacientes. A continuación, una alícuota de las muestras fue congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$  para el análisis posterior de los marcadores a estudio (PIGF, sFlt-1 y NT-proBNP).

Para el estudio del papel de la vitamina D en el desarrollo de PE, se utilizaron muestras obtenidas en dos momentos diferentes de la gestación para la determinación de 25(OH)D: en el primer trimestre y en el momento en el que aparecieron los signos o síntomas de la PE. Las muestras del primer trimestre se obtuvieron a partir de una seroteca constituida a partir de los especímenes utilizados en el programa de cribado de cromosomopatías de nuestro hospital (n=142), que se conservan durante 18 meses a -40°C. Las muestras correspondientes al momento de la presentación clínica, al igual que en el apartado anterior, habían sido obtenidas en el Servicio de Urgencias (n=257).

### 1.5. Consideraciones éticas

El presente estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica Regional del Principado de Asturias. Además, se obtuvo el consentimiento informado de cada una de las pacientes, en el que se informó del objetivo del estudio y del procedimiento a seguir, así como del carácter voluntario y confidencial de la participación.

## 2. Definiciones clínicas

La confirmación de los diagnósticos se realizó mediante revisión de las historias clínicas de las pacientes, atendiendo a los sucesos acontecidos entre la fecha del ingreso y las subsiguientes tres semanas. Para establecer las definiciones clínicas se siguieron las recomendaciones del *American College of Obstetricians and Gynecologists* vigentes en el momento de inicio del estudio [149] revisadas por miembros del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario Central de Asturias:

- ◆ **HTA:** TAS  $\geq 140$  mmHg y/o TAD  $\geq 90$  mmHg, medida en dos ocasiones separadas al menos por 4 horas.
- ◆ **Proteinuria:** Excreción de  $\geq 300$  mg de proteína en orina de 24 horas, y/o tiras reactivas con  $\geq 2+$  de proteína (100 mg/dL) en dos muestras de orina separadas al menos por 4 horas, o un ratio albúmina/creatinina  $>30$  mg/mmol, en ausencia de infección del tracto urinario.
- ◆ **HTA crónica:** HTA diagnosticada antes del embarazo o en la primera mitad del embarazo (previa a 20 semanas de gestación) y que continúe después de las 12 semanas post-parto.



- ◆ **Hipertensión gestacional:** HTA sin proteinuria a partir de la semana 20 de gestación y que desaparece en las primeras 12 semanas post-parto.
- ◆ **PE:** Nueva instauración de HTA y proteinuria a partir de la semana 20 de gestación.
- ◆ **HTA crónica con PE sobreañadida:** HTA preexistente que desarrolla proteinuria después de la semana 20.
- ◆ **PE precoz:** PE diagnosticada antes de 34 semanas de gestación.
- ◆ **PE tardía:** PE diagnosticada a las 34 semanas de gestación o posteriormente.
- ◆ **PE post-parto:** PE diagnosticada en las 48 horas siguientes al parto.
- ◆ **CIR:** Peso fetal estimado por debajo del 3<sup>er</sup> percentil para la edad gestacional, o entre los percentiles 3<sup>o</sup> y 10<sup>o</sup> con alteración del flujo cerebro-umbilical o de las arterias uterinas.
- ◆ **Síndrome de HELLP:** Aumento de AST >70 U/L, reducción del recuento de plaquetas <100000/ $\mu$ L y aumento en los niveles de LDH >600 U/L.
- ◆ **Eclampsia:** Nueva aparición de convulsiones tónico-clónicas en mujeres con PE que no se puede atribuir a ninguna otra causa.
- ◆ **Parto pretérmino:** Nacimiento antes de las 37 semanas de gestación.

A partir de estas definiciones, dos miembros del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario Central de Asturias comprobaron la adecuación de los diagnósticos clínicos en la muestra poblacional estudiada.

### **3. Variables recogidas de las historias clínicas**

Las principales variables de estudio fueron:

1) Desarrollo de PE precoz o tardía, diagnosticada en las 3 semanas posteriores al ingreso en Urgencias por sospecha de la enfermedad.

2) Desarrollo de desenlace adverso, entendido como, al menos, una de las siguientes: parto inminente en la primera semana tras el ingreso en Urgencias, muerte fetal o muerte neonatal temprana (en la primera semana de vida).

Además de las variables principales de estudio, se revisaron las historias clínicas y se recogieron los datos indicados en la Tabla 1.

Tabla 1. Variables recogidas de las historias clínicas de las gestantes.

Variable	Tipo de variable	Categorías	Unidades
<b>Principales variables de estudio:</b>			
PE	Catagórica binaria	No / Sí	
Desenlace adverso	Catagórica binaria	No / Sí	
Intervalo ingreso - parto	Cuantitativa		Días
Tiempo al parto	Catagórica ordinal	<1 / 1-2 / ≥2	Semanas
<b>Factores de riesgo de PE:</b>			
HTA crónica	Catagórica binaria	No / Sí	
Diabetes	Catagórica binaria	No / Sí	
IRC	Catagórica binaria	No / Sí	
PE previa	Catagórica binaria	No / Sí	
Nuliparidad	Catagórica binaria	No / Sí	
FIV	Catagórica binaria	No / Sí	
Gestación múltiple	Catagórica binaria	No / Sí	
<b>Datos recogidos al primer trimestre:</b>			
Edad gestacional <sup>(1)</sup>	Cuantitativa		Semanas + días
βhCG	Cuantitativa		MoM <sup>(2)</sup>
PAPP-A	Cuantitativa		MoM <sup>(2)</sup>
<b>Datos recogidos al ingreso:</b>			
Edad gestacional <sup>(1)</sup>	Cuantitativa		Semanas + días
Grupo de edad gestacional	Catagórica binaria	<34 / ≥34	Semanas
Edad materna	Cuantitativa		Años cumplidos
IMC	Cuantitativa		kg/m <sup>2</sup>
TAD	Cuantitativa		mmHg
TAS	Cuantitativa		mmHg
Proteinuria	Catagórica binaria	No / Sí	
AST	Cuantitativa		U/L
ALT	Cuantitativa		U/L
Ácido úrico	Cuantitativa		mg/dL
LDH	Cuantitativa		U/L
Plaquetas	Cuantitativa		nº x 10 <sup>3</sup> /μL

**Tabla 1. Continuación**

Variable	Tipo de variable	Categorías	Unidades
<b>Datos recogidos al parto:</b>			
Edad gestacional <sup>(1)</sup>	Cuantitativa		Semanas + días
Parto pretérmino	Catagórica binaria	No / Sí	
TAD	Cuantitativa		mmHg
TAS	Cuantitativa		mmHg
Proteinuria	Catagórica binaria	No / Sí	
Peso neonatal	Cuantitativa		g
Test Apgar 1 min	Cuantitativa		<i>Sin unidades</i>
Test Apgar 5 min	Cuantitativa		<i>Sin unidades</i>
Ingreso UCIN	Catagórica binaria	No / Sí	
<b>Datos recogidos en seguimiento hasta el parto:</b>			
DPP	Catagórica binaria	No / Sí	
HELLP	Catagórica binaria	No / Sí	
CIR	Catagórica binaria	No / Sí	
Muerte fetal o neonatal precoz	Catagórica binaria	No / Sí	

UCIN: Unidad de Cuidados Intensivos Neonatal.

<sup>(1)</sup> La edad gestacional utilizada fue la estimada por ecografía en el primer trimestre de gestación a partir de la medida de longitud cráneo-caudal.

<sup>(2)</sup> En el cribado prenatal de cromosomopatías, los resultados se expresan como múltiplos de la mediana (MoM), calculados como el cociente entre el valor del analito y la mediana correspondiente a la edad gestacional, corregido por peso materno, etnia, hábito tabáquico, antecedentes de cromosomopatía y método de concepción.

## 4. Métodos analíticos

### 4.1. PIGF, sFlt-1 y NT-proBNP

Los niveles de PIGF, sFlt-1 y NT-proBNP se determinaron mediante un inmunoensayo tipo sándwich con detección por electroquimioluminiscencia (Elecys® PIGF, sFlt-1 y NT-proBNP) en un autoanalizador Cobas e601 (Roche Diagnostics, Alemania). En una primera incubación el analito forma un complejo sándwich con un anticuerpo monoclonal biotinilado y otro anticuerpo monoclonal marcado con quelato de rutenio. A continuación se realiza una segunda incubación con micropartículas recubiertas de estreptavidina que interaccionan con la biotina y permiten que el complejo se fije a la fase sólida. La mezcla de reacción se traslada a la célula de lectura, donde las partículas se fijan a la superficie del electrodo por magnetismo, mientras que los elementos no fijados son eliminados por un lavado. Se aplica una corriente eléctrica definida que produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión

de luz es directamente proporcional a la concentración del analito y se mide con un fotomultiplicador. El tiempo de análisis de cada parámetro es de 18 minutos.

Las especificaciones técnicas de cada ensayo se indican en la Tabla 4. Ninguno de los tests se ve afectado por ictericia (bilirrubina menor de 25 mg/dL) o hemólisis (hemoglobina menor de 500 mg/dL para el PIGF y sFlt-1 e inferior a 1000 mg/dL para el NT-proBNP). La biotina tampoco produce interferencia por debajo de los 30 ng/mL. No se han descrito otras interferencias específicas para ninguno de los ensayos.

Los intervalos de referencia para el PIGF, sFlt-1 y cociente sFlt-1/PIGF sugeridos por el fabricante han sido obtenidos a partir del análisis de 877 gestantes normotensas con un embarazo sin complicaciones [114,116] (Tabla 2).

**Tabla 2. Valores de PIGF, sFlt-1 y cociente sFlt-1/PIGF obtenidas en un grupo de referencia de gestantes sin complicaciones.**

Semanas de gestación	10+0 – 14+6	15+0 – 19+6	20+0 – 23+6	24+0 – 28+6	29+0 – 33+6	34+0 – 36+6	37+0 - parto
<b>PIGF (pg/mL)</b>							
<b>Percentil 5</b>	28,2	66,2	119	169	114	78,0	54,4
<b>Percentil 50</b>	52,6	135	264	465	471	284	191
<b>Percentil 95</b>	122	289	605	1117	1297	984	862
<b>sFlt-1 (pg/mL)</b>							
<b>Percentil 5</b>	652	708	572	618	773	992	1533
<b>Percentil 50</b>	1328	1355	1299	1355	1742	2552	3485
<b>Percentil 95</b>	2501	2807	2997	3205	5165	7363	9184
<b>sFlt-1/PIGF</b>							
<b>Percentil 5</b>	9,27	3,51	1,82	0,945	0,941	1,23	2,18
<b>Percentil 50</b>	24,8	10,5	4,92	3,06	3,75	9,03	19,6
<b>Percentil 95</b>	54,6	25,7	14,6	10,0	33,9	66,4	112
<b>N (consultas)</b>	246	157	217	346	319	224	176

En la Tabla 3 se muestran las estadísticas descriptivas de las concentraciones de NT-proBNP (pg/mL) obtenidas en un grupo de referencia constituido por mujeres no embarazadas sin riesgos cardíacos, síntomas ni historial médico conocido, de acuerdo con las indicaciones del fabricante [150]. El punto de corte de NT-proBNP utilizado en nuestro laboratorio para la exclusión de insuficiencia cardíaca se sitúa en 300 ng/mL.

**Tabla 3. Concentraciones de NT-proBNP (pg/mL) obtenidas en un grupo de referencia de mujeres adultas en edad fértil.**

Edad (años)	N	Media	DE	Mediana	Percentil 95	Percentil 97,5
18 – 44	508	48,2	32,8	37,1	116	130

El coeficiente de variación (CV) interensayo para el NT-proBNP se calculó procesando diariamente los controles de calidad PreciControl Cardiac II 1 y 2 (Roche Diagnostics, Alemania), obteniendo CV inferiores al 2,2%. En el caso del PIGF y el sFlt-1 se utilizaron los controles de calidad PreciControl MultiMarker 1 y 2 (Roche Diagnostics, Alemania), que, al no estar incluidos en la rutina clínica, se procesaron al inicio y al final de cada tanda de muestras. El CV interensayo para el PIGF fue de 4,3 – 4,5% para el nivel de control 1 (96 – 99 pg/mL) y 2,9 – 3,6% para el nivel 2 (973 - 1040 pg/mL). La imprecisión estimada para el sFlt-1 fue semejante, con CV de 4,3% utilizando el nivel de control 1 (98 – 105 pg/mL) y 3,8 – 3,9% utilizando el nivel 2 (1020 – 1060 pg/mL).

#### **4.2. 25(OH)D**

La concentración de 25(OH)D se determinó por un inmunoensayo competitivo directo por quimioluminiscencia (LIAISON® 25 OH Vitamin D Total Assay) en un autoanalizador LIAISON (DiaSorin Inc., Estados Unidos). En una primera incubación, la 25(OH)D se disocia de su proteína de unión y se une a un anticuerpo específico adherido sobre la superficie de partículas magnéticas, lo que permite la fijación a la fase sólida. A continuación se realiza una segunda incubación con el trazador (vitamina D unida a un derivado de isoluminol), que se une a los anticuerpos que han quedado libres. Se eliminan los elementos no unidos mediante un lavado y se añaden los reactivos iniciadores para dar una reacción quimioluminiscente, cuya intensidad, medida con un fotomultiplicador, es inversamente proporcional a la concentración de 25(OH)D.

Las especificaciones técnicas del ensayo se indican en la Tabla 4. El test no se ve afectado por hemólisis ( $\leq 200$  mg de hemoglobina), ictericia ( $\leq 40$  mg/dL de bilirrubina), hipercolesterolemia ( $\leq 300$  mg/dL), hiperuricemia ( $\leq 20$  mg/dL) o hiperproteinemia ( $\leq 12$ g/dL).

El CV interensayo para la 25(OH)D se calculó procesando al inicio y al final de cada tanda de muestras los controles de calidad del ensayo (LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Control Set), obteniendo un valor inferior al 13%.

Aunque existe controversia en la bibliografía, en este trabajo se ha definido deficiencia de vitamina D como valores de 25(OH)D inferiores a 20 ng/mL, de acuerdo con las recomendaciones de Holick *et al.* [151].

**Tabla 4. Especificaciones técnicas de los tests analíticos.**

	Intervalo de medida	Límite de cuantificación
PIGF (pg/mL)	3 – 10000	10
sFlt-1 (pg/mL)	10 – 85000	15
NT-proBNP (pg/mL)	5 – 35000	5
25(OH)D (ng/mL)	4 – 150	4

## 5. Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se expresan como mediana acompañada del intervalo intercuartílico (IIC) entre paréntesis y las variables categóricas como frecuencia absoluta y porcentaje entre paréntesis.

Se utilizó el test de Kolmogorov-Smirnov para comprobar si las variables cuantitativas se ajustaban a una distribución normal. Las comparaciones entre los grupos de estudio (gestantes <34 *versus* ≥34 semanas, PE *versus* no-PE, desenlace adverso *versus* no desenlace adverso) se realizaron mediante el test de  $\chi^2$  o el de Fisher para variables categóricas, el test t de Student para variables cuantitativas con distribución normal y el test U de Mann-Whitney para variables continuas no normales. Cuando se compararon más de dos grupos (por ejemplo, parto en menos de 1 semana, entre 1 – 2 semanas o parto en más de 2 semanas) se utilizó el test de Kruskal-Wallis.

La relación entre las variables cuantitativas se estudió mediante análisis de regresión lineal, cuantificando el grado de asociación mediante los coeficientes de correlación de Pearson (distribuciones normales) o de Spearman (distribuciones no normales).

El rendimiento de los diferentes marcadores en el diagnóstico de PE y en el pronóstico de desenlace adverso se evaluó mediante la realización de curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*). La utilidad de cada marcador se determinó mediante el valor de área bajo la curva (AUC). Las diferentes AUCs se compararon mediante el test de Hanley y McNeil. Se utilizaron las coordenadas de las gráficas de las curvas ROC para seleccionar los puntos de corte óptimos (mayor sensibilidad y especificidad posibles) para los diferentes marcadores.

Finalmente, se elaboraron modelos multivariantes de predicción de PE y de desenlace adverso que incluyeran variables clínicas y analíticas. Para ello, en primer lugar se realizó un análisis univariante en el que se analizaron individualmente las siguientes variables como potenciales predictores: edad materna, edad gestacional al

ingreso, IMC, nuliparidad, HTA crónica, diabetes, historia de PE en gestación previa, gestación múltiple, CIR o FIV; adicionalmente, se incluyeron los parámetros analíticos evaluados en el trabajo (marcadores bioquímicos clásicos, reguladores de angiogénesis, NT-proBNP y vitamina D). Los marcadores se incluyeron en el modelo como variables categorizadas, utilizando bien los puntos de corte obtenidos mediante el análisis ROC, o bien los descritos en la bibliografía, según cada caso. El análisis univariante se realizó mediante regresión logística para cada uno de los parámetros, obteniendo el *odds ratio* (OR) para cada variable individual. Aquellas variables que en el modelo univariante mostraron un valor  $p < 0,05$ , fueron incluidas en el modelo multivariante final. El modelo multivariante se construyó mediante regresión logística aplicando el test  $\chi^2$  de Wald, obteniendo los valores de OR ajustados para cada variable.

Los valores de AUC, sensibilidad, especificidad y OR se muestran junto con el correspondiente intervalo de confianza al 95% (IC95%). Todos los tests fueron bilaterales y las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a partir de  $p < 0,05$ . Los datos se analizaron mediante los paquetes informáticos SPSS (Versión 19.0, Chicago, Illinois, EEUU) y MedCalc (Versión 12.5, Bélgica).

# **RESULTADOS**

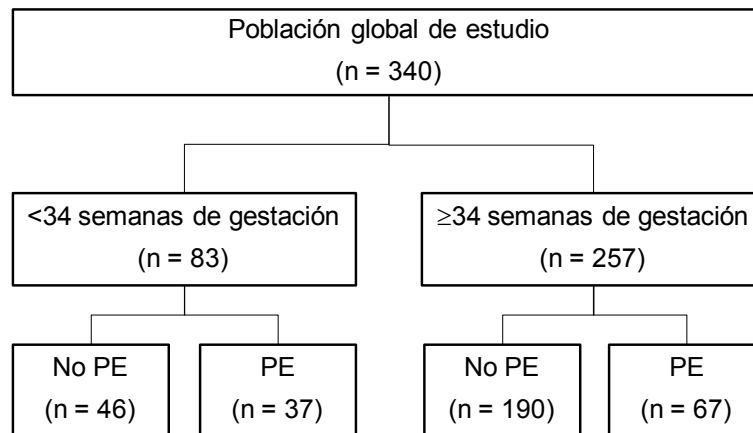




## 1. Marcadores de diagnóstico de PE y pronóstico de complicaciones obstétricas en Urgencias

### 1.1. Características de la población

De las 340 participantes, 104 gestantes desarrollaron PE, siendo mayor la incidencia en el grupo que acudió antes de las 34 semanas de gestación que en aquéllas que lo hicieron posteriormente (44,6% *versus* 26,1%;  $p=0,001$ ) (Figura 4).



**Figura 4. Población de estudio para el análisis de marcadores en el diagnóstico de PE.**

Las características demográficas y clínicas de la población, estratificadas en función de la edad gestacional de inclusión y del desarrollo o no de PE, se muestran en la Tabla 5. Los grupos de estudio (PE *versus* no-PE) no difirieron en edad materna, IMC, casos de diabetes, HTA crónica, IRC, nuliparidad o PE previa; únicamente, las gestantes que desarrollaron PE tardía presentaron un mayor número de concepciones por FIV y de gestaciones múltiples, así como de casos de CIR y síndrome de HELLP respecto a las no-PE ( $p<0,001$ ). La edad gestacional al ingreso fue semejante en los grupos de no-PE y PE, sin embargo, la edad gestacional al parto fue más temprana en los casos de PE precoz y tardía, que reflejaron un mayor porcentaje de partos pretérmino ( $p<0,001$ ). Como era de esperar, la tensión arterial y la proteinuria fueron mayores en los casos de PE precoz y tardía ( $p<0,01$ ). Las gestantes con PE precoz o tardía dieron a luz a neonatos con menor peso y con una mayor tasa de ingresos en la UCIN ( $p<0,001$ ), aunque sólo los casos de PE precoz mostraron una puntuación en el test de Apgar más baja y una mayor mortalidad fetal y neonatal temprana con respecto a los casos de no-PE ( $p<0,05$ ).

Tabla 5. Características demográficas y clínicas de la población.

	<34 semanas de gestación			≥34 semanas de gestación		
	No-PE	PE	Valor p	No-PE	PE	Valor p
n	46 (55,4%)	37 (44,6%)		190 (73,9%)	67 (26,1%)	
Edad materna (años)	34 (31 -37)	34 (30 – 38)	0,719	34 (30-37)	35 (32 – 37)	0,380
Diabetes, n	11 (23,9%)	3 (8,3%)	0,063	28 (14,7%)	6 (9,0%)	0,230
HTA crónica, n	6 (13,0%)	6 (16,2%)	0,683	15 (7,9%)	3 (4,5%)	0,418
IRC, n	0 (0%)	2 (5,4%)	0,196	0 (0%)	0 (0%)	-
Nuliparidad, n	35 (76,1%)	28 (75,7%)	0,965	148 (77,9%)	58 (86,6%)	0,126
PE previa, n	4 (9,7%)	2 (5,4%)	0,688	8 (4,2%)	2 (3,0%)	1,000
FIV, n	7 (15,2%)	3 (8,1%)	0,500	7 (3,7%)	12 (17,9%)	<b>&lt;0,001</b>
Gestación múltiple, n	6 (13,0%)	9 (24,3%)	0,184	10 (5,3%)	15 (22,4%)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Datos al ingreso:</b>						
Edad gestacional, semanas <sup>+días</sup>	31 <sup>+0</sup> (26 <sup>+1</sup> – 32 <sup>+6</sup> )	31 <sup>+1</sup> (27 <sup>+4</sup> – 35 <sup>+6</sup> )	0,477	37 <sup>+5</sup> (36 <sup>+4</sup> – 39 <sup>+4</sup> )	37 <sup>+0</sup> (36 <sup>+0</sup> – 38 <sup>+5</sup> )	0,065
TAS, mmHg	137 (114 – 148)	149 (134 – 156)	<b>0,001</b>	133 (123 – 146)	143 (135 – 160)	<b>&lt;0,001</b>
TAD, mmHg	84 (73 – 95)	98 (91 – 103)	<b>&lt;0,001</b>	91 (81 – 96)	94 (89 – 100)	<b>0,001</b>
Proteinuria, n	3 (6,5%)	26 (70,3%)	<b>&lt;0,001</b>	4 (21,1%)	51 (76,1%)	<b>&lt;0,001</b>
IMC, kg/m <sup>2</sup>	29 (26 – 34)	30 (28 – 36)	0,453	31 (28 – 35)	32 (28 – 35)	0,610
<b>Datos al parto:</b>						
Edad gestacional, semanas <sup>+días</sup>	38 <sup>+2</sup> (37 <sup>+1</sup> – 40 <sup>+3</sup> )	33 <sup>+5</sup> (31 <sup>+0</sup> – 34 <sup>+1</sup> )	<b>&lt;0,001</b>	39 <sup>+3</sup> (38 <sup>+2</sup> – 40 <sup>+2</sup> )	38 <sup>+0</sup> (37 <sup>+0</sup> – 39 <sup>+2</sup> )	<b>&lt;0,001</b>
TAS, mmHg	131 (120 – 146)	150 (137 – 160)	<b>&lt;0,001</b>	133 (120 – 144)	144 (133 – 152)	<b>&lt;0,001</b>
TAD, mmHg	83 (74 – 91)	90 (84 – 97)	<b>0,002</b>	85 (77 – 91)	90 (82 – 96)	<b>&lt;0,001</b>
Proteinuria, n	1 (2,2%)	35 (94,6%)	<b>&lt;0,001</b>	4 (21,1%)	64 (95,5%)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Características del neonato:</b>						
Peso, g	2995 (2360 - 3485)	1695 (1475 - 1935)	<b>&lt;0,001</b>	3125 (2847 - 3540)	2630 (2105 - 2980)	<b>&lt;0,001</b>
Apgar 1 min	9 (9 – 9)	8,5 (5,5 – 9)	<b>0,003</b>	9 (9 – 9)	9 (8 – 9)	0,133
Apgar 5 min	10 (10 – 10)	10 (8 – 10)	<b>0,002</b>	10 (10 – 10)	10 (10 – 10)	0,188
Ingreso UCIN, n	16 (30,8%)	36 (69,2%)	<b>&lt;0,001</b>	21 (38,2%)	34 (61,8%)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Complicaciones maternas y perinatales</b>						
Síndrome de HELLP, n	1 (2,2%)	2 (5,4%)	0,583	0 (0%)	4 (6,0%)	<b>0,004</b>
CIR, n	5 (10,9%)	7 (18,9%)	0,300	3 (1,6%)	7 (10,4%)	<b>0,004</b>
Muerte fetal o neonatal, n	0 (0%)	4 (10,8%)	<b>0,036</b>	0 (0%)	0 (0%)	-
Parto pretérmino, n	11 (23,9%)	36 (97,3%)	<b>&lt;0,001</b>	8 (4,2%)	16 (23,9%)	<b>&lt;0,001</b>

Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje) o mediana (IIC). Los valores p estadísticamente significativos se resaltan en negrita. Los datos están incompletos para las variables IMC (n=11), proteinuria al ingreso (n=10), proteinuria al parto (n=66), peso neonatal (n=5) y test de Apgar (n=19).

## 1.2. Variables analíticas en el diagnóstico de PE

### 1.2.1. Marcadores clásicos

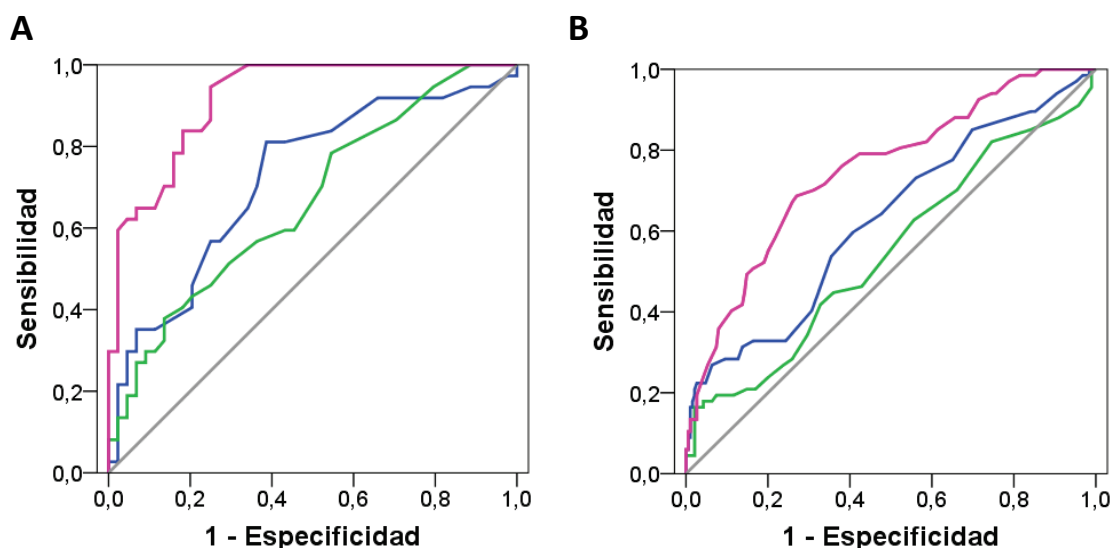
Los resultados de las variables analíticas utilizadas clásicamente en la valoración de la gestante con PE se muestran en la Tabla 6. Las gestantes que desarrollaron PE, fuese ésta precoz o tardía, mostraron niveles significativamente más altos de AST, ácido úrico y LDH, así como recuentos más bajos de plaquetas con respecto a las que no desarrollaron la enfermedad. De la misma manera, la concentración de ALT fue significativamente superior en las gestantes con PE antes de las 34 semanas, pero no en el grupo de edad gestacional más tardía. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de PE precoz y tardía para ninguna de las variables analíticas.

**Tabla 6. Variables analíticas clásicas en los grupos no-PE y PE por edad gestacional.**

	<34 semanas de gestación			≥34 semanas de gestación		
	No-PE	PE	Valor p	No-PE	PE	Valor p
<b>AST (U/L)</b>	17 (15 - 23)	23 (19 - 33)	<b>0,001</b>	18 (15 - 22)	21 (17 - 29)	<b>0,002</b>
<b>ALT (U/L)</b>	13 (10 - 18)	17 (12 - 32)	<b>0,021</b>	12 (9 - 18)	13 (10 - 19)	0,280
<b>Ácido úrico (mg/dL)</b>	3,3 (2,9 - 4,3)	6,1 (4,7 - 7,3)	<b>&lt;0,001</b>	4,5 (3,8 - 5,2)	5,7 (4,8 - 6,5)	<b>&lt;0,001</b>
<b>LDH (U/L)</b>	187 (162 - 215)	242 (207 - 285)	<b>&lt;0,001</b>	202 (181 - 230)	231 (197 - 262)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Plaquetas (x10<sup>3</sup>/μL)</b>	238 (194 - 279)	197 (163 - 222)	<b>&lt;0,001</b>	214 (184 - 258)	203 (162 - 240)	<b>0,011</b>

Los valores se expresan como mediana (IIC). Los valores p estadísticamente significativos se resaltan en negrita. Los datos están incompletos para las variables AST (n=3) y LDH (n=24) debido a hemólisis de las muestras y para plaquetas (n=12).

De entre los marcadores clásicos, el ácido úrico fue el que ofreció un mayor rendimiento en el diagnóstico de PE precoz y tardía ( $p < 0,05$ ), con AUC de 0,918 (IC95%: 0,862 – 0,975) y 0,749 (IC95%: 0,680 – 0,817), respectivamente (Figura 5). Un valor de referencia de 5,7 mg/dL, permitió la detección de PE precoz con una sensibilidad del 62,2% (IC95%: 44,8 – 77,1) y una especificidad del 95,7% (IC95%: 84,0 – 99,2); mientras que para la PE tardía la sensibilidad y especificidad obtenidas fueron de 49,3% (IC95%: 37,0 – 61,6) y 85,3% (IC95%: 79,2 – 89,8), respectivamente.



Edad gestacional	Variables analíticas	AUC	Valor p	IC95%		Valor p comparación AUC <sup>(1)</sup>
				Límite inferior	Límite superior	
<34 semanas	— AST	0,722	<0,001	0,609	0,834	<0,001
	— ALT	0,666	0,011	0,548	0,783	<0,001
	— Ácido úrico	0,918	<0,001	0,862	0,975	—
≥34 semanas	— AST	0,626	0,002	0,546	0,706	0,013
	— ALT	0,546	0,262	0,462	0,629	<0,001
	— Ácido úrico	0,749	<0,001	0,680	0,817	—

Figura 5. Curvas ROC para el diagnóstico de PE precoz (A) y tardía (B) utilizando los marcadores clásicos AST, ALT y ácido úrico.

<sup>(1)</sup> Resultados de la comparación de las AUCs de los diferentes marcadores respecto al de mayor AUC, en este caso, el ácido úrico.

### 1.2.2. Marcadores reguladores de la angiogénesis

Con respecto a los marcadores reguladores de la angiogénesis, las gestantes que desarrollaron PE mostraron valores significativamente inferiores de PIGF y superiores de sFlt-1, respecto a las gestantes sin la enfermedad, independientemente de la edad gestacional al ingreso ( $p < 0,001$ ) (Figura 6A-B). Estas diferencias se magnificaron al calcular el cociente sFlt-1/PIGF, de modo que las medianas fueron significativamente inferiores en las gestantes sin PE frente a las gestantes con PE precoz [5,6 (IIC: 2,2 – 15) *versus* 167 (IIC: 48 – 290);  $p < 0,001$ ] y tardía [26 (IIC: 14 – 46) *versus* 75 (IIC: 47 – 130);  $p < 0,001$ ] (Figura 6C). En conjunto, los valores de estos marcadores no difirieron entre los dos grupos de edad gestacional. Sin embargo, al estratificar en función del desarrollo de PE, las gestantes  $\geq 34$  semanas que no desarrollaron PE mostraron valores inferiores de PIGF y superiores de sFlt-1 y del cociente sFlt-1/PIGF respecto a las más precoces ( $p < 0,001$ ), mientras que, de entre las que desarrollaron la

enfermedad, fueron las más precoces las que mostraron niveles de PIGF más bajos y cocientes sFlt-1/PIGF más elevados ( $p < 0,05$ ).

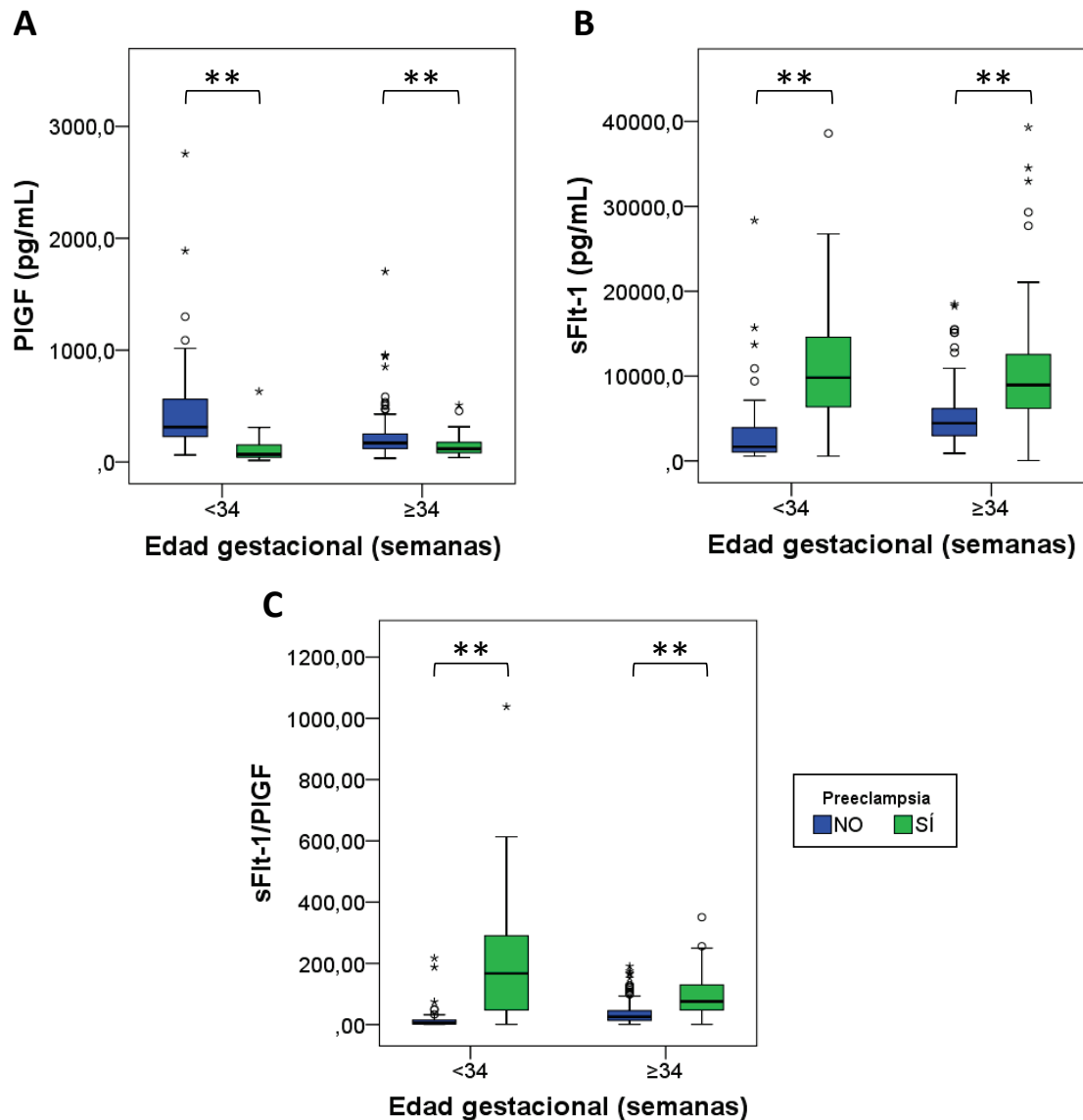
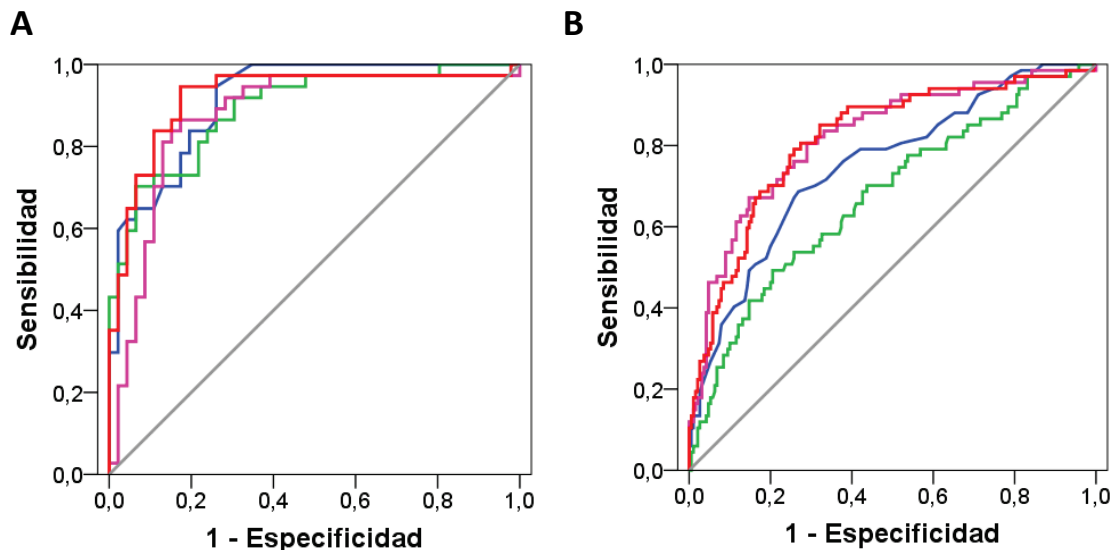


Figura 6. Valores de PIGF (A), sFlt-1 (B) y cociente sFlt-1/PIGF (C) en gestantes no-PE y PE precoz y tardía. \*\*  $p < 0,001$ .

De acuerdo con el análisis ROC, el sFlt-1 (AUC: 0,831; IC95%: 0,786 – 0,869) y el cociente sFlt-1/PIGF (AUC: 0,848; IC95%: 0,805 – 0,885) mostraron un rendimiento superior al PIGF (AUC: 0,742; IC95%: 0,691 – 0,788) en el diagnóstico de PE con independencia de la edad gestacional ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, al analizar los marcadores en función de los grupos de edad gestacional, en el grupo <34 semanas se obtuvo un incremento en el AUC de los tres marcadores, sin que se encontraran diferencias estadísticamente significativas entre ellos (Figura 7). Al comparar los

marcadores clásicos con los reguladores de la angiogénesis, las AUCs obtenidas con el cociente sFlt-1/PIGF para la PE precoz y tardía [0,933 (IC95%: 0,872 – 0,994) y 0,818 (IC95%: 0,757 – 0,879), respectivamente] no difirieron con respecto a las mostradas por el ácido úrico con valores p de 0,676 y 0,074, respectivamente.



Edad gestacional	Variables analíticas	AUC	Valor p	IC95%		Valor p comparación AUC <sup>(1)</sup>
				Límite inferior	Límite superior	
<34 semanas	— Ácido úrico	0,918	<0,001	0,862	0,975	0,676
	— PIGF	0,901	<0,001	0,835	0,967	0,188
	— sFlt-1	0,884	<0,001	0,803	0,965	0,141
	— sFlt-1/PIGF	0,933	<0,001	0,872	0,994	—
≥34 semanas	— Ácido úrico	0,749	<0,001	0,680	0,817	0,046
	— PIGF	0,678	<0,001	0,602	0,755	0,001
	— sFlt-1	0,820	<0,001	0,759	0,881	—
	— sFlt-1/PIGF	0,818	<0,001	0,757	0,879	0,927

Figura 7. Curvas ROC para el diagnóstico de PE precoz (A) y tardía (B) utilizando el marcador clásico ácido úrico y los reguladores de la angiogénesis (PIGF, sFlt-1 y cociente sFlt-1/PIGF).

<sup>(1)</sup> Resultados de la comparación de las AUCs de los diferentes marcadores respecto al de mayor AUC, en este caso, el cociente sFlt-1/PIGF en las <34 y el sFlt-1 en las ≥34 semanas de gestación.

De las 40 gestaciones múltiples incluidas en el estudio (15 en el grupo <34 y 25 en el grupo ≥34 semanas), 9 desarrollaron PE precoz mientras que 15 desarrollaron PE tardía. Las gestaciones múltiples que no fueron diagnosticadas de PE mostraron valores de sFlt-1 significativamente superiores a los de las gestaciones sencillas, en el grupo <34 [medianas: 5843 (IIC: 4083 – 9408) *versus* 1440 (IIC: 1012 – 2879) pg/mL, p=0,001] y ≥34 semanas de gestación [medianas: 7590 (IIC: 5716 – 15106) *versus* 4323 (IIC: 2944 – 6038) pg/mL; p<0,001]. Sin embargo, cuando se analizaron los

casos de PE, estas diferencias sólo se mantuvieron en el grupo de edad más tardía, con medianas de 12775 (IIC: 10710 – 21056) *versus* 8271 (IIC: 5831 – 11401) pg/mL ( $p=0,002$ ). Por otro lado, la concentración de PIGF sólo fue significativamente superior en las gestaciones múltiples respecto a las sencillas cuando se analizaron los casos de PE, ya fuese precoz [medianas: 229 (IIC: 180 – 254) *versus* 53 (IIC: 33 – 80) pg/mL;  $p<0,001$ ] o tardía [medianas: 257 (IIC: 155 – 294) *versus* 103 (IIC: 78 – 147) pg/mL;  $p<0,001$ ]. Como resultado de estas diferencias, el cociente sFlt-1/PIGF fue significativamente superior en las gestaciones no-PE múltiples respecto a las sencillas, tanto para las embarazadas <34 semanas [medianas: 4,1 (IIC: 2,0 – 9,0) *versus* 25 (IIC: 12 – 33);  $p=0,012$ ] como para las  $\geq 34$  semanas de gestación [medianas: 24 (IIC: 14 – 45) *versus* 46 (IIC: 31 – 60);  $p=0,035$ ]. Por este motivo, se repitió el análisis ROC tras excluir las gestaciones múltiples, obteniendo con el cociente sFlt-1/PIGF, AUCs de 0,928 (IC95%: 0,838 – 0,976) y 0,827 (IC95%: 0,772 – 0,873) para el diagnóstico de la PE precoz y tardía, respectivamente. Estos resultados no difirieron significativamente de los obtenidos para la población global con valores  $p$  de 0,720 y 0,846 para cada grupo de edad gestacional.

Los puntos de corte, para el cociente sFlt-1/PIGF, que mejor rendimiento diagnóstico proporcionaron fueron 23, para la PE precoz, y 45, para la PE tardía. Se comprobaron, asimismo, los rendimientos que se obtendrían en caso de aplicar otros puntos de corte sugeridos por diferentes autores y por el fabricante [114,116]. En la Tabla 7 se resume el rendimiento de los puntos de corte propuestos en este trabajo en comparación con los sugeridos por otros estudios, cuando se aplicaron a nuestra población de estudio.

**Tabla 7A. Sensibilidad, especificidad y valor predictivo de los puntos de corte propuestos para el cociente sFlt-1/PIGF en el diagnóstico de PE precoz.**

(A) Puntos de corte	<34 semanas de gestación			
	23 Valor (IC95%)	38 Valor (IC95%)	33 Valor (IC95%)	85 Valor (IC95%)
Sensibilidad (%)	94,6 (80,5 – 99,1)	78,4 (61,3 – 89,6)	83,8 (67,3 – 93,2)	64,9 (47,4 – 79,3)
Especificidad (%)	80,4 (65,6 – 90,1)	89,1 (75,6 – 95,9)	87,0 (73,0 – 94,6)	95,6 (84,0 – 99,2)
VPP (%)	79,5 (64,2 – 89,7)	85,3 (68,2 – 94,5)	83,8 (67,3 – 93,2)	92,3 (73,4 – 98,7)
VPN (%)	94,9 (81,4 – 99,1)	83,7 (69,8 – 92,2)	87,0 (73,0 – 94,6)	77,2 (63,8 – 86,8)
LR+	4,83 (2,68 – 8,73)	7,21 (3,10 – 16,8)	6,42 (3,01 – 13,7)	14,9 (3,77 – 59,1)
LR-	0,05 (0,01 – 0,19)	0,24 (0,13 – 0,45)	0,13 (0,05 – 0,27)	0,37 (0,24 – 0,57)



**Tabla 7B. Sensibilidad, especificidad y valor predictivo de los puntos de corte propuestos para el cociente sFlt-1/PIGF en el diagnóstico de PE precoz.**

Puntos de corte	≥34 semanas de gestación			
	45	38	33	110
	Valor (IC95%)	Valor (IC95%)	Valor (IC95%)	Valor (IC95%)
<b>Sensibilidad (%)</b>	77,6 (65,5 – 86,5)	85,1 (73,8 – 92,2)	88,1 (77,3 – 94,3)	31,3 (20,9 – 44,0)
<b>Especificidad (%)</b>	74,2 (67,3 – 80,1)	67,4 (60,1 – 73,9)	62,1 (54,8 – 68,9)	94,7 (90,3 – 97,3)
<b>VPP (%)</b>	51,5 (41,4 – 61,5)	47,9 (38,7 – 57,2)	45,0 (36,4 – 54,0)	67,7 (48,5 – 82,7)
<b>VPN (%)</b>	90,4 (84,4 – 94,3)	92,8 (86,7 – 96,3)	93,7 (87,5 – 97,0)	79,6 (73,7 – 84,6)
<b>LR+</b>	3,01 (2,29 – 3,96)	2,61 (2,08 – 3,27)	2,32 (1,90 – 2,84)	5,96 (2,96 – 12,0)
<b>LR-</b>	0,30 (0,19 – 0,47)	0,22 (0,12 – 0,39)	0,19 (0,10 – 0,37)	0,72 (0,62 – 0,85)

VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo, LR+: razón de probabilidad positiva, LR-: razón de probabilidad negativa.

El punto de corte de 23 para las gestantes <34 semanas de gestación generó únicamente dos falsos negativos (Tabla 8). La paciente 156 a pesar de haber sido diagnosticada de PE en la semana 27, tuvo un curso muy favorable y no se indujo el parto hasta la semana 38. La paciente 227 que mostró un valor de cociente sFlt-1/PIGF de 14, además de ser PE fue diagnosticada de CIR y tuvo un parto pretérmino.

**Tabla 8. Características de los falsos negativos obtenidos para el cociente sFlt-1/PIGF en el grupo <34 semanas de gestación.**

Nº de paciente	Edad gestacional al ingreso	Edad gestacional al parto	sFlt-1/PIGF	PE	Observaciones
156	27+0	38+5	0,9	Sí	
227	32+1	34+4	14	Sí	CIR

Por otro lado, en este grupo de edad gestacional, se obtuvieron 9 falsos positivos, 7 de los cuales experimentaron diversas complicaciones que implicaron partos pretérmino (Tabla 9). Destacaron dos casos por sus elevados valores del cociente sFlt-1/PIGF. La paciente 13, con un valor del cociente de 217, había sufrido PE en una gestación previa y, en vista del empeoramiento de la tensión arterial, se indujo el parto en la semana 34. La paciente 325, con un cociente de 188, fue un caso de HELLP con proteinuria, con inducción de parto en semana 30, pero que no llegó a desarrollar HTA, por lo que estrictamente no se pudo catalogar como PE. Los demás casos mostraron valores del cociente sFlt-1/PIGF por debajo de 75, incluyendo 3 gestaciones múltiples y 2 diagnosticadas de CIR (una de ellas, gemelar).

**Tabla 9. Características de los falsos positivos obtenidos para el cociente sFlt-1/PIGF en el grupo <34 semanas de gestación.**

Nº de paciente	Edad gestacional al ingreso	Edad gestacional al parto	sFlt-1/PIGF	PE	Observaciones
13	33+3	34+5	217	No	PE previa, empeoramiento clínico
46	31+0	31+5	33	No	Gestación múltiple
84	33+4	34+1	50	No	Gestación múltiple, FIV
160	30+4	36+3	74	No	
213	33+6	39+1	32	No	FIV
231	21+1	33+6	30	No	Gestación múltiple, FIV, CIR
267	33+6	35+4	49	No	FIV
268	33+2	37+3	23	No	CIR, DPP
325	30+3	30+4	188	No	HELLP sin HTA, FIV

Con respecto a las gestantes  $\geq 34$  semanas, el punto de corte de 45 generó 15 falsos negativos, todos ellos con curso favorable y de los cuales sólo dos tuvieron un parto pretérmino. Además, 3 de las PE fueron post-parto (Tabla 10).

**Tabla 10. Características de los falsos negativos obtenidos para el cociente sFlt-1/PIGF en el grupo  $\geq 34$  semanas de gestación.**

Nº de paciente	Edad gestacional al ingreso	Edad gestacional al parto	sFlt-1/PIGF	PE	Observaciones
8	39+3	39+6	1,0	Sí	
16	35+6	36+6	44	Sí	
44	37+6	38+3	44	Sí	PE previa
70	36+6	39+1	34	Sí	
71	39+6	40+0	32	Sí	
149	35+5	38+5	34	Sí	
170	36+6	37+6	39	Sí	Gestación múltiple, FIV
173	40+4	40+6	21	Sí	PE post-parto
187	37+6	38+4	5,4	Sí	
204	37+4	40+0	12	Sí	
224	36+0	37+0	13	Sí	PE post-parto, Gestación múltiple
258	38+5	39+0	24	Sí	PE post-parto
269	38+3	39+1	40	Sí	
295	35+5	36+3	24	Sí	Gestación múltiple, FIV
311	36+6	37+4	39	Sí	

Por otra parte, 49 gestantes que no desarrollaron PE mostraron valores del cociente sFlt-1/PIGF por encima de 45 (Tabla 11). Entre ellas, se encontraron 5 gestaciones múltiples y 2 casos de CIR. Una de las gestaciones múltiples, la paciente 288, mostró un cuadro clínico semejante al de una PE pero sin HTA, con alteración de

la función renal y proteinuria, motivo por el cual se indujo el parto en cuanto cumplió las 37 semanas. De todas ellas solamente una tuvo un parto pretérmino.

**Tabla 11. Características de los falsos positivos obtenidos para el cociente sFit-1/PIGF en el grupo  $\geq 34$  semanas de gestación.**

Nº de paciente	Edad gestacional al ingreso	Edad gestacional al parto	sFit-1/PIGF	PE	Observaciones
19	37+4	39+0	53	No	
30	40+1	40+3	54	No	
35	40+4	40+4	55	No	
38	35+0	37+3	51	No	
39	35+6	37+4	53	No	
43	40+3	40+5	48	No	
51	37+6	38+2	175	No	CIR
54	35+1	37+4	49	No	
56	36+6	38+1	191	No	
58	37+2	39+4	81	No	
59	40+1	41+4	50	No	
68	36+0	37+3	129	No	PE previa
74	36+5	36+5	100	No	PE previa
87	36+5	36+6	51	No	
88	39+1	39+1	120	No	FIV
98	39+2	40+6	71	No	
100	38+2	38+2	127	No	Gestación múltiple
111	38+0	38+0	88	No	PE previa
130	39+2	39+3	57	No	
139	37+0	37+3	87	No	
141	40+5	40+6	79	No	
151	37+6	39+6	99	No	
161	35+0	39+0	51	No	
164	39+6	40+0	152	No	
171	37+3	37+5	50	No	Gestación múltiple
175	40+1	40+2	86	No	
183	37+1	38+0	83	No	FIV
188	37+6	38+2	60	No	Gestación múltiple, FIV
191	36+6	37+5	122	No	
192	36+4	38+6	46	No	
199	38+2	39+6	45	No	
200	36+6	38+4	91	No	
201	39+4	39+5	108	No	
211	39+0	39+0	165	No	
212	38+5	41+4	168	No	
218	39+1	39+2	50	No	
223	38+0	38+3	49	No	
228	41+1	41+2	66	No	CIR
249	37+2	40+3	93	No	
254	37+5	40+3	85	No	

Tabla 11. Continuación.

Nº de paciente	Edad gestacional al ingreso	Edad gestacional al parto	sFlt-1/PIGF	PE	Observaciones
273	36+3	39+2	51	No	
288	34+6	37+0	52	No	Gestación múltiple, proteinuria con empeoramiento clínico sin HTA
306	41+2	41+3	52	No	
308	37+2	37+5	64	No	Gestación múltiple
321	35+0	38+1	61	No	
329	39+6	40+0	53	No	
331	36+1	36+3	71	No	
332	36+6	37+0	114	No	
333	39+5	40+0	81	No	

Cuando aplicamos el punto de corte de 38 a nuestra población de estudio, se obtuvo un incremento en la especificidad para la PE precoz [pasando del 80,4% (IC95%: 65,6 – 90,1) al 89,1% (IC95%: 75,6 – 95,9)], con un descenso en la sensibilidad que implicó desestimar 8 casos de PE precoz. En el caso de la PE tardía, la tendencia observada fue la inversa, de manera que el punto de corte de 38 supuso un incremento en la sensibilidad del 77,6% (IC95%: 65,5 – 86,5) al 85,1% (IC95%: 73,8 – 92,2), pero a costa de un descenso en la especificidad, que pasó del 74,2% (IC95%: 67,3 – 80,1) al 67,4% (IC95%: 60,1 – 73,9), lo que supuso la detección de 62 falsos positivos. Los puntos de corte para ayuda al diagnóstico de PE (85 para la precoz, 110 para la tardía) permitieron alcanzar una especificidad en torno al 95%, con caídas en la sensibilidad al 65 y 31% en la PE precoz y tardía, respectivamente. Un 32,6% de las gestantes (el 13,3% de las <34 y el 38,9% de las ≥34 semanas) se situaron en la zona gris generada por estos puntos de corte (Tabla 7).

Como se ha descrito anteriormente, la comparación entre el cociente sFlt-1/PIGF y el ácido úrico no permitió observar diferencias estadísticamente significativas en cuanto a rendimientos diagnósticos (Figura 7). Sin embargo, no fue posible encontrar un punto de corte único para el ácido úrico con un rendimiento comparable al del cociente sFlt-1/PIGF. En la Tabla 12 se muestran los puntos de corte para el ácido úrico que lograrían bien una especificidad o una sensibilidad semejantes a las del cociente sFlt-1/PIGF.

**Tabla 12. Comparación entre los puntos de corte propuestos para el cociente sFlt-1/PIGF y el ácido úrico en el diagnóstico de PE precoz (A) y tardía (B).**

<b>(A) &lt;34 semanas de gestación</b>				
<b>Puntos de corte</b>	<b>sFlt-1/PIGF</b>	<b>Ácido úrico (mg/dL)</b>		
	<b>23</b>	<b>5,7</b>	<b>3,8</b>	<b>4,5</b>
	<b>Valor (IC95%)</b>	<b>Valor (IC95%)</b>	<b>Valor (IC95%)</b>	<b>Valor (IC95%)</b>
<b>Sensibilidad (%)</b>	94,6 (80,5 – 99,1)	62,2 (44,8 – 77,1)	94,6 (80,5 – 99,1)	78,4 (61,3 – 89,6)
<b>Especificidad (%)</b>	80,4 (65,6 – 90,1)	95,7 (84,0 – 99,2)	74,0 (58,6 – 85,2)	80,4 (65,6 – 90,1)
<b>(B) ≥34 semanas de gestación</b>				
<b>Puntos de corte</b>	<b>sFlt-1/PIGF</b>	<b>Ácido úrico (mg/dL)</b>		
	<b>45</b>	<b>5,7</b>	<b>4,7</b>	<b>5,1</b>
	<b>Valor (IC95%)</b>	<b>Valor (IC95%)</b>	<b>Valor (IC95%)</b>	<b>Valor (IC95%)</b>
<b>Sensibilidad (%)</b>	77,6 (65,5 – 86,5)	49,3 (37,0 – 61,6)	76,1 (63,9 – 85,3)	67,2 (54,5 – 77,9)
<b>Especificidad (%)</b>	74,2 (67,3 – 80,1)	85,3 (79,2 – 89,8)	62,1 (54,8 – 68,9)	74,2 (67,3 – 80,1)

### **1.2.3. NT-proBNP**

La determinación de NT-proBNP se realizó en 339 gestantes, puesto que una de las muestras (perteneciente a una gestante  $\geq 34$  semanas que no desarrolló PE) presentó un volumen insuficiente. Las concentraciones de NT-proBNP fueron significativamente superiores en el grupo de PE frente a las no-PE, tanto para las gestantes  $< 34$  [169 (IIC: 94 – 507) frente a 34 (IIC: 22 – 71) pg/mL;  $p < 0,001$ ] como para las  $\geq 34$  semanas [102 (IIC: 56 – 184) frente a 49 (IIC: 27 – 92) pg/mL;  $p < 0,001$ ] (Figura 8). Además, las medianas del NT-proBNP en las gestantes que desarrollaron PE precoz fueron significativamente superiores a las de aquéllas con PE tardía ( $p = 0,022$ ). De hecho, mientras que el 37,8% de las gestantes con PE precoz mostraron niveles de NT-proBNP superiores a 300 pg/mL, la proporción se redujo al 13,4% en el grupo de las PE tardías ( $p = 0,004$ ).

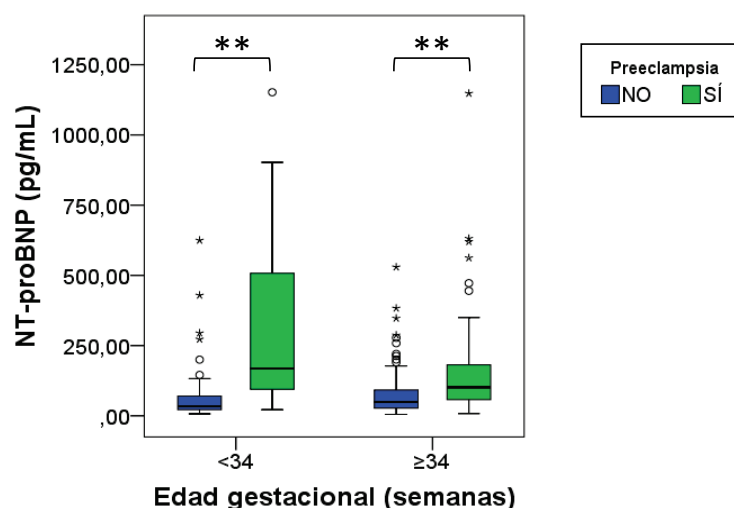


Figura 8. Concentración de NT-proBNP en gestantes no-PE y PE precoz y tardía. \*\*  $p < 0,001$ .

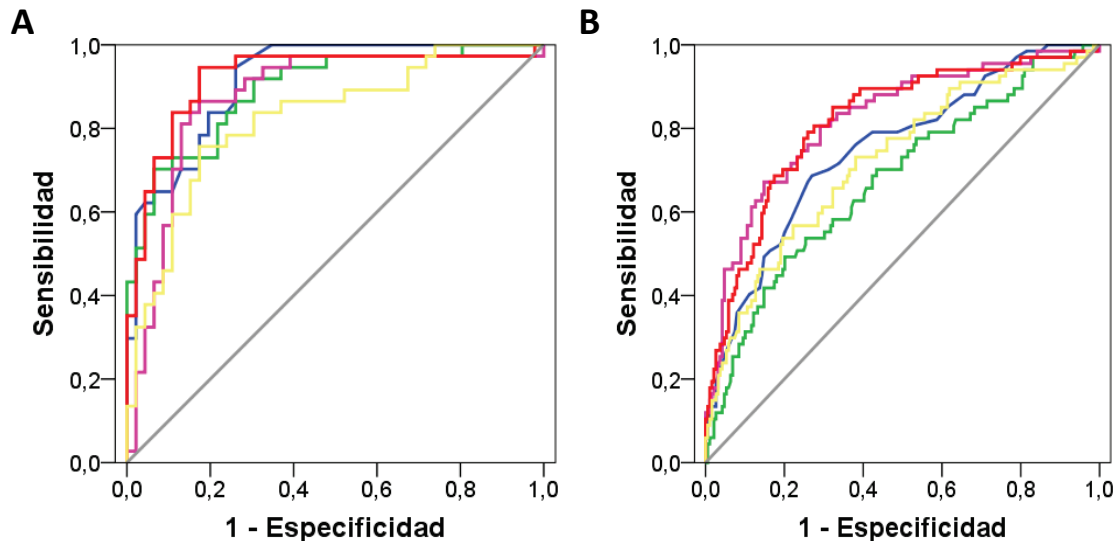
El NT-proBNP, con un AUC en el análisis ROC de 0,757 (IC95%: 0,708 – 0,802) ofreció un rendimiento semejante al del ácido úrico y al PIGF en el diagnóstico de PE (con independencia de la edad gestacional), pero ligeramente inferior al del sFlt-1 y al cociente sFlt-1/PIGF ( $p < 0,05$ ). Al estratificar por edad gestacional, sólo el cociente sFlt-1/PIGF superó al NT-proBNP en el diagnóstico de PE precoz ( $p = 0,038$ ), sin que se encontraran cambios adicionales en el diagnóstico de PE tardía (Figura 9).

El punto de corte óptimo para el NT-proBNP fue de 70 pg/mL para el diagnóstico de la PE precoz y tardía, con respectivas sensibilidades y especificidades de 78,4% (IC95%: 61,3 – 89,6) y 73,9% (IC95%: 58,6 – 85,2) para el grupo <34 semanas y de 70,1% (IC95%: 57,6 – 80,4) y 62,4 (IC95%: 55,1 – 69,3), para el grupo  $\geq 34$  semanas de gestación (Tabla 13).

Tabla 13. Sensibilidad, especificidad y valor predictivo de los puntos de corte propuestos para el NT-proBNP en el diagnóstico de PE precoz y tardía.

Punto de corte = 70 pg/mL	<34 semanas de gestación Valor (IC95%)	$\geq 34$ semanas de gestación Valor (IC95%)
Sensibilidad (%)	78,4 (61,3 – 89,6)	70,1 (57,6 – 80,4)
Especificidad (%)	73,9 (58,6 – 85,2)	62,4 (55,1 – 69,3)
VPP (%)	70,7 (54,3 – 83,4)	39,8 (31,1 – 49,3)
VPN (%)	81,0 (65,4 – 91,0)	85,5 (78,3 – 90,7)
LR+	3,00 (1,80 – 5,03)	1,87 (1,47 – 2,38)
LR-	0,29 (0,16 – 0,55)	0,48 (0,33 – 0,69)

Se indican los valores y, entre paréntesis, IC95%.



Edad gestacional	Variables analíticas	AUC	Valor p	IC95%		Valor p comparación AUC <sup>(1)</sup>
				Límite inferior	Límite superior	
<34 semanas	Ácido úrico	0,918	<0,001	0,862	0,975	0,676
	PIGF	0,901	<0,001	0,835	0,967	0,188
	sFit-1	0,884	<0,001	0,803	0,965	0,141
	sFit-1/PIGF	0,933	<0,001	0,872	0,994	–
	NT-proBNP	0,832	<0,001	0,742	0,922	0,038
≥34 semanas	Ácido úrico	0,749	<0,001	0,680	0,817	0,046
	PIGF	0,678	<0,001	0,602	0,755	0,001
	sFit-1	0,820	<0,001	0,759	0,881	–
	sFit-1/PIGF	0,818	<0,001	0,757	0,879	0,927
	NT-proBNP	0,723	<0,001	0,650	0,796	0,022

Figura 9. Curvas ROC para el diagnóstico de PE precoz (A) y tardía (B) utilizando el marcador clásico ácido úrico, los reguladores de la angiogénesis (PIGF, sFit-1 y cociente sFit-1/PIGF) y el NT-proBNP.

<sup>(1)</sup> Resultados de la comparación de las AUCs de los diferentes marcadores respecto al de mayor AUC, en este caso, el cociente sFit-1/PIGF en las <34 y el sFit-1 en las ≥34 semanas de gestación.

En el grupo <34 semanas, 8 gestantes que desarrollaron PE mostraron valores de NT-proBNP por debajo del corte propuesto (Tabla 14). Entre ellas, se incluyeron las dos gestantes que habían sido falsos negativos para el cociente sFit-1/PIGF (pacientes 156 y 227), y 6 casos adicionales de PE precoz que requirieron inducción del parto antes de la semana 35, siendo uno de ellos un CIR.

**Tabla 14. Características de los falsos negativos obtenidos para el NT-proBNP en el grupo <34 semanas de gestación.**

Nº de paciente	Edad gestacional al ingreso	Edad gestacional al parto	NT-proBNP (pg/mL)	PE	Observaciones
31	33+3	35+4	42	Sí	PE previa
41	32+3	33+6	62	Sí	
96	33+1	34+1	23	Sí	
124	32+6	34+4	32	Sí	CIR
156 <sup>(1)</sup>	27+0	38+5	24	Sí	
227 <sup>(1)</sup>	32+1	34+4	22	Sí	CIR
253	29+0	34+3	50	Sí	Gestación múltiple, FIV
280	20+5	24+5	25	Sí	

<sup>(1)</sup> Casos que habían resultado falsos negativos para el cociente sFlt-1/PIGF.

Además, se detectaron 12 falsos positivos (Tabla 15), de los que destacaron cuatro con valores de NT-proBNP superiores a 200 pg/mL, que además también habían sido falsos positivos para el cociente sFlt-1/PIGF y que sufrieron diversas complicaciones obstétricas. Entre ellas se encontraron los dos casos previamente mencionados: el de la gestante a la que se indujo el parto por antecedentes de PE previa y empeoramiento de tensión arterial (paciente 13) y el caso de HELLP sin HTA (paciente 325). El tercero de los casos correspondió a una gestante con un NT-proBNP de 295 pg/mL, que no llegó a desarrollar proteinuria pero sí HTA grave y disminución importante de plaquetas, que exigieron la inducción del parto en semana 34 (paciente 84). El último de los casos fue el de una gestante que mostró un valor de NT-proBNP de 625 pg/mL (con un cociente sFlt-1/PIGF límite de 23), que además de ser un CIR sufrió un DPP (paciente 268).

**Tabla 15. Características de los falsos positivos obtenidos para el NT-proBNP en el grupo <34 semanas de gestación.**

Nº de paciente	Edad gestacional al ingreso	Edad gestacional al parto	NT-proBNP (pg/mL)	PE	Observaciones
11	32+3	38+2	109	No	
13 <sup>(1)</sup>	33+3	34+5	273	No	PE previa, empeoramiento clínico
46 <sup>(1)</sup>	31+0	31+5	200	No	Gestación múltiple
84 <sup>(1)</sup>	33+4	34+1	295	No	Gestación múltiple, FIV
99	26+1	37+2	88	No	
132	33+5	39+6	81	No	
140	21+2	40+6	145	No	
213 <sup>(1)</sup>	33+6	39+1	76	No	FIV
222	21+1	41+0	132	No	
267 <sup>(1)</sup>	33+6	35+4	71	No	FIV
268 <sup>(1)</sup>	33+2	37+3	625	No	CIR, DPP
325 <sup>(1)</sup>	30+3	30+4	429	No	HELLP sin HTA, FIV

<sup>(1)</sup> Casos que habían resultado falsos positivos para el cociente sFlt-1/PIGF.



El rendimiento fue menor en el caso de las gestantes más tardías, entre las que, con el punto de corte de 70 pg/mL para el NT-proBNP se encontraron 20 falsos negativos y 72 falsos positivos. De los falsos negativos solamente 5 fueron partos pretérmino y 2 casos fueron PE post-parto (Tabla 16).

**Tabla 16. Características de los falsos negativos obtenidos para el NT-proBNP en el grupo  $\geq 34$  semanas de gestación.**

Nº de paciente	Edad gestacional al ingreso	Edad gestacional al parto	NT-proBNP (pg/mL)	PE	Observaciones
8 <sup>(1)</sup>	39+3	39+6	38	Sí	
23	34+4	35+5	56	Sí	Gestación múltiple, FIV
40	39+6	40+4	39	Sí	
44 <sup>(1)</sup>	37+6	38+3	16	Sí	PE previa
48	34+5	35+0	39	Sí	CIR
70 <sup>(1)</sup>	36+6	39+1	14	Sí	
137	35+0	35+2	8	Sí	
142	36+2	38+1	59	Sí	
146	34+0	34+5	66	Sí	Gestación múltiple, FIV
187 <sup>(1)</sup>	37+6	38+4	44	Sí	
206	36+6	36+6	37	Sí	CIR
224 <sup>(1)</sup>	36+0	37+0	68	Sí	PE post-parto, Gestación múltiple
235	36+2	37+5	41	Sí	
247	36+4	37+1	47	Sí	Gestación múltiple
255	37+0	37+2	10	Sí	
258 <sup>(1)</sup>	38+5	39+0	28	Sí	PE post-parto
261	36+0	37+0	54	Sí	Gestación múltiple, FIV
269 <sup>(1)</sup>	38+3	39+1	27	Sí	
298	38+6	39+1	47	Sí	
324	35+5	35+5	47	Sí	

<sup>(1)</sup> Casos que habían resultado falsos negativos para el cociente sFlt-1/PlGF.

Por otro lado, de entre los falsos positivos, se observaron cuatro valores atípicos de NT-proBNP (entre 287 y 530 pg/mL) (Tabla 17). De nuevo encontramos el caso previamente mencionado con proteinuria sin HTA (paciente 288), con un valor de NT-proBNP de 383 pg/mL.

**Tabla 17. Características de los falsos positivos obtenidos para el NT-proBNP en el grupo  $\geq 34$  semanas de gestación.**

Nº de paciente	Edad gestacional al ingreso	Edad gestacional al parto	NT-proBNP (pg/mL)	PE	Observaciones
5	36+3	38+3	149	No	
9	38+6	39+3	75	No	
15	38+4	39+1	89	No	
19 <sup>(1)</sup>	37+4	39+0	530	No	
34	35+2	39+2	89	No	
38 <sup>(1)</sup>	35+0	37+3	175	No	
39 <sup>(1)</sup>	35+6	37+4	156	No	
56 <sup>(1)</sup>	36+6	38+1	78	No	
57	38+1	40+3	110	No	
58 <sup>(1)</sup>	37+2	39+4	84	No	
72	37+4	40+4	96	No	
88 <sup>(1)</sup>	39+1	39+1	201	No	FIV
89	40+2	40+2	79	No	PE previa
98 <sup>(1)</sup>	39+2	40+6	111	No	
100 <sup>(1)</sup>	38+2	38+2	74	No	Gestación múltiple
102	40+0	40+1	152	No	
104	35+6	40+3	78	No	
105	36+4	36+5	91	No	
107	37+5	40+1	111	No	
111 <sup>(1)</sup>	38+0	38+0	221	No	PE previa
115	37+0	37+4	149	No	FIV
116	35+2	36+2	83	No	Gestación múltiple, FIV
117	35+5	37+3	171	No	Gestación múltiple
118	39+5	40+1	98	No	
126	39+4	40+1	78	No	
128	39+3	41+0	93	No	
148	38+6	38+6	278	No	
155	37+2	38+0	92	No	
157	36+0	39+0	101	No	
158	34+5	39+1	94	No	
175 <sup>(1)</sup>	40+1	40+2	103	No	
178	38+1	38+3	94	No	
179	39+6	40+0	98	No	
183 <sup>(1)</sup>	37+1	38+0	71	No	FIV
185	34+5	38+0	93	No	Gestación múltiple
188 <sup>(1)</sup>	37+6	38+2	153	No	Gestación múltiple, FIV
189	39+6	39+6	213	No	
199 <sup>(1)</sup>	38+2	39+6	110	No	
200 <sup>(1)</sup>	36+6	38+4	169	No	
201 <sup>(1)</sup>	39+4	39+5	347	No	
202	39+4	40+1	259	No	
212 <sup>(1)</sup>	38+5	41+4	118	No	
217	37+5	39+6	93	No	

**Tabla 17. Continuación**

Nº de paciente	Edad gestacional al ingreso	Edad gestacional al parto	NT-proBNP (pg/mL)	PE	Observaciones
219	37+2	38+2	98	No	
223 <sup>(1)</sup>	38+0	38+3	84	No	
228 <sup>(1)</sup>	41+1	41+2	89	No	CIR
233	40+1	40+3	191	No	
236	39+5	41+0	127	No	
237	38+1	38+3	135	No	
239	34+1	37+0	86	No	FIV
244	38+0	38+1	71	No	
249 <sup>(1)</sup>	37+2	40+3	86	No	
250	40+0	40+1	92	No	
262	37+4	37+6	83	No	CIR
265	37+3	39+1	97	No	Gestación múltiple
273 <sup>(1)</sup>	36+3	39+2	111	No	
288 <sup>(1)</sup>	34+6	37+0	383	No	Gestación múltiple, proteinuria con empeoramiento clínico sin HTA
296	38+6	39+1	112	No	
306 <sup>(1)</sup>	41+2	41+3	172	No	
307	36+1	40+1	79	No	
308 <sup>(1)</sup>	37+2	37+5	157	No	Gestación múltiple
309	40+3	40+4	92	No	
323	36+6	38+1	287	No	
328	34+4	38+1	171	No	
329 <sup>(1)</sup>	39+6	40+0	134	No	
331 <sup>(1)</sup>	36+1	36+3	112	No	
333 <sup>(1)</sup>	39+5	40+0	116	No	
334	36+1	40+2	84	No	
336	36+6	37+1	125	No	
338	34+6	35+4	75	No	
339	37+4	40+1	178	No	

<sup>(1)</sup> Casos que habían resultado falsos positivos para el cociente sFlt-1/PIGF.

El punto de corte propuesto para el NT-proBNP mostró menor sensibilidad y especificidad que las indicadas para el cociente sFlt-1/PIGF en el diagnóstico de la PE precoz y tardía. En la Tabla 18 se muestran los puntos de corte que deberían seleccionarse para obtener, bien una sensibilidad o bien una especificidad comparable a la del balance anti- / pro-angiogénico.

Tabla 18. Comparación entre los puntos de corte propuestos para el cociente sFlt-1/PIGF y el NT-proBNP en el diagnóstico de PE precoz (A) y tardía (B).

(A) <34 semanas de gestación				
Puntos de corte	sFlt-1/PIGF	NT-proBNP (pg/mL)		
	23 Valor (IC95%)	70 Valor (IC95%)	24 Valor (IC95%)	84 Valor (IC95%)
Sensibilidad (%)	94,6 (80,5 – 99,1)	78,4 (61,3 – 89,6)	94,6 (80,5 – 99,1)	75,7 (58,4 – 87,6)
Especificidad (%)	80,4 (65,6 – 90,1)	73,9 (58,6 – 85,2)	32,7 (20,0 – 48,1)	80,4 (65,6 – 90,1)
(B) ≥34 semanas de gestación				
Puntos de corte	sFlt-1/PIGF	NT-proBNP (pg/mL)		
	45 Valor (IC95%)	70 Valor (IC95%)	53 Valor (IC95%)	91 Valor (IC95%)
Sensibilidad (%)	77,6 (65,5 – 86,5)	70,1 (57,6 – 80,4)	77,6 (65,5 – 86,5)	56,7 (44,1 – 68,6)
Especificidad (%)	74,2 (67,3 – 80,1)	62,4 (55,1 – 69,3)	54,0 (47,0 – 61,2)	73,5 (66,6 – 79,6)

#### 1.2.4. Análisis multivariante

Una vez evaluada la asociación de PE con cada uno de los marcadores de forma individual (marcadores clásicos, reguladores de la angiogénesis y NT-proBNP), se buscaron posibles asociaciones bivariadas entre ellos para seleccionar los que deberían incluirse en el análisis multivariante y detectar posibles interacciones o factores de confusión.

Se demostró una correlación estadísticamente significativa entre los marcadores angiogénicos y clásicos ( $p < 0,001$ ) aunque los coeficientes de correlación fueron inferiores a 0,65. De forma semejante, el NT-proBNP mostró una correlación estadísticamente significativa con todos los marcadores salvo con la ALT ( $p = 0,274$ ), pero con coeficientes que no superaron un valor de 0,51 (Tabla 19).

Tabla 19. Coeficientes de correlación entre los marcadores clásicos, reguladores de la angiogénesis y NT-proBNP.

		ALT	Ácido úrico	PIGF	sFlt-1	sFlt-1 /PIGF	NT-proBNP
AST	Coefficiente	0,735	0,334	-0,234	0,379	0,391	0,238
	Valor p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ALT	Coefficiente		0,194	-0,180	0,127	0,186	0,060
	Valor p		<0,001	0,001	0,019	0,001	0,274
Ácido úrico	Coefficiente			-0,385	0,654	0,627	0,415
	Valor p			<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
PIGF	Coefficiente				-0,454	-0,801	-0,282
	Valor p				<0,001	<0,001	<0,001
sFlt-1	Coefficiente					0,875	0,514
	Valor p					<0,001	<0,001
sFlt-1 /PIGF	Coefficiente						0,485
	Valor p						<0,001

En la construcción del modelo multivariante para la predicción de PE se incluyeron variables clínicas y variables analíticas. Para ello, en primer lugar se realizó un análisis univariante, comprobando la asociación de cada una de las variables con el desarrollo de PE. De entre las variables analíticas, se seleccionaron el ácido úrico como marcador clásico y el cociente sFit-1/PIGF como marcador regulador de la angiogénesis por ser, en cada grupo, los que ofrecieron mejor rendimiento. Se probaron las variables analíticas categorizadas de acuerdo con los puntos de corte descritos anteriormente: 5,7 mg/dL para el ácido úrico (límite superior de referencia), 23 o 45 para el ratio sFit-1/PIGF, según la edad gestacional (propuesto tras el análisis ROC) y 70 pg/mL para el NT-proBNP (propuesto tras el análisis ROC). Las variables edad materna, HTA crónica, diabetes, nuliparidad, PE previa, IMC y semana de extracción no fueron significativas en el modelo univariante, por lo que no se incluyeron en el modelo multivariante. Por otro lado, las variables FIV, gestación múltiple y CIR sólo resultaron significativas en el grupo  $\geq 34$  semanas de gestación (Tabla 20).

**Tabla 20A. Modelo de regresión logística univariante para el diagnóstico de la PE precoz.**

(A) Variable	PE precoz	
	OR (IC95%)	Valor p
<b>Ácido úrico &gt;5,7 mg/dL</b>	36 (7,6 – 173)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Cociente sFit-1/PIGF &gt;23</b>	72 (15 – 356)	<b>&lt;0,001</b>
<b>NT-proBNP &gt;70 pg/mL</b>	10 (3,7 – 29)	<b>&lt;0,001</b>
Edad materna	0,99 (0,91 – 1,1)	0,715
HTA crónica	1,3 (0,38 – 4,4)	0,683
Diabetes	0,29 (0,074 – 1,1)	0,074
Nuliparidad	0,98 (0,36 – 2,7)	0,965
PE previa	0,60 (0,10 – 3,5)	0,568
IMC	1,0 (0,96 – 1,1)	0,448
FIV	0,49 (0,12 – 2,1)	0,330
Gestación múltiple	2,1 (0,69 – 6,7)	0,190
CIR	1,9 (0,55 – 6,6)	0,305
Edad gestacional al ingreso	1,1 (0,97 – 1,2)	0,143

*Los valores p estadísticamente significativos se indican en negrita.*

Tabla 20B. Modelo de regresión logística univariante para el diagnóstico de la PE tardía.

(B) Variable	PE tardía	
	OR (IC95%)	Valor p
Ácido úrico >5,7 mg/dL	5,6 (3,0 – 10)	<b>&lt;0,001</b>
Cociente sFlt-1/PIGF >45	10 (5,1 – 19)	<b>&lt;0,001</b>
NT-proBNP >70 pg/mL	3,9 (2,1 – 7,1)	<b>&lt;0,001</b>
Edad materna	1,0 (0,97 – 1,1)	0,378
HTA crónica	0,55 (0,15 – 2,0)	0,346
Diabetes	0,57 (0,23 – 1,4)	0,235
Nuliparidad	1,8 (0,84 – 4,0)	0,130
PE previa	0,70 (0,15 – 3,4)	0,657
IMC	0,99 (0,94 – 1,0)	0,609
FIV	5,7 (2,1 – 15)	<b>&lt;0,001</b>
Gestación múltiple	5,2 (2,2 -12)	<b>&lt;0,001</b>
CIR	7,3 (1,8 – 29)	<b>0,005</b>
Edad gestacional al ingreso	0,87 (0,74 – 1,0)	0,066

Los valores p estadísticamente significativos se indican en negrita.

Finalmente se realizó el análisis multivariante incluyendo las variables que habían resultado significativas en el modelo univariante. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 21.

Tabla 21. Modelo de regresión logística multivariante para el diagnóstico de la PE precoz (A) y tardía (B) utilizando los parámetros bioquímicos como variables categóricas.

(A) Variable	PE precoz	
	OR ajustado (IC95%)	Valor p
Cociente sFlt-1/PIGF >23	35 (6,6 – 185)	<0,001
Ácido úrico >5,7 mg/dL	11 (1,8 – 64)	0,010
(B) Variable	PE tardía	
	OR ajustado (IC95%)	Valor p
Cociente sFlt-1/PIGF >45	6,4 (3,1 – 13)	<0,001
Ácido úrico >5,7 mg/dL	2,3 (1,1 – 4,7)	0,032
NT-proBNP >70 pg/mL	2,1 (1,1 – 4,3)	0,035
FIV x Gestación múltiple	9,3 (1,8 – 48)	0,008

En resumen, tanto el cociente sFlt-1/PIGF como el ácido úrico mostraron asociación con el desarrollo de PE precoz (con respectivos OR de 35 y 11) y, en menor medida, con la PE tardía (con respectivos OR de 6,4 y 2,3). Por otra parte, el NT-proBNP sólo demostró asociación con la PE tardía, con OR de 2,1. Además, se detectó una interacción estadísticamente significativa entre las variables FIV y gestación múltiple para las gestantes  $\geq 34$  semanas de gestación ( $p=0,008$ ). Por ello, se repitió el análisis estratificando a la población según se tratara de gestaciones sencillas ( $n=232$ ) o múltiples ( $n=25$ ), para evaluar la contribución de la FIV en cada

caso. En el caso de las gestaciones sencillas la FIV no demostró asociación con la PE tardía (hubo 6 casos de FIV, de los cuales 1 desarrolló PE), sin embargo, ésta fue la única variable predictora de PE tardía en las gestaciones múltiples (de 13 casos de FIV 11 desarrollaron PE; mientras que de las 11 concepciones naturales sólo 1 fue PE).

Dado que el cociente sFlt-1/PIGF es un marcador cuyo uso en los laboratorios clínicos es aún limitado, repetimos el modelo en ausencia de esta variable, obteniendo los resultados indicados en la Tabla 22.

**Tabla 22. Modelo de regresión logística multivariante para el diagnóstico de la PE precoz (A) y tardía (B) en ausencia del cociente sFlt-1/PIGF.**

<b>(A) PE precoz</b>		
<b>Variable</b>	<b>OR ajustado (IC95%)</b>	<b>Valor p</b>
Ácido úrico >5,7 mg/dL	20 (4,0 – 102)	<0,001
NT-proBNP >70 pg/mL	4,6 (1,4 – 15)	0,012
<b>(B) PE tardía</b>		
<b>Variable</b>	<b>OR ajustado (IC95%)</b>	<b>Valor p</b>
Ácido úrico >5,7 mg/dL	3,5 (1,8 – 7,0)	<0,001
NT-proBNP >70 pg/mL	2,8 (1,5 – 5,4)	0,002
CIR	4,8 (1,1 – 21)	0,040
FIV x Gestación múltiple	12 (2,3 – 67)	0,004

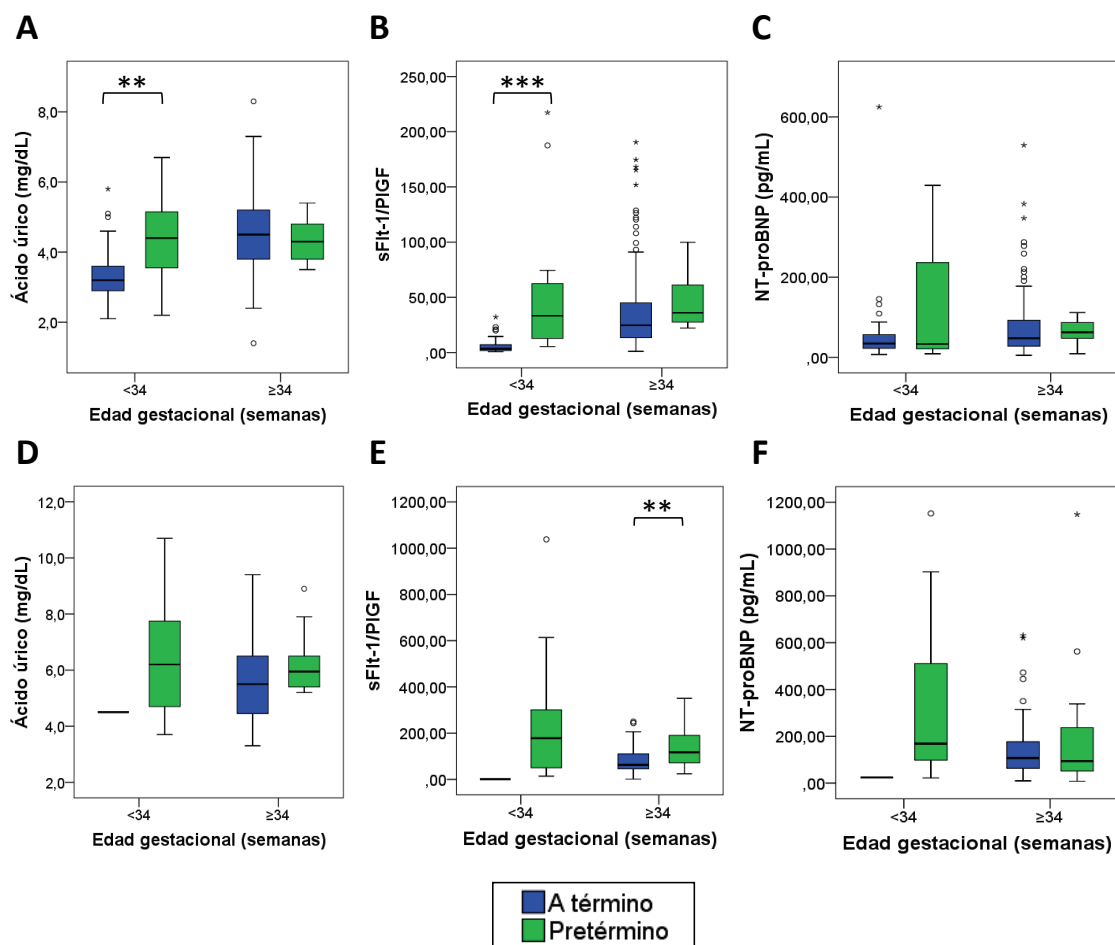
En este caso, el NT-proBNP sí demostró asociación tanto con la PE precoz como tardía, con OR de 4,6 (IC95%: 1,4 – 15) y 2,8 (IC95%: 1,5 – 5,4), respectivamente; aunque en ambos casos esta asociación fue menor a la mostrada por el ácido úrico. Además, en ausencia del sFlt-1/PIGF, el CIR fue un predictor a considerar en el desarrollo de PE tardía.

### **1.3. Variables analíticas en el pronóstico de complicaciones obstétricas**

#### **1.3.1. Predicción de parto inminente**

De entre las gestantes que no desarrollaron PE, 11 fueron partos pretérmino en el grupo que ingresó antes de las 34 semanas de gestación y 8 en las gestantes que ingresaron posteriormente. En el grupo más precoz, las gestaciones no-PE con parto pretérmino *versus* a término, mostraron valores significativamente más elevados de ácido úrico [medianas: 4,4 (IIC: 3,3 – 5,5) *versus* 3,2 (IIC: 2,9 – 3,6) mg/dL; p=0,016] y del cociente sFlt-1/PIGF [medianas: 33 (IIC: 12 – 74) *versus* 3,4 (IIC: 1,7 – 7,7); p<0,001], pero no de NT-proBNP [mediana: 33 (IIC: 16 – 273) *versus* 35 (IIC: 22 – 65) pg/mL; p=0,576]. Las medianas del cociente sFlt-1/PIGF y del NT-proBNP también

fueron superiores en los partos pretérmino respecto a los que fueron a término en el grupo de gestantes más tardías, pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Figura 10A-C). Por otra parte, sólo una de las gestantes que desarrollaron PE precoz tuvo un parto a término, siendo precisamente uno de los falsos negativos para el cociente sFlt-1/PIGF (Tabla 8, paciente 156). Finalmente, 16 de las 67 gestantes que desarrollaron PE tardía, tuvieron un parto pretérmino y mostraron valores del cociente sFlt-1/PIGF significativamente superiores a los de las PE a término [medianas: 117 (IIC: 72 – 191) *versus* 63 (IIC: 45 – 113);  $p=0,018$ ], sin diferencias estadísticamente significativas para el resto de marcadores (Figura 10D-F).



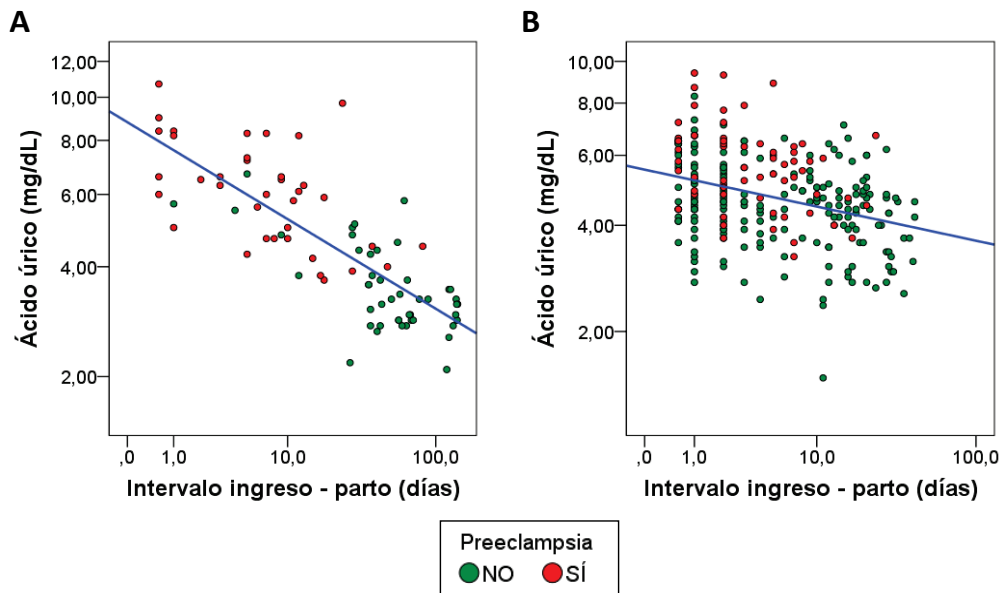
**Figura 10.** Valores de ácido úrico, cociente sFlt-1/PIGF y NT-proBNP en gestaciones con partos a término o pretérmino en casos no-PE (A, B, C) y PE (D, E, F). \*\*  $p<0,05$ ; \*\*\*  $p<0,001$ .

Por otra parte, se encontró una asociación estadísticamente significativa entre los tres marcadores (ácido úrico, cociente sFlt-1/PIGF y NT-proBNP) y el tiempo transcurrido desde que la gestante mostró los primeros síntomas de la PE (desarrollara la enfermedad o no) hasta el parto.



Ácido úrico.

La asociación entre el tiempo transcurrido hasta el parto y los niveles de ácido úrico fue significativa independientemente de la edad gestacional ( $p < 0,001$ ), aunque ésta fue más fuerte para el grupo  $< 34$  semanas ( $r = -0,786$ ) que para las  $\geq 34$  semanas de gestación ( $r = -0,323$ ) (Figura 11).



**Figura 11. Correlación entre la concentración de ácido úrico y el tiempo transcurrido entre el ingreso y el parto en gestantes  $< 34$  (A) y  $\geq 34$  semanas de gestación (B).**

Además, la concentración de ácido úrico fue significativamente superior en las gestantes en las que el parto se produjo en las dos primeras semanas tras el ingreso en Urgencias que en aquéllas en las que tuvo lugar posteriormente, con independencia de la edad gestacional ( $p < 0,05$ ). En las gestantes  $< 34$  semanas los niveles también fueron diferentes entre las que tuvieron el parto en la primera o en la segunda semana post-ingreso ( $p = 0,029$ ) (Figura 12).

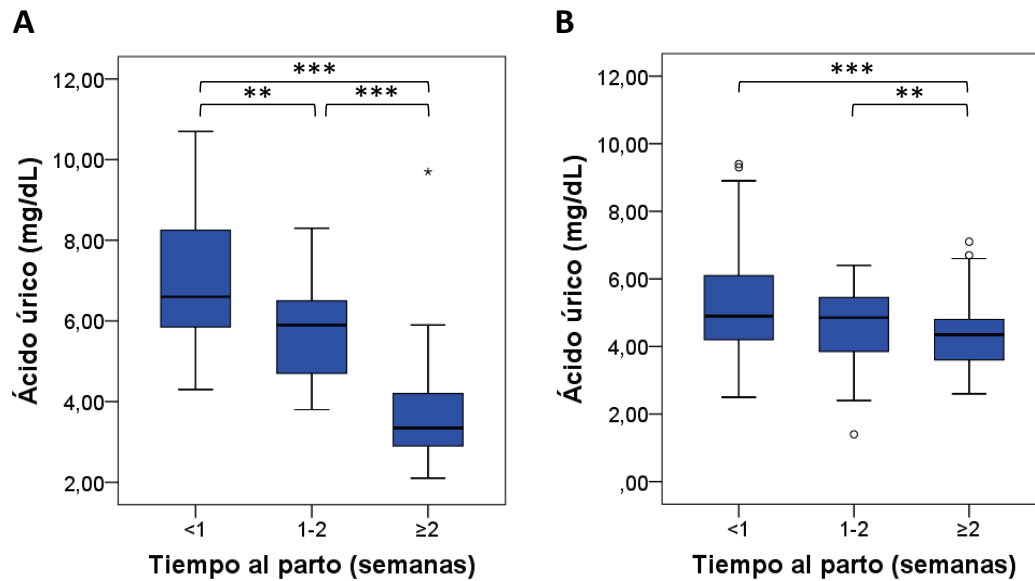


Figura 12. Concentración de ácido úrico en gestantes <34 (A) y ≥34 (B) en las que se produce el parto en la primera, la segunda o posteriores semanas tras el ingreso en urgencias. \*\*  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

#### Cociente sFit-1/PIGF.

Asimismo, se demostró una correlación negativa entre el valor del cociente sFit-1/PIGF y el tiempo transcurrido entre el ingreso y el parto ( $p < 0,001$ ), con coeficientes de correlación  $r$  de  $-0,798$  y  $-0,346$  para las gestantes <34 y ≥34 semanas de gestación, respectivamente (Figura 13).

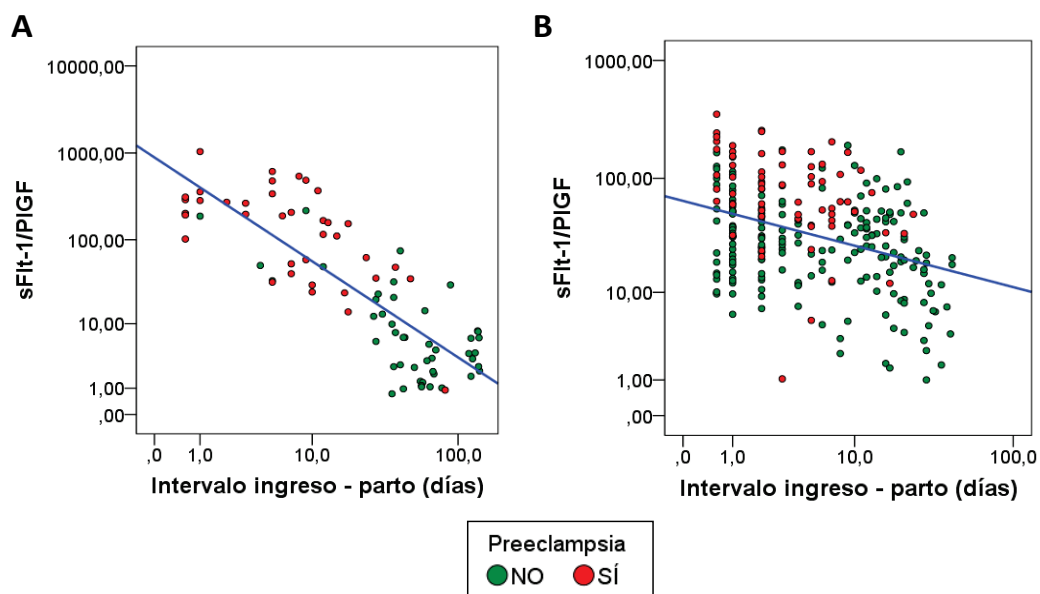
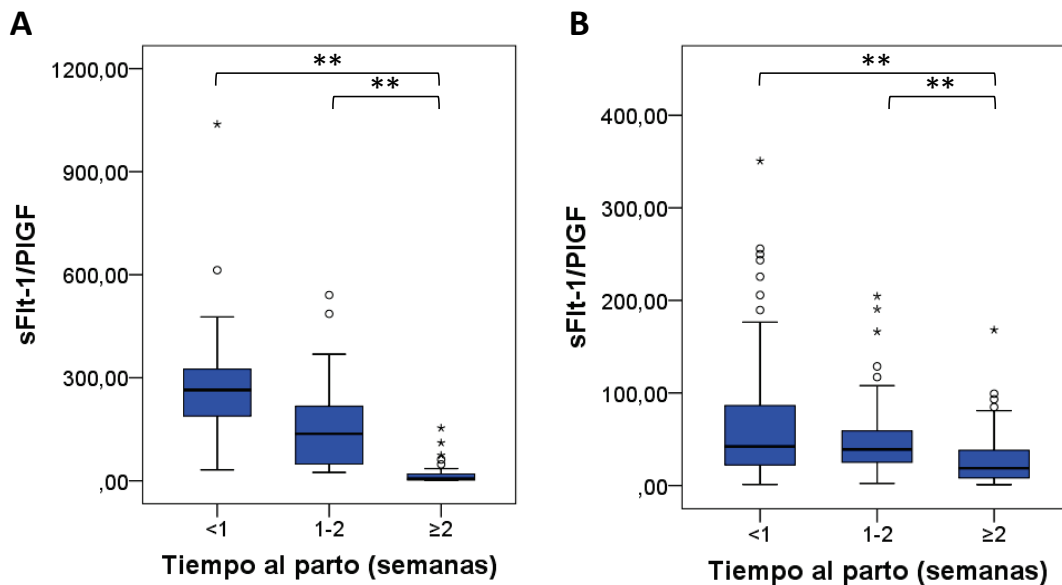


Figura 13. Correlación entre el valor del cociente sFit-1/PIGF y el tiempo transcurrido entre el ingreso y el parto en gestantes <34 (A) y ≥34 semanas de gestación (B).

Los valores del cociente sFit-1/PIGF fueron significativamente superiores en las gestantes con partos en las dos primeras semanas tras el ingreso que en aquellas en las que se produjo con posterioridad, tanto para las <34 [medianas: 198 (IIC: 59 – 311) *versus* 6 (IIC: 2 – 20);  $p < 0,001$ ] como para las  $\geq 34$  semanas de gestación [medianas: 40 (IIC: 23 – 81) *versus* 19 (IIC: 8 – 38);  $p < 0,001$ ] (Figura 14).



**Figura 14. Cociente sFit-1/PIGF en gestantes <34 (A) y  $\geq 34$  (B) en las que se produce el parto en la primera, la segunda o posteriores semanas tras el ingreso en urgencias. \*\*  $p < 0,001$ .**

#### NT-proBNP.

Al igual que con los otros marcadores, el grado de asociación entre el NT-proBNP y el tiempo transcurrido entre el ingreso y el parto fue mayor en las gestantes con edad gestacional inferior a las 34 semanas ( $r = -0,719$ ) que en las más tardías ( $r = -0,159$ ) (Figura 15).

En las gestantes <34 semanas, la concentración de NT-proBNP fue diferente dependiendo de si el parto se produjo en la primera semana tras el ingreso [mediana: 432 pg/mL (IIC: 229 – 605)], en la segunda [mediana: 133 pg/mL (IIC: 71 – 209)] o posteriormente [mediana: 32 pg/mL (IIC: 22 – 65)] ( $p < 0,001$ ). En las gestaciones más tardías, los niveles de NT-proBNP fueron significativamente superiores cuando el parto se produjo en las 2 primeras semanas respecto a las posteriores [medianas: 67 (IIC: 38 – 126) *versus* 45 (23 – 91) pg/mL;  $p = 0,003$ ] (Figura 16).

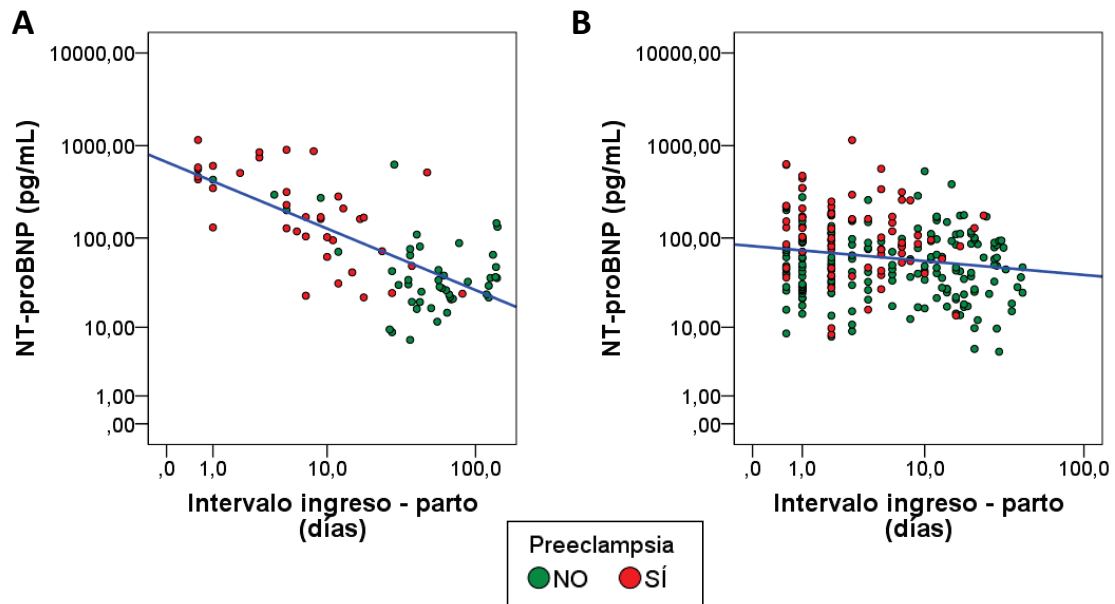


Figura 15. Correlación entre la concentración de NT-proBNP y el tiempo transcurrido entre el ingreso y el parto en gestantes <34 (A) y ≥34 semanas de gestación (B).

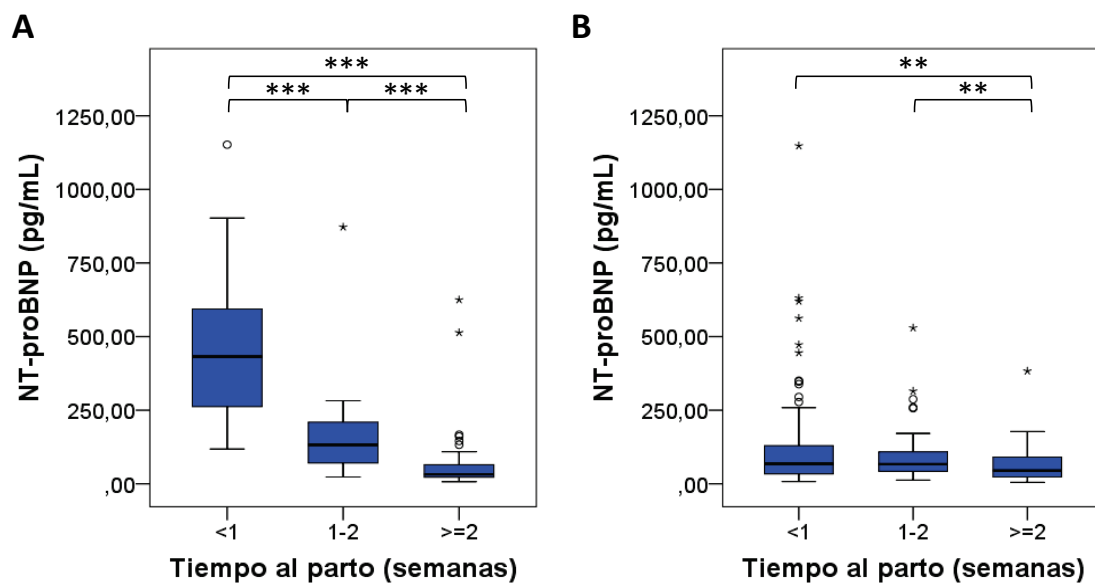


Figura 16. Concentración de NT-proBNP en gestantes <34 (A) y ≥34 (B) en las que se produce el parto en la primera, la segunda o posteriores semanas tras el ingreso en urgencias. \*\* p<0,05; \*\*\* p<0,001.

### 1.3.2. Predicción de desenlace adverso

Finalmente, se evaluó la capacidad de los marcadores en el pronóstico de desenlace adverso, entendido éste como parto inminente en la primera semana tras el ingreso en Urgencias, muerte fetal o muerte neonatal temprana. De entre las

gestantes <34 semanas (n=83), 21 tuvieron un desenlace adverso (en 19 gestantes el parto se produjo en la primera semana y además hubo 3 muertes fetales y 1 muerte neonatal temprana); mientras que en las ≥34 semanas (n=257) fueron 149 las gestantes con desenlace adverso (todas ellas por parto en la primera semana).

Tras el análisis ROC, en el grupo <34 semanas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las AUCs obtenidas para el ácido úrico [0,898 (IC95%: 0,832 – 0,964)], el sFit-1 [0,896 (IC95%: 0,857 – 0,965)], el cociente sFit-1/PIGF [0,944 (IC95%: 0,895 – 0,994)] y el NT-proBNP [0,944 (IC95%: 0,896 – 0,991)] (p>0,05) (Figura 17A). En el grupo ≥34 semanas las AUCs de todos los marcadores fueron menores, sin diferencias estadísticamente significativas entre el ácido úrico, el PIGF, el sFit-1 y el cociente sFit-1/PIGF, que mostraron valores de AUC por debajo de 0,650 en todos los casos (Figura 17B).

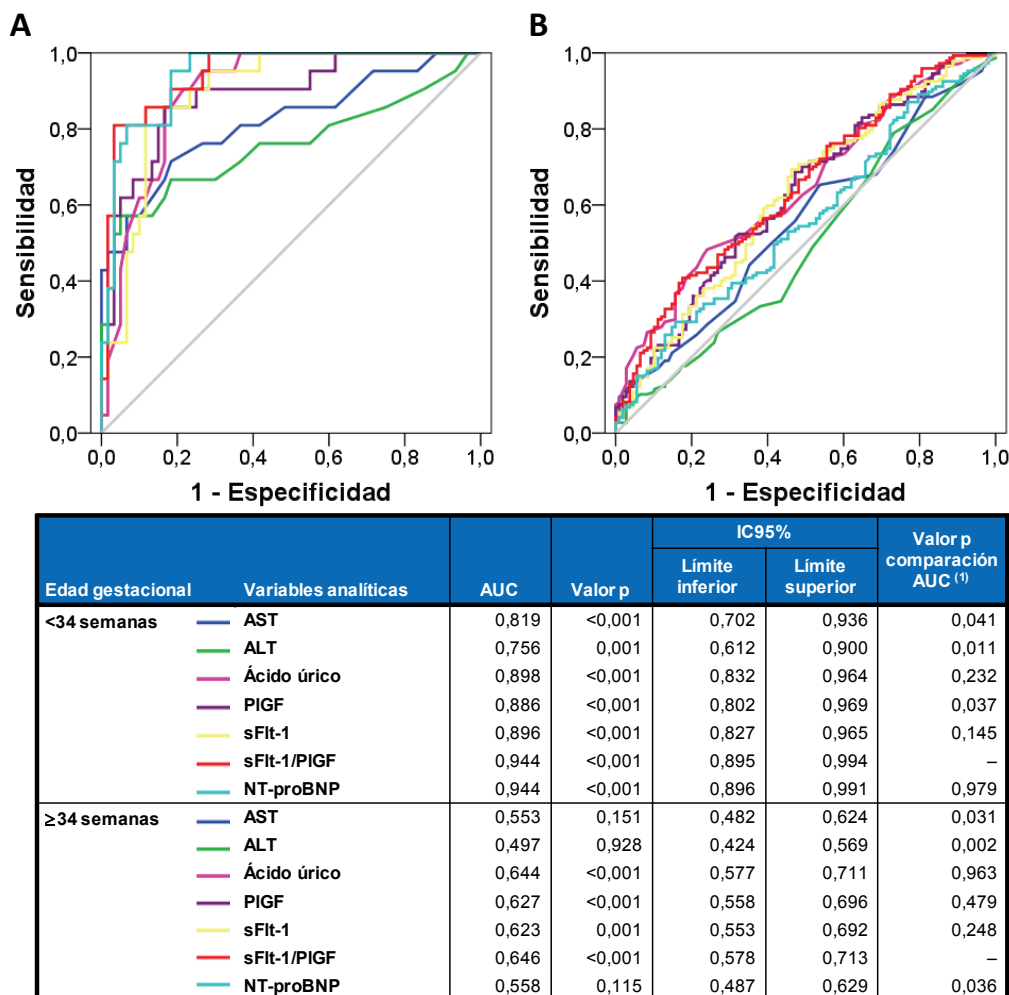


Figura 17. Curvas ROC para el pronóstico de desenlace adverso en gestantes <34 (A) y ≥34 semanas de gestación (B) utilizando los marcadores clásicos (AST, ALT y ácido úrico), reguladores de la angiogénesis (PIGF, sFit-1 y sFit-1/PIGF) y NT-proBNP.

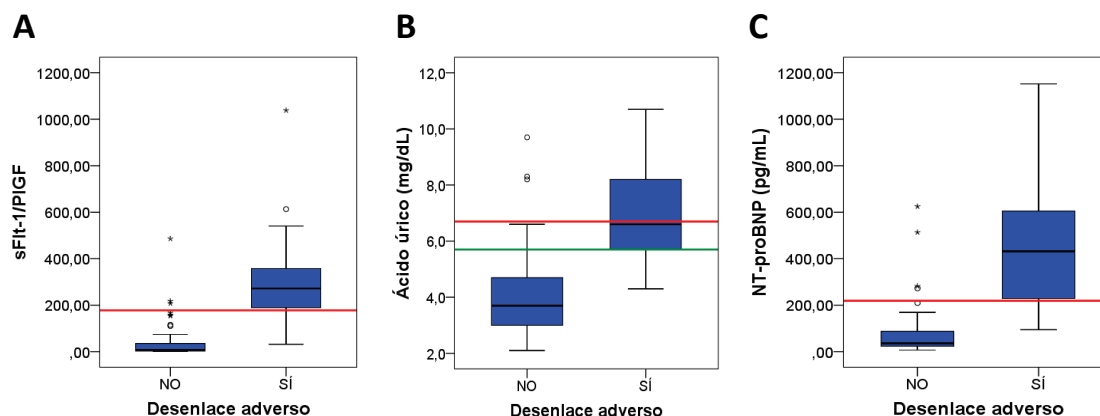
<sup>(1)</sup> Resultados de la comparación de las AUCs de los diferentes marcadores respecto al de mayor AUC, en este caso, el cociente sFit-1/PIGF.

A partir del análisis ROC, se seleccionaron los puntos de corte que permitieron identificar a aquellas gestantes <34 semanas que tendrían un desenlace adverso, tratando de lograr la máxima especificidad posible con una sensibilidad aceptable.

El mejor resultado se obtuvo para el cociente sFlt-1/PIGF, de modo que un valor por encima de 178 permitió identificar a las gestantes que tuvieron un desenlace adverso con una sensibilidad del 81,0% (IC95%: 57,4 – 93,7) y una especificidad del 95,2% (IC95%: 85,6 – 98,7) (Figura 18A). Sólo tres gestantes que no tuvieron desenlace adverso mostraron un valor de sFlt-1/PIGF superior al punto de corte: un síndrome de HELLP (cociente de 486), el caso 13 previamente comentado (cociente de 217, Tabla 9) y una PE grave (cociente de 208). En todas ellas, el parto se produjo más allá de una semana post-ingreso (días 10, 10 y 8 respectivamente) aunque en todos los casos fue un parto muy prematuro (semanas 31, 34 y 35, respectivamente).

En el caso del ácido úrico, un punto de corte de 6,7 mg/dL logró la misma especificidad que el cociente sFlt-1/PIGF [95,2% (IC95%: 85,6 – 98,7)], pero con una sensibilidad tan solo del 38,1% (IC95%: 19,0 – 61,3). El límite superior de referencia de 5,7 mg/dL mejoró la sensibilidad [71,4% (IC95%: 47,7 – 87,8)], aunque se alejó del objetivo de alcanzar la máxima especificidad posible, que en este caso se situó en el 83,9% (IC95%: 71,9 – 91,6) (Figura 18B).

Para el NT-proBNP, el punto de corte óptimo fue de 219 pg/mL, con una especificidad del 93,6% (IC95%: 83,5 – 97,9) y una sensibilidad del 76,2% (IC95%: 52,5 – 90,9) (Figura 18C). En total, fueron 4 las gestantes con un valor de NT-proBNP por encima del corte pero que no tuvieron un desenlace adverso. Destacaron el caso 268 comentado anteriormente, con un CIR y DPP con parto a término (NT-proBNP de 625 pg/mL, Tabla 15) y el de una gestación de inicio gemelar con muerte del primer gemelo por CIR previa al ingreso en Urgencias (NT-proBNP de 514 pg/mL). Con valores de NT-proBNP más moderados encontramos una gestante con NT-proBNP de 282 pg/mL en la que se produjo un parto prematuro a los 9 días del ingreso (semana 31) por PE grave, y finalmente, de nuevo el caso 13 con NT-proBNP de 273 pg/mL (Tabla 15).



**Figura 18.** Valores del cociente sFit-1/PIGF (A), ácido úrico (B) y NT-proBNP (C) en gestantes <34 semanas de gestación que tuvieron o no un desenlace adverso. Las líneas rojas indican los puntos de corte con la máxima especificidad, la línea verde indica el punto de corte para el ácido úrico con especificidad y sensibilidad aceptables.

Se realizó un análisis multivariante probando el ácido úrico, el cociente sFit-1/PIGF y el NT-proBNP como variables predictoras de desenlace adverso, utilizando los puntos de corte propuestos. Sólo el cociente sFit-1/PIGF y el NT-proBNP fueron mostraron asociación con el desarrollo de desenlace adverso (OR de 26 y 24, respectivamente), ya que el ácido úrico no alcanzó la significación estadística ( $p=0,054$ ).

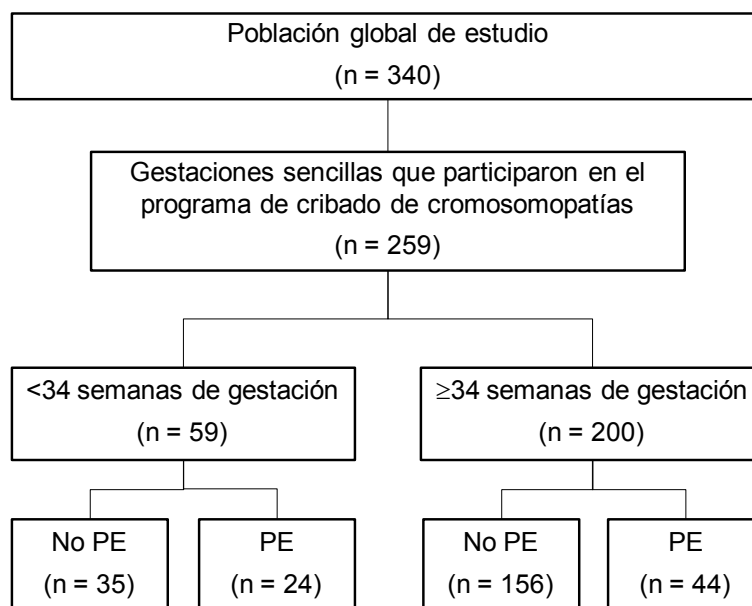
**Tabla 23.** Modelo de regresión logística multivariante para la predicción de desenlace adverso en gestantes <34 semanas de gestación.

	OR ajustado (IC95%)	Valor p
Cociente sFit-1/PIGF <178	26 (3,8 – 178)	0,001
NT-proBNP >219 pg/mL	24 (3,3 – 171)	0,002

## 2. Marcadores de cribado de PE en primer trimestre

### 2.1. Características de la población

De las 340 gestantes incluidas en el estudio global, 290 habían participado en el programa de cribado de cromosopatías. Tras excluir 31 embarazos múltiples, fueron 259 las gestantes incluidas en esta parte del estudio. De ellas 59 acudieron a Urgencias por sospecha de PE antes de las 34 semanas de gestación, mientras que 200 presentaron la sintomatología a una edad gestacional posterior. Finalmente, 24 gestantes desarrollaron PE precoz y 44 desarrollaron PE tardía (40,7% y 22,0% en cada grupo de edad gestacional, respectivamente) (Figura 19).



**Figura 19. Población de estudio para el análisis de marcadores de primer trimestre en el cribado de PE.**

La edad gestacional a la que se realizó el cribado de cromosomopatías fue ligeramente más precoz en las gestantes que desarrollaron PE frente a las que no las desarrollaron en el grupo <34 semanas, con medianas de 10+3 (IIC: 9+6 – 10+4) *versus* 10+5 (IIC: 10+2 – 11+1) ( $p=0,044$ ), sin diferencias estadísticamente significativas en las gestantes que presentaron los síntomas posteriormente, con respectivas medianas de 10+4 (IIC: 10+2 – 11+0) *versus* 10+4 (IIC: 10+2 – 11+1) ( $p=0,518$ ), respectivamente.

En la Tabla 24 se indican las comorbilidades y complicaciones obstétricas que presentaron las gestantes, a parte del desarrollo de PE. Ninguna de las gestantes fue portadora de feto con aneuploidías.

**Tabla 24. Comorbilidad y complicaciones obstétricas de las gestantes incluidas en el estudio.**

	<34 semanas de gestación			≥34 semanas de gestación		
	No-PE	PE	Valor p	No-PE	PE	Valor p
<b>n</b>	35	24		156	44	
<b>Diabetes, n</b>	7 (20,0%)	2 (8,3%)	0,295	23 (14,7%)	5 (11,4%)	0,568
<b>HTA crónica, n</b>	4 (11,4%)	5 (20,8%)	0,464	15 (9,6%)	3 (6,82%)	0,768
<b>PE previa, n</b>	4 (11,4%)	2 (8,3%)	1,000	7 (4,49%)	2 (4,55%)	1,000
<b>CIR, n</b>	4 (11,4%)	4 (16,7%)	0,704	3 (1,92%)	5 (11,4%)	<b>0,014</b>
<b>Parto pretérmino, n</b>	5 (14,3%)	23 (95,8%)	<b>&lt;0,001</b>	6 (3,85%)	9 (20,5%)	<b>0,001</b>

Los valores p estadísticamente significativos se resaltan en negrita.



## 2.2. $\beta$ hCG y PAPP-A en el cribado de PE

Las gestantes que desarrollaron PE mostraron resultados de MoM para la  $\beta$ hCG semejantes a los de aquellas que no desarrollaron la enfermedad, tanto en las que acudieron a Urgencias antes de las 34 semanas [0,99 (IIC: 0,69 – 1,47) *versus* 0,96 (0,60 – 1,16) MoM;  $p=0,490$ ] como en las que acudieron posteriormente [0,99 (IIC: 0,63 – 1,35) *versus* 0,92 (IIC: 0,59 – 1,45) MoM;  $p=0,771$ ]. En el caso de la PAPP-A, se encontraron niveles significativamente inferiores en las gestantes que desarrollaron PE precoz frente a las que no desarrollaron la enfermedad, con medianas de 0,58 (IIC: 0,35 – 0,92) y 0,80 (IIC: 0,53 – 1,32) MoM, respectivamente ( $p=0,014$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias en las gestaciones más tardías, con valores de PAPP-A de 0,83 (IIC: 0,55 – 1,23) MoM para la PE tardía, y de 0,80 (IIC: 0,55 – 1,26) MoM en los casos de no-PE ( $p=0,985$ ) (Figura 20).

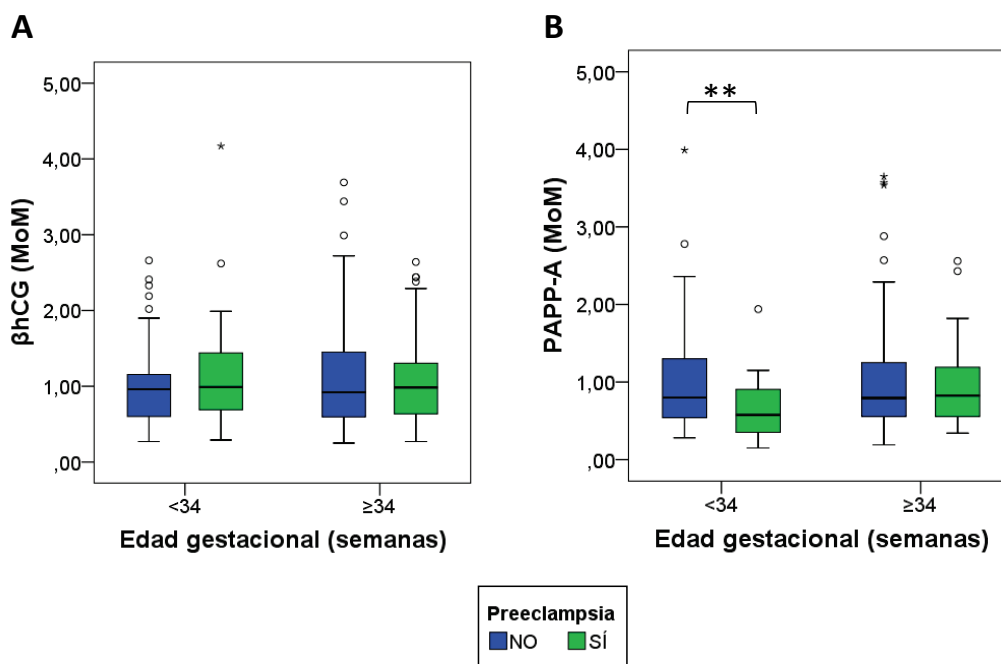


Figura 20. Valores de  $\beta$ hCG (A) y de PAPP-A (B) en el primer trimestre de gestación en gestantes que posteriormente desarrollaron PE frente a las que no la desarrollaron, para edad gestacional <34 y  $\geq 34$  semanas. \*\*  $p<0,05$ .

Para evaluar la capacidad diagnóstica de la PAPP-A en la detección de la PE precoz, se realizó un análisis ROC, obteniendo un AUC de 0,680 (IC95%: 0,542 – 0,819). No fue posible localizar un punto de corte adecuado para la PAPP-A que permitiera identificar el desarrollo de PE precoz con la máxima sensibilidad posible y especificidad aceptable.

El análisis de regresión múltiple corroboró los hallazgos previos, de modo que la  $\beta$ hCG no mostró asociación con la PE (valores p de 0,481 y 0,951 para PE precoz y tardía, respectivamente); mientras que la disminución de cada 0,2 MoM de la PAPP-A incrementó la probabilidad de desarrollar PE precoz con OR de 1,2 (IC95%: 1,0 – 1,3) ( $p=0,018$ ). De las variables clínicas y demográficas relativas a la gestante y conocidas en el primer trimestre edad materna, nuliparidad, PE previa, HTA crónica, diabetes o FIV, ninguna mostró asociación con la PE en el análisis de regresión logística.

### 3. Deficiencia de vitamina D y PE

#### 3.1. Características de la población

Un total de 257 gestantes fueron incluidas en esta parte del trabajo, de las cuales 142 contaban con muestras obtenidas en el primer trimestre de gestación. Se clasificaron en dos grupos en función de la edad gestacional al ingreso en  $<34$  (mediana: 31 semanas; IIC: 27 – 32) y  $\geq 34$  semanas de gestación (mediana: 37 semanas; IIC: 36 – 39), con una incidencia de PE más elevada en el grupo más precoz (40,3% frente al 25,1%;  $p=0,025$ ) (Figura 21).

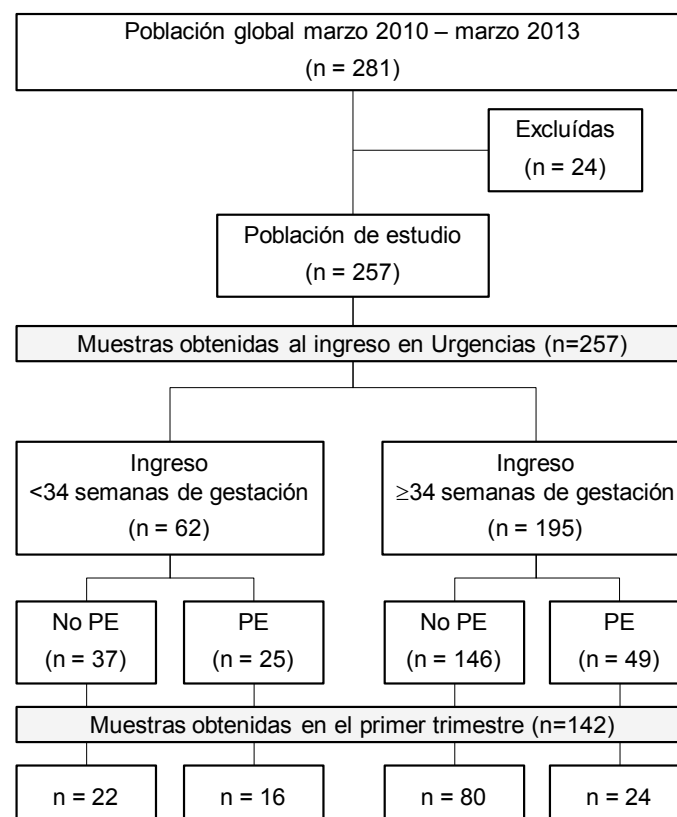


Figura 21. Población de estudio para el análisis de la relación entre vitamina D y PE.

Las características clínicas y demográficas de este subgrupo fueron semejantes a las indicadas previamente para la población global (Tabla 24).

**Tabla 25. Características clínicas y demográficas de la población de estudio para el análisis de la relación entre PE y vitamina D.**

	<34 semanas de gestación			≥34 semanas de gestación		
	No-PE	PE	Valor p	No-PE	PE	Valor p
<b>n</b>	37 (59,7%)	25 (40,3%)		146 (74,9%)	49 (25,1%)	
<b>Edad materna (años)</b>	33 (31 – 36)	33 (28 – 38)	0,818	33 (31 – 37)	35 (31 – 37)	0,425
<b>Edad gestacional 1<sup>er</sup> trimestre, semanas<sup>+días</sup></b>	10 <sup>+5</sup> (10 <sup>+2</sup> – 11 <sup>+1</sup> )	10 <sup>+3</sup> (9 <sup>+6</sup> – 11 <sup>+4</sup> )	0,124	10 <sup>+5</sup> (10 <sup>+2</sup> – 11 <sup>+1</sup> )	10 <sup>+4</sup> (10 <sup>+2</sup> – 11 <sup>+0</sup> )	0,816
<b>Edad gestacional al ingreso, semanas<sup>+días</sup></b>	31 <sup>+0</sup> (26 <sup>+3</sup> – 32 <sup>+5</sup> )	31 <sup>+5</sup> (27 <sup>+4</sup> – 33 <sup>+3</sup> )	0,438	37 <sup>+5</sup> (36 <sup>+4</sup> – 39 <sup>+2</sup> )	37 <sup>+2</sup> (36 <sup>+0</sup> – 38 <sup>+6</sup> )	0,182
<b>Edad gestacional al parto, semanas<sup>+días</sup></b>	38 <sup>+2</sup> (36 <sup>+1</sup> – 40 <sup>+2</sup> )	33 <sup>+6</sup> (30 <sup>+4</sup> – 34 <sup>+4</sup> )	<b>&lt;0,001</b>	39 <sup>+2</sup> (38 <sup>+2</sup> – 40 <sup>+2</sup> )	38 <sup>+0</sup> (36 <sup>+6</sup> – 39 <sup>+2</sup> )	<b>&lt;0,001</b>
<b>Diabetes, n</b>	7 (18,9%)	1 (4,0%)	0,128	23 (15,8%)	5 (10,2%)	0,480
<b>HTA crónica, n</b>	6 (16%)	5 (20,0%)	0,744	10 (6,8%)	1 (2,0%)	0,297
<b>IRC, n</b>	0 (0%)	2 (8,0%)	0,159	0 (0%)	0 (0%)	-
<b>Nuliparidad, n</b>	27 (73,0%)	18 (72,0%)	1,000	114 (78,1%)	44 (89,8%)	0,092
<b>PE previa, n</b>	3 (8,1%)	2 (8,0%)	1,000	7 (4,8%)	1 (2,0%)	0,682
<b>FIV, n</b>	5 (13,5%)	2 (8,0%)	0,691	7 (4,8%)	9 (18,4%)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Gestación múltiple, n</b>	6 (16,2%)	7 (28,0%)	0,344	7 (4,8%)	12 (24,5%)	<b>&lt;0,001</b>
<b>CIR, n</b>	2 (5,4%)	4 (16,0%)	0,210	3 (2,1%)	6 (12,2%)	<b>0,009</b>

Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje) o mediana (IIC). Los valores p estadísticamente significativos se resaltan en negra.

### 3.2. Vitamina D y PE

Las gestantes que desarrollaron PE mostraron niveles de 25(OH)D al ingreso más bajos que las que no desarrollaron la enfermedad [medianas: 14,1 (IIC: 8,4 – 18,0) frente a 15,9 (IIC: 10,2 – 23,2) ng/mL; p=0,027], aunque no se encontraron diferencias en la concentración de 25(OH)D en el primer trimestre de gestación [medianas: 14,4 (IIC: 11,1 – 18,4) frente a 13,7 (IIC: 9,5 – 18,1) ng/mL; p=0,384] (Figura 22).

La prevalencia de la deficiencia de vitamina D fue del 85,9% en el primer trimestre y del 78,6% al ingreso. La incidencia de PE fue semejante en las gestantes con y sin deficiencia de vitamina D en el primer trimestre (27,8% *versus* 30,0%, respectivamente; p=0,844); mientras que se encontró una mayor incidencia de la enfermedad en las gestantes que presentaron deficiencia de vitamina D en el momento del ingreso que en las que no tenían dicha deficiencia (33,2% *versus* 12,7%, respectivamente; p=0,002) (Figura 23).

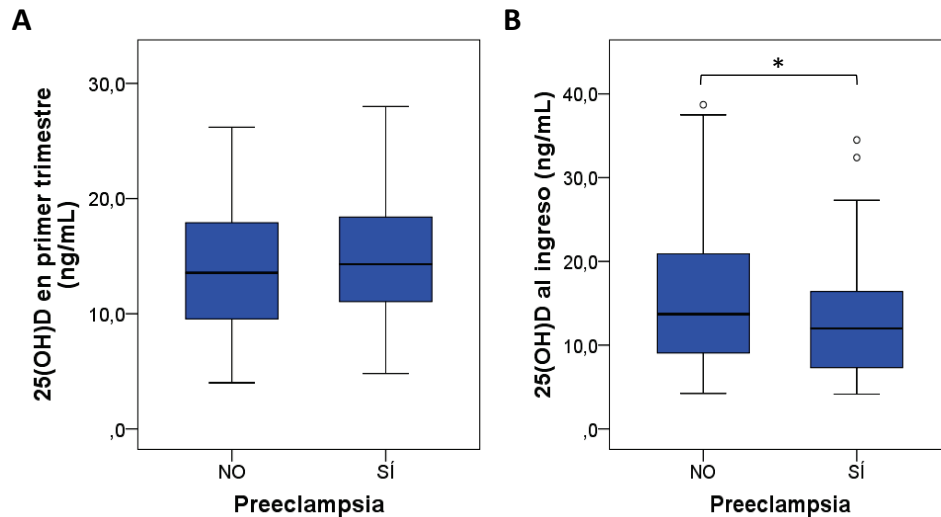


Figura 22. Concentración de 25(OH)D en el primer trimestre (A) y el ingreso en Urgencias (B) en gestantes que desarrollan o no PE. \*  $p < 0,05$ .

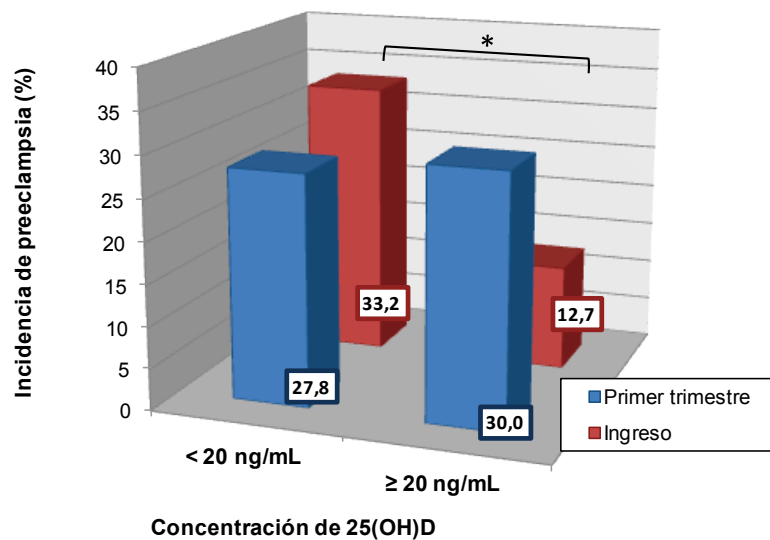


Figura 23. Incidencia de PE en gestantes con y sin deficiencia en vitamina D en el primer trimestre de gestación y al ingreso en Urgencias. \*  $p < 0,01$ .

Al estratificar por edad gestacional no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de 25(OH)D entre los grupos no-PE y PE. Sin embargo sí se encontró una incidencia de PE tardía superior en las gestantes con deficiencia frente a las gestantes sin deficiencia de vitamina D en el momento del ingreso (28,8% frente a 13,5%;  $p = 0,027$ ) (Tabla 26).

Tabla 26. Vitamina D en gestantes no-PE y PE.

	<34 semanas de gestación			≥34 semanas de gestación		
	No-PE	PE	Valor p	No-PE	PE	Valor p
25(OH)D en primer trimestre, ng/mL	12,0 (8,5 – 18,6)	12,6 (9,4 – 18,6)	0,062	14,0 (9,9 – 17,9)	16,2 (11,7 – 18,4)	0,118
25(OH)D al ingreso, ng/mL	12,9 (7,5 – 19,1)	14,0 (8,9 – 17,0)	0,819	16,4 (10,8 – 23,6)	14,9 (8,4 – 18,2)	0,272
Deficiencia de vitamina D en primer trimestre	81,8% (18/22)	81,3% (13/16)	1,000	87,5% (70/80)	87,5% (21/24)	1,000
Deficiencia de vitamina D al ingreso	70,3% (26/37)	92,0% (23/25)	0,057	74,7% (109/146)	89,8% (44/49)	<b>0,026</b>

La concentración de 25(OH)D se expresa como mediana (IIC) y la deficiencia de vitamina D como porcentaje (fracción). Los valores p estadísticamente significativos se resaltan en negrita.

Las gestantes que desarrollaron PE mostraron un descenso en la concentración de 25(OH)D entre el primer trimestre y el ingreso en Urgencias (medianas de -1,8 y -1,9 ng/mL para <34 y ≥34 semanas de gestación, respectivamente), en contraste con el incremento observado en las que no desarrollaron la enfermedad (medianas de 1,5 y 3,5 ng/mL para <34 y ≥34 semanas de gestación, respectivamente). Sin embargo, la variación en los niveles de 25(OH)D entre gestantes no-PE y PE sólo fue estadísticamente significativa para las ≥34 semanas de gestación (p=0,024) (Figura 24).

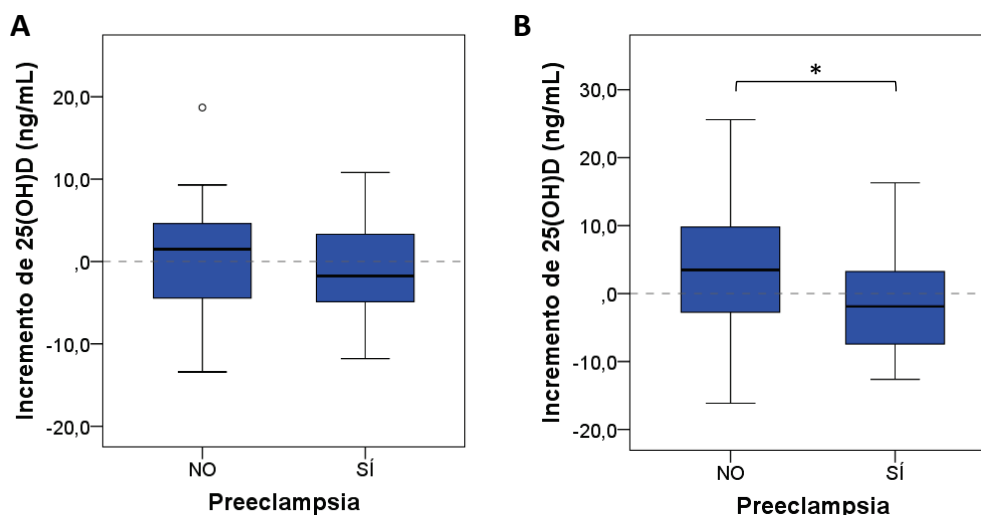


Figura 24. Cambio cuantitativo en la concentración de 25(OH)D entre el primer trimestre y el momento del ingreso en gestantes no-PE y PE que presentaron los síntomas antes de las 34 semanas (A) o posteriormente (B). \*, p<0,05.

### 3.3. Análisis multivariante

No se encontró asociación entre los niveles de 25(OH)D y cualquiera de los otros marcadores bioquímicos de PE (AST, ALT, ácido úrico, PIGF, sFlt-1, cociente sFlt-1/PIGF y NT-proBNP), ni en el primer trimestre ni en la presentación clínica (Tabla 27).

**Tabla 27. Coeficientes de correlación entre la 25(OH)D en el primer trimestre y al ingreso y el resto de marcadores.**

		AST	ALT	Ácido úrico	PIGF	sFlt-1	sFlt-1 /PIGF	NT-proBNP
25(OH)D 1 <sup>er</sup> trimestre	Coeficiente	0,12	0,14	0,02	-0,07	-0,04	0,02	-0,06
	Valor p	0,173	0,104	0,792	0,390	0,624	0,783	0,469
25(OH)D al ingreso	Coeficiente	0,061	0,087	0,057	0,056	0,005	-0,024	-0,004
	Valor p	0,234	0,172	0,374	0,378	0,936	0,709	0,952

Se realizó una regresión logística para cada una de las variables analíticas y clínicas de forma individual, para seleccionar aquellas que estuvieran relacionadas con el desarrollo de PE (Tabla 28).

**Tabla 28A. Modelo de regresión logística univariante para la predicción de PE precoz incluyendo la variable de deficiencia de vitamina D.**

(A) Variable	PE precoz	
	OR (IC95%)	Valor p
Ácido úrico >5,7 mg/dL	19 (3,7 – 96)	<b>&lt;0,001</b>
Cociente sFlt-1/PIGF >23	49 (9,3 – 260)	<b>&lt;0,001</b>
NT-proBNP >70 pg/mL	6,9 (2,2 – 22)	<b>0,001</b>
25(OH)D <20 ng/mL en 1 <sup>er</sup> trimestre	0,96 (0,18 – 5,1)	0,964
25(OH)D <20 ng/mL al ingreso	4,9 (0,98 – 24)	0,054
Edad materna	0,98 (0,89 – 1,1)	0,670
HTA crónica	0,77 (0,21 – 2,9)	0,702
Diabetes	0,18 (0,021 – 1,6)	0,119
Nuliparidad	0,95 (0,31 – 3,0)	0,933
PE previa	0,99 (0,15 – 6,4)	0,988
IMC	1,1 (0,99 – 1,2)	0,079
FIV	0,49 (0,12 – 2,1)	0,330
Gestación múltiple	2,0 (0,58 – 6,9)	0,268
CIR	0,30 (0,051 – 1,8)	0,185
Edad gestacional al ingreso	1,1 (0,95 – 1,2)	0,231

Los valores p estadísticamente significativos se indican en negrita.

**Tabla 28B. Modelo de regresión logística univariante para la predicción de PE tardía incluyendo la variable de deficiencia de vitamina D.**

(B)		PE tardía	
Variable	OR (IC95%)	Valor p	
Ácido úrico >5,7 mg/dL	4,4 (2,1 – 8,9)	<b>&lt;0,001</b>	
Cociente sFlt-1/PIGF >45	12 (5,2 – 26)	<b>&lt;0,001</b>	
NT-proBNP >70 pg/mL	3,8 (1,9 – 7,7)	<b>&lt;0,001</b>	
25(OH)D <20 ng/mL en 1 <sup>er</sup> trimestre	1,1 (0,28 – 4,4)	0,875	
25(OH)D <20 ng/mL al ingreso	3,0 (1,1 – 8,1)	<b>0,032</b>	
Edad materna	1,0 (0,96 – 1,1)	0,442	
HTA crónica	3,5 (0,44 – 28)	0,235	
Diabetes	0,61 (0,22 – 1,7)	0,342	
Nuliparidad	2,5 (0,91 – 6,7)	0,078	
PE previa	0,41 (0,05 – 3,4)	0,415	
IMC	0,97 (0,92 – 1,0)	0,325	
FIV	5,7 (2,1 – 15)	<b>&lt;0,001</b>	
Gestación múltiple	6,4 (2,4 – 18)	<b>&lt;0,001</b>	
CIR	6,7 (1,6 – 28)	<b>0,009</b>	
Edad gestacional al ingreso	0,89 (0,74 – 1,1)	0,194	

Los valores p estadísticamente significativos se indican en negrita.

Finalmente, se construyó el modelo multivariante incluyendo las variables cociente sFlt-1/PIGF, y NT-proBNP para el global de gestantes y deficiencia de vitamina D al ingreso, FIV, gestación múltiple y CIR para las  $\geq 34$  semanas de gestación. La deficiencia de vitamina D mostró asociación con el desarrollo de PE tardía (OR: 4,5, IC95%: 1,4 – 14), aunque ésta fue menor que la mostrada por el cociente sFlt-1/PIGF (Tabla 29).

**Tabla 29. Modelo de regresión logística multivariante para la predicción de PE precoz (A) y tardía (B) incluyendo la variable de deficiencia de vitamina D.**

(A)		PE precoz	
Variable	OR ajustado (IC95%)	Valor p	
Cociente sFlt-1/PIGF > 23	49 (9,3 – 260)	<0,001	
(B)		PE tardía	
Variable	OR ajustado (IC95%)	Valor p	
Cociente sFlt-1/PIGF >45	11 (4,6 – 26)	<0,001	
Gestación múltiple	4,8 (1,5 – 15)	0,008	
Deficiencia de vitamina D al ingreso	4,5 (1,4 – 14)	0,012	
NT-proBNP >70 pg/mL	2,7 (1,2 – 6,2)	0,016	

# DISCUSIÓN





## 1. Marcadores en el diagnóstico de PE y pronóstico de complicaciones obstétricas en el Servicio de Urgencias Obstétricas

La PE constituye una de las principales complicaciones del embarazo, con una elevada morbilidad y mortalidad tanto materna como fetal. Por ello, se han destinado muchos esfuerzos para encontrar marcadores que permitan identificar la enfermedad en cuanto comienzan las primeras manifestaciones, así como conocer su gravedad y el riesgo de desarrollar complicaciones obstétricas. En este trabajo se han evaluado los marcadores AST, ALT y ácido úrico, que actualmente forman parte del panel bioquímico de valoración de la gestante con sospecha de PE; y se ha comparado su rendimiento diagnóstico y pronóstico con los nuevos marcadores reguladores de la angiogénesis (PIGF, sFlt-1 y cociente sFlt-1/PIGF) y con el marcador cardiovascular NT-proBNP.

### 1.1. Marcadores clásicos

Actualmente, la valoración y el seguimiento bioquímico de las gestantes con sospecha de PE se realizan mediante la determinación de marcadores ampliamente disponibles en los laboratorios clínicos, como las transaminasas (AST y ALT) o el ácido úrico. De ellos, en nuestra población, el ácido úrico ha sido con diferencia el que ofreció un mayor rendimiento tanto en el diagnóstico de la enfermedad en las gestantes que acudieron a Urgencias como en el pronóstico de desenlace adverso. De este modo, un valor de ácido úrico por encima del límite superior de referencia (5,7 mg/dL) permitió identificar a las gestantes que iban a desarrollar PE precoz con una especificidad del 95,7%, aunque valores inferiores a este punto de corte no permitieron excluir la enfermedad debido a la baja sensibilidad (62,2%). El rendimiento resultó ser ligeramente inferior en el caso de la PE tardía, con valores de especificidad y sensibilidad de 85,3% y 49,3%, respectivamente (Tabla 12). Anumba *et al.* [152] analizaron el rendimiento de la ALT y el ácido úrico en la predicción de PE en gestantes que acudieron a la Unidad de Cuidados Obstétricos antes de la semana 32 por HTA gestacional. En su caso, la ALT no resultó predictora de PE mientras que el ácido úrico, con un AUC de 0,57, ofreció un rendimiento inferior al referido en nuestro trabajo (AUC de 0,92). De este modo, utilizando un punto de corte de 4,37 mg/dL obtuvieron una sensibilidad del 65% y una especificidad del 47%, unos resultados que limitarían la utilidad clínica de este marcador. La exclusión de gestantes con signos de gravedad al ingreso (HTA grave, dolor de cabeza, dolor epigástrico, alteraciones visuales) o con comorbilidad (diabetes, CIR) en el estudio mencionado puede ser la causa del menor rendimiento obtenido, puesto que estarían eliminando a las gestantes

que presentarían valores más extremos de ácido úrico en consonancia con la gravedad de la PE. En un estudio semejante, Bellomo *et al.* [153] obtuvieron resultados más consistentes con los descritos por nuestro grupo, con un AUC para el ácido úrico de 0,955, y propusieron un punto de corte de 5,2 mg/dL con una especificidad ligeramente inferior (93,3%) y sensibilidad superior (87,7%). Estos resultados demuestran que el ácido úrico puede ser útil en la evaluación de las gestantes que presentan los primeros síntomas de la PE.

Por otro lado, en nuestra población la concentración de ácido úrico mostró una relación inversa con el tiempo transcurrido desde que la gestante presentó los primeros síntomas hasta que se produjo el parto (Figura 11). De este modo, valores superiores a 6,7 mg/dL, permitieron identificar a las gestantes que desarrollaron un desenlace adverso (parto en la primera semana, muerte fetal o neonatal temprana) con una especificidad del 95,2% (aunque con sensibilidad del 38,1%) (Figura 18B). Nuestros resultados coinciden con los publicados por Urato *et al.* [154], que demostraron una correlación negativa entre los niveles de ácido úrico en la admisión y los días de manejo clínico expectante. En dicho estudio, sólo en el 22,1% de las gestantes con valores de ácido úrico superiores 6,1 mg/dL se produjo el parto más allá de la primera semana, porcentaje que se redujo al 4,5% cuando se consideraron valores de 7,0 mg/dL. El hecho de que niveles altos de ácido úrico se asocien con un parto inminente, nos inclinan a pensar que el ácido úrico, además de ser útil en el diagnóstico de PE, ofrece información acerca de la gravedad del cuadro clínico. La relación entre el ácido úrico y la gravedad del proceso ha sido evidenciada en múltiples trabajos. Wu *et al.* [155] demostraron que el incremento de la concentración de ácido úrico en una desviación estándar en gestantes con hipertensión gestacional aumentaba la probabilidad de progresión a PE y de complicaciones maternas o perinatales independientemente de la progresión a PE (con OR de 2,3 y 1,5, respectivamente). Parrish *et al.* [107] encontraron que la hiperuricemia era un buen predictor de complicaciones maternas pero no de complicaciones perinatales en gestantes con PE diagnosticada. En un tipo de población semejante, Linvingston *et al.* [156] encontraron resultados opuestos, si bien hay que tener en cuenta la heterogeneidad en la definición de “complicaciones” en cada caso.

Algunos estudios han planteado que el ácido úrico juega un importante papel en la fisiopatología de la PE. Bainbridge *et al.* [157] utilizaron un modelo *in vitro* para demostrar que las concentraciones elevadas de ácido úrico inhibían la invasión trofoblástica y el remodelado de las arterias uterinas. Además, se ha comprobado que el ácido úrico participa en la activación del inflammasoma, un complejo multiproteico que

activa la respuesta inflamatoria y la producción de citoquinas pro-inflamatorias (como la IL-1), por lo que parece plausible que la respuesta inflamatoria excesiva observada en gestantes con PE sea consecuencia de una hiperuricemia previa [158,159]. Por otra parte, el metabolismo del ácido úrico también ha sido relacionado con un excesivo estrés oxidativo. En concreto, Murata *et al.* [160] han planteado que las especies reactivas de oxígeno producidas por la xantina oxidasa (que transforma xantina e hipoxantina en ácido úrico liberando radical superóxido) bloquean la diferenciación y capacidad invasiva de los citotrofoblastos, por lo que el ácido úrico sería indicador del daño placentario causante de la PE. El papel del ácido úrico en la fisiopatología de la enfermedad se ve reforzado por diversos estudios que han demostrado concentraciones elevadas de este metabolito antes de la instauración de la enfermedad e incluso en semanas muy tempranas. Por ejemplo Laughon *et al.* [161] encontraron que los niveles de ácido úrico superiores a 3,56 mg/dL en el primer trimestre estaban asociados a una mayor probabilidad de desarrollar PE (OR: 1,82), resultados corroborados posteriormente por Wolak *et al.* [162]. Sin embargo, estos hallazgos contrastan con los publicados recientemente por Chen *et al.* [163] en un estudio prospectivo que involucró a más de 5500 gestantes, en el que sí hallaron asociación entre la PE y los niveles de ácido úrico determinados en el momento de la presentación clínica, pero no en el primer o el segundo trimestres de gestación. Por ello, consideraron que la hiperuricemia en las gestantes con PE es consecuencia de la alteración renal subyacente (la endoteliosis glomerular), de manera que la reducción de la filtración glomerular provocaría una menor excreción de ácido úrico. Es decir, que el ácido úrico no sería una pieza en la fisiopatología de la enfermedad, sino que sería parte de la respuesta materna a la PE. Los casos más graves y los más precoces son los que presentan una mayor uricemia, lo que puede ser el resultado de un defecto de placentación más severo (si consideramos la primera hipótesis) o una mayor afectación renal (si consideramos la segunda), o incluso, una combinación de ambas.

En definitiva, el ácido úrico, como marcador individual, muestra un rendimiento aceptable en el diagnóstico de la PE (especialmente si es precoz), y en menor medida en la predicción de desenlace adverso. Su amplia disponibilidad en los laboratorios clínicos, su bajo coste en relación a otras pruebas y el rendimiento mostrado en este trabajo, lo convierten en un marcador útil y accesible en la valoración de la gestante con sospecha de PE. Sin embargo, hay que tener en cuenta que su baja sensibilidad impide la exclusión de la enfermedad cuando los niveles de ácido úrico son normales,

por lo que en ese caso se requerirían pruebas adicionales que confirmaran o descartaran el desarrollo de PE.

## **1.2. Marcadores reguladores de la angiogénesis**

En la última década han sido muchos los estudios publicados que han establecido una conexión entre la fisiopatología de la PE y el papel de los factores reguladores de la angiogénesis como el PIGF o el sFlt-1 [25,48,52,53,57]. Por ello, se ha planteado la utilidad de estos marcadores y del cociente entre ambos (sFlt-1/PIGF) en el diagnóstico de la enfermedad [108–113], aunque pocos han evaluado su utilidad en el manejo de las gestantes que acuden al Servicio de Urgencias con signos o síntomas de PE [112,113,164].

Recientemente, nuestro grupo ha publicado un artículo en el que se confirma la utilidad del cociente sFlt-1/PIGF en el diagnóstico de PE [165], como parte del presente trabajo. La posterior ampliación de la población de estudio, ha permitido corroborar la elevada sensibilidad de este marcador en el diagnóstico de la enfermedad. Es en este contexto en el que el sFlt-1/PIGF aporta un valor añadido al de los marcadores clásicamente utilizados en el diagnóstico de PE. Así, mientras el punto de corte del ácido úrico de 5,7 mg/dL detecta la enfermedad con una sensibilidad de tan solo el 49 – 62% (según sea tardía o precoz), el cociente sFlt-1/PIGF aumenta estos valores hasta el 95% en la PE precoz y el 77% en la tardía (Tabla 12). De este modo, aplicando los puntos de corte propuestos para el cociente sFlt-1/PIGF (23 y 45 para la PE precoz y tardía, respectivamente) se lograría la detección de 87 de los 104 casos de PE, lo que supondría el 95% de las PE precoces y el 78% de las PE tardías. De las 17 PE no identificadas (2 precoces y 15 tardías; Tabla 8 y Tabla 10), 15 tuvieron un curso benigno con partos a término, por lo que la incapacidad del cociente sFlt-1/PIGF para diagnosticar PE en el momento del ingreso sólo habría sido clínicamente relevante en el 1,9% de todas las gestantes que desarrollaron la enfermedad. Destaca además la capacidad de este marcador para identificar casos de presentaciones atípicas como los de las gestantes 13, 325 y 288, que si bien no presentaron los criterios clásicos de HTA y proteinuria, mostraron un cuadro clínico con la misma gravedad de la PE y de hecho, se manejaron clínicamente como si se trataran de casos de PE. Asimismo, hay que tener en cuenta que el método utilizado en nuestro laboratorio es un inmunoensayo por electroquimioluminiscencia con un tiempo de análisis de tan sólo 18 minutos, lo que permite la valoración de la gestante de forma inmediata sin necesidad de esperar por la recolección de orina de

24 horas para la determinación de proteinuria, lo que en muchos casos retrasa el diagnóstico.

Sin embargo, no todas las gestantes con elevación del cociente sFlt-1/PIGF fueron casos de PE, y es que se han descrito otras condiciones que pueden alterar el valor de este marcador, como ocurre con el CIR o con las gestaciones múltiples:

- ◆ Como se ha demostrado en diversos estudios, el **CIR** cursa con alteraciones en los niveles de los marcadores reguladores de la angiogénesis [166–168]. En 2007, Wallner *et al.* [167] observaron que las gestantes con CIR presentaban niveles significativamente inferiores de PIGF y superiores de sFlt-1 respecto a los controles, lo que se traducía en un cociente sFlt-1/PIGF superior en el primero de los grupos. Crispi *et al.* [166] encontraron una asociación entre los niveles de sFlt-1 y la molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1), un marcador de disfunción endotelial, en los casos de CIR. Estos resultados apoyan la hipótesis de que PE y CIR comparten un mismo mecanismo fisiopatológico, con alteración de marcadores placentarios y disfunción endotelial; de manera que serían otros factores (predisposición materna, factores ambientales) los que desencadenarían una u otra condición. Recientemente, dos grupos diferentes han corroborado que PE y CIR presentan un perfil anti- / pro-angiogénico semejante y que por ello, estos marcadores pueden no ser útiles para diferenciar entre ambas entidades [169,170]. Estos hallazgos justificarían los 4 casos de CIR que resultaron falsos positivos en nuestra población de estudio (pacientes 51, 228, 231 y 268; Tabla 9 y Tabla 10), aunque también es cierto que algunos de los casos de CIR presentaron valores por debajo del punto de corte propuesto, como por ejemplo el caso 227 (Tabla 8).

- ◆ De acuerdo con algunos trabajos, las **gestaciones múltiples** podrían tener un perfil angiogénico diferente al de las gestaciones sencillas [171–174]. En nuestro estudio, las gestantes embarazadas de gemelos o trillizos que no desarrollaron PE mostraron niveles de sFlt-1 superiores a las de las gestaciones sencillas. En consonancia con nuestros hallazgos, Maynard *et al.* [171] refirieron concentraciones de sFlt-1 del doble en gestaciones múltiples respecto a sencillas; resultados semejantes a los de Bdolah *et al.* [172] que además hallaron una correlación entre los niveles de sFlt-1 y la masa placentaria. Estas observaciones sugieren que el mayor tamaño de la placenta en las gestaciones múltiples es la causa de la hiperproducción de sFlt-1. Faupel-Badger *et al.* [173], sin embargo, no lograron establecer asociación

entre sFlt-1 y masa placentaria, por lo que consideraron que el exceso de sFlt-1 se debía a una mayor hipoperfusión en las placentas de gestaciones múltiples. Con respecto al PIGF existe una mayor controversia, de modo que mientras Maynard *et al.* [171] hallaron elevación de PIGF en gestaciones múltiples antes de la semana 31, Faupel-Badger *et al.* [173] observaron la tendencia opuesta a partir de la semana 35. En nuestro trabajo, la concentración de PIGF sólo fue significativamente superior en gestaciones múltiples frente a sencillas cuando se analizaron exclusivamente los casos de PE, resultados que coinciden con los obtenidos por Dröge *et al.* [174]. Tanto en su trabajo como en el nuestro, las diferencias para el cociente sFlt-1/PIGF sólo parecen importantes en gestantes no-PE, si bien aún no está claro hasta qué punto el rendimiento diagnóstico de este marcador puede verse alterado en las gestaciones múltiples. En nuestro caso, la inclusión de embarazos múltiples no afectó al rendimiento global del cociente sFlt-1/PIGF, puesto que las AUCs fueron semejantes incluyendo o no a este subgrupo de gestantes. Una importante limitación de nuestro trabajo fue el bajo número de embarazos múltiples (n=40), que fue insuficiente para realizar un análisis ROC exclusivo para este subgrupo, por lo que no se obtuvieron conclusiones sólidas. Por otro lado, Dröge *et al.* [174] han considerado recientemente que los puntos de corte descritos para el diagnóstico de PE en gestaciones sencillas no son transferibles para gestaciones múltiples. Por ello, han planteado un punto de corte para el cociente sFlt-1/PIGF de 53, específico para gestaciones múltiples, con sensibilidad del 94% y especificidad del 74%. Sin embargo, el número de embarazos múltiples incluidos en dicho trabajo también es limitado (n=49) por lo que se requieren estudios más amplios que refuercen su planteamiento. Hasta entonces, los valores para el cociente sFlt-1/PIGF en este subgrupo de pacientes debería ser interpretado con cautela.

En nuestro trabajo el rendimiento del cociente sFlt-1/PIGF ha resultado superior en el diagnóstico de PE precoz que en el de PE tardía. La identificación de la enfermedad en este subgrupo de pacientes es crucial, puesto que son las que presentan una mayor morbilidad y mortalidad [77,78]. El mayor rendimiento encontrado en la PE precoz parece deberse a que esta forma de la enfermedad es la que está más íntimamente asociada con la disfunción placentaria, mientras que en la PE tardía podría existir un grupo de gestantes con afectación placentaria (en las que estos marcadores resultarían útiles) y otro grupo en el que la enfermedad se habría desarrollado por otros mecanismos [166].

Aunque muchos trabajos han evaluado el rendimiento del sFit-1/PIGF en el diagnóstico de PE precoz y tardía, existe una gran controversia respecto a los puntos de corte que se deben utilizar. Inicialmente Verlohren *et al.* [109] propusieron un punto de corte único de 85 para el cociente sFit-1/PIGF con independencia de la edad gestacional, aunque con mejores resultados para la PE precoz (sensibilidad: 89,0%, especificidad: 97,0%) que para la tardía (sensibilidad: 74,0%, especificidad: 89,0%). Recientemente, este mismo grupo ha planteado nuevos puntos de corte estratificados por edad gestacional. Así, para la PE precoz han propuesto valores de exclusión / confirmación de PE de 33 (sensibilidad: 95%, especificidad: 94%) / 85 (sensibilidad: 88%, especificidad: 99,5%); mientras que para la PE tardía propusieron cortes de 33 (sensibilidad: 89,6%, especificidad: 73,1%) / 110 (sensibilidad: 58,2%, especificidad: 95,5%). Sin embargo, la aplicación de estos puntos de corte no ofreció un gran rendimiento en nuestra población de estudio (Tabla 7). Por un lado, es cierto que los puntos de corte para ayuda al diagnóstico de PE (85 y 110) permitirían prácticamente confirmar el diagnóstico de la enfermedad con una especificidad en torno al 95% (semejante a la obtenida en su trabajo), pero con una caída difícilmente asumible en la sensibilidad. Por otro lado, el corte para exclusión de PE (33) en nuestra población <34 semanas ofreció una sensibilidad del 84%, un valor muy inferior al conseguido con nuestro punto de corte de 23 (95%) y al descrito por Verlohren, por lo que resultaría poco útil para descartar el desarrollo de la enfermedad. Para comprender las diferencias entre nuestro estudio y el de Verlohren *et al.* [114] hay que tener en cuenta que su grupo control estaba constituido únicamente por gestaciones sencillas sin complicaciones asociadas, mientras que el grupo de PE estaba formado por gestantes con la enfermedad ya instaurada y diagnosticada antes de la toma de muestra. Al analizar dos poblaciones ideales tan claramente diferenciadas, es posible que el rendimiento de los marcadores se vea artificialmente mejorado. Sin embargo, las gestantes que acuden a Urgencias habitualmente no encajan en grupos tan bien definidos, por lo que el diagnóstico de la enfermedad no es tan sencillo. La población incluida en nuestro trabajo refleja con más fidelidad los casos que acuden a las Urgencias Obstétricas con sospecha de la enfermedad, y es precisamente en ese ámbito en el que los nuevos marcadores deberían demostrar su utilidad para ayudar en el diagnóstico y en toma de decisiones. De hecho, en nuestra población de estudio un 32,6% de las gestantes (el 13,3% de las <34 y el 38,9% de las ≥34 semanas) se situaron en la zona gris generada por estos puntos de corte.

Por otro lado, el estudio PROGNOSIS planteó un objetivo más cercano al nuestro: evaluar la utilidad del cociente sFit-1/PIGF en la predicción a corto plazo de PE, para lo



que utilizaron una población de estudio semejante a la nuestra (mujeres embarazadas con sospecha de PE) [115,117]. Este estudio prospectivo, que incluyó 1273 participantes, concluyó que un valor  $<38$  permitiría excluir el desarrollo de PE en la semana siguiente a la determinación (VPN: 99%), mientras que un valor  $\geq 38$  supondría un riesgo elevado de desarrollar la enfermedad en un plazo de 4 semanas (VPP: 38,6%) [116,117]. En nuestra población, se observó un rendimiento semejante utilizando puntos de corte ligeramente diferentes, aunque teniendo en cuenta que en nuestro caso la predicción de PE (exclusión e inclusión) se realizó a 3 semanas. De este modo, los puntos de corte de 23 y 45 ofrecieron VPNs del 95% para la PE precoz y del 90% para la PE tardía. Hay que tener en cuenta que la prevalencia de PE referida en el estudio PROGNOSIS fue inferior a la nuestra (19,0% frente a 30,6%), lo que justifica un menor VPN en nuestro trabajo. Aumentar el corte de 23 a 38 en nuestra población habría implicado desestimar 8 casos de PE precoz, aunque hay que resaltar la diferente ventana temporal considerada en los dos estudios (exclusión a 1 semana *versus* 3 semanas). Por otro lado, en el caso de la PE tardía modificar el corte de 45 a un conservador 38 habría supuesto un incremento en la sensibilidad del 78% al 85%, pero a costa de detectar hasta 62 falsos positivos (Tabla 7). En definitiva, aunque el punto de corte de 38 se aproxima a los planteados en nuestro trabajo, las diferencias de manejo y de repercusión clínica existentes entre PE precoz y tardía permiten justificar el planteamiento de dos puntos de corte diferentes de acuerdo al grupo de edad gestacional, ya que mejoraría el rendimiento del cociente sFlt-1/PIGF en la predicción de la PE en gestantes con sospecha de la enfermedad.

El cociente sFlt-1/PIGF, además de estar asociado con el desarrollo de PE o CIR, también se ha relacionado con otras complicaciones obstétricas. Así, Lim *et al.* [175] describieron valores del cociente sFlt-1/PIGF más elevados en las gestantes con PE que tuvieron partos pretérmino, respecto a las que fueron a término. En nuestro trabajo las gestantes que acudieron a Urgencias antes de las 34 semanas con síntomas de PE pero que no llegaron a desarrollar la enfermedad mostraron un perfil semejante (Figura 10). Cabe pensar que la alteración del balance angiogénico / anti-angiogénico en estas gestantes podría inducir daños endoteliales insuficientes para causar por sí mismos PE, pero que impedirían la progresión de la gestación desencadenando un parto pretérmino espontáneo o bien complicarían la situación materna requiriendo la inducción del parto por indicación médica antes de las 37 semanas. Además, en el presente trabajo se ha demostrado una correlación negativa entre los valores del cociente sFlt-1/PIGF y el tiempo transcurrido desde el ingreso en Urgencias hasta el parto especialmente en gestantes  $<34$  semanas (Figura 13), un hallazgo consistente

con estudios previos [112,176–178]. Verlohren *et al.* [176] propusieron un punto de corte para el cociente sFlt1/PIGF de 655 para identificar a las gestantes con PE precoz con riesgo de parto inminente en 48 horas, un corte que ha sido validado recientemente por Gómez-Arriaga *et al.* [178]. Aunque este punto de corte puede ser útil en el manejo de la gestante con PE y en la toma de decisiones (como administración de corticosteroides para la maduración fetal), no es aplicable a las gestantes que acuden a Urgencias con los primeros síntomas de la enfermedad y que aún no han sido diagnosticadas. En ese grupo es de esperar un valor del cociente sFlt-1/PIGF más moderado, y de hecho, nuestro punto de corte de 178 permitió detectar con especificidad del 95% a las gestantes <34 semanas con riesgo de desarrollar un desenlace adverso, independientemente de que desarrollaran PE o no (Figura 18A). La posibilidad de estratificar a las gestantes según el riesgo de sufrir un desenlace adverso en el mismo momento en que ingresan en Urgencias reduciría la morbilidad y mortalidad tanto materna como fetal, ya que se beneficiarían de una monitorización más estrecha y de los tratamientos adecuados.

En definitiva, el cociente sFlt-1/PIGF es una herramienta útil para excluir o confirmar el diagnóstico de PE, así como para pronosticar el desarrollo de complicaciones obstétricas en gestantes que acuden a Urgencias con sospecha de la enfermedad, especialmente antes de las 34 semanas. Sin embargo, se requieren más estudios prospectivos que demuestren la utilidad de este marcador en la práctica clínica y que orienten acerca de cómo debe emplearse e interpretarse. Recientemente se ha puesto en marcha el estudio PreOS (The Preeclampsia Open Study) [179] que tratará de evaluar si efectivamente el cociente sFlt-1/PIGF ayuda en el manejo clínico de la gestante con sospecha de PE y en la toma de decisiones clínicas, en cuanto a hospitalización, inducción del parto o solicitud de pruebas adicionales, con la finalidad de mejorar el pronóstico materno y fetal.

### **1.3. NT-proBNP**

En los últimos años, varios estudios han demostrado una elevación de los niveles de NT-proBNP en gestantes con PE diagnosticada frente a gestantes sin complicaciones [122–128]. En este trabajo, se analiza por primera vez si estas diferencias también están presentes en gestantes que acuden al servicio de Urgencias Obstétricas con sospecha de PE, con el objetivo de identificar a aquellas que van a desarrollar la enfermedad, sea precoz o tardía.

Nuestros resultados han confirmado que los niveles de NT-proBNP son más elevados en las gestantes que van a desarrollar PE de manera inminente (en menos

de 3 semanas) que en las que no van a sufrir esta complicación. Además, la concentración de NT-proBNP fue superior en las gestantes que desarrollaron PE precoz (la forma más grave) que en las que desarrollaron PE tardía (Figura 8). Hamad *et al.* [127] y Junus *et al.* [128] ya habían demostrado una elevación de NT-proBNP más intensa en las PE que debutaban antes de las 34 semanas, aunque sólo en el primero de los trabajos las diferencias resultaron estadísticamente significativas, y en ambos casos los grupos de estudio fueron menos numerosos que el nuestro (35 y 38 casos, respectivamente). Recientemente Szabó *et al.* [180] han descrito resultados semejantes utilizando el BNP. En definitiva, estos resultados parecen apoyar que la precocidad y gravedad de la enfermedad van acompañadas de un incremento gradual en los niveles de péptidos natriuréticos.

Por otra parte, hemos observado que los niveles de NT-proBNP son semejantes en los dos grupos de edad gestacional en las pacientes que no desarrollaron PE. Estos resultados concuerdan con los publicados por otros grupos que no encontraron variaciones en los niveles de NT-proBNP a partir del tercer trimestre, aunque los resultados con respecto a lo que ocurre en la primera fase del embarazo son contradictorios [181,182]. Por un lado Franz *et al.* [181] llevaron a cabo un estudio longitudinal en el que incluyeron 521 controles y 94 gestantes en las que se determinó el NT-proBNP en diferentes momentos de la gestación, y encontraron que los niveles de este péptido aumentaban entre las semanas 11 – 15 pero que disminuían hasta valores semejantes a los de las mujeres no embarazadas a partir de la semana 23, sin más modificaciones hasta el final de la gestación. Sin embargo, Tekin *et al.* [182] en otro estudio longitudinal pero de menor tamaño (20 gestantes con determinación de NT-proBNP en cada trimestre) no encontraron diferencias a lo largo de la gestación. Dada esta controversia, futuros estudios deberán dilucidar lo que ocurre con los niveles de NT-proBNP en la etapa más temprana de la gestación.

Hasta donde sabemos, ésta es la primera vez que se evalúa el rendimiento del NT-proBNP en el diagnóstico de PE. Sin embargo, Szabó *et al.* [180] analizaron el rendimiento del BNP y plantearon un punto de corte de 24 pg/mL con sensibilidad y especificidad de 95% y 97,5% para la PE precoz, y de 70% y 97,5% para la PE tardía. Aunque sus resultados fueron mejores que los obtenidos para el NT-proBNP en este trabajo, no cabe concluir que el BNP sea mejor indicador que el NT-proBNP en el diagnóstico de PE, ya que las poblaciones estudiadas en cada caso fueron muy diferentes. Mientras que, en este trabajo, la toma de muestras se hizo en gestantes con sospecha clínica de la enfermedad, en el estudio de Szabó *et al.* [180] la extracción se realizó cuando la enfermedad ya había sido diagnosticada, por lo que se

esperarían diferencias más acentuadas entre casos y controles. Por otra parte, de acuerdo con el análisis ROC presentado en este trabajo, el NT-proBNP ofreció un rendimiento semejante al del ácido úrico en el diagnóstico de PE precoz y tardía, aunque en ambos casos fue inferior al demostrado por el cociente sFlt-1/PIGF (Figura 9). De este modo, aplicando el punto de corte de 70 pg/mL para el NT-proBNP, se habrían clasificado erróneamente 8 casos de PE precoz (7 de ellos con pronóstico grave y partos pretérmino) y 20 casos de PE tardía. Por otro lado, el rendimiento obtenido con dicho corte fue ligeramente inferior al logrado con un valor de ácido úrico de 4,5 mg/dL para la PE precoz (sensibilidades y especificidades: 78% y 74% *versus* 78% y 80%, respectivamente); y de 4,7 mg/dL para la PE tardía (sensibilidades y especificidades: 70% y 62% *versus* 76% y 62%, respectivamente) (Tabla 12 y Tabla 18). Por tanto, no parece que el NT-proBNP constituya una herramienta útil en el diagnóstico de PE, sobre todo teniendo en cuenta lo extendido que está el uso del ácido úrico en la valoración de la gestante con sospecha de la enfermedad, su amplia disponibilidad en los laboratorios clínicos y su bajo precio en relación al de otros parámetros.

Dado que el NT-proBNP demostró estar asociado con la precocidad de la PE, podría tratarse de un marcador de gravedad del proceso clínico con el que acudiría la gestante a Urgencias. Por ello, se planteó la posible utilidad del NT-proBNP como indicador de riesgo de complicaciones obstétricas en gestantes <34 semanas, independientemente de que desarrollaran PE o no. Se observó una fuerte correlación negativa entre los valores de NT-proBNP y el tiempo transcurrido desde la aparición de los síntomas en Urgencias hasta el momento del parto (Figura 15). Un punto de corte de 219 pg/mL permitió detectar el desarrollo de desenlace adverso con una especificidad del 94% y sensibilidad del 76%, valores ligeramente inferiores a los indicados para el cociente sFlt-1/PIGF (95% y 81%, respectivamente) (Figura 18C). Sólo 4 gestantes con valores de NT-proBNP por encima de 219 pg/mL tardaron en dar a luz más de una semana desde el ingreso, aunque todas ellas desarrollaron otro tipo de complicaciones que también habrían requerido monitorización. Por tanto, aunque el cociente sFlt-1/PIGF ofreció mejor rendimiento en el pronóstico de desenlace adverso, teniendo en cuenta que el uso de los marcadores sFlt-1 y PIGF aún no está extendido en los laboratorios clínicos, la determinación de NT-proBNP puede ser una alternativa aceptable.

Una pregunta interesante es si la elevación de NT-proBNP en las gestantes con PE forma parte de la fisiopatología de la enfermedad o es una consecuencia de la misma. A favor de la primera hipótesis Junus *et al.* [128] describieron la existencia de

producción de BNP y NT-proBNP a nivel de las arterias espirales y sincitiotrofoblasto, un hecho que podría sugerir la existencia de una relación entre los factores pro- / anti-angiogénicos y los péptidos natriuréticos, con la placenta como órgano central. Sin embargo, no encontraron diferencias en los niveles de expresión de estos péptidos entre PE y controles. Además, se desconoce en qué medida contribuye esa producción placentaria a la circulación sanguínea y, en caso de que ésta fuera significativa, qué efectos fisiológicos podría desencadenar. Estas cuestiones junto con la pobre correlación existente entre NT-proBNP y factores angiogénicos nos inclina a pensar que el papel de unos y otros en el desarrollo PE tiene diferente significado. Por ello, y basándonos en los hallazgos descritos en la literatura, la elevación de NT-proBNP en gestantes con PE parece el resultado de la respuesta materna a la enfermedad. Durante el desarrollo de la PE, se producen una serie de alteraciones hemodinámicas tales como un incremento inicial en la post-carga cardíaca, una reducción del volumen plasmático y un incremento de la resistencia vascular sistémica asociada a vasoconstricción, que en conjunto desencadenan un estado de HTA hipovolémica [118]. Como consecuencia, el corazón de las gestantes con PE debe adaptarse a esta situación adversa, lo que desencadena una remodelación del miocardio (caracterizada por hipertrofia ventricular) junto con la producción de marcadores de estrés cardíaco como los péptidos natriuréticos. Los hallazgos de Tihonen *et al.* [124] refuerzan esta hipótesis, ya que encontraron una asociación entre los niveles de NT-proBNP y el índice de resistencia vascular sistémica en gestantes con PE, lo que sugiere que el aumento de NT-proBNP es la consecuencia del aumento de la post-carga en esta enfermedad. Hamad *et al.* [127] demostraron importantes cambios cardiovasculares en gestantes con PE, destacando un agrandamiento de la aurícula izquierda secundaria a sobrecarga, alteración en la función diastólica del ventrículo izquierdo y sobre todo, un incremento del tamaño ventricular así como del grosor de la pared, que además mostró correlación con la concentración de NT-proBNP. Si bien en un embarazo no complicado se puede esperar una ligera hipertrofia ventricular debida a la hipervolemia, normalmente esta situación revierte tras el parto; mientras que las alteraciones cardiovasculares halladas en el trabajo mencionado, se mantuvieron hasta 3 – 6 meses después. En definitiva, la elevación de NT-proBNP en gestantes con PE sería el reflejo de una situación de estrés ventricular que podría indicar la existencia de una disfunción cardíaca subclínica, una de las posibles causas del mayor riesgo que tienen estas gestantes de sufrir enfermedades cardiovasculares en el futuro [125,127]. La gravedad de esta disfunción puede estar relacionada con el desarrollo de diversas complicaciones. Por ejemplo, se han asociado los niveles de NT-proBNP (reflejo de dicha disfunción) con una mayor

presión de llenado ventricular, lo que podría condicionar el desarrollo de edema pulmonar [183]. Por otro lado, la gravedad del proceso podría complicar la continuación de la gestación, lo cual explicaría la correlación inversa hallada entre NT-proBNP y tiempo transcurrido entre el ingreso y el parto.

Teniendo en cuenta que los niveles de NT-proBNP se encuentran alterados en gestantes con PE, y que éstas gestantes tienen un mayor riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares en el futuro, una posible vía de investigación sería comprobar si el NT-proBNP puede ser predictor del desarrollo de este tipo de complicaciones. De ese modo, la monitorización post-parto y la administración del soporte terapéutico adecuado podrían disminuir el impacto de las mismas.

#### 1.4. Modelo multivariante

Hasta donde sabemos, ésta es la primera vez que se evalúan conjuntamente marcadores clásicos, marcadores reguladores de la angiogénesis y NT-proBNP en el diagnóstico de PE y en el pronóstico de desenlace adverso. La magnitud de la asociación existente entre cada variable de estudio y la variable dependiente (por ejemplo, en el caso de desarrollo de PE) se ha estimado a través del cálculo de los OR, que representan la proporción de PE/no-PE observada en las gestantes que presentaron la variable de estudio (por ejemplo, cociente sFlt-1/PIGF patológico) dividida entre la proporción de PE/no-PE observada en las gestantes que no presentaron la variable de estudio (por ejemplo, cociente sFlt-1/PIGF normal). Es importante resaltar que, dado que la probabilidad de desarrollar PE en nuestra población fue superior al 10%, no podemos equiparar el valor del OR con el riesgo de desarrollar la enfermedad.

De acuerdo con el modelo multivariante la alteración del balance angiogénico parece ser la condición más importante en el desarrollo de la PE, puesto que el cociente sFlt-1/PIGF fue la variable que mostró mayor asociación con el desarrollo de la enfermedad, con mayor intensidad en la PE precoz que en la tardía [OR de 35 (IC95%: 6,6 – 185) y 6,3 (IC95%: 3,1 – 13), respectivamente] (Tabla 21).

El ácido úrico demostró estar asociado tanto con el desarrollo de PE precoz como tardía, aunque de nuevo, con mayor fuerza en el caso de la PE precoz [OR de 11 (IC95%: 1,8 – 64) y 2,3 (IC95%: 1,1 – 4,9), respectivamente]. Wu *et al.* [155] en un modelo ajustado por variables clínicas maternas (edad gestacional, tratamiento antihipertensivo, edad materna, paridad, hábito tabáquico, obesidad e historia de PE previa) encontraron que el incremento de ácido úrico (por cada unidad de desviación estándar) se asociaba con el desarrollo de PE con un OR de 2,3. En consonancia con

nuestros resultados, Delic *et al.* [184] demostraron que tanto los marcadores angiogénicos como el ácido úrico utilizados de forma conjunta tenían un valor pronóstico significativo en la predicción de la PE.

Por otro lado el NT-proBNP sólo demostró asociación con el desarrollo de la PE tardía, con OR de 2,1 (IC95%: 1,1 – 4,2). No obstante, es interesante valorar lo que ocurre cuando en el modelo de predicción se excluye la variable cociente sFit-1/PIGF. En esa situación, un valor de NT-proBNP por encima del corte propuesto sí que aumenta la probabilidad de desarrollar PE en gestantes <34 semanas de gestación (OR: 4,6, IC95%: 1,4 – 15), sin que haya cambios en las gestantes con edad gestacional posterior (OR: 2,7, IC95%: 1,4 – 5,2) (Tabla 22). Interpretamos que el efecto del NT-proBNP sobre el desarrollo de la PE precoz, aunque es significativo cuando se valora de forma individual, es mínimo al compararlo con un predictor tan robusto como es el cociente sFit-1/PIGF.

Es interesante destacar que el CIR sólo demostró asociación con el desarrollo de PE tardía cuando se excluyó del modelo multivariante el cociente sFit-1/PIGF (Tabla 22). Como hemos mencionado previamente, el CIR y la PE comparten un perfil angiogénico semejante, lo que explicaría por qué, una vez que ya se ha considerado el balance angiogénico en el modelo multivariante, la adición del CIR no aportaría un valor añadido: los casos con un cociente sFit-1/PIGF patológico ya incluirían los casos de CIR. Sin embargo, cuando no se dispone del cociente, el CIR permanece como variable asociada al desarrollo de PE, ya que podría estar reflejando de manera indirecta la presencia de un cociente sFit-1/PIGF alterado.

Con respecto al papel de la FIV en el desarrollo de PE, hemos observado que su contribución sólo parece importante en el caso de las gestaciones múltiples. Sin embargo, hay que tener en cuenta que sólo hubo 6 casos de FIV entre las 232 gestaciones sencillas, por lo que la ausencia de asociación entre esta variable y la PE puede ser consecuencia del bajo número de gestaciones logradas por FIV. Por otro lado, llama la atención que en el modelo multivariante llevado a cabo sólo para las gestaciones múltiples, ninguno de los marcadores bioquímicos hayan resultado significativos. El hecho de seleccionar una subpoblación de tamaño tan reducido (n=25) puede explicar por qué no detectamos esta asociación, por lo que sería necesario repetir este análisis con un mayor número de gestantes. Es interesante, por otra parte, que a pesar de trabajar con una población tan pequeña, sí hayamos encontrado una asociación entre la FIV y el desarrollo de la enfermedad en las gestaciones múltiples.

Finalmente, tanto el cociente sFlt-1/PIGF como el NT-proBNP demostraron ser buenos predictores del desarrollo de desenlace adverso en gestantes que acudieron a Urgencias antes de las 34 semanas de gestación, con OR de 26 (IC95%: 3,8 – 178) y 24 (IC95%: 3,3 – 171), respectivamente. El ácido úrico, que ya habíamos demostrado que carecía de suficiente sensibilidad, no presentó asociación estadísticamente significativa con el desarrollo de desenlace adverso (Tabla 23).

## 2. Marcadores de cribado de PE en primer trimestre

Aunque es importante identificar la enfermedad una vez que comienzan las primeras manifestaciones, el escenario ideal sería disponer de herramientas que permitieran anticiparse a la instauración de la misma. Una vez que la PE ya se ha desarrollado, no existe ningún tratamiento efectivo a parte de la eliminación de la placenta, de manera que las únicas medidas que pueden tomarse son el seguimiento intensivo de la gestante y, cuando sea posible, la inducción del parto. Sin embargo, algunos estudios han demostrado que la administración de bajas dosis de aspirina antes de las 16 semanas de gestación reduce la incidencia de la enfermedad [99]. Por ello, en los últimos años se han destinado grandes esfuerzos al desarrollo de programas de cribado precoz que permitan identificar a gestantes con riesgo de desarrollar PE, de modo que puedan beneficiarse de un mayor seguimiento y, en su caso, de la profilaxis mediante administración de aspirina.

En el hospital en el que se desarrolló el presente trabajo, se realiza la determinación de los marcadores bioquímicos  $\beta$ hCG y PAPP-A el primer trimestre de gestación como parte del programa de cribado de cromosomopatías, que se ofrece a toda la población de gestantes. Por ello, se planteó evaluar su utilidad como marcadores precoces de posible PE, lo que supondría un importante beneficio para la gestante sin coste adicional para el sistema de salud. Tanto la  $\beta$ hCG como la PAPP-A son producidas por la placenta, un órgano clave en la fisiopatología de la PE, por lo que resulta plausible considerar la existencia de una relación entre estos marcadores y la enfermedad. Cabe pensar además, que dicha relación sería más marcada en los casos de PE precoz, puesto que en esa forma de la enfermedad es en la que la disfunción placentaria es mayor [70].

En el presente trabajo, se observó que el descenso de la PAPP-A (por cada 0,2 unidades MoM) aumenta la probabilidad de desarrollar PE precoz con OR de 1,2 (IC95%: 1,1 – 1,3), mientras que la variación en la concentración sérica de  $\beta$ hCG no afecta al desarrollo de la enfermedad (Figura 20). Ambos parámetros varían en las



gestantes en función de la edad gestacional y, aunque en nuestro trabajo la edad gestacional de extracción en el primer trimestre fue diferente en los grupos PE y no-PE, esto no afecta a los resultados puesto que están expresados en MoM, corregidos, por tanto, por edad gestacional entre otros factores. Estos hallazgos coinciden con los de Dugoff *et al.* [185] y Goetzinger *et al.* [186], que en sus respectivos trabajos demostraron que las concentraciones séricas bajas de PAPP-A en el primer trimestre pero no las de  $\beta$ hCG, aumentaban el riesgo de desarrollar PE posteriormente, aunque sin diferenciar entre PE precoz y tardía. Un reciente meta-análisis llevado a cabo por Allen *et al.* [135] evaluó 12 estudios relativos a la PAPP-A y 4 relativos a la  $\beta$ hCG, encontrando que los niveles alterados de PAPP-A se asociaban con el desarrollo de PE precoz (OR de 4,8) sin que existiera asociación con la PE tardía, mientras que la  $\beta$ hCG no demostró asociación con ninguna de las dos formas de la PE. De manera semejante, Jelliffe-Pawlowski *et al.* [187] han realizado un amplio estudio en el que involucraron a más de 100000 gestantes, en el que han demostrado que valores MoM de PAPP-A por debajo del 5º percentil multiplicaban por 4 el riesgo de desarrollar PE precoz. La relación entre la disminución de la PAPP-A y la PE, así como de otras complicaciones obstétricas como el CIR, la prematuridad o la muerte fetal ha sido corroborada por múltiples estudios [188–191], si bien estos resultados contrastan con los obtenidos por otros grupos que no han sido capaces de establecer tal asociación, aunque es cierto que son menos numerosos [133,134]. Aunque nuestros resultados coinciden con los descritos por otros grupos [185,186] con respecto a lo no asociación entre la  $\beta$ HCG y la PE precoz o tardía, los resultados publicados en la literatura científica son contradictorios. Como ejemplo, mientras Ong *et al.* [192] o Karahasanovic *et al.* [134] encontraron una asociación entre las concentraciones séricas disminuidas de  $\beta$ hCG y el desarrollo de PE, los estudios realizados por Mikat *et al.* [133] o por Jelliffe-Pawlowski [187] mostraron una tendencia opuesta, de modo que la elevación de  $\beta$ hCG duplicaba el riesgo de PE, o incluso lo triplicaba en el caso de la PE precoz. Esta controversia puede ser explicada en parte por la heterogeneidad de las poblaciones estudiadas. Algunos de estos estudios han utilizado como grupo control una población de gestantes sanas excluyendo aquellas que presentaran comorbilidad u otras complicaciones obstétricas que pudieran afectar a los valores de los biomarcadores [133,134,189], mientras que otros no han sido tan estrictos o incluso han analizado por separado las distintas complicaciones [185,187,188,192]. En nuestro caso, debemos tener en cuenta que nuestro grupo no-PE puede considerarse de riesgo, ya que está constituido por gestantes que a lo largo de su embarazo acudieron a Urgencias por sospecha de PE. Por ello, la comorbilidad y complicaciones

asociadas (hipertensión gestacional, diabetes, CIR, etc.) están altamente representadas y probablemente sobreestimadas con respecto a la población general de gestantes. Este hecho, podría explicar por qué en nuestro caso no somos capaces de encontrar diferencias estadísticamente significativas en los niveles de  $\beta$ hCG entre los grupos PE y no-PE. Sin embargo, también es importante resaltar que se observaron diferencias en los niveles de PAPP-A entre nuestro grupo no-PE y PE. De hecho, aunque los niveles de esta proteína se encuentren alterados en gestantes de riesgo (y de hecho, en nuestro grupo no-PE la mediana está por debajo de 1,0 MoM), comprobamos que esta alteración es más intensa en las gestantes con PE.

La PAPP-A es una metaloproteinasa que participa en la proteólisis de las proteínas fijadoras de la IGFBP-4, de modo que su actividad incrementa la biodisponibilidad del IGF [129]. El IGF regula la proliferación, diferenciación y supervivencia de distintos tipos celulares. En concreto durante la gestación, la concentración de IGF aumenta drásticamente y parece estar involucrado en la regulación de la proliferación del citotrofoblasto, por lo que sería clave en el proceso fisiológico de la placentación [193]. De acuerdo con esta hipótesis, las gestantes con bajos niveles de PAPP-A tendrían una menor biodisponibilidad de IGF, lo que contribuiría a una invasión trofoblástica anómala, que podría ser la base para el desarrollo de diversas complicaciones obstétricas como la PE. En consonancia con esta teoría, se han relacionado niveles bajos de PAPP-A con diversas complicaciones obstétricas como PE, prematuridad o bajo peso para la edad gestacional que cursan con alteraciones histológicas a nivel placentario [194]. Por otra parte, se ha demostrado que las gestantes con niveles disminuidos de PAPP-A presentan placentas con un menor número de capilares y que además éstos tienen un calibre más reducido [195]. El defecto de placentación podría provocar a su vez que el citotrofoblasto respondiera con una producción inadecuada de PAPP-A hacia la circulación materna [196].

Sin embargo, la utilidad de la PAPP-A de forma aislada en el cribado precoz de PE es limitada, de modo que en el análisis ROC presentado en este trabajo, este marcador mostró un AUC que no alcanzó el 0,700 y que impidió plantear un punto de corte con la sensibilidad y especificidad adecuadas. La capacidad de detección de los casos afectados ha sido limitante también en otros trabajos [186,188–190]. Por ello, se han planteado modelos de predicción que incluyan, además de la determinación de la PAPP-A, otras variables clínicas y analíticas. Así, una reciente revisión realizada por Poon y Nicolaidis [197] ha planteado que es posible cribar la PE precoz en el primer trimestre de gestación con una tasa de detección del 95% y una tasa de falsos positivos del 10% utilizando una combinación de características clínicas y marcadores

bioquímicos (tensión arterial, índice de pulsatilidad de arterias uterinas, concentración de PIGF y de PAPP-A). Sin embargo, éste es el estudio más optimista, ya que otros estudios, para una misma tasa de falsos positivos, muestran una sensibilidad inferior al 80% en el mejor de los casos [94,95,97], e incluso en algunos de ellos, los modelos propuestos prescindían de la determinación de la PAPP-A [94,95]. Recientemente, Crovetto *et al.* [198] describieron que la utilización de un algoritmo que combina características maternas, parámetros biofísicos y marcadores pro- y anti-angiogénicos (PIGF y sFlt-1) en el primer trimestre de la gestación conseguía una sensibilidad para PE precoz y tardía, de 91% y 76%, respectivamente, con un 10% de falsos positivos. En el presente estudio, a parte de los marcadores PAPP-A y  $\beta$ hCG, no disponemos de algunas de las variables que, de acuerdo con los estudios mencionados, podrían ser útiles en la predicción de la PE en el primer trimestre, y aquéllas de las que disponemos (nuliparidad, HTA crónica, diabetes, PE previa) no han resultado significativas en el modelo de regresión logística. Hay que tener en cuenta que, como ya indicamos previamente, nuestra población no-PE se trata de una población de riesgo, con alta comorbilidad e incidencia de complicaciones, y que por tanto no es adecuada para desarrollar un modelo de cribado de PE que incluya variables clínicas y analíticas.

En definitiva, aunque la determinación de la PAPP-A junto con la introducción de nuevos marcadores como el PIGF o los índices derivados de las pruebas ecográficas, parecen aportar un valor añadido en los modelos de predicción precoz de PE, se requieren más estudios que dilucidan estos hallazgos antes de que puedan ser implantados en la práctica clínica. La puesta en práctica de un programa de cribado de estas características debe tener en cuenta las ventajas e inconvenientes de seleccionar el grupo de riesgo, así como la ansiedad creada a las gestantes consideradas con riesgo de desarrollar PE.

### **3. Deficiencia de vitamina D y PE**

La deficiencia de vitamina D ha sido asociada con diferentes complicaciones del embarazo, entre ellas la vaginosis bacteriana, la diabetes gestacional, el bajo peso para la edad gestacional o la PE [199–202]. En este trabajo se ha estudiado la relación entre los niveles de 25(OH)D y el desarrollo de PE en dos momentos diferentes de la gestación: en el primer trimestre y en el momento en que aparecen los primeros síntomas de la enfermedad, cuando la gestante acude a las Urgencias Obstétricas.

En nuestra población de estudio, la deficiencia de vitamina D durante el primer trimestre de gestación no mostró asociación con el posterior desarrollo de PE (Tabla 28). Bodnar *et al.* [141] demostraron en uno de los primeros estudios que abordaron la búsqueda de una relación entre vitamina D y PE, que los niveles de 25(OH)D por debajo de 15 ng/mL medidos antes de la semana 16 aumentaban la probabilidad de desarrollar la enfermedad a lo largo del embarazo con OR de 5,0. Posteriormente, Achkar *et al.* [203] encontraron una asociación más moderada, concluyendo que la deficiencia de vitamina D [25(OH)D <12ng/mL] antes de la semana 20 se asociaba con el desarrollo de la enfermedad con un OR de 2,2. Sin embargo, una amplia mayoría de los estudios que han analizado los niveles de 25(OH)D entre las semanas 11 – 13 de gestación no han podido corroborar esta asociación [145,147,204–206] ni siquiera considerando sólo los casos de PE grave o con partos pretérmino [205] o, como en nuestro caso, analizando PE precoz y tardía por separado [147]. Wei *et al.* [144] que determinaron la concentración de 25(OH)D en dos momentos diferentes de la gestación, tampoco encontraron asociación entre la PE y la deficiencia de vitamina D [25(OH)D <20ng/mL] en la etapa más temprana (semanas 12 – 18). Estos resultados han sido corroborados recientemente por Zhou *et al.* [207] en un estudio prospectivo desarrollado en China, en el que utilizaron una ventana de edad gestacional semejante y la misma definición de deficiencia de vitamina D. Por tanto, de acuerdo con nuestros resultados y los obtenidos por otros grupos, no parece que la vitamina D sea un predictor precoz del desarrollo de PE, y por ello cabe pensar que no juega un papel crucial, al menos en la etapa más temprana de la enfermedad.

Los resultados hallados con respecto a la deficiencia de vitamina D en el momento en el que comenzaron los síntomas de la enfermedad tienen diferentes implicaciones dependiendo del grupo de edad gestacional analizado. Aunque Robinson *et al.* [143] demostraron que la presencia de una concentración de 25(OH)D inferior a 19,6 ng/mL aumentaba la probabilidad de ser diagnosticada de PE precoz con un OR de 3,6, en nuestro estudio no se detectó tal asociación en el grupo <34 semanas. Un importante matiz que podría explicar estas diferencias es que mientras que en nuestro caso se determinaron los niveles de 25(OH)D antes de que se instaurara la enfermedad, otros grupos como el del estudio mencionado, tomaron las muestras cuando la PE ya había sido diagnosticada. Por otro lado, la deficiencia de vitamina D sí demostró estar asociada con el desarrollo de PE tardía en nuestra población de estudio, con un OR de 4,5 (IC95%: 1,4 – 14) (Tabla 29). Estos resultados son coherentes con los publicados recientemente por Xu *et al.* [208] en un estudio retrospectivo que incluyó 100 PE y 100 controles con toma de muestra a partir de las 24 semanas y utilizando el mismo

inmunoensayo que nosotros para la determinación de 25(OH)D. En ese caso encontraron asociación entre la PE y la deficiencia de vitamina D con un OR de 4,23 (IC95%: 1,4 – 12,8), aunque ellos utilizaron un punto de corte para la 25(OH)D de 15 ng/mL. La asociación encontrada por Wei *et al.* [144] fue ligeramente inferior (OR: 3,24; IC95%: 1,37 – 7,69) aunque sus resultados correspondían a un rango de edad gestacional más precoz que el nuestro (20 – 26 frente a  $\geq 34$  semanas). Singla *et al.* [209] encontraron una alta prevalencia de deficiencia de vitamina D (con el mismo corte de 20 ng/mL) en población India tanto sana como PE, pero con diferencias en la concentración de 25(OH)D entre ambos grupos (14,8 *versus* 9,7 ng/mL). Otro hallazgo que refuerza la existencia de una relación entre vitamina D y PE tardía es el hecho de que las gestantes que desarrollaron la enfermedad mostraron una disminución en la concentración de 25(OH)D entre el primer trimestre y el ingreso en Urgencias, en contraste con el aumento observado en las gestantes que no desarrollaron la enfermedad (Figura 24). Wei *et al.* [144] hallaron una tendencia semejante, aunque las diferencias no llegaron a ser estadísticamente significativas.

En el análisis multivariante, el cociente sFlt-1/PlGF demostró ser el único predictor de la PE precoz y el marcador de mayor peso en el caso de la PE tardía. La PE tardía, sin embargo, demostró estar asociada con otras variables como la deficiencia de vitamina D en el momento del ingreso, el NT-proBNP y las gestaciones múltiples (Tabla 29). De nuevo estos hallazgos son consistentes con la teoría de que la PE precoz tiene su causa principal en una disfunción placentaria que desencadena el estado anti-angiogénico, mientras que en la PE tardía, a esta disfunción placentaria se suman otra serie de factores. El hecho de que en este subgrupo de gestantes el ácido úrico no permaneciera en el modelo multivariante ni para la PE precoz ni para la tardía, podría deberse al menor tamaño poblacional respecto al incluido en el primero de los capítulos (n=257 *versus* 340).

Aunque factores reguladores de la angiogénesis y vitamina D juegan un papel en el desarrollo de la PE tardía, se desconoce si actúan de manera conjunta o a través de vías fisiopatológicas diferentes. Por una parte, ni nosotros ni otros grupos hemos encontrado correlación entre la 25(OH)D y los factores angiogénicos como el PlGF, el sFlt-1 o el VEGF [148,210,211]. No obstante, Grundmann *et al.* [212] demostraron que la adición de vitamina D a células progenitoras endoteliales *in vitro* estimulaba la angiogénesis, presumiblemente a través del VEGF. En la misma línea, Zhong *et al.* [213] observaron que la 1,25-dihidroxivitamina D inducía la expresión de VEGF y de sus receptores Flt-1 y KDR en células endoteliales diferenciadas, favoreciendo su proliferación y migración. Recientemente Chan *et al.* [214] han demostrado que tanto

la 25(OH)D como la 1,25-dihidroxitamina D estimulan la capacidad invasora de los citotrofblastos extravelosos *in vitro*. Sin embargo, aunque de acuerdo con estos estudios la vitamina D podría ser importante durante la placentación, se desconoce cuál es la concentración necesaria *in vivo* para que este proceso no se vea afectado, por lo que no podemos concluir que la deficiencia de vitamina D sea la causa de una placentación anómala. De hecho, la ausencia de relación entre PE y vitamina D durante el primer trimestre de gestación (evidenciada en este y muchos otros trabajos) hace pensar que no es esta hormona la responsable de una invasión trofoblástica anómala, ya que precisamente este proceso tiene lugar en la primera etapa del embarazo.

Como se indicaba en la introducción, en la fisiopatología de la PE se pueden distinguir dos fases: la primera, en la que se produce la placentación anómala, y la segunda, en la que los factores placentarios, el estrés oxidativo o la respuesta inflamatoria, entre otros, desencadenan las manifestaciones maternas de la enfermedad. La vitamina D, por tanto, podría jugar un papel más importante en la segunda de estas fases, lo que explicaría por qué no encontramos relación entre vitamina D y PE en el primer trimestre (cuando transcurre la primera etapa). En el caso de las gestantes que desarrollan PE precoz, la disfunción placentaria sería tan grave que las manifestaciones se producirían antes de la semana 34 independientemente de la presencia de otros factores secundarios (lo que explicaría por qué la deficiencia de vitamina D no está relacionada con el desarrollo de la forma más temprana de la enfermedad). Sin embargo, en las gestantes que desarrollan PE tardía, la disfunción placentaria sería menor (lo que explicaría el menor rendimiento del cociente sFlt-1/PlGF) y aunque ésta sentaría las bases para el desarrollo de la enfermedad, serían otros factores secundarios, entre ellos la deficiencia de vitamina D, los desencadenantes definitivos. Se han planteado diferentes teorías que explicarían el mecanismo de acción de la vitamina D en esta situación. En primer lugar se ha demostrado una asociación entre concentraciones bajas de vitamina D y actividad elevada del sistema renina-angiotensina-aldosterona, por lo que se ha postulado que la vitamina D es un represor de este sistema [215,216]. Zhou *et al.* [217] demostraron en un modelo animal que la ausencia de 1,25-hidroxitamina D inducía el desarrollo de HTA, hipertrofia ventricular y alteración de la función cardiovascular (lo que a su vez explicaría la elevación de NT-proBNP), debido a la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona. Asimismo, comprobaron que la administración exógena de la vitamina revertía estos hallazgos. Es, por tanto, posible que la pérdida de la regulación de la tensión arterial inducida por deficiencia de vitamina D, sea la

responsable de la HTA en las gestantes con PE. Por otra parte, la vitamina D podría participar en la regulación de la respuesta inmunológica, que ha demostrado estar alterada en casos de PE [32,35]. La vitamina D podría limitar la respuesta inflamatoria en la placenta, ya que se ha comprobado que es capaz de inhibir la producción de citoquinas pro-inflamatorias como el TNF- $\alpha$  o la IL-6 a través del VDR en células procedentes de la placenta [218,219]. De ese modo, la deficiencia de vitamina D favorecería un fenotipo inmunológico Th1, caracterizado por un estado pro-inflamatorio que desencadenaría daño endotelial y una reducción de la inmunotolerancia frente a los antígenos fetales de origen paterno.

Teniendo en cuenta la elevada prevalencia de la deficiencia de vitamina D en gestantes, que se sitúa entre el 18 – 84%, dependiendo del área geográfica de procedencia [200] (78,6% en nuestra población de estudio), la asociación entre vitamina D y PE tiene importantes implicaciones clínicas. Si esta relación se confirma, la deficiencia de vitamina D sería un factor de riesgo de PE sujeto a modificación, por lo que un potencial campo de investigación sería comprobar si la administración de suplementos de vitamina D podría reducir el riesgo de desarrollar la enfermedad. Aunque la administración de vitamina D a gestantes en riesgo de PE ha demostrado algunos beneficios (disminución de tensión arterial, aumento de actividad antioxidante, mejoras en el metabolismo de la insulina o en el perfil de lípidos) [220,221], un reciente meta-análisis, que ha analizado ensayos clínicos aleatorizados, no ha sido capaz de encontrar una reducción en el riesgo de la enfermedad [222]. Sin embargo, se requieren más estudios con los diseños adecuados para lograr establecer una conclusión definitiva.

#### **4. Limitaciones y fortalezas del estudio**

Una limitación de nuestro trabajo es que los modelos multivariantes obtenidos no incluyen algunas de las características maternas cuya asociación con el desarrollo de PE es bien conocida, como la diabetes, la HTA crónica, la nuliparidad, el IMC elevado o la PE previa, probablemente debido al bajo número de casos.

Por otro lado, un punto fuerte de este trabajo es la estratificación de la población en dos grupos en función de la edad gestacional al ingreso para diferenciar entre PE precoz y tardía. Esto nos ha permitido identificar la diferente contribución de cada uno de los marcadores analizados a una u otra forma de la enfermedad. Además, nuestra población de estudio incluye gestantes que acudieron a Urgencias Obstétricas por sospecha de PE, por lo que la evaluación de los marcadores se ha realizado en un

escenario realista que representa fielmente el ámbito en el que éstos van a ser utilizados.





# CONCLUSIONES



- 1.** El cociente sFlt-1/PIGF es el marcador que ha demostrado mayor utilidad en la identificación de gestantes que van a desarrollar PE en un plazo inferior a 3 semanas, especialmente en gestantes <34 semanas de gestación.
- 2.** El NT-proBNP ofrece una sensibilidad y especificidad aceptables en el diagnóstico de PE precoz y tardía, aunque éstas no logran superar a las obtenidas con el marcador clásico ácido úrico.
- 3.** El cociente sFlt-1/PIGF es útil en la identificación de gestantes con riesgo de desenlace adverso que acuden a Urgencias Obstétricas antes de las 34 semanas de gestación, entendido éste como parto inminente en la primera semana tras el ingreso, muerte fetal o muerte neonatal temprana.
- 4.** El NT-proBNP permite detectar el desarrollo de desenlace adverso en gestantes <34 semanas de gestación con un rendimiento semejante al del cociente sFlt-1/PIGF, por lo que en ausencia de éste último puede ser una alternativa aceptable.
- 5.** Aunque la concentración sérica de PAPP-A se encuentra disminuida en el primer trimestre en gestantes que posteriormente desarrollan PE precoz, su uso de forma aislada no permite la predicción precoz de la enfermedad.
- 6.** La deficiencia de vitamina D en el tercer trimestre del embarazo ha mostrado una relación con el desarrollo de PE tardía.



# **BIBLIOGRAFÍA**



1. Mammaro A, Carrara S, Cavaliere A, Ermito S, Dinatale A, Pappalardo EM, Militello M, Pedata R. Hypertensive disorders of pregnancy. *J Prenat Med* 2009; 3:1-5.
2. Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011; 25:391-403.
3. Say L, Chou D, Gemmill A, Tunçalp Ö, Moller A-B, Daniels J, Gülmezoglu AM, Temmerman M, Alkema L. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *Lancet Glob Health* 2014; 2:e323-e333.
4. Comino R. Los estados hipertensivos del embarazo en nuestro país. *Progr Obstet Ginecol* 1987; 30:73-8.
5. Cortés S, Pérez F, Gobernado JA, Mora P. Epidemiología de los estados hipertensivos del embarazo. *Clin Invest Gin Obst* 2009; 36:132-139.
6. Ananth CV, Keyes KM, Wapner RJ. Pre-eclampsia rates in the United States, 1980-2010: age-period-cohort analysis. *BMJ* 2013; 347:f6564-f6564.
7. Creanga AA, Berg CJ, Syverson C, Seed K, Bruce FC, Callaghan WM. Pregnancy-related mortality in the United States, 2006–2010: *Obstet Gynecol* 2015; 125:5-12.
8. Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. *Semin Perinatol* 2012; 36:56-59.
9. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ* 2005; 330:565.
10. Ghosh G, Grewal J, Männistö T, Mendola P, Chen Z, Xie Y, Laughon SK. Racial/ethnic differences in pregnancy-related hypertensive disease in nulliparous women. *Ethn Dis* 2014; 24:283-289.
11. Boyd HA, Tahir H, Wohlfahrt J, Melbye M. Associations of personal and family preeclampsia history with the risk of early-, intermediate- and late-onset preeclampsia. *Am J Epidemiol* 2013; 178:1611-1619.
12. Thomopoulos C, Tsioufis C, Michalopoulou H, Makris T, Papademetriou V, Stefanadis C. Assisted reproductive technology and pregnancy-related



- hypertensive complications: a systematic review. *J Hum Hypertens* 2013; 27:148-157.
13. Simeone S, Serena C, Rambaldi MP, Marchi L, Mello G, Mecacci F. Risk of preeclampsia and obstetric outcome in donor oocyte and autologous in vitro fertilization pregnancies. *Minerva Ginecol* 2014; Epub ahead of print 17 Dic 2014.
  14. Campbell DM, MacGillivray I. Preeclampsia in twin pregnancies: incidence and outcome. *Hypertens Pregnancy* 1999; 18:197-207.
  15. Paré E, Parry S, McElrath TF, Pucci D, Newton A, Lim K-H. Clinical risk factors for preeclampsia in the 21st century. *Obstet Gynecol* 2014; 124:763-770.
  16. Bateman BT, Bansil P, Hernandez-Diaz S, Mhyre JM, Callaghan WM, Kuklina EV. Prevalence, trends, and outcomes of chronic hypertension: a nationwide sample of delivery admissions. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 206:134.e1-134.e8.
  17. Maruotti GM, Sarno L, Napolitano R, Mazzarelli LL, Quaglia F, Capone A, Capuano A, Martinelli P. Preeclampsia in women with chronic kidney disease. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25:1367-1369.
  18. Yogev Y, Xenakis EMJ, Langer O. The association between preeclampsia and the severity of gestational diabetes: the impact of glycemic control. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:1655-1660.
  19. Weissgerber TL, Mudd LM. Preeclampsia and diabetes. *Curr Diab Rep* 2015; 15:9.
  20. Skomsvoll JF, Ostensen M, Irgens LM, Baste V. Pregnancy complications and delivery practice in women with connective tissue disease and inflammatory rheumatic disease in Norway. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000; 79:490-495.
  21. Østensen M, Cetin I. Autoimmune connective tissue diseases. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2015; 29:658-670.
  22. Mello G, Parretti E, Marozio L, Pizzi C, Lojacono A, Frusca T, Facchinetti F, Benedetto C. Thrombophilia is significantly associated with severe preeclampsia: results of a large-scale, case-controlled study. *Hypertension* 2005; 46:1270-1274.

23. Ji L, Brkić J, Liu M, Fu G, Peng C, Wang YL. Placental trophoblast cell differentiation: physiological regulation and pathological relevance to preeclampsia. *Mol Aspects Med* 2013; 34:981-1023.
24. Red-Horse K, Zhou Y, Genbacev O, Prakobphol A, Foulk R, McMaster M, Fisher SJ. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. *J Clin Invest* 2004; 114:744-754.
25. Karumanchi SA, Maynard SE, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP. Preeclampsia: a renal perspective. *Kidney Int* 2005; 67:2101-2113.
26. Devisme L, Merlot B, Ego A, Houfflin-Debargue V, Deruelle P, Subtil D. A case-control study of placental lesions associated with pre-eclampsia. *Int J Gynecol Obstet* 2013; 120:165-168.
27. Stevens DU, Al-Nasiry S, Bulten J, Spaanderman MEA. Decidual vasculopathy in preeclampsia: lesion characteristics relate to disease severity and perinatal outcome. *Placenta* 2013; 34:805-809.
28. Staff AC, Dechend R, Pijnenborg R. Learning from the placenta: acute atherosclerosis and vascular remodeling in preeclampsia - Novel aspects for atherosclerosis and future cardiovascular health. *Hypertension* 2010; 56:1026-1034.
29. Acar N, Ustunel I, Demir R. Uterine natural killer (uNK) cells and their missions during pregnancy: a review. *Acta Histochem* 2011; 113:82-91.
30. Bachmayer N, Rafik Hamad R, Liszka L, Bremme K, Sverremark-Ekström E. Aberrant uterine natural killer (NK)-cell expression and altered placental and serum levels of the NK-cell promoting cytokine interleukin-12 in pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol* 2006; 56:292-301.
31. Wallace AE, Host AJ, Whitley GS, Cartwright JE. Decidual natural killer cell interactions with trophoblasts are impaired in pregnancies at increased risk of preeclampsia. *Am J Pathol* 2013; 183:1853-1861.
32. Perez-Sepulveda A, Torres MJ, Khoury M, Illanes SE. Innate immune system and preeclampsia. *Front Immunol* 2014; 5:244.

33. Reslan O, Khalil R. Molecular and vascular targets in the pathogenesis and management of the hypertension associated with preeclampsia. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2010; 8:204-226.
34. Levron Y, Dviri M, Segol I, Yerushalmi GM, Hourvitz A, Orvieto R, Mazaki-Tovi S, Yinon Y. The "immunologic theory" of preeclampsia revisited: a lesson from donor oocyte gestations. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 211:383.e1-383.e5.
35. Mihiu D, Razvan C, Malutan A, Mihaela C. Evaluation of maternal systemic inflammatory response in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2015; 54:160-166.
36. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340:448-454.
37. Kovacevic A, Hammer A, Sundl M, Pfister B, Hrzenjak A, Ray A, Ray BK, Sattler W, Malle E. Expression of serum amyloid A transcripts in human trophoblast and fetal-derived trophoblast-like choriocarcinoma cells. *FEBS Lett* 2006; 580:161-167.
38. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011; 25:287-299.
39. Xia Y, Kellems RE. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies and hypertension: preeclampsia and beyond. *Circ Res* 2013; 113:78-87.
40. Haram K, Mortensen JH, Nagy B. Genetic aspects of preeclampsia and the HELLP syndrome. *J Pregnancy* 2014; 2014:13 pages (ID 910751).
41. Cnattingius S, Reilly M, Pawitan Y, Lichtenstein P. Maternal and fetal genetic factors account for most of familial aggregation of preeclampsia: a population-based Swedish cohort study. *Am J Med Genet A* 2004; 130A:365-371.
42. Triche EW, Uzun A, DeWan AT, Kurihara I, Liu J, Occhiogrosso R, Shen B, Parker J, Padbury JF. Bioinformatic approach to the genetics of preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2014; 123:1155-1161.
43. van Dijk M, Oudejans CBM. STOX1: Key player in trophoblast dysfunction underlying early onset preeclampsia with growth retardation. *J Pregnancy* 2010; 2011:7 pages (ID 521826).

44. Wang XM, Wu HY, Qiu XJ. Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) gene C677T polymorphism and risk of preeclampsia: an updated meta-analysis based on 51 studies. *Arch Med Res* 2013; 44:159-168.
45. Xia X, Chang W, Cao Y. Meta-analysis of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and susceptibility to pre-eclampsia. *Hypertens Res Off J Jpn Soc Hypertens* 2012; 35:1129-1134.
46. Andraweera PH, Dekker GA, Roberts CT. The vascular endothelial growth factor family in adverse pregnancy outcomes. *Hum Reprod Update* 2012; 18:436-457.
47. Gregory AL, Xu G, Sotov V, Letarte M. Review: The enigmatic role of endoglin in the placenta. *Placenta* 2014; 35:S93-S99.
48. 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 preeclampsia. *N Engl J Med* 2004; 350:672-683.
49. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, Karumanchi SA. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006; 355:992-1005.
50. Ohkuchi A, Hirashima C, Matsubara S, Suzuki H, Takahashi K, Arai F, Watanabe T, Kario K, Suzuki M. Alterations in placental growth factor levels before and after the onset of preeclampsia are more pronounced in women with early onset severe preeclampsia. *Hypertens Res* 2007; 30:151.
51. Lee ES, Oh MJ, Jung JW, Lim JE, Seol HJ, Lee KJ, Kim HJ. The levels of circulating vascular endothelial growth factor and soluble Flt-1 in pregnancies complicated by preeclampsia. *J Korean Med Sci* 2007; 22:94-98.
52. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003; 111:649-658.

53. Bergmann A, Ahmad S, Cudmore M, Gruber AD, Wittschen P, Lindenmaier W, Christofori G, Gross V, Gonzalves AC da C, Gröne HJ, Ahmed A, Weich HA. Reduction of circulating soluble Flt-1 alleviates preeclampsia-like symptoms in a mouse model. *J Cell Mol Med* 2010; 14:1857-1867.
54. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, Bdolah Y, Lim KH, Yuan HT, Libermann TA, Stillman IE, Roberts D, D'Amore PA, Epstein FH, Sellke FW, Romero R, Sukhatme VP, Letarte M, Karumanchi SA. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 2006; 12:642-649.
55. Zhou Q, Liu H, Qiao F, Wu Y, Xu J. VEGF deficit is involved in endothelium dysfunction in preeclampsia. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2010; 30:370-374.
56. Zhou Q, Qiao FY, Zhao C, Liu HY. Hypoxic trophoblast-derived sFlt-1 may contribute to endothelial dysfunction: implication for the mechanism of trophoblast-endothelial dysfunction in preeclampsia. *Cell Biol Int* 2011; 35:61-66.
57. Müller-Deile J, Schiffer M. Renal involvement in preeclampsia: similarities to VEGF ablation therapy. *J Pregnancy* 2011; 2011:6 pages (ID 176973).
58. Chaiworapongsa T, Chaemsaitong P, Yeo L, Romero R. Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. *Nat Rev Nephrol* 2014; 10:466-480.
59. Tam KBT, Lamarca B, Arany M, Cockrell K, Fournier L, Murphy S, Martin JN, Granger JP. Role of reactive oxygen species during hypertension in response to chronic antiangiogenic factor (sFlt-1) excess in pregnant rats. *Am J Hypertens* 2011; 24:110-113.
60. Jerkic M, Rivas-Elena J, Prieto M, Carrón R, Sanz-Rodríguez F, Pérez-Barriocanal F, Rodríguez-Barbero A, Bernabeu C, López-Novoa J. Endoglin regulates nitric oxide-dependent vasodilatation. *FASEB J* 2004; 18:609-611.
61. Gilbert JS, Ryan MJ, LaMarca BB, Sedeek M, Murphy SR, Granger JP. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *AJP Heart Circ Physiol* 2008; 294:H541-H550.

62. Stillman IE, Karumanchi SA. The glomerular injury of preeclampsia. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18:2281-2284.
63. Han L, Yang Z, Li K, Zou J, Li H, Han J, Zhou L, Liu X, Zhang X, Zheng Y, Yu L, Li L. Antepartum or immediate postpartum renal biopsies in preeclampsia/eclampsia of pregnancy: new morphologic and clinical findings. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7:5129.
64. Ahmed KT. Liver diseases in pregnancy: Diseases unique to pregnancy. *World J Gastroenterol* 2013; 19:7639-7646.
65. George J, Charania R. Evaluation of patients with microangiopathic hemolytic anemia and thrombocytopenia. *Semin Thromb Hemost* 2013; 39:153-160.
66. Eastabrook G, Brown M, Sargent I. The origins and end-organ consequence of pre-eclampsia. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011; 25:435-447.
67. Zeeman GG. Neurologic complications of pre-eclampsia. *Semin Perinatol* 2009; 33:166-172.
68. Steegers EAP, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet* 2010; 376:631-644.
69. Young BC, Levine RJ, Karumanchi SA. Pathogenesis of preeclampsia. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2010; 5:173-192.
70. Raymond D, Peterson E. A critical review of early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv* 2011; 66:497-506.
71. Espinoza J. Uteroplacental ischemia in early- and late-onset pre-eclampsia: a role for the fetus? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012; 40:373-382.
72. Stergiotou I, Crispi F, Valenzuela-Alcaraz B, Bijmens B, Gratacos E. Patterns of maternal vascular remodeling and responsiveness in early- versus late-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 209:558.e1-558.e14.
73. American College of Obstetricians and Gynecologists. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2013; 122:1122-1131.

74. Espinoza J. The need to redefine preeclampsia. *Expert Opin Med Diagn* 2012; 6:347-357.
75. Sibai BM, Stella CL. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200:481.e1-481.e7.
76. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005; 365:785-799.
77. Madazli R, Yuksel MA, Imamoglu M, Tuten A, Oncul M, Aydin B, Demirayak G. Comparison of clinical and perinatal outcomes in early- and late-onset preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet* 2014; 290:53-57.
78. Lisonkova S, Sabr Y, Mayer C, Young C, Skoll A, Joseph KS. Maternal morbidity associated with early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2014; 124:771-781.
79. Tuuli MG, Rampersad R, Stamilio D, Macones G, Odibo AO. Perinatal outcomes in women with preeclampsia and superimposed preeclampsia: do they differ? *Am J Obstet Gynecol* 2011; 204:508.e1-508.e7.
80. Vigil-De Gracia P, Ortega-Paz L. Pre-eclampsia/eclampsia and hepatic rupture. *Int J Gynaecol Obstet* 2012; 118:186-189.
81. Haram K, Svendsen E, Abildgaard U. The HELLP syndrome: clinical issues and management. A Review. *BMC Pregnancy Childbirth* 2009; 9:8.
82. Erez O, Mastrolia SA, Thachil J. Disseminated intravascular coagulation in pregnancy: insights in pathophysiology, diagnosis and management. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 213:452-463.
83. Hart LA, Sibai BM. Seizures in pregnancy: epilepsy, eclampsia, and stroke. *Semin Perinatol* 2013; 37:207-224.
84. Oyelese Y, Ananth CV. Placental abruption. *Obstet Gynecol* 2006; 108:1005-1016.
85. Moatti Z, Gupta M, Yadava R, Thamban S. A review of stroke and pregnancy: incidence, management and prevention. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014; 181:20-27.

86. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams DJ. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2007; 335:974.
87. Kessous R, Shoham-Vardi I, Pariente G, Sergienko R, Sheiner E. Long-term maternal atherosclerotic morbidity in women with pre-eclampsia. *Heart* 2015; 101:442-446.
88. Yang JJ, Lee SA, Choi JY, Song M, Han S, Yoon HS, Lee Y, Oh J, Lee JK, Kang D. Subsequent risk of metabolic syndrome in women with a history of preeclampsia: data from the health examinees study. *J Epidemiol* 2015; 25:281-288.
89. Feig DS, Shah BR, Lipscombe LL, Wu CF, Ray JG, Lowe J, Hwee J, Booth GL. Preeclampsia as a risk factor for diabetes: a population-based cohort study. Middleton P, ed. *PLoS Med* 2013; 10:e1001425.
90. Gibson AT. Outcome following preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2007; 21:869-882.
91. Cox P, Marton T. Pathological assessment of intrauterine growth restriction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2009; 23:751-764.
92. Harmon QE, Huang L, Umbach DM, Klungsoyr K, Engel SM, Magnus P, Skjærven R, Zhang J, Wilcox AJ. Risk of fetal death with preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2015; 125:628-635.
93. Lewandowski AJ, Leeson P. Preeclampsia, prematurity and cardiovascular health in adult life. *Early Hum Dev* 2014; 90:725-729.
94. Di Lorenzo G, Ceccarello M, Cecotti V, Ronfani L, Monasta L, Vecchi Brumatti L, Montico M, D'Ottavio G. First trimester maternal serum PIGF, free  $\beta$ -hCG, PAPP-A, PP-13, uterine artery Doppler and maternal history for the prediction of preeclampsia. *Placenta* 2012; 33:495-501.
95. Scazzocchio E, Figueras F, Crispi F, Meler E, Masoller N, Mula R, Gratacos E. Performance of a first-trimester screening of preeclampsia in a routine care low-risk setting. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 208:203.e1-203.e10.



96. Caradeux J, Serra R, Nien J-K, Pérez-Sepulveda A, Schepeler M, Guerra F, Gutiérrez J, Martínez J, Cabrera C, Figueroa-Diesel H, Soothill P, Illanes SE. First trimester prediction of early onset preeclampsia using demographic, clinical, and sonographic data: a cohort study: First trimester prediction of early onset preeclampsia. *Prenat Diagn* 2013; 33:732-736.
97. Baschat AA, Magder LS, Doyle LE, Atlas RO, Jenkins CB, Blitzer MG. Prediction of preeclampsia utilizing the first trimester screening examination. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 211:514.e1-514.e7.
98. Magee LA, Pels A, Helewa M, Rey E, von Dadelszen P. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *Pregnancy Hypertens Int J Womens Cardiovasc Health* 2014; 4:105-145.
99. Xu T, Zhou F, Deng C, Huang G, Li J, Wang X. Low-dose aspirin for preventing preeclampsia and its complications: a meta-analysis. *J Clin Hypertens* 2015:567-573.
100. LeFevre ML. Low-dose aspirin use for the prevention of morbidity and mortality from preeclampsia: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Ann Intern Med* 2014; 161:819.
101. Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Protocolos SEGO: Trastornos hipertensivos del embarazo. *Prog Obstet Ginecol* 2007; 50:446-55.
102. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG - Antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 117:422-424.
103. Kozic JR, Benton SJ, Hutcheon JA, Payne BA, Magee LA, von Dadelszen P, Preeclampsia Integrated Estimate of RiSk Study Group. Abnormal liver function tests as predictors of adverse maternal outcomes in women with preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Can* 2011; 33:995-1004.
104. Thangaratinam S, Koopmans CM, Iyengar S, Zamora J, Ismail KMK, Mol BWJ, Khan KS, For TIPPS (Tests In Prediction of Preeclampsia's Severity) Review Group. Accuracy of liver function tests for predicting adverse maternal and fetal outcomes in women with preeclampsia: a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2011; 90:574-585.

105. Bainbridge SA, Roberts JM. Uric acid as a pathogenic factor in preeclampsia. *Placenta* 2008; 29:67-72.
106. Powers RW, Bodnar LM, Ness RB, Cooper KM, Gallaher MJ, Frank MP, Daftary AR, Roberts JM. Uric acid concentrations in early pregnancy among preeclamptic women with gestational hyperuricemia at delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194:160.e1-160.e8.
107. Parrish M, Griffin M, Morris R, Darby M, Owens MY, Martin JN. Hyperuricemia facilitates the prediction of maternal and perinatal adverse outcome in patients with severe/superimposed preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010; 23:1451-1455.
108. Ohkuchi A, Hirashima C, Matsubara S, Suzuki H, Takahashi K, Usui R, Suzuki M. Serum sFlt1:PIGF ratio, PIGF, and soluble endoglin levels in gestational proteinuria. *Hypertens Pregnancy Off J Int Soc Study Hypertens Pregnancy* 2009; 28:95-108.
109. 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/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 202:161.e1-161.e11.
110. Ohkuchi A, Hirashima C, Suzuki H, Takahashi K, Yoshida M, Matsubara S, Suzuki M. Evaluation of a new and automated electrochemiluminescence immunoassay for plasma sFlt-1 and PIGF levels in women with preeclampsia. *Hypertens Res Off J Jpn Soc Hypertens* 2010; 33:422-427.
111. Sunderji S, Gaziano E, Wothe D, Rogers LC, Sibai B, Karumanchi SA, Hodges-Savola C. Automated assays for sVEGF R1 and PIGF as an aid in the diagnosis of preterm preeclampsia: a prospective clinical study. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 202:40.e1-40.e7.
112. 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.
113. Chaiworapongsa T, Romero R, Savasan ZA, Kusanovic JP, Ogge G, Soto E, Dong Z, Tarca A, Gaurav B, Hassan SS. Maternal plasma concentrations of

- angiogenic/anti-angiogenic factors are of prognostic value in patients presenting to the obstetrical triage area with the suspicion of preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011; 24:1187-1207.
114. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Zeisler H, Calda P, Sabria J, Markfeld-Erol F, Galindo A, Schoofs K, Denk B, Stepan H. New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia. *Hypertension* 2014; 63:346-352.
  115. Hund M, Allegranza D, Schoedl M, Dilba P, Verhagen-Kamerbeek W, Stepan H. Multicenter prospective clinical study to evaluate the prediction of short-term outcome in pregnant women with suspected preeclampsia (PROGNOSIS): study protocol. *BMC Pregnancy Childbirth* 2014; 14:324.
  116. PIGF [Package insert] Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany. 2014-10, V 7.0.
  117. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff A, Sennstrom M, Olovsson M, Brennecke S, Stepan H, Allegranza D, Dilba P, Schoedl M, Hund M, Verlohren S. Prediction of short-term outcome in pregnant women with suspected preeclampsia: The PROGNOSIS study. [Abstract P79]. COGI 2014 Paris .
  118. VanWijk MJ, Kublickiene K, Boer K, VanBavel E. Vascular function in preeclampsia. *Cardiovasc Res* 2000; 47:38-48.
  119. Resnik JL, Hong C, Resnik R, Kazanegra R, Beede J, Bhalla V, Maisel A. Evaluation of B-type natriuretic peptide (BNP) levels in normal and preeclamptic women. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193:450-454.
  120. Sugulle M, Herse F, Hering L, Mockel M, Dechend R, Staff AC. Cardiovascular biomarker midregional proatrial natriuretic peptide during and after preeclamptic pregnancies. *Hypertension* 2012; 59:395-401.
  121. Wellmann S, Benzing J, Fleischlin S, Morgenthaler N, Fouzas S, Bühler CA, Szinnai G, Burkhardt T, Lapaire O. Cardiovascular biomarkers in preeclampsia at triage. *Fetal Diagn Ther* 2014; 36:202-207.

122. Fleming SM, O'Byrne L, Grimes H, Daly KM, Morrison JJ, Morrison JJ. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide in normal and hypertensive pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 2001; 20:169-175.
123. Kale A, Kale E, Yalinkaya A, Akdeniz N, Canoruç N. The comparison of amino-terminal probrain natriuretic peptide levels in preeclampsia and normotensive pregnancy. *J Perinat Med* 2005; 33:121-124.
124. Tihtonen KM, Kööbi T, Vuolteenaho O, Huhtala HS, Uotila JT. Natriuretic peptides and hemodynamics in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196:328.e1-328.e7.
125. Moghbeli N, Srinivas SK, Bastek J, Lu Y, Putt ME, Cappola TP, Elovitz MA. N-terminal pro-brain natriuretic Peptide as a biomarker for hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Perinatol* 2010; 27:313-319.
126. Seong WJ, Kim SC, Hong DG, Koo TB, Park IS. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in hypertensive disorders complicating pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 2011; 30:287-294.
127. Rafik Hamad R, Larsson A, Pernow J, Bremme K, Eriksson MJ. Assessment of left ventricular structure and function in preeclampsia by echocardiography and cardiovascular biomarkers. *J Hypertens* 2009; 27:2257-2264.
128. Junus K, Wikström A-K, Larsson A, Olovsson M. Placental expression of proBNP/NT-proBNP and plasma levels of NT-proBNP in early- and late-onset preeclampsia. *Am J Hypertens* 2014; 27:1225-1230.
129. Fialova L, Malbohan IM. Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A): theoretical and clinical aspects. *Bratisl Lekárske Listy* 2002; 103:194-205.
130. Ticconi C, Zicari A, Belmonte A, Realacci M, Rao CV, Piccione E. Pregnancy-promoting actions of HCG in human myometrium and fetal membranes. *Placenta* 2007; 28:S137-S143.
131. Kagan KO, Wright D, Valencia C, Maiz N, Nicolaidis KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free -hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. *Hum Reprod* 2008; 23:1968-1975.

132. Hourrier S, Salomon LJ, Dreux S, Muller F. Screening for adverse pregnancy outcome at early gestational age. *Clin Chim Acta* 2010; 411:1547-1552.
133. Mikat B, Zeller A, Scherag A, Drommelschmidt K, Kimmig R, Schmidt M.  $\beta$ hCG and PAPP-A in first trimester: predictive factors for preeclampsia? *Hypertens Pregnancy Off J Int Soc Study Hypertens Pregnancy* 2012; 31:261-267.
134. Karahasanovic A, Sørensen S, Nilas L. First trimester pregnancy-associated plasma protein A and human chorionic gonadotropin-beta in early and late preeclampsia. *Clin Chem Lab Med* 2014; 52:521-525.
135. Allen RE, Rogozinska E, Cleverly K, Aquilina J, Thangaratnam S. Abnormal blood biomarkers in early pregnancy are associated with preeclampsia: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014; 182:194-201.
136. Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94:26-34.
137. Aghajafari F, Nagulesapillai T. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ* 2013; 1169:f1169.
138. Barrera D, Avila E, Hernández G, Halhali A, Biruete B, Larrea F, Díaz L. Estradiol and progesterone synthesis in human placenta is stimulated by calcitriol. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103:529-532.
139. Barrera D, Avila E, Hernández G, Méndez I, González L, Halhali A, Larrea F, Morales A, Díaz L. Calcitriol affects hCG gene transcription in cultured human syncytiotrophoblasts. *Reprod Biol Endocrinol* 2008; 6:3.
140. Zehnder D, Evans KN, Kilby MD, Bulmer JN, Innes BA, Stewart PM, Hewison M. The ontogeny of 25-hydroxyvitamin D3  $1\alpha$ -hydroxylase expression in human placenta and decidua. *Am J Pathol* 2002; 161:105-114.
141. Bodnar LM, Catov JM, Simhan HN, Holick MF, Powers RW, Roberts JM. Maternal vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:3517-3522.

142. Baker AM, Haeri S, Camargo CA, Espinola JA, Stuebe AM. A nested case-control study of midgestation vitamin D deficiency and risk of severe preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:5105-5109.
143. Robinson C, Alanis M, Wagner C, Hollis BW, Johnson DD. Plasma 25-hydroxyvitamin D levels in early-onset severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 203:366.e1-366.e6.
144. Wei SQ, Audibert F, Hidiroglou N, Sarafin K, Julien P, Wu Y, Luo ZC, Fraser WD. Longitudinal vitamin D status in pregnancy and the risk of pre-eclampsia. *BJOG Int J Obstet Gynaecol* 2012; 119:832-839.
145. Powe CE, Seely EW, Rana S, Bhan I, Ecker J, Karumanchi SA, Thadhani R. First trimester vitamin D, vitamin D binding protein, and subsequent preeclampsia. *Hypertension* 2010; 56:758-763.
146. Wetta L a, Biggio JR, Cliver S, Abramovici A, Barnes S, Tita ATN. Is midtrimester vitamin D status associated with spontaneous preterm birth and preeclampsia? *Am J Perinatol* 2013; 31:541-546.
147. Yu CKH, Ertl R, Skyfta E, Akolekar R, Nicolaides KH. Maternal serum vitamin D levels at 11-13 weeks of gestation in preeclampsia. *J Hum Hypertens* 2012; 27:115-118.
148. Bomba-Opon DA, Brawura-Biskupski-Samaha R, Kozlowski S, Kosinski P, Bartoszewicz Z, Bednarczuk T, Wielgos M. First trimester maternal serum vitamin D and markers of preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2014; 27:1078-1079.
149. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 77:67-75.
150. proBNP II [Package insert] Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany. 2014-03, V 9.0.
151. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96:1911-1930.

152. Anumba DOC, Lincoln K, Robson SC. Predictive value of clinical and laboratory indices at first assessment in women referred with suspected gestational hypertension. *Hypertens Pregnancy* 2010; 29:163-179.
153. Bellomo G, Venanzi S, Saronio P, Verdura C, Narducci PL. Prognostic significance of serum uric acid in women with gestational hypertension. *Hypertension* 2011; 58:704-708.
154. Urato AC, Bond B, Craigo SD, Norwitz ER, Paulus JK, Strohsnitter WC. Admission uric acid levels and length of expectant management in preterm preeclampsia. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc* 2012; 32:757-762.
155. Wu Y, Xiong X, Fraser WD, Luo ZC. Association of uric acid with progression to preeclampsia and development of adverse conditions in gestational hypertensive pregnancies. *Am J Hypertens* 2012; 25:711-717.
156. Livingston JR, Payne B, Brown M, Roberts JM, Côté A-M, Magee LA, von Dadelszen P. Uric acid as a predictor of adverse maternal and perinatal outcomes in women hospitalized with preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Can* 2014; 36:870-877.
157. Bainbridge SA, Roberts JM, von Versen-Höynck F, Koch J, Edmunds L, Hubel CA. Uric acid attenuates trophoblast invasion and integration into endothelial cell monolayers. *Am J Physiol - Cell Physiol* 2009; 297:C440-C450.
158. Mulla MJ, Myrtolli K, Potter J, Boeras C, Kavathas PB, Sfakianaki AK, Tadesse S, Norwitz ER, Guller S, Abrahams VM. Uric acid induces trophoblast IL-1 $\beta$  production via the inflammasome: implications for the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 2011; 65:542-548.
159. Matias ML, Romão M, Weel IC, Ribeiro VR, Nunes PR, Borges VT, Araújo JP, Peraçoli JC, de Oliveira L, Peraçoli MT. Endogenous and uric acid-induced activation of NLRP3 inflammasome in pregnant women with preeclampsia. *PloS One* 2015; 10:e0129095.
160. Murata M, Fukushima K, Takao T, Seki H, Takeda S, Wake N. Oxidative stress produced by xanthine oxidase induces apoptosis in human extravillous trophoblast cells. *J Reprod Dev* 2013; 59:7.

161. Laughon SK, Catov J, Powers RW, Roberts JM, Gandley RE. First trimester uric acid and adverse pregnancy outcomes. *Am J Hypertens* 2011; 24:489-495.
162. Wolak T, Sergienko R, Wiznitzer A, Paran E, Sheiner E. High uric acid level during the first 20 weeks of pregnancy is associated with higher risk for gestational diabetes mellitus and mild preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2012; 31:307-315.
163. Chen Q, Lau S, Tong M, Wei J, Shen F, Zhao J, Zhao M. Serum uric acid may not be involved in the development of preeclampsia. *J Hum Hypertens* 2015; Epub ahead of print 21 May 2015:doi: 10.1038/jhh.2015.47.
164. Moore AG, Young H, Keller JM, Ojo LR, Yan J, Simas TAM, Maynard SE. Angiogenic biomarkers for prediction of maternal and neonatal complications in suspected preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25:2651-2657.
165. Álvarez-Fernández I, Prieto B, Rodríguez V, Ruano Y, Escudero AI, Alvarez FV. New biomarkers in diagnosis of early onset preeclampsia and imminent delivery prognosis. *Clin Chem Lab Med* 2014; 52:1159-1168.
166. Crispi F, Domínguez C, Llurba E, Martín-Gallán P, Cabero L, Gratacós E. Placental angiogenic growth factors and uterine artery Doppler findings for characterization of different subsets in preeclampsia and in isolated intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195:201-207.
167. 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 Lond* 2007; 112:51-57.
168. Åsvold BO, Vatten LJ, Romundstad PR, Jenum PA, Karumanchi SA, Eskild A. Angiogenic factors in maternal circulation and the risk of severe fetal growth restriction. *Am J Epidemiol* 2011; 173:630-639.
169. Alahakoon TI, Zhang W, Trudinger BJ, Lee VW. Discordant clinical presentations of preeclampsia and intrauterine fetal growth restriction with similar pro- and anti-angiogenic profiles. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2014; 27:1854-1859.
170. Herraiz I, Dröge LA, Gómez-Montes E, Henrich W, Galindo A, Verlohren S. Characterization of the soluble fms-like tyrosine kinase-1 to placental growth



- factor ratio in pregnancies complicated by fetal growth restriction. *Obstet Gynecol* 2014; 124:265-273.
171. Maynard SE, Moore Simas TA, Solitro MJ, Rajan A, Crawford S, Soderland P, Meyer BA. Circulating angiogenic factors in singleton vs multiple-gestation pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198:200.e1-200.e7.
172. Bdolah Y, Lam C, Rajakumar A, Shivalingappa V, Mutter W, Sachs BP, Lim KH, Bdolah-Abram T, Epstein FH, Karumanchi SA. Twin pregnancy and the risk of preeclampsia: bigger placenta or relative ischemia? *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198:428.e1-428.e6.
173. Faupel-Badger JM, McElrath TF, Lauria M, Houghton LC, Lim K-H, Parry S, Cantonwine D, Lai G, Karumanchi SA, Hoover RN, Troisi R. Maternal circulating angiogenic factors in twin and singleton pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 212:636.e1-636.e8.
174. Dröge L, Herraiz I, Zeisler H, Schlembach D, Stepan H, Küssel L, Henrich W, Galindo A, Verlohren S. Maternal serum sFlt-1/PlGF-ratio in twin pregnancies with and without preeclampsia in comparison to singleton pregnancies: sFlt-1/PlGF-ratio in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45:286-293.
175. Lim JH, Kim SY, Park SY, Yang JH, Kim MY, Ryu HM. Effective prediction of preeclampsia by a combined ratio of angiogenesis-related factors. *Obstet Gynecol* 2008; 111:1403-1409.
176. 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.
177. Chaiworapongsa T, Romero R, Korzeniewski SJ, Cortez JM, Pappas A, Tarca AL, Chaemsaitong P, Dong Z, Yeo L, Hassan SS. Plasma concentrations of angiogenic/anti-angiogenic factors have prognostic value in women presenting with suspected preeclampsia to the obstetrical triage area: a prospective study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2014; 27:132-144.
178. 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: Prognostic value of sFlt-1/PIGF and UtA Doppler. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 43:525-532.
179. Hund M, Verhagen-Kamerbeek W, Reim M, Messinger D, van der Does R, Stepan H. Influence of the sFlt-1/PIGF ratio on clinical decision-making in women with suspected preeclampsia – the PreOS study protocol. *Hypertens Pregnancy* 2015; 34:102-115.
180. Szabó G, Molvarec A, Nagy B, Rigó J. Increased B-type natriuretic peptide levels in early-onset versus late-onset preeclampsia. *Clin Chem Lab Med CCLM FESCC* 2014; 52:281-288.
181. Franz MB, Franz MB, Andreas M, Schiessl B, Zeisler H, Neubauer A, Kastl SP, Hess G, Rhomberg F, Zdunek D, Maurer G, Schlembach D, Heinze G, Szekeres T, Gottsauner-Wolf M. NT-proBNP is increased in healthy pregnancies compared to non-pregnant controls. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009; 88:234-237.
182. Tekin YB, Güven ESG, Kirbaş A, Cobanoğlu U, Colak S, Doğan OD, Sahin FK. Alterations of natriuretic peptides amino-terminal pro B-type natriuretic peptide and amino-terminal pro C-type natriuretic peptide during the pregnancy. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet* 2014; 27:1103-1107.
183. Speksnijder L, Rutten JHW, van den Meiracker AH, de Bruin RJA, Lindemans J, Hop WCJ, Visser W. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) is a biomarker of cardiac filling pressures in pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010; 153:12-15.
184. Delić R, Štefanović M, Krivec Š, Weber V. Statistical regression model of standard and new laboratory markers and its usefulness in prediction of preeclampsia. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet* 2014; 27:388-392.
185. Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, Porter TF, Luthy D, Comstock CH, Hankins G, Berkowitz RL, Merkatz I, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, Vidaver J, D'Alton ME. First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency

- are associated with obstetric complications: a population-based screening study (the FASTER Trial). *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:1446-1451.
186. Goetzinger KR, Singla A, Gerkowicz S, Dicke JM, Gray DL, Odibo AO. Predicting the risk of pre-eclampsia between 11 and 13 weeks gestation by combining maternal characteristics and serum analytes, PAPP-A and free  $\beta$ -hCG. *Prenat Diagn* 2010; 30:1138-1142.
  187. Jelliffe-Pawlowski LL, Baer RJ, Currier RJ, Lyell DJ, Blumenfeld YJ, El-Sayed YY, Shaw GM, Druzin ML. Early-onset severe preeclampsia by first trimester pregnancy-associated plasma protein A and total human chorionic gonadotropin. *Am J Perinatol* 2015; 32:703-712.
  188. D'Antonio F, Rijo C, Thilaganathan B, Akolekar R, Khalil A, Papageorgiou A, Bhide A. Association between first-trimester maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A and obstetric complications. *Prenat Diagn* 2013; 33:839-847.
  189. Ceylan N, Ozaksit G, Unlu BS, Yildiz Y, Yilmaz S, Agaca F. Can first trimester placental protein-13 and pregnancy-associated plasma protein-A predict pre-eclampsia in Turkish women? *J Obstet Gynaecol J Inst Obstet Gynaecol* 2014; 34:482-485.
  190. Quattrocchi T, Baviera G, Pochiero T, Basile F, Rizzo L, Santamaria A, Corrado F, D'Anna R. Maternal serum PAPP-A as an early marker of obstetric complications? *Fetal Diagn Ther* 2015; 37:33-36.
  191. Gupta S, Goyal M, Verma D, Sharma A, Bharadwaj N, Kabra M, Kapoor S. Adverse pregnancy outcome in patients with low pregnancy-associated plasma protein-A: the Indian experience. *J Obstet Gynaecol Res* 2015; 41:1003-1008.
  192. Ong CYT, Liao AW, Spencer K, Munim S, Nicolaides KH. First trimester maternal serum free  $\beta$  human chorionic gonadotrophin and pregnancy associated plasma protein A as predictors of pregnancy complications. *BJOG Int J Obstet Gynaecol* 2000; 107:1265-1270.
  193. Forbes K, Westwood M, Baker PN, Aplin JD. Insulin-like growth factor I and II regulate the life cycle of trophoblast in the developing human placenta. *AJP Cell Physiol* 2008; 294:C1313-C1322.

194. Odibo AO, Patel KR, Spitalnik A, Odibo L, Huettner P. Placental pathology, first-trimester biomarkers and adverse pregnancy outcomes. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc* 2014; 34:186-191.
195. Rizzo G, Silvestri E, Capponi A, Servadei F, Pietrolucci ME, Capece A, Pisa R, Arduini D. Histomorphometric characteristics of first trimester chorionic villi in pregnancies with low serum pregnancy-associated plasma protein-A levels: relationship with placental three-dimensional power doppler ultrasonographic vascularization. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011; 24:253-257.
196. Costa SL, Proctor L, Dodd JM, Toal M, Okun N, Johnson J-A, Windrim R, Kingdom JCP. Screening for placental insufficiency in high-risk pregnancies: is earlier better? *Placenta* 2008; 29:1034-1040.
197. Poon LC, Nicolaides KH. First-trimester maternal factors and biomarker screening for preeclampsia. *Prenat Diagn* 2014; 34:618-627.
198. Crovetto F, Figueras F, Triunfo S, Crispi F, Rodriguez-Sureda V, Dominguez C, Llurba E, Gratacós E. First trimester screening for early and late preeclampsia based on maternal characteristics, biophysical parameters, and angiogenic factors. *Prenat Diagn* 2015; 35:183-191.
199. Bodnar L, Krohn M, Simhan H. Maternal vitamin D deficiency is associated with bacterial vaginosis in the first trimester of pregnancy. *J Nutr* 2009; 139:1157-1161.
200. Mulligan M, Felton S, Riek AE, Bernal-Mizrachi C. Implications of vitamin D deficiency in pregnancy and lactation. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 202:429.e1-429.e9.
201. Burris H, Rifas-Shiman SL, Camargo CA, Litonjua AA, Huh SY, Rich-Edwards JW, Gillman MW. Plasma 25-hydroxyvitamin D during pregnancy and small-for-gestational age in black and white infants. *Ann Epidemiol* 2012; 22:581-586.
202. Burris HH, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, Litonjua AA, Huh SY, Rich-Edwards JW, Camargo CA, Gillman MW. Vitamin D deficiency in pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 207:182.e1-182.e8.

203. Achkar M, Dodds L, Giguère Y, Forest J-C, Armson BA, Woolcott C, Agellon S, Spencer A, Weiler HA. Vitamin D status in early pregnancy and risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 212:511.e1-511.e7.
204. Fernández-Alonso AM, Dionis-Sánchez EC, Chedraui P, González-Salmerón MD, Pérez-López FR. First-trimester maternal serum 25-hydroxyvitamin D3 status and pregnancy outcome. *Int J Gynecol Obstet* 2012; 116:6-9.
205. Gidlöf S, Silva AT, Gustafsson S, Lindqvist PG. Vitamin D and the risk of preeclampsia - a nested case-control study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2015; 94:904-908.
206. Flood-Nichols SK, Tinnemore D, Huang RR, Napolitano PG, Ippolito DL. Vitamin D Deficiency in Early Pregnancy. Zenclussen AC, ed. *PLoS One* 2015; 10:e0123763.
207. Zhou J, Su L, Liu M, Liu Y, Cao X, Wang Z, Xiao H. Associations between 25-hydroxyvitamin D levels and pregnancy outcomes: a prospective observational study in southern China. *Eur J Clin Nutr* 2014; 68:925-930.
208. Xu L, Lee M, Jeyabalan A, Roberts JM. The relationship of hypovitaminosis D and IL-6 in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 210:149.e1-149.e7.
209. Singla R, Gurung P, Aggarwal N, Dutta U, Kochhar R. Relationship between preeclampsia and vitamin D deficiency: a case control study. *Arch Gynecol Obstet* 2015; 291:1247-1251.
210. Woodham P, Brittain J, Baker A. Midgestation maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and soluble fms-like tyrosine kinase 1/placental growth factor ratio as predictors of severe preeclampsia. *Hypertension* 2011; 58:1120-1125.
211. Wei SQ, Audibert F, Luo Z-C, Nuyt AM, Masse B, Julien P, Fraser WD. Maternal plasma 25-hydroxyvitamin D levels, angiogenic factors, and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 208:390.e1-390.e6.
212. Grundmann M, Haidar M, Placzko S, Niendorf R, Darashchonak N, Hubel C a, von Versen-Höyneck F. Vitamin D improves the angiogenic properties of endothelial progenitor cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012; 303:C954-962.

213. Zhong W, Gu B, Gu Y, Groome LJ, Sun J, Wang Y. Activation of vitamin D receptor promotes VEGF and CuZn-SOD expression in endothelial cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014; 140:56-62.
214. Chan SY, Susarla R, Canovas D, Vasilopoulou E, Ohizua O, McCabe CJ, Hewison M, Kilby MD. Vitamin D promotes human extravillous trophoblast invasion in vitro. *Placenta* 2015; 36:403-409.
215. Tomaschitz A, Pilz S, Ritz E, Grammer T, Drechsler C, Boehm BO, März W. Independent association between 1,25-dihydroxyvitamin D, 25-hydroxyvitamin D and the renin-angiotensin system: The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Clin Chim Acta* 2010; 411:1354-1360.
216. Min B. Effects of Vitamin D on Blood Pressure and Endothelial Function. *Korean J Physiol Pharmacol* 2013; 17:385-392.
217. Zhou C, Lu F, Cao K, Xu DI, Goltzman D, Miao D. Calcium-independent and 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-dependent regulation of the renin-angiotensin system in 1 $\alpha$ -hydroxylase knockout mice. *Kidney Int* 2008; 74:170-179.
218. Díaz L, Noyola-Martínez N, Barrera D, Hernández G, Avila E, Halhali A, Larrea F. Calcitriol inhibits TNF-alpha-induced inflammatory cytokines in human trophoblasts. *J Reprod Immunol* 2009; 81:17-24.
219. Noyola-Martínez N, Díaz L, Avila E, Halhali A, Larrea F, Barrera D. Calcitriol downregulates TNF- $\alpha$  and IL-6 expression in cultured placental cells from preeclamptic women. *Cytokine* 2013; 61:245-250.
220. Asemi Z, Esmailzadeh A. The Effect of Multi mineral-Vitamin D Supplementation on Pregnancy Outcomes in Pregnant Women at Risk for Pre-eclampsia. *Int J Prev Med* 2015; 6:62.
221. Karamali M, Beihaghi E, Mohammadi AA, Asemi Z. Effects of High-Dose Vitamin D Supplementation on Metabolic Status and Pregnancy Outcomes in Pregnant Women at Risk for Pre-Eclampsia. *Horm Metab Res* 2015.
222. Pérez-López FR, Pasupuleti V, Mezones-Holguin E, Benites-Zapata VA, Thota P, Deshpande A, Hernandez AV. Effect of vitamin D supplementation during pregnancy on maternal and neonatal outcomes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril* 2015; 103:1278-1288.e4.







