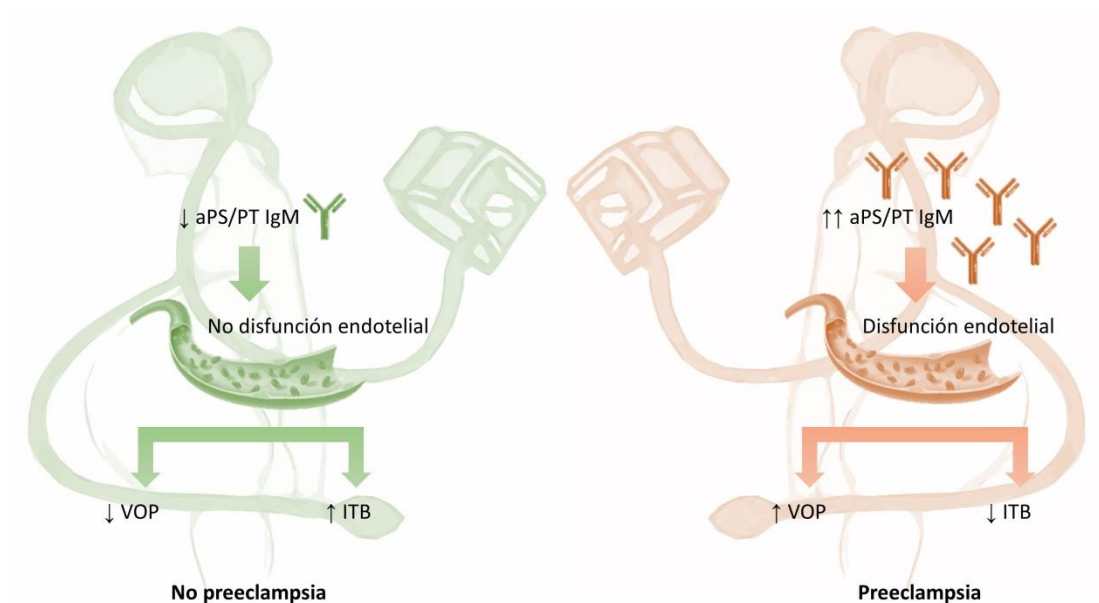


## **Anticuerpos antifosfolípido no convencionales como marcadores de disfunción endotelial residual en mujeres con preeclampsia**



**TESIS DOCTORAL**

Realizada por

**LARA BELMAR VEGA**

DIRIGIDA POR

**Emilio Rodrigo Calabia**

**Gema Fernández Fresnedo**

Escuela de Doctorado de la Universidad de Cantabria

Santander 2021





**UNIVERSIDAD DE CANTABRIA**  
**PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA Y**  
**CIENCIAS DE LA SALUD**

**Anticuerpos antifosfolípido no convencionales como  
marcadores de disfunción endotelial residual en mujeres  
con preeclampsia**

TESIS DOCTORAL

Realizada por

**LARA BELMAR VEGA**

DIRIGIDA POR

**Emilio Rodrigo Calabia**

**Gema Fernández Fresnedo**

Escuela de Doctorado de la Universidad de Cantabria

Santander 2021





## INFORME FAVORABLE DE LOS DIRECTORES PARA EL DEPÓSITO DE LA TESIS DOCTORAL

D. **Emilio Rodrigo Calabia**, Doctor en Medicina y Cirugía, Jefe de Sección del Servicio de Nefrología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y Profesor Asociado del Departamento de Medicina y Psiquiatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cantabria.

Dña. **Gema Fernández Fresnedo**, Doctora en Medicina y Cirugía, Facultativo Especialista de Área de Nefrología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y Colaboradora Honorífica del Departamento de Medicina y Psiquiatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cantabria.

CERTIFICAMOS como Director y Tutor, y Co-Directora, respectivamente que la Tesis Doctoral que lleva por título: “ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDO NO CONVENCIONALES COMO MARCADORES DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL RESIDUAL EN MUJERES CON PREECLAMPSIA”, realizada por Dña. **LARA BELMAR VEGA**, reúne los requisitos de originalidad y calidad necesarios para ser presentada y defendida ante un tribunal con el fin de poder optar al título de Doctor por la Universidad de Cantabria.

Y para que conste y surta los efectos oportunos, firmamos la presente.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'E. Calabia', is written over two horizontal blue lines.

Fdo. Emilio Rodrigo Calabia

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'G. Fernández Fresnedo', is written over two horizontal blue lines.

Fdo. Gema Fernández Fresnedo

En Santander, 2021



***A mis padres, por su paciencia y apoyo durante el largo tiempo  
de realización de esta Tesis***





## ***AGRADECIMIENTOS***



A mis Directores de Tesis **Emilio Rodrigo Calabia** y **Gema Fernández Fresnedo**, por haberme permitido realizar este trabajo a través de su inestimable guía, enseñanza, dedicación, y estímulo durante toda la realización del mismo.

A **Marcos López Hoyos** por sus valiosas recomendaciones y apoyo prestado para la realización de este trabajo.

Al Servicio de Ginecología Obstetricia del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, y en especial a **Victoria Orallo Tournal** por su colaboración para llevar al cabo el reclutamiento de las pacientes.

A mis compañeros del **Servicio de Nefrología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla** a quienes debo mi formación como Nefróloga, y en especial a **Juan Carlos Ruiz San Millán** por darme la oportunidad de formar parte de este gran equipo. Nada es más grato que seguir trabajando con vosotros.

**A mis padres**, a quienes debo todo lo que soy, su apoyo constante e incondicional es el pilar que sustenta mi vida. Gracias por enseñarme el valor del esfuerzo y la importancia de no rendirse ante la dificultad.

A mi hermana **Maite** por su fiel compañía y apoyo pese a la distancia que nos separa.

A **Juan**, por tu motivación para concluir este proyecto, por tu cariño y afecto detonantes de mi felicidad. Que éste sea el primero de muchos futuros logros compartiendo la vida juntos.



## ***ÍNDICE DE CONTENIDOS***



<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1. Preeclampsia: concepto y clasificación .....	3
2. Epidemiología de la preeclampsia .....	7
3. Fisiopatología de la preeclampsia.....	7
4. Disfunción endotelial en la preeclampsia: causas y consecuencias .....	10
5. Medidas de la disfunción endotelial: Velocidad de onda de pulso e índice tobillo-brazo.....	11
5.1. Velocidad de onda de pulso.....	13
5.2. Índice tobillo-brazo .....	17
6. Anticuerpos antifosfolípido en el embarazo y la preeclampsia .....	19
6.1. Síndrome antifosfolípido en el embarazo y preeclampsia .....	19
6.2. Mecanismos patogénicos de afectación de los anticuerpos antifosfolípido en el embarazo .....	20
6.3. Autoinmunidad y disfunción endotelial.....	21
6.4. Nuevos anticuerpos antifosfolípido.....	22
<b>II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>25</b>
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
1. Pacientes .....	31
2. Variables registradas.....	33
3. Cronograma de la extracción de muestras y determinación de los parámetros vasculares. ....	35
4. Recogida de muestras .....	35
5. Técnicas.....	36
5.1. Anticuerpos antifosfolípido .....	36
5.1.1. Anticuerpos anticardiolipina isotipos IgG e IgM .....	36
5.1.2. Anticuerpos anti- $\beta$ 2-glicoproteína I isotipos IgG e IgM .....	38

5.1.3.	Anticuerpos anticardiolipina y anti- $\beta$ 2-glicoproteína I isotipo IgA .....	39
5.1.4.	Anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina isotipos IgG e IgM .....	40
5.2.	Determinación de anticoagulante lúpico .....	41
5.3.	Parámetros cardiovasculares.....	42
5.3.1.	Índice tobillo-brazo.....	42
5.3.2.	Velocidad de onda de pulso .....	42
<b>6.</b>	<b>Análisis estadístico.....</b>	<b>43</b>
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>45</b>
<b>1.</b>	<b>Descripción general de la población .....</b>	<b>47</b>
1.1.	Factores antropométricos, factores de riesgo cardiovascular y antecedentes cardiovasculares .....	47
1.2.	Antecedentes obstétricos .....	48
1.3.	Antecedentes familiares .....	49
<b>2.</b>	<b>Datos de la gestación actual .....</b>	<b>50</b>
2.1.	Curso de la gestación .....	50
2.2.	Datos del recién nacido .....	51
2.3.	Complicaciones de la madre .....	51
<b>3.</b>	<b>Asociación de parámetros clínicos, analíticos y preeclampsia .....</b>	<b>52</b>
<b>4.</b>	<b>Análisis de anticuerpos antifosfolípido .....</b>	<b>54</b>
4.1.	Prevalencia de anticuerpos.....	54
4.2.	Comparación de los niveles séricos de los diferentes anticuerpos antifosfolípido.....	57
4.3.	Análisis de los niveles séricos de los diferentes anticuerpos antifosfolípidos en función de la gravedad de la preeclampsia.....	61
4.4.	Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido.....	65
4.5.	Asociación entre anticuerpos antifosfolípido y factores clínicos y analíticos .	67



4.6.	Asociación de anticuerpos antifosfolípido con preeclampsia y su gravedad..	73
4.7.	Valor predictivo de preeclampsia de los anticuerpos antifosfolípido .....	73
<b>5.</b>	<b>Análisis de los parámetros cardiovasculares .....</b>	<b>76</b>
5.1.	Velocidad de onda de pulso.....	76
5.1.1.	Velocidad de onda de pulso en función de la presencia o ausencia de preeclampsia .....	77
5.1.2.	Velocidad de onda de pulso en función de la gravedad de preeclampsia	77
5.1.3.	Velocidad de onda de pulso en función del rango de edad .....	78
5.1.4.	Velocidad de onda de pulso en función de la presencia de factores de riesgo cardiovascular .....	79
5.1.4.1.	Velocidad de onda de pulso y obesidad.....	79
5.1.4.2.	Velocidad de onda de pulso y otros factores de riesgo cardiovascular .....	80
5.2.	Índice tobillo-brazo .....	82
5.2.1.	Índice tobillo-brazo en función de la presencia o ausencia de .....	82
5.2.2.	Índice tobillo-brazo en función de la gravedad de preeclampsia .....	83
5.2.3.	Índice tobillo-brazo en función del rango de edad. ....	83
5.2.4.	Índice tobillo-brazo en función de la presencia de factores de riesgo cardiovascular.....	84
5.2.4.1.	Índice tobillo-brazo y obesidad .....	84
5.2.4.2.	Índice tobillo-brazo y otros factores de riesgo cardiovascular .....	84
<b>6.</b>	<b>Relación entre anticuerpos antifosfolípido y parámetros cardiovasculares .....</b>	<b>86</b>
6.1.	Correlación entre parámetros cardiovasculares y niveles séricos de anticuerpos antifosfolípido .....	86
6.1.1.	Correlación entre velocidad de onda de pulso y anticuerpos antifosfolípido.....	86

6.1.2.	Correlación entre índice tobillo-brazo y anticuerpos antifosfolípido .....	88
6.2.	Asociación entre anticuerpos antifosfolípido y parámetros cardiovasculares	90
6.2.1.	Asociación entre anticuerpos antifosfolípido y velocidad de onda de pulso .....	90
6.2.2.	Asociación entre anticuerpos antifosfolípido e índice tobillo-brazo .....	94
<b>V.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>99</b>
1.	Prevalencia de anticuerpos antifosfolípido .....	101
2.	Asociación de anticuerpos antifosfolípido y patología obstétrica .....	102
3.	Correlación entre anticuerpos antifosfolípido.....	104
4.	Asociación entre anticuerpos antifosfolípido y preeclampsia .....	105
5.	Disfunción endotelial y preeclampsia .....	113
6.	Relación entre anticuerpos antifosfolípido y disfunción endotelial .....	116
7.	Análisis de otros factores de riesgo tradicionales de preeclampsia.....	117
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>119</b>
<b>VII.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>123</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>151</b>

## ***ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y ANEXOS***



<b>Tabla 1.</b> Principales efectos adversos de la preeclampsia sobre el feto y la madre.....	3
<b>Tabla 2.</b> Valores de referencia de velocidad de onda de pulso en m/s para población sin factores de riesgo cardiovascular asociados .....	16
<b>Tabla 3.</b> Valores de referencia de velocidad de onda de pulso en m/s para población con factores de riesgo cardiovascular asociados. ....	16
<b>Tabla 4.</b> Variables registradas. ....	33
<b>Tabla 5.</b> Puntos de corte utilizados para los diferentes anticuerpos antifosfolípido. ...	41
<b>Tabla 6.</b> Factores antropométricos, factores de riesgo cardiovascular y antecedentes cardiovasculares. ....	48
<b>Tabla 7.</b> Antecedentes obstétricos.....	49
<b>Tabla 8.</b> Antecedentes familiares de factores de riesgo cardiovascular y patología cardiovascular.....	50
<b>Tabla 9.</b> Datos de la gestación actual.....	51
<b>Tabla 10.</b> Datos del recién nacido .....	51
<b>Tabla 11.</b> Complicaciones durante la gestación.....	52
<b>Tabla 12.</b> Parámetros asociados a la aparición de preeclampsia. ....	54
<b>Tabla 13.</b> Prevalencia de anticuerpos antifosfolípido en el total de la población.....	55
<b>Tabla 14.</b> Prevalencia de anticuerpos antifosfolípido en las cohortes control y preeclampsia. ....	56
<b>Tabla 15.</b> Prevalencia de anticuerpos antifosfolípido en función de la gravedad de la preeclampsia. ....	56
<b>Tabla 16.</b> Prevalencia de titulaciones de anticuerpos antifosfolípido en el total de la población .....	57
<b>Tabla 17.</b> Prevalencia de titulaciones de anticuerpos antifosfolípido en las cohortes control y preeclampsia. ....	59
<b>Tabla 18.</b> Prevalencia de titulaciones de anticuerpos antifosfolípido en las cohortes preeclampsia leve y preeclampsia grave.....	61
<b>Tabla 19.</b> Factores clínicos y analíticos asociados a la positividad de anticuerpos antifosfolípido en el total de la población.....	68
<b>Tabla 20.</b> Factores clínicos y analíticos asociados a la positividad de anticuerpos antifosfolípido en la cohorte control. ....	70

<b>Tabla 21.</b> Factores clínicos y analíticos asociados a la positividad de anticuerpos antifosfolípido en la cohorte preeclampsia.....	72
<b>Tabla 22.</b> Asociación de anticuerpos antifosfolípido con preeclampsia y su gravedad.	73
<b>Tabla 23.</b> Sensibilidad (%), especificidad (%), valores predictivos positivo y negativo (%), razón de verosimilitud positiva y negativa y área bajo la curva de anticuerpos antifosfolípido clásicos y no convencionales para la ocurrencia de preeclampsia.....	74
<b>Tabla 24.</b> Sensibilidad (%), especificidad (%), valores predictivos positivo y negativo (%), razón de verosimilitud positiva y negativa y área bajo la curva de anticuerpos antifosfolípido clásicos y no convencionales para la ocurrencia de preeclampsia grave. .....	75
<b>Tabla 25.</b> Correlación entre niveles séricos de anticuerpos antifosfolípido y velocidad de onda de pulso en la cohorte control. ....	86
<b>Tabla 26.</b> Correlación entre niveles séricos de anticuerpos antifosfolípido y velocidad de onda de pulso en la cohorte preeclampsia. ....	87
<b>Tabla 27.</b> Correlación entre niveles séricos de anticuerpos antifosfolípido e índice tobillo-brazo en la cohorte control. ....	88
<b>Tabla 28.</b> Correlación entre niveles séricos de anticuerpos antifosfolípido e índice tobillo-brazo en la cohorte preeclampsia .....	89
<b>Tabla 29.</b> Parámetros asociados con la presencia de valores anormales de velocidad de onda de pulso en el total de la población .....	91
<b>Tabla 30.</b> Parámetros asociados con la presencia de valores anormales de velocidad de onda de pulso en la cohorte control. ....	92
<b>Tabla 31.</b> Parámetros asociados con la presencia de valores anormales de velocidad de onda de pulso en la cohorte preeclampsia.....	93
<b>Tabla 32.</b> Parámetros asociados con la presencia de valores anormales de velocidad de onda de pulso en la cohorte preeclampsia grave .....	94
<b>Tabla 33.</b> Parámetros asociados con la presencia de valores de índice tobillo-brazo <0,9 en el total de la población .....	95
<b>Tabla 34.</b> Parámetros asociados con la presencia de valores de índice tobillo-brazo <0,9 en la cohorte control. ....	96
<b>Tabla 35.</b> Parámetros asociados con la presencia de valores de índice tobillo-brazo <0,9 en la cohorte preeclampsia .....	97

<b>Tabla 36.</b> Parámetros asociados con la presencia de valores de índice tobillo-brazo <0,9 en la cohorte preeclampsia grave .....	98
<b>Tabla 37.</b> Principales estudios que analizan la asociación entre anticuerpos antifosfolípido y preeclampsia en mujeres sin evidencia de enfermedades autoinmunes.....	106
<b>Figura 1.</b> Criterios diagnósticos de preeclampsia. ....	4
<b>Figura 2.</b> Fisiopatología de la preeclampsia .....	9
<b>Figura 3.</b> Técnica de medición de velocidad de onda de pulso.....	14
<b>Figura 4.</b> Técnica de medición del índice tobillo-brazo.....	17
<b>Figura 5.</b> Criterios clasificatorios del síndrome antifosfolípido .....	19
<b>Figura 6.</b> Esquema de flujo de la selección de pacientes.....	32
<b>Figura 7.</b> Cronograma de la determinación de parámetros inmunológicos y vasculares .....	35
<b>Figura 8.</b> Procedimiento para la determinación de anticuerpos antifosfolípido mediante ELISA. ....	37
<b>Figura 9.</b> Distribución de las titulaciones de anticuerpos anticardiolipina isotipos IgG e IgM en el total de la población .....	57
<b>Figura 10.</b> Distribución de las titulaciones de anticuerpos anti-β2-glicoproteína I isotipos IgG e IgM en el total de la población .....	58
<b>Figura 11.</b> Distribución de las titulaciones de anticuerpos anticardiolipina y anti-β2-glicoproteína I isotipo IgA en el total de la población.....	58
<b>Figura 12.</b> Distribución de las titulaciones de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina isotipos IgG e IgM en el total de la población.....	58
<b>Figura 13.</b> Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anticardiolipina isotipos IgG e IgM en las cohortes control y preeclampsia .....	60
<b>Figura 14.</b> Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anti-β2-glicoproteína I isotipos IgG e IgM en las cohortes control y preeclampsia.....	60
<b>Figura 15.</b> Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anticardiolipina y anti-β2-glicoproteína I isotipo IgA en las cohortes control y preeclampsia .....	60

<b>Figura 16.</b> Distribución de los niveles séricos de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina isotipos IgG e IgM en las cohortes control y preeclampsia .....	61
<b>Figura 17.</b> Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anticardiolipina isotipos IgG e IgM en función de la gravedad de la preeclampsia .....	62
<b>Figura 18.</b> Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anti- $\beta$ 2-glicoproteína I en función de la gravedad de la preeclampsia .....	62
<b>Figura 19.</b> Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anticardiolipina y anti- $\beta$ 2-glicoproteína I isotipo IgA en función de la gravedad de la preeclampsia.....	62
<b>Figura 20.</b> Distribución de los niveles séricos de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina isotipos IgG e IgM en función de la gravedad de la preeclampsia .....	63
<b>Figura 21.</b> Valores medianos de anticuerpos anticardiolipina isotipos IgG e IgM en función de la gravedad de la preeclampsia.....	63
<b>Figura 22.</b> Valores medianos de anticuerpos anti- $\beta$ 2-glicoproteína I isotipos IgG e IgM en función de la gravedad de la preeclampsia.....	64
<b>Figura 23.</b> Valores medianos de anticuerpos anticardiolipina y anti- $\beta$ 2-glicoproteína I isotipo IgA en función de la gravedad de la preeclampsia.....	64
<b>Figura 24.</b> Valores medianos de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina isotipos IgG e IgM en función de la gravedad de la preeclampsia. ....	64
<b>Figura 25.</b> Análisis de curvas ROC de los anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina isotipos IgG e IgM para el desarrollo de preeclampsia.. ....	75
<b>Figura 26.</b> Análisis de curva ROC del anticuerpo antifosfatidilserina/protrombina IgM para el desarrollo de preeclampsia grave .....	76
<b>Figura 27.</b> Representación gráfica de la distribución de la velocidad de onda de pulso en el total de la población .....	76
<b>Figura 28.</b> Representación gráfica de la distribución de la velocidad de onda de pulso en las cohortes control y preeclampsia.....	77
<b>Figura 29.</b> Representación gráfica de la distribución de la velocidad de onda de pulso en las cohortes preeclampsia leve y preeclampsia grave .....	78
<b>Figura 30.</b> Correlación entre velocidad de onda de pulso y edad en el total de la población .....	78



<b>Figura 31.</b> Correlación entre velocidad de onda de pulso e índice de masa corporal...	79
<b>Figura 32.</b> Valores medianos de velocidad de onda de pulso en las cohortes control y preeclampsia en función del rango de índice de masa corporal. ....	80
<b>Figura 33.</b> Valores medianos de velocidad de onda de pulso en función de la ausencia o presencia de dislipemia.....	80
<b>Figura 34.</b> Valores medianos de velocidad de onda de pulso en función de la ausencia o presencia de diabetes mellitus.....	81
<b>Figura 35.</b> Valores medianos de velocidad de onda de pulso en función de la ausencia o presencia de hábito tabáquico .....	81
<b>Figura 36.</b> Valores medianos de índice tobillo-brazo en el total de la población.....	82
<b>Figura 37.</b> Valores medianos de índice tobillo-brazo en las cohortes control y preeclampsia .....	82
<b>Figura 38.</b> Valores medianos de índice tobillo-brazo en función de la gravedad de la preeclampsia .....	83
<b>Figura 39.</b> Correlación entre los valores de índice tobillo-brazo y la edad.....	83
<b>Figura 40.</b> Correlación entre los valores de índice tobillo-brazo e índice de masa corporal.....	84
<b>Figura 41.</b> Valores medianos de índice tobillo-brazo en función de la ausencia o presencia de dislipemia.....	84
<b>Figura 42.</b> Valores medianos de índice tobillo-brazo en función de la ausencia o presencia de diabetes mellitus.....	85
<b>Figura 43.</b> Valores medianos de índice tobillo-brazo en función de la ausencia o presencia de hábito tabáquico .....	85
<b>Figura 44.</b> Correlación lineal entre anticuerpos antifosfolípido y velocidad de onda de pulso. ....	87
<b>Figura 45.</b> Correlación lineal entre anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina y velocidad de onda de pulso en la cohorte preeclampsia.....	88
<b>Figura 46.</b> Correlación lineal entre anticuerpos antifosfolípido e índice tobillo-brazo en la cohorte preeclampsia .....	90

<b>Tabla Suplementaria 1.</b> Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido clásicos en el total de la población. ....	153
<b>Tabla Suplementaria 2.</b> Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido clásicos en la cohorte control. ....	155
<b>Tabla Suplementaria 3.</b> Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido clásicos en la cohorte preeclampsia. ....	157
<b>Tabla Suplementaria 4.</b> Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina IgM en el total de la población. ....	159
<b>Tabla Suplementaria 5.</b> Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina IgM en la cohorte control. ....	161
<b>Tabla Suplementaria 6.</b> Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina IgM en la cohorte preeclampsia .....	163
<b>Tabla Suplementaria 7.</b> Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido clásicos en la cohorte preeclampsia leve.....	165
<b>Tabla Suplementaria 8.</b> Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido clásicos en la cohorte preeclampsia grave. ....	167
<b>Tabla Suplementaria 9.</b> Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina IgM en la cohorte preeclampsia leve. ....	169
<b>Tabla Suplementaria 10.</b> Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina IgM en la cohorte preeclampsia grave. ....	171

## ***ABREVIATURAS***



## A

<b>a<math>\beta</math>2GPI</b>	anti- $\beta$ 2-glicoproteina I
<b>aAFL</b>	anticuerpos antifosfolípido
<b>Ac</b>	anticuerpo
<b>ACh</b>	acetilcolina
<b>aCL</b>	anticardiolipina
<b>ACVA</b>	accidente cerebrovascular agudo
<b>AL</b>	anticoagulante lúpico
<b>aPT</b>	antiprotrombina
<b>APTT</b>	tiempo de tromboplastina parcial activado
<b>aPS/PT</b>	antifosfatidilserina/protrombina
<b>AUC</b>	área bajo la curva

## C

<b>Cc</b>	casos y controles
<b>CE</b>	célula endotelial
<b>Ch</b>	cohortes
<b>CIR</b>	retraso del crecimiento intrauterino

## D

<b>DM</b>	diabetes mellitus
<b>DPPNI</b>	desprendimiento prematuro de placenta normalmente inserta
<b>dRVVT</b>	test de veneno de víbora Russell diluido

## E

<b>EAP</b>	enfermedad arterial periférica
<b>ERC</b>	enfermedad renal crónica
<b>Est</b>	estudios

## **F**

<b>FA</b>	fosfatasa alcalina
<b>FIV</b>	fecundación in vitro
<b>FT</b>	factor tisular

## **G**

<b>g</b>	gramos
<b>GOT</b>	aspartato aminotransferasa
<b>GGT</b>	gamma-glutamil transferasa
<b>GPT</b>	alanina aminotransferasa

## **H**

<b>HRP</b>	peroxidasa de rábano picante
<b>HTA</b>	hipertensión arterial

## **I**

<b>IAM</b>	infarto agudo de miocardio
<b>IMC</b>	índice de masa corporal
<b>ITB</b>	índice tobillo-brazo
<b>ITU</b>	infección del tracto urinario
<b>IVE</b>	interrupción voluntaria del embarazo

## **K**

<b>Kg</b>	kilogramos
-----------	------------

## **L**

<b>LES</b>	lupus eritematoso sistémico
------------	-----------------------------

## **M**

**m<sup>2</sup>** metros al cuadrado

## **N**

**nº** número

**NO** óxido nítrico

## **P**

**PA** presión arterial

**PAD** presión arterial diastólica

**PAS** presión arterial sistólica

**PE** preeclampsia

**PIGF** factor de crecimiento placentario

## **R**

**RCV** riesgo cardiovascular

**RIC** rango intercuartílico

**rpm** revoluciones por minuto

**RPM** rotura prematura de membrana

**Rs/Ma** revisión sistemática y metanálisis

## **S**

**SAF** síndrome antifosfolípido

**SAFO** síndrome antifosfolípido obstétrico

**SCT** Test de Silica Clotting Time

**Se** sensibilidad

**sFlt-1** tirosina quinasa 1 similar a fms soluble

**SNC** sistema nervioso central

**Sp** especificidad

## T

<b>T</b>	trimestre
<b>TA</b>	temperatura ambiente
<b>TRA</b>	técnicas de reproducción asistida

## V

<b>VOP</b>	velocidad de onda de pulso
<b>VPN</b>	valor predictivo negativo
<b>VPP</b>	valor predictivo positivo





## ***I. INTRODUCCIÓN***



## 1. Preeclampsia: concepto y clasificación

La preeclampsia (PE) es uno de los trastornos hipertensivos del embarazo que lleva asociado graves complicaciones maternas y perinatales normalmente transitorias, aunque en determinadas ocasiones puede originar en la madre graves complicaciones neurológicas, hepáticas, hematológicas o renales y en el feto un retraso del crecimiento intrauterino (CIR), con potencial riesgo de muerte fetal y obligar a finalizar la gestación antes de término [1–4]. La Tabla 1 recoge las principales consecuencias originadas en el feto [5] y en la madre [6–8].

**Tabla 1. Principales efectos adversos de la preeclampsia sobre el feto y la madre.**

Sobre el feto	Sobre la madre
Restricción de crecimiento	Hipertensión
Parto prematuro	Futura enfermedad cardiovascular
Desprendimiento de placenta	Insuficiencia renal
Insuficiencia respiratoria	ERC
Parálisis cerebral	Insuficiencia hepática
Retinopatía del prematuro	Cardiomiopatía
Enterocolitis necrotizante	Daño del SNC y ACVA
Sepsis	Convulsiones
Edema pulmonar	Diabetes mellitus
Arteriopatía coronaria	
Muerte fetal	

*Adaptado de Armaly et al [9].*

*ACVA: accidente cerebrovascular agudo, ERC: enfermedad renal crónica, SNC: sistema nervioso central.*

La PE se caracteriza, generalmente, por una hipertensión *de novo* a partir de la semana 20 de gestación, acompañada de proteinuria, o en ausencia de proteinuria, con afectación de órgano diana, con nueva aparición de cualquiera de las siguientes alteraciones: trombocitopenia, insuficiencia renal, deterioro de la función hepática, edema pulmonar o cerebral o alteraciones visuales [10,11] (Figura 1).

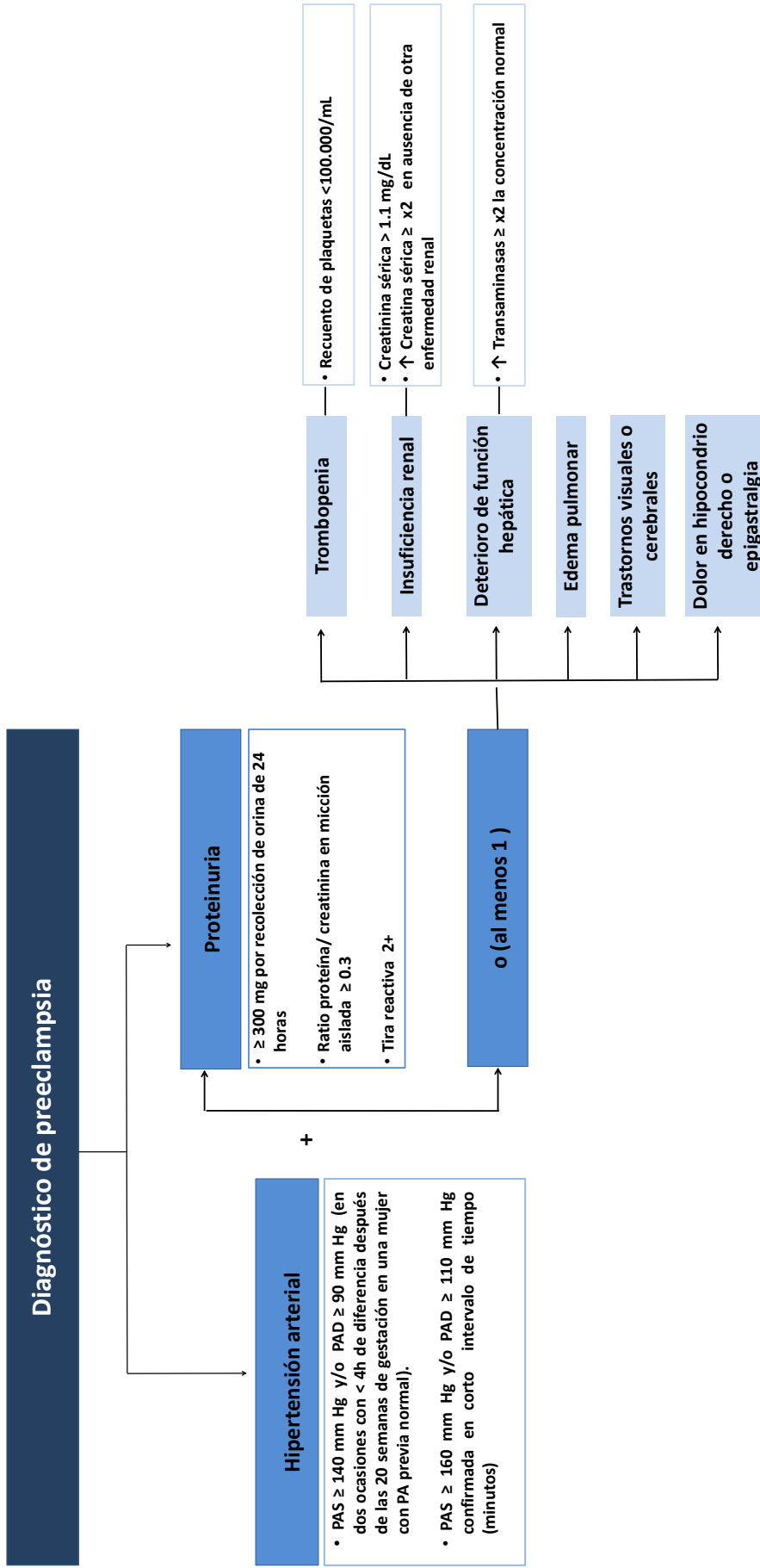


Figura 1. Criterios diagnósticos de preeclampsia [11]

En cuanto a la clasificación de la PE, existen dos criterios fundamentales: la gravedad y el momento de su aparición. La PE con ausencia de manifestaciones graves a menudo se ha caracterizado como "leve". Esto no debe resultar engañoso ya que incluso en ausencia de manifestaciones graves la morbilidad y la mortalidad de la PE son significativas. Aunque entidades como "The International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy" (ISSHP) no recomiendan clasificar la PE como leve o grave [12], la mayoría de los estudios publicados sí diferencian estos dos estadios de la PE, siendo los vigentes criterios de clasificación, establecidos por "The American College of Obstetricians and Gynecologists" (ACOG) [11] unos de los más utilizados. Estos criterios diferencian entre:

a) PE sin especiales signos de gravedad (en adelante PE leve), cuyo diagnóstico precisa de:

- ✓ Una presión arterial sistólica (PAS)  $\geq 140$  mmHg y/o una presión arterial diastólica (PAD)  $\geq 90$  mmHg determinada en dos ocasiones con al menos 4 horas de diferencia después de 20 semanas de gestación en una mujer con una presión arterial previamente normal, o una PAS  $\geq 160$  mmHg y/o una PAD  $\geq 110$  mmHg que puede confirmarse en un corto intervalo de tiempo (minutos) para facilitar la oportuna terapia antihipertensiva, acompañada de
- ✓ proteinuria  $\geq 300$  mg por recolección de orina de 24 horas, un ratio proteína/creatinina en micción aislada  $\geq 0.3$ , o una lectura con tira reactiva de 2+ (en defecto de otros métodos cuantitativos).

b) PE grave, cuyo diagnóstico precisa de cualquiera de las siguientes manifestaciones:

- ✓ PAS  $\geq 160$  mmHg y/o PAD  $\geq 110$  mmHg en dos ocasiones, separadas por 4 horas (a menos que se inicie el tratamiento antihipertensivo antes de este tiempo)
- ✓ Trombocitopenia: recuento plaquetario  $<100.000/mL$

## I. Introducción

- ✓ Deterioro de la función hepática, caracterizado por duplicación de enzimas hepáticas, que no se explica por diagnósticos alternativos.
- ✓ Dolor severo persistente en cuadrante superior derecho del abdomen o epigastria que no responden a medicamentos y no son explicables por otra causa.
- ✓ Insuficiencia renal progresiva: creatinina sérica > 1,1 mg/dl, o una duplicación de la concentración de creatinina sérica en ausencia de otra enfermedad renal.
- ✓ Edema pulmonar.
- ✓ Cefalea de inicio reciente que no responde a la medicación y no se explica por diagnósticos alternativos o síntomas visuales.

Según el momento de su debut, se distinguen dos fenotipos de PE [13–18]:

- a) PE de inicio precoz (< 34 semanas), que representa entre un 10-20% de los casos y guarda una asociación más fuerte con los antecedentes familiares de PE, edad (menor de 20 años o mayor de 40), multiparidad, obesidad, anemia y tabaquismo. La PE precoz se encuentra relacionada con una mayor incidencia de complicaciones tanto maternas como fetales y se asocia a los cuadros clínicos más graves como insuficiencia renal, fallo hepático, trastornos de la coagulación, afectación hepática, edema de pulmón, ictus, eclampsia, síndrome de HELLP, CIR, parto pretérmino, aborto tardío y muerte perinatal, con el consiguiente incremento de la morbilidad materno-fetal.
- b) PE de aparición tardía ( $\geq 34$  semanas), que constituye el 80-90% de los casos, normalmente relacionadas con antecedentes de PE en gestación previa, nuliparidad, raza negra y uso de técnica de fecundación *in vitro* o inseminación artificial. En general, origina cuadros de menor gravedad.

## 2. Epidemiología de la preeclampsia

La prevalencia de la PE a nivel mundial se estima del orden del 3-8% [19], y en España se estima entre el 1-2% [20]. En América Latina y el Caribe, los trastornos hipertensivos son responsables de casi el 26% de las muertes maternas, mientras que en África y Asia contribuyen al 9% de las muertes. Aunque la mortalidad materna es mucho menor en los países de ingresos altos que en los países en desarrollo, el 16% de las muertes maternas se pueden atribuir a trastornos hipertensivos [21,22].

Aproximadamente, un 5% de las PE evolucionan a eclampsia, y hasta en un 19% pueden hacerlo como un síndrome de HELLP, lo que se asocia con una mayor morbimortalidad [23].

## 3. Fisiopatología de la preeclampsia

Su fisiopatología no se halla del todo dilucidada existiendo diversas teorías, entre las que se encuentran la predisposición genética [24], la intolerancia inmunológica entre la unidad feto placentaria y el tejido materno, el desequilibrio angiogénico, la disfunción endotelial (DE) y el proceso inflamatorio sistémico, las alteraciones en el eje renina-angiotensina-aldosterona y el estrés oxidativo [25].

Actualmente, parece existir un acuerdo en el carácter multifactorial de su etiología, en la que suelen distinguirse entre factores clínicos de riesgo materno como el síndrome antifosfolípido (SAF), antecedentes de PE previa, hipertensión crónica, índice de masa corporal (IMC) previo al embarazo >30, diabetes mellitus (DM), uso de técnicas de reproducción asistida (TRA) [26] y factores placentarios asociados a un remodelado defectuoso de las arterias espirales que conlleva una disminución de la perfusión placentaria.

Una hipótesis ampliamente aceptada señala que la PE, especialmente la de inicio temprano, se desarrolla en dos etapas [27–31]. La primera etapa (antes de las 20

## *I. Introducción*

semanas), carente de manifestaciones clínicas, involucra una insuficiente invasión placentaria en el miometrio y la vasculatura uterina. La segunda etapa es consecuencia de una deficiente placentación, provocada por la relativa hipoxia placentaria y la hipoxia de reperfusión, lo cual resulta en daño al sincitiotrofoblasto y restricción del crecimiento fetal. El eslabón entre la hipoxia placentaria relativa y el síndrome clínico materno incluye una cascada de mecanismos secundarios entre los que se encuentra un desequilibrio entre factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos (hoy día, el cociente entre los niveles séricos de la tirosina quinasa 1 soluble similar a *fms* (sFlt-1) y el factor de crecimiento placentario (PlGF), resulta de utilidad como biomarcador de PE), estrés oxidativo materno, y DE e inmunológica, que origina una afectación multisistémica en la madre y una restricción al crecimiento fetal [32,33] (Figura 2).



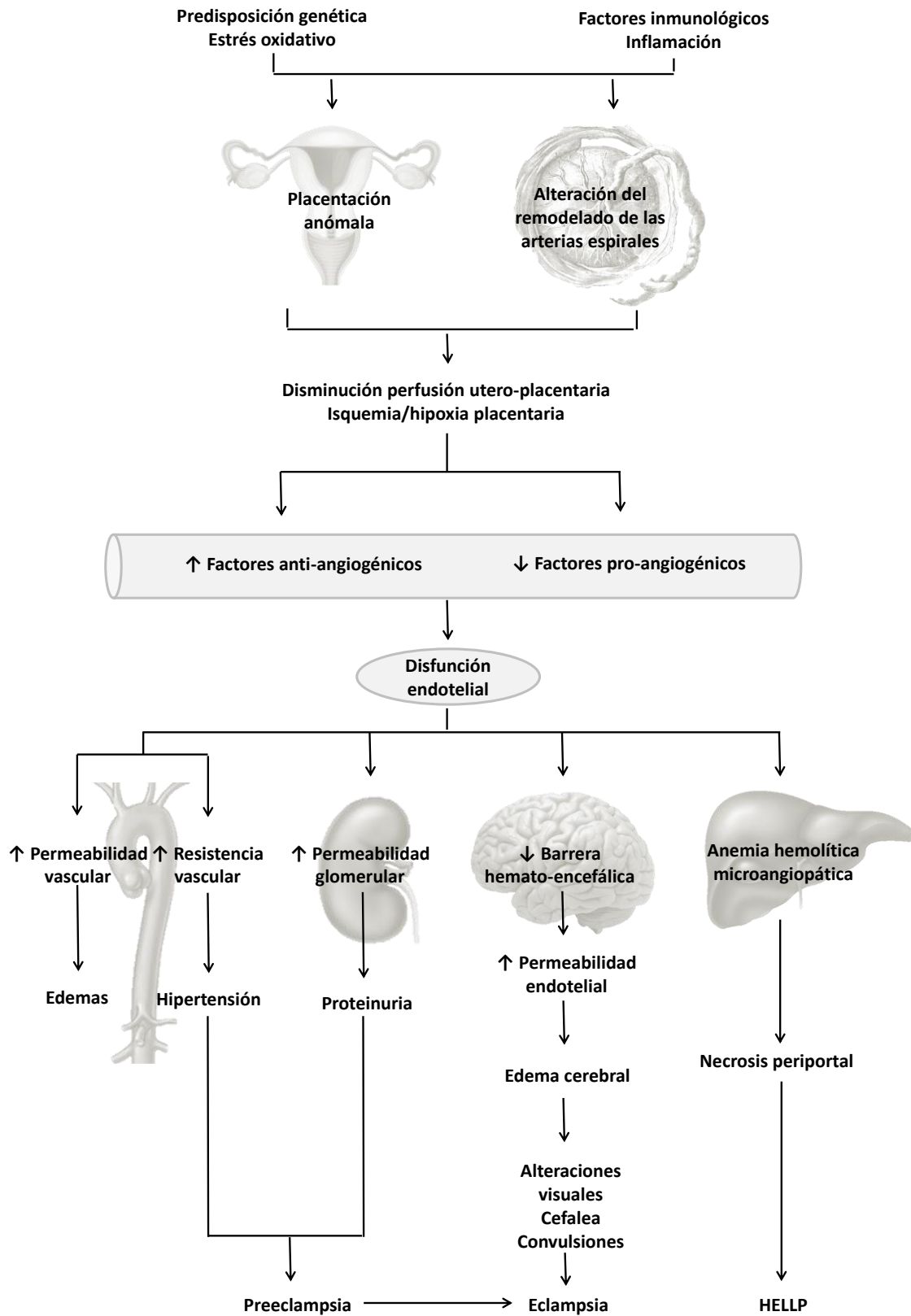


Figura 2. Fisiopatología de la preeclampsia. Adaptado de Ali SM, al [34]

#### **4. Disfunción endotelial en la preeclampsia: causas y consecuencias**

Durante el embarazo normal, se producen diversas adaptaciones hemodinámicas y cardiovasculares maternas para satisfacer las necesidades de aumento de volumen y flujo sanguíneo útero-placentario que el feto en crecimiento precisa. De esta forma, la resistencia vascular sistémica disminuye a lo largo del embarazo, mientras que la presión arterial (PA) refleja una caída progresiva durante el primer y segundo trimestre, a pesar de que el gasto y la frecuencia cardíaca se incrementan paulatinamente durante el segundo y el tercer trimestre [35,36]. Esta disminución de la resistencia vascular, imputada principalmente al óxido nítrico (NO) liberado en el endotelio, originaría la vasodilatación precisa para satisfacer el suministro de oxígeno y nutrientes que precisa el feto [37].

El endotelio vascular juega un importante papel en la regulación de una amplia gama de procesos fisiológicos, tales como trombogenicidad, permeabilidad vascular, inflamación, formación de radicales libres, proliferación celular y actividad vasomotora. El fallo en el control de estos procesos por parte de las células endoteliales tienen como consecuencia, por un lado, un incremento de agentes vasopresores y agregantes plaquetarios, y, por otro, una disminución de las sustancias vasodilatadoras y de antiagregantes plaquetarios [34,35,38]. Este desequilibrio entre sustancias vasoactivas, junto a una mayor sensibilidad a la angiotensina II, determinan un estado de vasoconstricción, produciéndose un aumento de la resistencia vascular periférica y, consecuentemente, un aumento de la PA. El NO es considerado como el principal factor producido en el endotelio. Cuenta con propiedades relajantes del músculo liso vascular, lo que favorece la relajación de los vasos sanguíneos [39], habiéndose constatado en mujeres preeclámplicas menores concentraciones de nitritos y nitratos que postulan una menor producción de NO en estas pacientes [40]. Algunos autores apuntan que esta menor disponibilidad de NO en las mujeres que desarrollan PE no es debida exclusivamente a una menor producción, sino también a su neutralización por parte de especies reactivas del oxígeno producidas por el endotelio [41]. Cuando la síntesis y/o liberación de NO es deficiente la capacidad

homeostática del endotelio vascular empeora, lo que constituyen uno de los eventos más significativos de la DE [42].

Son numerosos los estudios que asocian la DE en la fisiopatología de la PE, por lo que identificar precozmente el daño endotelial subclínico durante el embarazo podría ser de gran utilidad para la clasificación de los diferentes estados hipertensivos del embarazo y la toma de decisiones terapéuticas adecuadas [43–49]. Se postula que en la PE temprana, una deficiente invasión trofoblástica, sería el origen de la consiguiente hipoxia placentaria y liberación de distintos factores bioactivos en la circulación materna, tales como factores antiangiogénicos, sustancias vasoconstrictoras como endotelina I, angiotensina II y tromboxano A2 y una disminución de sustancias vasodilatadoras como la prostaciclina y el NO [50,51], que serían los responsables de la DE generalizada, originando endoteliosis vascular, glomerular, cerebral y hepática. Estas últimas lesiones serían responsables de las manifestaciones típicas de la PE como la hipertensión arterial, la proteinuria y el daño renal, el edema cerebral, convulsiones y trastornos visuales, la coagulopatía, así como de las manifestaciones típicas del síndrome de HELLP [52].

Por el contrario en la PE de origen tardío la DE estaría relacionada con factores maternos de riesgo preexistente tales como hipertensión crónica, edad, obesidad, DM o trombofilia, que podrían afectar la integridad endotelial [34,38,53].

## **5. Medidas de la disfunción endotelial: Velocidad de onda de pulso e índice tobillo-brazo**

Las alteraciones en la función endotelial preceden al desarrollo de los cambios ateroscleróticos que son los mecanismos patogénicos subyacentes a una amplia cantidad de enfermedades que afectan a todos los órganos principales [54]. La DE es un evento que precede los cambios morfológicos característicos de la aterogénesis y contribuye al desarrollo de complicaciones de la placa aterosclerótica. Además, la evidencia disponible indica que el desarrollo de DE participa en el daño cardiovascular

## *I. Introducción*

en condiciones que abarcan desde procesos fisiológicos como el envejecimiento, hasta procesos fisiopatológicos diversos como hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal, DM, infecciones, sepsis, artritis reumatoide, coagulación intravascular, PE, enfermedades inflamatorias y la apnea del sueño [55,56].

Como la DE y la aterosclerosis se desarrollan lentamente, el sujeto suele permanecer asintomático, y la mayoría de los pacientes no son diagnosticados en forma oportuna. La sintomatología aparece cuando se presenta alguna complicación y depende fundamentalmente del territorio arterial en que se encuentra la placa, y el grado de isquemia que genere en el órgano afectado. Así, los ataques isquémicos transitorios y el infarto cerebral son típicos de afectación de las arterias cerebrales, la angina de pecho y el infarto agudo de miocardio son manifestaciones típicas de afectación de las arterias coronarias, y la claudicación intermitente, la enfermedad arterial periférica, la necrosis y la disfunción eréctil son propias manifestaciones propias la afectación de las arterias periféricas. Sin embargo, lo común es que más de un territorio arterial se encuentre dañado en los pacientes, de tal forma que suelen coexistir la enfermedad arterial coronaria con enfermedad arterial cerebral y periférica.

Existen abordajes invasivos para evaluar la DE, que a la vez de ser útiles clínicamente, se consideran “estándar oro” y se emplean para validar los métodos no invasivos [57]. Entre ellos, el más extendido es la infusión de acetilcolina (ACh), produciendo así una vasoconstricción paradójica de las arterias afectadas por el ateroma. La ACh fomenta la liberación de NO en los vasos sanguíneos que disponen de un endotelio indemne, lo que conduce a vasodilatación. Sin embargo, los vasos ateroscleróticos con un deterioro de la función endotelial responden con vasoconstricción como consecuencia de un efecto vasoconstrictor directo de la ACh en el músculo liso vascular en ausencia de liberación de NO. Los investigadores han utilizado también agonistas endoteliales como sustancia P, adenosina y bradicinina. Sin embargo, la utilidad de estos métodos se ve limitada por su naturaleza invasiva. En los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas no invasivas de evaluación de la función endotelial en los vasos periféricos, que utilizan la vasomotilidad dependiente del endotelio como parámetro de valoración clínica de la función endotelial [58]. Entre ellos, figuran la velocidad de

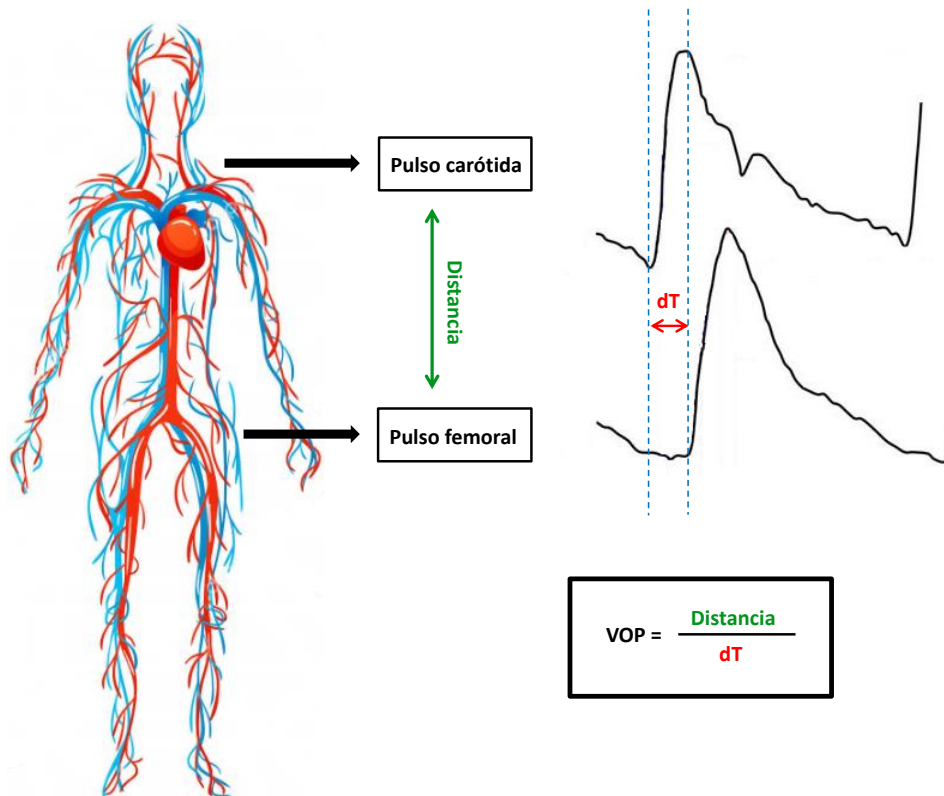
onda de pulso (VOP), como marcador de rigidez arterial, evaluando la capacidad de relajación y vuelta al tamaño normal de las arterias en respuesta a las diferencias de presión, y el índice tobillo-brazo (ITB), que evalúa si las arterias permiten irrigar de forma adecuada los territorios distales en miembros inferiores, lo que es de gran utilidad para el diagnóstico de la enfermedad arterial periférica.

### **5.1. Velocidad de onda de pulso**

La medida de la VOP es un procedimiento no invasivo, inocuo, de corta duración y sencillo de realizar en la práctica asistencial [59,60]. Dada su fiabilidad y la gran cantidad de evidencias que demuestran su asociación con la enfermedad cardiovascular, independientemente de los factores de riesgo existentes, la VOP carótido-femoral constituye el estándar de oro, siendo considerada como uno de los marcadores de daño orgánico con mayor valor predictivo cardiovascular, mayor reproducibilidad y aceptable relación coste-efectividad [61–65].

Se han hallado evidencias de que en mujeres embarazadas sanas las adaptaciones hemodinámicas que se producen durante el embarazo determinan que la VOP disminuya significativamente del primer al segundo trimestre, incrementándose al comienzo del tercer trimestre y regresando a niveles basales tras el parto. Por el contrario, en las mujeres que posteriormente desarrollaron PE, una vasoconstricción más significativa influye en un aumento de la VOP durante todo el embarazo y que incluso llega a extenderse más allá del parto, especialmente entre las mujeres con PE de inicio temprano [66].

La medida de la VOP se realiza mediante la toma de dos señales de presión de dos arterias (carótida y femoral) en un mismo trayecto, dividiendo la distancia (del punto carotídeo al punto femoral) entre el llamado tiempo de tránsito (tiempo entre el inicio de las ondas de pulso en cada localización) (Figura 3).



**Figura 3. Técnica de medición de velocidad de onda de pulso.** *dT*: diferencia de tiempo, *VOP*: velocidad de onda de pulso. Adaptado de <https://media.istockphoto.com/vectors/anatomical-structure-human-bodies-blood-vessels-with-arteries-veins-vector-id1177885038>

Cada vez que el ventrículo izquierdo expulsa sangre se generan ondas de presión y flujo que se transmiten a través de todo el árbol arterial. La velocidad con la que estas ondas se desplazan, depende de la viscosidad sanguínea, la elasticidad de los vasos, la distribución de las ramificaciones y la diferencia de longitudes y distensibilidades a lo largo del sistema. La siguiente ecuación atribuida a Moens-Korteweg establece el valor de la VOP en función del denominado módulo elástico del vaso ( $E_{inc}$ ), el espesor ( $h$ ) el radio ( $r$ ), y  $\rho$  (viscosidad sanguínea) [67].

$$VOP = \frac{E_{inc} \cdot h}{2r\rho}$$

Como puede deducirse de la anterior fórmula, a mayor espesor y rigidez de la pared, mayor va a ser la VOP y a mayor diámetro del vaso y densidad del fluido, la VOP va a ser menor.

Se han aplicado diversas técnicas y se han desarrollado diversos dispositivos comerciales para la cuantificación de la VOP. El primer dispositivo comercializado fue el Complior system que mide simultáneamente la onda de pulso arterial en la carótida y femoral. Otro dispositivo de amplia aceptación es el SphygmoCor que permite determinar de forma simultánea la presión central. Otras técnicas utilizadas han sido la resonancia magnética y especialmente, la determinación mediante Doppler, que ha sido utilizada para la validación de múltiples dispositivos comerciales.

La velocidad de propagación oscila entre 8-10 m/seg, de tal forma que la onda llega a las arterias más alejadas del corazón antes de que haya terminado el período de evacuación ventricular. Se han propuesto diversos puntos de corte para fijar la normalidad del valor de la VOP, que se han utilizado como predictores de riesgo cardiovascular (RCV). Sin embargo, estudios experimentales llevados a cabo sobre pacientes normotensos han establecido variaciones de la VOP en función de la edad, a consecuencia de la disminución de la distensibilidad arterial debida al envejecimiento vascular, lo que aconseja establecer valores diferenciados de referencia de VOP por grupos de edad. Por otro lado, el aumento de la edad se relaciona con una disminución de la elasticidad de la pared arterial, también presente en enfermedades como la hipertensión arterial, la DM o la insuficiencia renal terminal, habiéndose constatado que la VOP es superior en los pacientes hipertensos que en los normotensos en cada grupo etario [68]. Igualmente se ha constatado que la obesidad, la frecuencia cardíaca y los niveles de colesterol HDL, triglicéridos, apolipoproteína B, adiponectina, proteína C reactiva, antagonista del receptor de interleuquina 1 y fibrinógeno son predictores de mayor VOP [69]. Por ello, a la hora de establecer valores de referencia de la VOP aplicables para determinar el RCV, conviene llevar a cabo clasificaciones por grupos de edad, y existencia o no de factores de RCV. A nivel europeo, tras estandarizar los resultados obtenidos a través de diversos métodos de medición de la VOP se han

## I. Introducción

establecido por parte de la “Reference Values for Arterial Stiffness Collaboration” los valores de referencia de VOP siguientes [70] (Tablas 2 y 3).

**Tabla 2. Valores de referencia de velocidad de onda de pulso en m/s para población sin factores de riesgo cardiovascular asociados.**

Edad (años)	Media ( $\pm 2$ DE)	Mediana (P10-P90)
<30	6,2 (4,7–7,6)	6,1 (5,3–7,1)
30–39	6,5 (3,8–9,2)	6,4 (5,2–8,0)
40–49	7,2 (4,6–9,8)	6,9 (5,9–8,6)
50–59	8,3 (4,5–12,1)	8,1 (6,3–10,0)
60–69	10,3 (5,5–15,0)	9,7 (7,9–13,1)
$\geq 70$	10,9 (5,5–16,3)	10,6 (8,0–14,6)

DE: Desviación estándar, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, m/s: metros/segundo, P10: Percentil 10, P90: Percentil 90, VOP: velocidad onda de pulso.

**Tabla 3. Valores de referencia de velocidad de onda de pulso en m/s para población con factores de riesgo cardiovascular asociados.**

Edad años	Categoría HTA				
	Optima	Normal	Normal Alta	Grado I HTA	Grado II HTA
<b>VOP Media (<math>\pm 2</math> DE)</b>					
<30	6,1 (4,6–7,5)	6,6 (4,9–8,2)	6,8 (5,1–8,5)	7,4 (4,6–10,1)	7,7 (4,4–11,0)
30–39	6,6 (4,4–8,9)	6,8 (4,2–9,4)	7,1 (4,5–9,7)	7,3 (4,0–10,7)	8,2 (3,3–13,0)
40–49	7,0 (4,5–9,6)	7,5 (5,1–10,0)	7,9 (5,2–10,7)	8,6 (5,1–12,0)	9,8 (3,8–15,7)
50–59	7,6 (4,8–10,5)	8,4 (5,1–11,7)	8,8 (4,8–12,8)	9,6 (4,9–14,3)	10,5 (4,1–16,8)
60–69	9,1 (5,2–12,9)	9,7 (5,7–13,6)	10,3 (5,5–15,1)	11,1 (6,1–16,2)	12,2 (5,7–18,6)
$\geq 70$	10,4 (5,2–15,6)	11,7 (6,0–17,5)	11,8 (5,7–17,9)	12,9 (6,9–18,9)	14,0 (7,4–20,6)
<b>VOP Mediana (P10-P90)</b>					
<30	6,0 (5,2–7,0)	6,4 (5,7–7,5)	6,7 (5,8–7,9)	7,2 (5,7–9,3)	7,6 (5,9–9,9)
30–39	6,5 (5,4–7,9)	6,7 (5,3–8,2)	7,0 (5,5–8,8)	7,2 (5,5–9,3)	7,6 (5,8–11,2)
40–49	6,8 (5,8–8,5)	7,4 (6,2–9,0)	7,7 (6,5–9,5)	8,1 (6,8–10,8)	9,2 (7,1–13,2)
50–59	7,5 (6,9–9,2)	8,1 (6,7–10,4)	8,4 (7,0–11,3)	9,2 (7,2–12,5)	9,7 (7,4–14,9)
60–69	8,7 (7,0–11,4)	9,3 (7,6–12,2)	9,8 (7,9–13,2)	10,7 (8,4–14,1)	12,0 (8,5–16,5)
$\geq 70$	10,1 (7,6–13,8)	11,1 (8,6–15,5)	11,2 (8,6–15,8)	12,7 (9,3–16,7)	13,5 (10,8–18,2)

HTA: hipertensión arterial, DE: Desviación estándar, P10: Percentil 10, P90: Percentil 90, VOP: velocidad de onda de pulso.

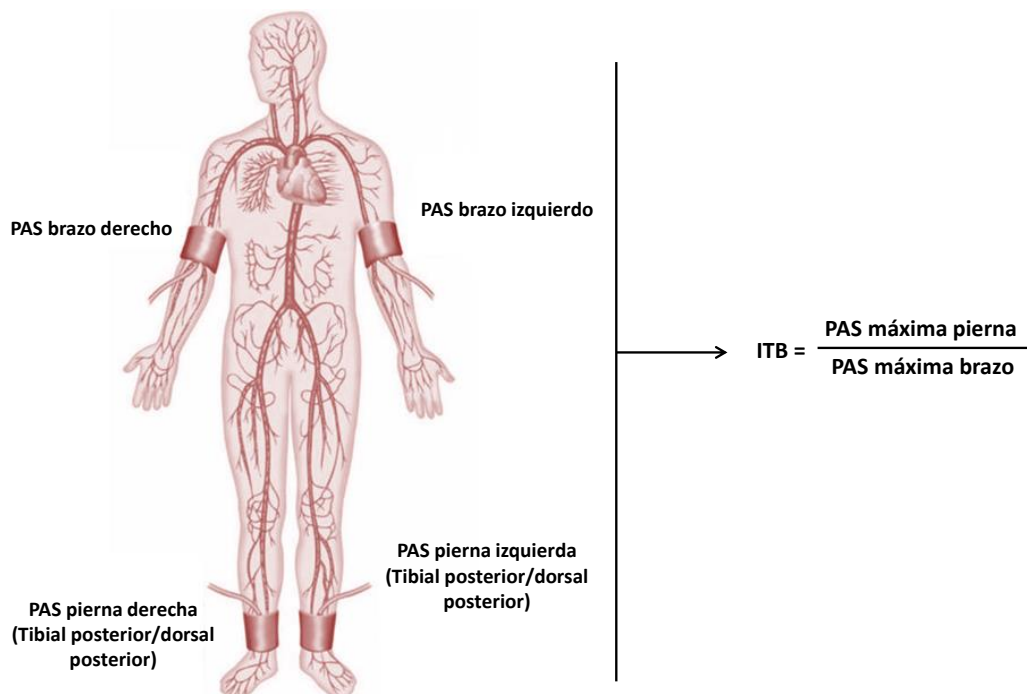
\*\*Se considera: PA optima <120/80 mmHg; normal,  $\geq 120/80$  y <130/85 mmHg; normal alta  $\geq 130/85$  y <140/90 mmHg; grado I HTA  $\geq 140/90$  y <160/100 mmHg; grado II HTA  $\geq 160/100$  mmHg.



## 5.2. Índice tobillo-brazo

El ITB es una técnica simple, económica y no invasiva para evaluar el riesgo de desarrollar aterosclerosis. Refleja la relación existente entre la PAS de extremidades superiores y la parte distal de las extremidades inferiores y se ha demostrado como un buen predictor de enfermedad vascular periférica, pero también de accidente cerebrovascular y eventos cardiovasculares en poblaciones de mediana edad y mayores [71–75], constituyendo al mismo tiempo una herramienta eficaz para el cribado de la enfermedad aterosclerótica subclínica [76]. Combinado con la puntuación de riesgo deducida de las tablas Framingham, un bajo ITB ( $\leq 0.9$ ) duplica aproximadamente el riesgo de mortalidad total, mortalidad cardiovascular y eventos coronarios mayores en todas las categorías de riesgo de Framingham [77].

Físicamente, la determinación de la PA se realiza a nivel de la arteria braquial en ambos brazos y en ambos pies, habitualmente a nivel de la arteria tibial posterior y de la arteria pedia dorsal (Figura 4).



**Figura 4. Técnica de medición del índice tobillo-brazo.** Adaptado de: *Rev Esp Cardiol Supl.* 2009;9:11D-17D [78]. ITB: índice tobillo-brazo, PAS: presión arterial sistólica.

## *I. Introducción*

La técnica usual de determinación es la siguiente:

- a) Se determina la PAS braquial en ambos brazos y se toma como referencia la de mayor valor.
- b) Se determina la PAS pedia y tibial posterior en ambas extremidades inferiores y se toma como medida la mayor de las dos.
- c) Se divide cada uno de los dos valores de presión obtenidos en las extremidades inferiores por la PAS braquial, obteniéndose 2 valores (uno por cada pierna).

El más bajo de estos dos valores se definirá como ITB, y será el utilizado para determinar la existencia de enfermedad arterial periférica. Un ITB próximo a 1 ( $> 0,90$ ) se considera normal. Un ITB bajo ( $< 0,9$ ) es sugestivo de enfermedad arterial periférica (EAP) de las extremidades inferiores y en general, aterosclerosis avanzada [79], tiene valor predictivo de complicaciones cardiovasculares y se asocia con una tasa de mortalidad cardiovascular y eventos coronarios graves a 10 años, 2 veces mayor que las tasas totales de cada categoría de Framingham [77]. Valores del ITB  $< 0,9$  permiten diagnosticar arteriopatía periférica en pacientes asintomáticos con una sensibilidad del 95% y una especificidad del 99% respecto a un patrón de referencia como la angiografía [80], circunstancia que unida a su fácil disponibilidad lo convierte en el método diagnóstico de elección de EAP, y justifica su uso sistemático en la evaluación de pacientes con riesgo de enfermedad aterotrombótica [81,82].

La utilización de una prueba sencilla, fiable y barata como el ITB, puede contribuir a la reclasificación de los pacientes a su verdadera categoría de RCV, con la consiguiente mejoría de la capacidad predictiva [83]. Debido a que la evolución natural de la arteriosclerosis comienza con una fase asintomática de larga duración seguida de una fase clínica sintomática, con frecuencia súbita y mortal, la base de su tratamiento debería sustentarse fundamentalmente en optimizar la prevención primaria y el control de su progresión para evitar la aparición de graves complicaciones cardiovasculares y por tanto, mejorar su pronóstico [84–86]. Esta optimización de medidas preventivas podría contemplar una reducción de la concentración de colesterol más allá de lo habitualmente recomendado [87], el logro de mayores descensos de la PA [88], o una optimización del tratamiento antiagregante [89,90].

## 6. Anticuerpos antifosfolípido en el embarazo y la preeclampsia

### 6.1. Síndrome antifosfolípido en el embarazo y preeclampsia

El SAF es un trastorno autoinmune caracterizado por trombosis vascular (tanto venosa como arterial) y/o morbilidad en el embarazo [91,92].

Un paciente se diagnostica de SAF si cumple uno o más de los criterios clínicos, junto con al menos 1 de los criterios de laboratorio. Estos criterios se describen en la Figura 5.

<b>Criterios clasificatorios de Síndrome antifosfolípido</b>	<b>Criterios clínicos (1 o más)</b>	<b>Trombosis vascular</b>	<p>Uno o más episodios de trombosis arterial, venosa (con la excepción de trombosis venosa superficial) o capilar en cualquier tejido u órgano, confirmado por una prueba de imagen, ecografía doppler o histología.</p> <p>En el estudio histopatológico la trombosis no debe estar acompañada de inflamación de la pared vascular</p>
		<b>Morbilidad obstétrica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Una o más muertes de un feto morfológicamente normal de al menos 10 semanas de gestación, con morfología normal del feto documentada mediante ecografía o examen directo del feto.</li> <li>• Uno o más partos prematuros de un neonato morfológicamente normal antes de la semana 34 de gestación debido a eclampsia /preeclampsia grave, o características reconocibles de insuficiencia placentaria.</li> <li>• Tres o más abortos espontáneos consecutivos antes de la semana 10 de gestación, habiendo descartado anomalías anatómicas y hormonales de la madre y anomalías tanto maternas como paternas</li> </ul>
	<b>Criterios de laboratorio (Al menos 1)</b>	<p>Se deben obtener resultados positivos en suero o plasma en dos o más ocasiones separadas al menos 12 semanas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anticoagulante lúpico determinado de acuerdo con las recomendaciones de la International Society of Thrombosis and Hemostasis. (Scientific Subcommittee on LAs/phospholipid-dependent antibodies)</li> <li>• Anticuerpos anticardiolipina tipo IgG y/o IgM medidos por ELISA a títulos medios o elevados.</li> <li>• Anticuerpos anti-β2 glicoproteína I tipo IgG y/o IgM medidos por ELISA a títulos medios o elevados</li> </ul>	

Figura 5. Criterios clasificatorios del síndrome antifosfolípido. Adaptado de Miyakis et al. [91]

Mientras que parece clara la asociación de los anticuerpos antifosfolípido (aAFL) con el desarrollo de los fenómenos trombóticos, la asociación de algunas manifestaciones obstétricas con dichos autoanticuerpos, sigue siendo objeto de debate. En la vertiente de complicaciones obstétricas, son escasas las que se acompañan de eventos trombóticos, circunstancia por la cual, en la novena reunión del Foro Europeo de SAF, se propuso considerar como una entidad diferenciada el síndrome antifosfolípido obstétrico (SAFO), del trombótico, ya que en ausencia de trombosis existe evidencia histológica y bioquímica de la acción de los aAFL [93,94]. Diversos estudios han demostrado que las pacientes con perfiles elevados de aAFL, frecuentemente presentan complicaciones del embarazo, que comprenden abortos espontáneos recurrentes, muertes fetales, CIR, nacimientos prematuros y PE, lo que sugiere que estos anticuerpos puede influir en la implantación embrionaria e inducir trombosis de la vasculatura uteroplacentaria [95]. Los vigentes criterios de laboratorio para el diagnóstico del SAF, incluyen el anticoagulante lúpico (AL), los anticuerpos anticardiolipina (aCL) y los anticuerpos anti- $\beta$ 2-glicoproteína I (a $\beta$ 2GPI) [91], existiendo múltiples estudios que señalan al AL como el predictor más importante del SAF [91,96–98].

## **6.2. Mecanismos patogénicos de afectación de los anticuerpos antifosfolípido en el embarazo**

Los aAFL pueden afectar a la remodelación de las arterias espirales, inflamación decidual, disminución de la membrana vasculosincitial, la activación del complemento [99–101], la sobreexpresión del factor tisular en los neutrófilos y los monocitos y el desbalance de los factores angiogénicos, aun en ausencia de trombosis [102]. Las manifestaciones inflamatorias son principalmente mediadas por el complemento [100] y por la activación de la cascada de coagulación de manera secundaria [103], además de la disminución de la anexina V y el daño tisular placentario [99]. Otros mecanismos son el daño al trofoblasto de manera directa por medio de apoptosis, la inhibición de la proliferación y formación del sincitiotrofoblasto, la disminución de la producción de hormona gonadotropina coriónica, y el daño a la invasión trofoblástica y a la secreción

de los factores de crecimiento, lo que puede originar la pérdida de la gestación o una disfunción placentaria [104].

Una proteína clave en la activación de la cascada de la coagulación es el factor tisular (FT). Cuando el endotelio vascular se encuentra íntegro, no existe expresión del FT en la superficie de las células. Sin embargo, cuando se activa bajo ciertos estímulos o se pierde su integridad, se expresa el FT en las células endoteliales (CE) y en los monocitos circulantes. Se ha demostrado aumento en la expresión de FT en monocitos en presencia de anticuerpos aCL de isotipo IgG y en presencia de anticuerpos a $\beta$ 2GPI IgG [105,106]. Con relación a las CE, partícipes en la regulación de la hemostasia, la presencia de a $\beta$ 2GPI isotipo IgG indujo la expresión de FT y de moléculas de adhesión (E-selectina, ICAM-2 y VCAM-1); lo que favorece un estado procoagulante [107,108]. La presencia de aAFL es necesaria aunque no suficiente para originar un evento trombótico, siendo preciso un desencadenante adicional para iniciar un evento vascular en los portadores de aAFL.

### **6.3. Autoinmunidad y disfunción endotelial**

Se ha constatado un efecto perjudicial de los aAFL sobre la función endotelial vascular. En mujeres con anticuerpos aAFL positivos, se han detectado anomalías arteriales funcionales y estructurales que se asociaron con una reducción de la actividad de la paraoxonasa, una enzima antioxidante relacionada con el HDL, lo que implica al HDL y al estrés oxidativo con la aterosclerosis de estas pacientes. Al mismo tiempo se ha demostrado una reducción de la biodisponibilidad de NO. Numerosos estudios han informado sobre cambios ateroscleróticos prematuros en pacientes con SAF que respaldan el importante rol que los aAFL juegan en la etiología de la enfermedad vascular [109–112]. En el contexto del SAF, algunos estudios han objetivado que un ITB anormal es siete veces más frecuente que en pacientes sanos [113], y que la presencia de aAFL podría estar directamente involucrada en el desarrollo de vasculopatía [114]. Sin embargo, hay otros datos contradictorios que muestran que los aAFL no tienen relación con las placas ateroscleróticas [115], sino solo con el fenómeno trombótico [116]. A nivel obstétrico, un estudio de Christodoulou *et al*, objetivó que un 23% de las

pacientes con SAF y pérdida de embarazo pero sin trombosis previa tenían un ITB anormal en comparación con ninguno en el grupo control ( $p < 0.02$ ) [117], lo que sugiere que una vasculopatía de grandes vasos puede ser un factor que contribuye a la pérdida del embarazo en el SAF [118]. Igualmente se ha sugerido que las pacientes con un ITB anormal tienen mayor riesgo de aterosclerosis y/o que una anomalía difusa de la pared del vaso puede estar contribuyendo a la pérdida del embarazo [117].

#### **6.4. Nuevos anticuerpos antifosfolípido**

Los criterios de clasificación de Sídney solo incluyen tres de los aAFL conocidos: AL, los aCL (IgM e IgG) y los a $\beta$ 2GPI (IgM e IgG). La detección del resto de los aAFL (aAFL no convencionales) aún no está indicada en la práctica asistencial. No hay suficiente información sobre cuál es su significado clínico, pero muchos de los nuevos aAFL descritos son potencialmente importantes en la fisiopatología del SAF y en el momento actual no se sabe si deben incluirse en el algoritmo diagnóstico y estudio rutinario de los pacientes con SAF. Por otro lado, los criterios de clasificación de Sapporo y Sídney establecen como requisito diagnóstico de SAF titulaciones de anticuerpos moderadas o altas, pero no bajas o negativas. No obstante, en muchas ocasiones se observan mujeres con signos clínicos altamente sugestivos de SAFO que sin embargo presentan de forma repetida resultados negativos para las pruebas de laboratorio convencionales de aAFL, a los que se les ha denominado "SAFO seronegativo" [119–127]. Como consecuencia de esta seronegatividad, se han investigado nuevos determinantes antigénicos [127–131] o enfoques metodológicos para detectar SAFO en este tipo de pacientes, describiéndose así diversos aAFL no convencionales de especial interés [132–134]. La protrombina (factor II) es un objetivo antigénico importante para los aAFL en el SAF y los anticuerpos dirigidos frente a la protrombina humana (aPT) y al complejo de fosfatidilserina/protrombina (aPS/PT) o para algunos dominios de  $\beta$ 2GPI, se han propuesto como especialmente relevantes en el diagnóstico de SAF.

La asociación de anticuerpos aPT con resultados adversos del embarazo ha sido escasamente estudiada. Aunque diversos estudios han señalado la asociación ente los anticuerpos aPS/PT y la morbilidad obstétrica [95,120,135–138], llegándose a señalar que los anticuerpos aPS/PT constituyen un factor de riesgo independiente para

complicaciones obstétricas más fuerte que AL, aCL y a $\beta$ 2GPI [139], otros estudios no han encontrado tal asociación [140,141]. Una positividad triple (AL, a $\beta$ 2GPI y aCL) se ha constatado como el mejor criterio diagnóstico de SAF [142]. Además, en comparación con la positividad doble o simple, esta combinación triple mostró una correlación más fuerte con los eventos clínicos (trombosis y/o pérdida del embarazo) [143].





## ***II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS***



## **Hipótesis**

El desarrollo de la preeclampsia en mujeres sin criterios previos de SAF se encuentra asociado a una respuesta autoinmune que se puede objetivar mediante la detección de anticuerpos antifosfolípido no convencionales, los cuales podrían asociarse a la disfunción endotelial generalizada que se origina en la preeclampsia y afectar negativamente al riesgo cardiovascular futuro de la madre, lo que podría objetivarse mediante el análisis de parámetros de afectación vascular como la velocidad de onda de pulso y el índice tobillo-brazo.

## Objetivos

El objetivo principal del presente trabajo consiste en la búsqueda de nuevos biomarcadores séricos implicados en la preeclampsia en mujeres que no reúnen criterios de SAF, así como su posible asociación con el desarrollo de disfunción endotelial.

Los objetivos secundarios son:

1. Describir el perfil y la prevalencia de aAFL clásicos (AL, aCL isotipos IgG e IgM, a $\beta$ 2GPI isotipos IgG e IgM) y no convencionales (aCL IgA, a $\beta$ 2GPI IgA, aPS/PT isotipos IgG e IgM) a los tres meses postparto en mujeres preeclámpticas.
2. Analizar si el perfil y la prevalencia de aAFL clásicos y no convencionales a los tres meses posparto en mujeres preeclámpticas difieren de aquellas cuya gestación cursó sin trastornos hipertensivos del embarazo.
3. Evaluar la asociación entre la presencia de aAFL tanto clásicos como no convencionales con el desarrollo de PE y la gravedad de la misma.
4. Estudiar la presencia de datos de disfunción endotelial residual a los tres meses postparto deducidos mediante la determinación de VOP e ITB.
5. Analizar si los datos de disfunción endotelial postparto deducidos mediante la determinación de VOP e ITB difieren en las mujeres preeclámpticas con respecto a aquellas cuya gestación cursó sin trastornos hipertensivos del embarazo.
6. Valorar la posible asociación entre la disfunción endotelial y la positividad para aAFL, tanto clásicos como no convencionales, tanto en mujeres preeclámpticas como en aquellas con embarazos normales.

### ***III. MATERIAL Y MÉTODOS***



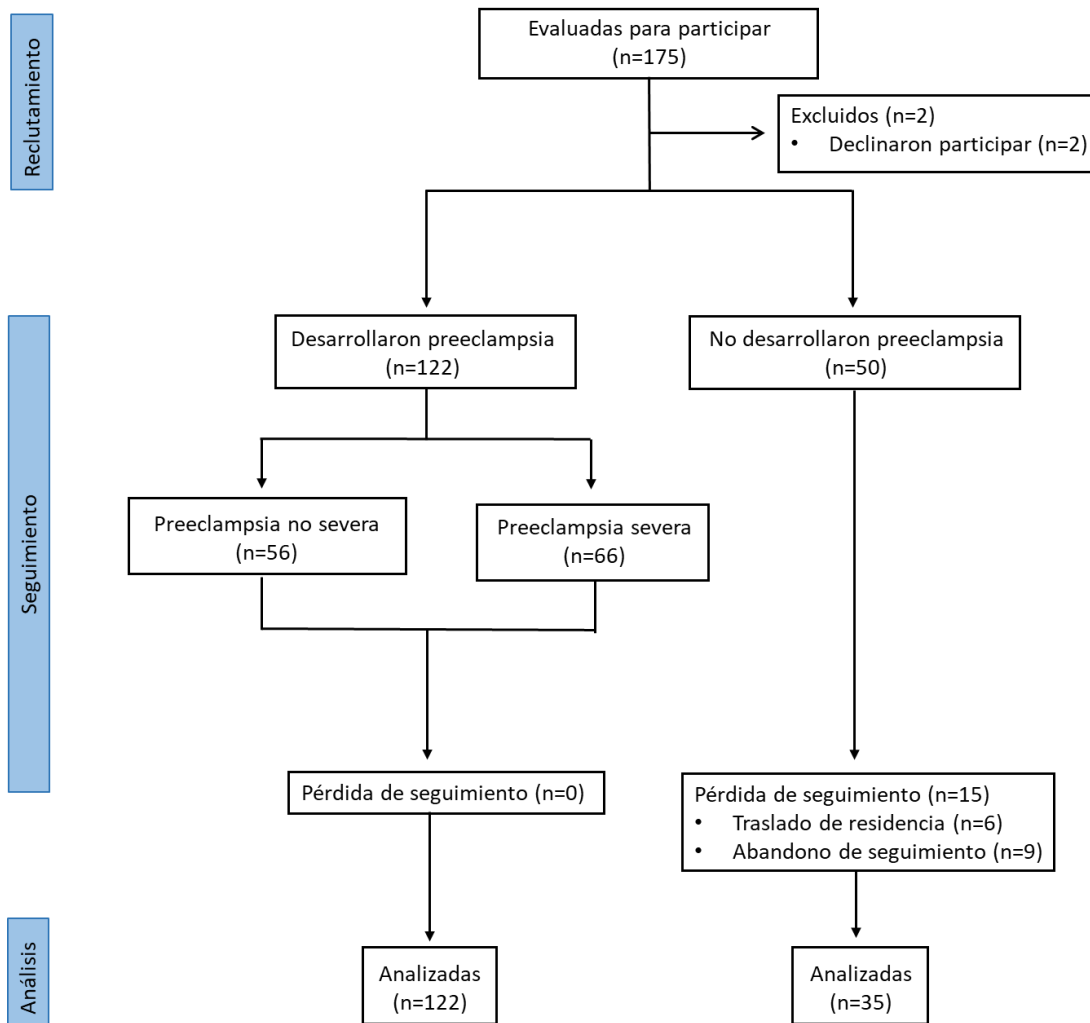
## 1. Pacientes

En el presente estudio prospectivo de casos y controles participaron 157 mujeres gestantes que dieron a luz en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander entre los años 2017-2019 con alto riesgo de PE, definido como uno o más de los siguientes criterios:

- a) PE previa
- b) Enfermedad renal crónica
- c) DM (pregestacional)
- d) Embarazo por técnicas de reproducción asistida
- e) Edad materna > 40 años
- f) IMC > 35 Kg/m<sup>2</sup> al inicio del embarazo
- g) Historia familiar (madre/hermanas) de PE
- h) Embarazo múltiple

De ellas, 122 desarrollaron PE (56 PE leve, 66 PE grave), en las restantes 35 pacientes la gestación cursó sin trastornos hipertensivos del embarazo conformando la cohorte de controles (Figura 6).

### III. Material y Métodos



**Figura 6. Esquema de flujo de la selección de pacientes.**

Los datos demográficos, antecedentes personales, familiares y obstétricos fueron recabados mediante un cuestionario individualizado complementado con la historia clínica de la paciente. Los datos de la gestación y analíticos proceden de los registros incorporados a la historia clínica. Ninguna de las pacientes reunía criterios oficiales para el diagnóstico de SAF [91]. El estudio fue realizado siguiendo las reglas de la Declaración de Helsinki y aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica de nuestra institución (número de referencia: 2018.170) y todas las participantes dieron su consentimiento informado.



El diagnóstico y clasificación de la PE se estableció con arreglo a los criterios de The American College of Obstetricians and Gynecologists. (ACOG) [11].

## 2. Variables registradas

Las variables registradas constan en la Tabla 4.

**Tabla 4. Variables registradas.**

<b>Datos generales</b>	Edad	
<b>Datos antropométricos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Talla</li> <li>• Peso</li> <li>• IMC</li> <li>• Perímetro de cintura</li> </ul>	
<b>Antecedentes personales</b>	Factores de riesgo cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"> <li>• HTA</li> <li>• DM</li> <li>• Dislipemia</li> <li>• Alteración del IMC (sobrepeso/obesidad)</li> <li>• Tabaquismo</li> </ul>
	Patología cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ACVA</li> <li>• Cardiopatía isquémica</li> <li>• Trombosis (arterial/venosa)</li> </ul>
<b>Antecedentes obstétricos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Número de gestaciones previas</li> <li>• Abortos previos (voluntarios/involuntarios)</li> <li>• PE previa</li> <li>• Diabetes gestacional</li> </ul>	
<b>Antecedentes familiares</b>	Madre	• HTA, DM, cardiopatía isquémica, ACVA
	Padre	• HTA, DM, cardiopatía isquémica, ACVA
	Hermana	• HTA, DM, cardiopatía isquémica, ACVA
	Hermano	• HTA, DM, cardiopatía isquémica, ACVA
<b>Datos de la gestación actual</b>	Curso de la gestación	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Técnicas de reproducción asistida (fecundación <i>in vitro</i>/inseminación artificial)</li> <li>• Semana de parto</li> <li>• Tipo de parto</li> <li>• Embarazo múltiple</li> <li>• Cifras de PAS y PAD máximas</li> <li>• Alteraciones analíticas durante el tercer trimestre de gestación (hiperuricemia, trombopenia, hipoalbuminemia, deterioro de función renal, alteración de pruebas de</li> </ul>

### III. Material y Métodos

		función hepática, desarrollo de proteinuria), signos y síntomas de PE (cefalea, epigastralgia, fotopsias, acúfenos, edemas)
<b>Datos del feto</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peso al nacer</li> <li>• APGAR</li> <li>• pH del cordón umbilical</li> <li>• CIR</li> </ul>	
<b>Complicaciones maternas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PE (temprana/tardía)</li> <li>• Gravedad PE (leve/grave)</li> <li>• Eclampsia</li> <li>• HELLP</li> <li>• Complicaciones hemorrágica</li> <li>• DPPNI</li> <li>• RPM</li> <li>• Diabetes gestacional</li> <li>• Infección tracto urinario</li> <li>• Edema pulmonar</li> <li>• Oligoamnios</li> </ul>	
<b>Datos analíticos</b>	Bioquímica sanguínea	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Función renal (urea, creatinina, filtrado glomerular),</li> <li>• Función hepática (bilirrubina, GPT, GOT, GGT, FA),</li> <li>• Otros parámetros (LDH, ácido úrico)</li> </ul>
	Hemograma	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Leucocitos, hemoglobina, plaquetas</li> </ul>
	Orina	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteinuria en orina de 24 horas</li> </ul>
<b>Parámetros cardiovasculares</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ITB izquierdo, ITB derecho, alteración de algún ITB, VOP, alteración de VOP</li> </ul>	
<b>Parámetros inmunológicos</b>	aAFL clásicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AL, aCL IgG e IgM, a<math>\beta</math>2GPI IgG e IgM</li> </ul>
	aAFL no convencionales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• aCL IgA, a<math>\beta</math>2GPI IgA, aPS/PT IgG e IgM</li> </ul>

*aAFL: anticuerpos antifosfolípido, a $\beta$ 2GPI: anti- $\beta$ 2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, ACVA: accidente cerebrovascular agudo, AL: anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, CIR: retraso del crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, DPPNI: desprendimiento prematuro de membrana normalmente inserta, FA: fosfatasa alcalina, GGT: gamma-glutamyl transferasa, GOT: aspartato aminotransferasa, GPT: alanina aminotransferasa, HTA: hipertensión arterial, IMC: índice de masa corporal, ITB: índice tobillo brazo, PAD: presión arterial diastólica, PAS: presión arterial sistólica, PE: preeclampsia, RPM: rotura prematura de membrana, VOP: velocidad de onda de pulso.*

### 3. Cronograma de la extracción de muestras y determinación de los parámetros vasculares

La determinación de los aAFL tanto clásicos como no convencionales, así como de los parámetros vasculares (VOP e ITB), se llevó a cabo a los tres meses postparto, una vez resuelta la hipertensión arterial y proteinuria en aquellas pacientes con diagnóstico de preeclampsia durante la gestación (Figura 7).



Figura 7. Cronograma de la determinación de parámetros inmunológicos y vasculares.

### 4. Recogida de muestras

#### Sangre:

Se recogieron 5 ml de sangre periférica a los tres meses postparto en un tubo sin anticoagulante. A partir de dicha sangre se procedió a la extracción del suero mediante centrifugación a 3000 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 minutos a temperatura ambiente (TA). Dicho suero fue almacenado a -20°C hasta su utilización para la determinación de aAFL.

Así mismo, se recogieron 5 ml de sangre en un tubo con citrato sódico para la determinación de anticoagulante lúpico.

## 5. Técnicas

### 5.1. Anticuerpos antifosfolípido

#### 5.1.1. Anticuerpos anticardiolipina isotipos IgG e IgM

Para la determinación cuantitativa de anticuerpos aCL IgG e IgM presentes en suero se utilizó el kit comercial ORGENTEC Diagnostika GmbH® basado en la técnica de ELISA.

Se trata de un ELISA indirecto en el que el antígeno cardiolipina altamente purificado se encuentra prefijado en la microplaca junto con su cofactor  $\beta$ 2GPI. Todos los procedimientos se llevaron a cabo siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante. En primer lugar, se realizó una dilución 1:100 de las muestras de suero de los pacientes con PE y de los sujetos del grupo control y se añadieron 100  $\mu$ L de los calibradores, controles y de las muestras previamente diluidas a cada uno de los correspondientes pocillos. Se cubrió la placa con un adhesivo y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente (TA). Finalizada la incubación, se decantó el contenido de la placa y se procedió a su lavado 3 veces con el tampón de lavado. A continuación, se añadieron 100  $\mu$ L de los anticuerpos anti-IgG e IgM conjugados a peroxidasa de rábano picante (HRP) a cada uno de los correspondientes pocillos de la placa, capaces de unirse a los complejos antígeno-anticuerpo formados. Se cubrió nuevamente la placa con un adhesivo y se incubó durante 15 minutos a TA. Tras la incubación, se repitieron los ciclos de lavado anteriormente mencionados. Posteriormente, se añadieron 100  $\mu$ L de solución de sustrato (peróxido de hidrógeno + tetrametilbencidina) por pocillo y se incubó durante 15 minutos a TA en oscuridad. Finalmente, se añadieron 100  $\mu$ L de solución de parada (ácido sulfúrico 2N) a cada uno de los pocillos con el objetivo de detener la reacción enzimática y se determinó la absorbancia mediante espectrofotometría a 450 nm.

Para la interpretación de los resultados y el cálculo de la concentración sérica de los anticuerpos aCL IgG e IgM, se interpolaron los valores de absorbancia de las muestras con los obtenidos de los calibradores empleados para la recta patrón (Figura 8).

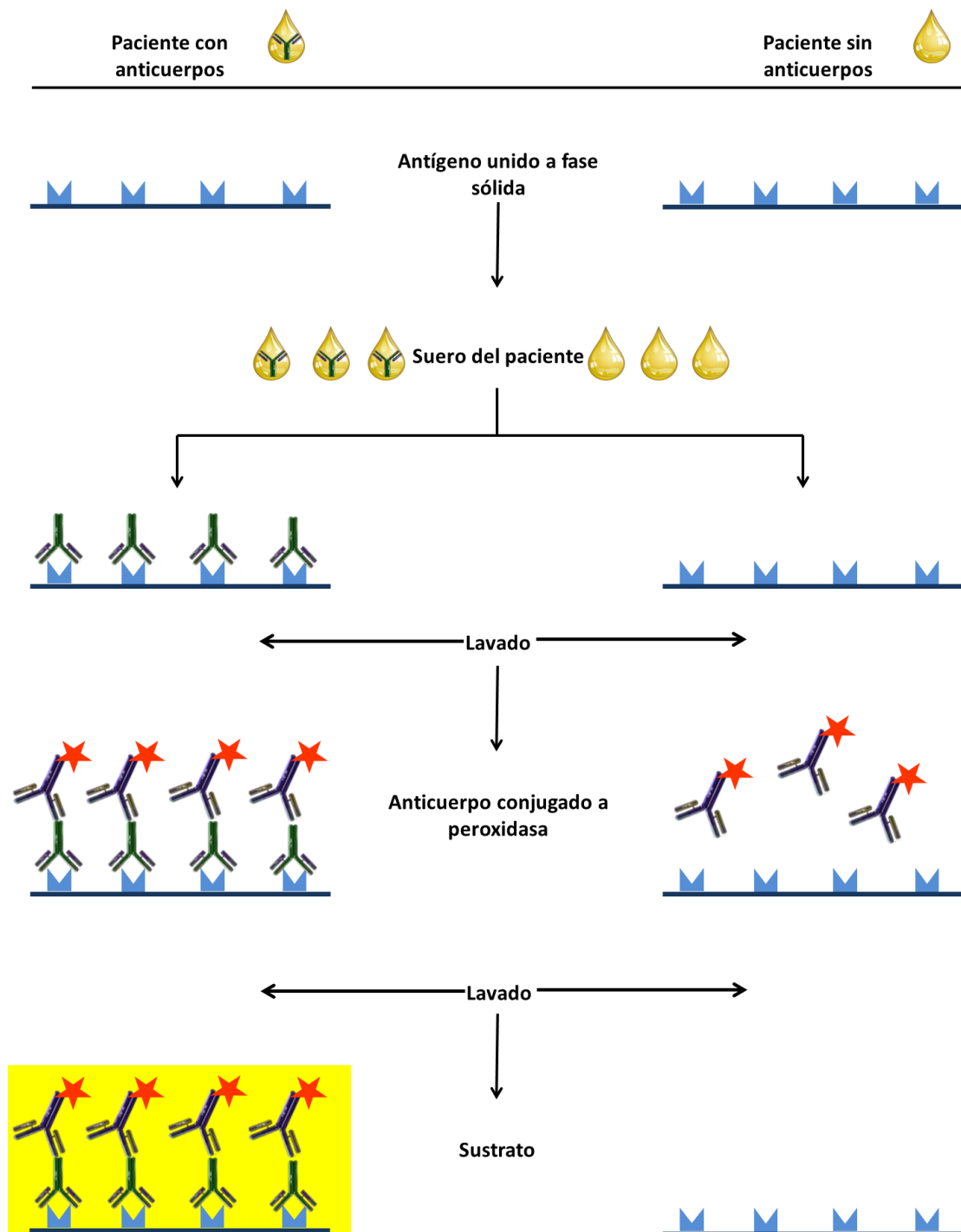


Figura 8. Procedimiento para la determinación de anticuerpos antifosfolípido mediante ELISA.

### 5.1.2. Anticuerpos anti- $\beta$ 2-glicoproteína I isotipos IgG e IgM

Para la determinación cuantitativa de anticuerpos  $\alpha\beta$ 2GPI IgG e IgM presentes en suero se utilizó el kit comercial ORGENTEC Diagnostika GmbH® basado en la técnica de ELISA.

Se trata de un ELISA indirecto en el que la  $\beta$ 2GPI altamente purificada se encuentra prefijada en la microplaca. Todos los procedimientos se llevaron a cabo siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante. En primer lugar, se realizó una dilución 1:100 de las muestras de suero de las pacientes con PE y de los sujetos del grupo control y se añadieron 100  $\mu$ L de los calibradores, controles y de las muestras previamente diluidas a cada uno de los correspondientes pocillos. Se cubrió la placa con un adhesivo y se incubó durante 30 minutos a TA. Finalizada la incubación, se decantó el contenido de la placa y se procedió a su lavado 3 veces con la solución de lavado. A continuación, se añadieron 100  $\mu$ L de los anticuerpos anti-IgG e IgM conjugados a HRP, capaces de unirse a los complejos antígeno-anticuerpo formados, a cada uno de los correspondientes pocillos de la placa. Se cubrió nuevamente la placa con un adhesivo y se incubó durante 15 minutos a TA. Tras la incubación, se repitieron los ciclos de lavado anteriormente mencionados. Posteriormente, se añadieron 100  $\mu$ L de solución de sustrato (peróxido de hidrógeno + tetrametilbencidina) por pocillo y se incubó durante 15 minutos a TA en oscuridad. Finalmente, se añadieron 100  $\mu$ L de solución de parada (ácido sulfúrico 2N) a cada uno de los pocillos con el objetivo de detener la reacción enzimática y se determinó la absorbancia mediante espectrofotometría a 450 nm.

Para la interpretación de los resultados y el cálculo de la concentración sérica de anticuerpos  $\alpha\beta$ 2GPI IgG e IgM, se interpolaron los valores de absorbancia de las muestras con los obtenidos de los calibradores empleados para la recta patrón.

### 5.1.3. Anticuerpos anticardiolipina y anti- $\beta$ 2-glicoproteína I isotipo IgA

Para la detección semicuantitativa de anticuerpos aCL y a $\beta$ 2GPI IgA presentes en suero se utilizaron los kits comerciales QUANTA Lite<sup>®</sup> ACA IgA III (Inova Diagnostics, Inc.) y QUANTA Lite<sup>®</sup>  $\beta$ 2GPI IgA III (Inova Diagnostics, Inc.) respectivamente, ambos basados en la técnica de ELISA.

Se trata de un ELISA indirecto en el que los pocillos de la microplaca contienen prefijado el antígeno cardiolipina o  $\beta$ 2GPI altamente purificado en su estado nativo. Todos los procedimientos se llevaron a cabo siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante. En primer lugar, se realizó una dilución 1:101 de las muestras de suero de las pacientes con PE y de los sujetos del grupo control y se añadieron 100  $\mu$ L de los calibradores, controles y de las muestras previamente diluidas a cada uno de los correspondientes pocillos. Se cubrió la placa con un adhesivo y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente (TA). Finalizada la incubación, se decantó el contenido de la placa y se procedió a su lavado 3 veces con el tampón de lavado. A continuación, se añadieron 100  $\mu$ L del anticuerpo anti-IgA conjugado a HRP a cada uno de los correspondientes pocillos de la placa. Se cubrió nuevamente la placa con un adhesivo y se incubó durante 30 minutos a TA. Tras la incubación, se repitieron los ciclos de lavado anteriormente mencionados. Posteriormente, se añadieron 100  $\mu$ L de solución de sustrato cromogénico (peróxido de hidrógeno + tetrametilbencidina) por pocillo y se incubó durante 30 minutos a TA en oscuridad. Finalmente, se añadieron 100  $\mu$ L de solución de parada (ácido sulfúrico 0,344M) a cada uno de los pocillos con el objetivo de detener la reacción enzimática y se determinó la absorbancia mediante espectrofotometría a 450 nm.

Para la interpretación de los resultados y el cálculo de la concentración sérica de los anticuerpos aCL y a $\beta$ 2GPI IgA, se interpolaron los valores de absorbancia de las muestras con los obtenidos de los calibradores empleados para la recta patrón.

#### 5.1.4. Anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina isotipos IgG e IgM

Para la detección semicuantitativa de anticuerpos aPS/PT IgG e IgM presentes en suero se utilizó el kit comercial QUANTA Lite<sup>®</sup>  $\beta$ 2GPI IgA III (Inova Diagnostics, Inc.) basado en la técnica de ELISA.

Se trata de un ELISA indirecto en el que el complejo PS/PT estabilizado, que actúa como antígeno, se encuentra prefijado en los pocillos de la microplaca. Todos los procedimientos se llevaron a cabo siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante. En primer lugar, se realizó una dilución 1:101 de las muestras de suero de los pacientes con PE y de los sujetos del grupo control y se añadieron 100  $\mu$ L de los calibradores, controles y de las muestras previamente diluidas a cada uno de los correspondientes pocillos. Se cubrió la placa con un adhesivo y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente (TA). Finalizada la incubación, se decantó el contenido de la placa y se procedió a su lavado 3 veces con el tampón de lavado. A continuación, se añadieron 100  $\mu$ L de los anticuerpos anti-IgG e IgM conjugados a HRP a cada uno de los correspondientes pocillos de la placa. Se cubrió nuevamente la placa con un adhesivo y se incubó durante 30 minutos a TA. Tras la incubación, se repitieron los ciclos de lavado anteriormente mencionados. Posteriormente, se añadieron 100  $\mu$ L de solución de sustrato cromogénico (peróxido de hidrógeno + tetrametilbencidina) por pocillo y se incubó durante 30 minutos a TA en oscuridad. Finalmente, se añadieron 100  $\mu$ L de solución de parada (ácido sulfúrico 0,344M) a cada uno de los pocillos con el objetivo de detener la reacción enzimática y se determinó la absorbancia mediante espectrofotometría a 450 nm.

Para la interpretación de los resultados y el cálculo de la concentración sérica de los anticuerpos aPS/PT IgG e IgM, se interpolaron los valores de absorbancia de las muestras con los obtenidos de los calibradores empleados para la recta patrón.

Los puntos de corte utilizados para los diferentes aAFL anteriormente descritos se muestran en la Tabla 5.



**Tabla 5. Puntos de corte utilizados para los diferentes anticuerpos antifosfolípido.**

<b>Título:</b>	<b>Negativo</b>	<b>Bajo</b>	<b>Medio</b>	<b>Elevado</b>
<b>Ac clásicos</b>				
aCL IgG	<6 GPL	6-8 GPL	8-10 GPL	>10 GPL
aCL IgM	<6 MPL	6-8 MPL	8-10 MPL	>10 MPL
aβ2GPI IgG	<4 U/mL	4-6 U/mL	6-8 U/mL	>8 U/mL
aβ2GPI IgM	<4 U/mL	4-6 U/mL	6-8 U/mL	>8 U/mL
<b>Ac no convencionales</b>				
aCL IgA	<12 APL	12-19 APL	---	>19 APL
aβ2GPI IgA	<12 APL	12-19 APL	---	>19 APL
aPS/PT IgG	<15 U/mL	15-29 U/mL	---	>29 U/mL
aPS/PT IgM	<15 U/mL	15-29 U/mL	---	>29 U/mL

Ac: anticuerpos, aβ2GPI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina.

## 5.2. Determinación de anticoagulante lúpico

Conforme a las recomendaciones de “The International Society of Haemostasis and Thrombosis” [144] para la determinación de anticoagulante lúpico se utilizaron el test de veneno de víbora Rusell diluido (dRVVT) y el test de Silica Clotting Time (SCT).

La medición de la actividad de antitrombina se realizó en plasma citratado, obtenido a partir de sangre total anticoagulada con citrato de sodio al 3,2%. Las muestras se sometieron a una doble centrifugación a 2000g durante 15 minutos a TA. Se confirmó que el recuento de plaquetas en plasma no fuese superior a 10.000/μL.

Para el test dRVVT se utilizaron dos reactivos, uno de screening pobre en fosfolípidos, (sensible al AL) y uno confirmatorio con exceso de fosfolípidos (el cual consigue neutralizar al AL), dando tiempos de coagulación más cortos. El resultado final se expresó como ratio normalizado (screening/confirmatorio). Se consideró un resultado positivo un ratio normalizado > 1,2.

Para el test SCT, se empleó una prueba de screening con una concentración baja en fosfolípidos (altamente sensible a la presencia de AL) y una prueba de confirmación con una alta concentración de fosfolípidos (que neutraliza el AL y acorta los tiempos de

coagulación). Se consideró un resultado positivo un ratio screening/confirmatorio  $>1,2$ . Se consideró positividad para AL cuando una de las dos pruebas fue positiva.

### **5.3. Parámetros cardiovasculares**

#### **5.3.1. Índice tobillo-brazo**

El cálculo del ITB se llevó a cabo mediante el sistema ABI de WatchBP Office (Microfile whatchBP AG, Widnau, Suiza). La PAS fue medida en ambos brazos y en ambos tobillos (arteria tibial posterior) con el paciente en decúbito supino. El ITB de cada pierna se calculó dividiendo la presión sistólica de los tobillos derecho e izquierdo por la presión sistólica mayor de ambos brazos. Se seleccionó el valor de ITB más bajo en cada paciente. Se consideró ITB patológico un valor  $< 0,9$  [61,77,79].

#### **5.3.2. Velocidad de onda de pulso**

La VOP se determinó mediante el dispositivo automatizado SphygmoCor XCEL, el cual realiza la determinación a partir de pulsos arteriales carotídeos y femorales medidos de forma no invasiva y simultánea. El pulso carotídeo se mide usando el tonómetro mientras que el pulso femoral se mide a través de pulsaciones en un manguito colocado alrededor del muslo.

Se consideraron anormales valores de VOP aquellos que excedían del valor mediano de referencia del grupo etario de adscripción de la pacientes, establecido para población europea [70].

## 6. Análisis estadístico

La prueba de Kolmogorov-Smirnov se utilizó para evaluar la normalidad de las distribuciones de datos. Las variables continuas se describen como media y desviación estándar o como mediana y rango intercuartil (RIC), según la distribución se ajuste o no a la normalidad y las variables categóricas como número y porcentaje. La comparación de proporciones se llevó a cabo mediante la prueba de chi cuadrado o en su caso mediante el test exacto de Fisher. Para la comparación de medias se utilizó la prueba t de Student o en su caso la prueba de Mann-Whitney. Para la determinación de la capacidad diagnóstica de los aAFL para la ocurrencia de PE y la gravedad de la misma, se utilizaron tablas 2x2 para el cálculo de la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo y los cocientes de probabilidad LR+ y LR-. Para la determinación del área bajo la curva (AUC), se utilizaron los títulos de los distintos aAFL como variables continuas. La correlación entre los aAFL, y entre estos y los parámetros cardiovasculares post-gestación se determinó con el coeficiente de correlación de Spearman. La identificación de variables predictoras de la positividad de aAFL se llevó a cabo mediante regresión logística univariante. En el análisis de regresión logística multivariante se utilizó el procedimiento de eliminación hacia atrás (Backward Stepwise) después de seleccionar las variables identificadas por los modelos univariados como predictores potenciales. El modelo final incluyó solo los efectos principales con  $p < 0.05$ . La bondad del ajuste del modelo se evaluó mediante la prueba de Hosmer-Lemeshow. En todos los contrastes de hipótesis se rechazó la hipótesis nula con un error de tipo I o error  $\alpha < 0,05$ . Los análisis se hicieron con los programas SPSS versión 20 (SPSS, Chicago, IL, EE. UU.), STATA versión 15 y Graph Pad Prism v.6 (San Diego, CA).



## ***IV. RESULTADOS***





## 1. Descripción general de la población

Se evaluaron un total de 157 pacientes atendidas en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla entre los años 2017 y 2019, de las cuales 122 se incluyeron dentro del grupo de casos y 35 en el grupo control.

### 1.1. Factores antropométricos, factores de riesgo cardiovascular y antecedentes cardiovasculares

La edad y estructura etaria en ambas cohortes fueron similares. Las pacientes incluidas en el grupo control presentaban una edad media de  $35,2 \pm 5,1$  años (11,4% menores de 30 años, 74,3% con edad comprendida entre 30-39 años y 14,3% con edad igual o superior a 40 años). Por su parte, el grupo de pacientes preeclámpticas, mostró una edad ligeramente inferior respecto al grupo control con una media de  $34,7 \pm 5,2$  años (18,0% menores de 30 años, 69,7% con edad comprendida entre 30-39 años y 12,3% con edad igual o superior a 40 años).

Respecto a factores de riesgo cardiovascular, el porcentaje de pacientes con IMC alterado en el grupo de pacientes preeclámpticas fue más del doble que en el de la cohorte de controles 68,0% vs. 31,5%, observándose diferencias estadísticamente significativas en el segmento de sobrepeso. No se observaron diferencias significativas en el hábito tabáquico, dislipemia o diabetes mellitus.

Ninguna de las pacientes presentaba antecedentes de hipertensión arterial, trombosis arterial o venosa, accidente cerebrovascular o cardiopatía isquémica (Tabla 6).

**Tabla 6. Factores antropométricos, factores de riesgo cardiovascular y antecedentes cardiovasculares.**

	Controles (n=35)	Preeclampsia (n=122)	p
Edad (años)	35,2 ± 5,1	34,7 ± 5,2	0,641
<30 n (%)	4(11,4%)	22(18,0%)	0,354
30-39 n (%)	26(74,3%)	85(69,7%)	0,597
≥40 años n (%)	5(14,3%)	15(12,3%)	0,785
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	25,0 ± 6,2	27,8 ± 5,3	0,008
Alteraciones IMC n (%)			
Sobrepeso	3 (8,6%)	53 (43,4%)	<0,001
Obesidad	8 (22,9%)	30 (24,6%)	0,833
HTA n (%)	---	---	---
DM n (%)	---	3 (2,5%)	0,349
Dislipemia n (%)	4 (11,4%)	---	---
Tabaquismo n (%)	5 (14,3%)	12 (9,8%)	0,455
Trombosis arterial/venosa n (%)	---	---	---
ACVA n (%)	---	---	---
IAM n (%)	---	---	---

ACVA: accidente cerebrovascular agudo, cm: centímetros, DM: diabetes mellitus, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, Kg: kilogramos, m: metros.

## 1.2. Antecedentes obstétricos

En el grupo control, un 42,9% de las pacientes eran primíparas, un 40% presentaba antecedente de una gestación previa y 17,2% dos o más gestaciones. Un total de 11 mujeres presentaban antecedentes de aborto, en 8 de ellas la interrupción del embarazo se llevó a cabo de forma voluntaria y en 3 de forma involuntaria.

En cuanto al número de gestaciones previas en las mujeres con PE, el porcentaje de mujeres con antecedentes de una o más gestaciones fue del 29,5% y 15,5% respectivamente. Las restantes 54,9% se trataban de mujeres primíparas. 25 pacientes tenían historia de aborto (10 interrupción voluntaria y 15 interrupción involuntaria del embarazo).

Como complicaciones en gestaciones previas un 14,3% vs 3,3% de las pacientes había sufrido PE y un 2,9% vs 1,6% antecedentes de diabetes gestacional en la cohorte de control vs la cohorte de casos, respectivamente (Tabla 7).



**Tabla 7. Antecedentes obstétricos.**

	<b>Controles (n=35)</b>	<b>Preeclampsia (n=122)</b>	<b>p</b>
Nº de gestaciones previas n (%)			
Primíparas	15 (42,9%)	67 (54,9%)	0,251
Una gestación	14 (40,0%)	36 (29,5%)	0,303
Dos o más gestaciones	6 (17,2%)	19 (15,5%)	0,797
Abortos previos n (%)	11 (31,4%)	25 (20,5%)	0,092
IVE	8 (22,9%)	10 (8,2%)	0,040
Preeclampsia previa n (%)	5 (14,3%)	4 (3,3%)	0,027
Diabetes gestacional n (%)	1 (2,9%)	2 (1,6%)	0,533

Nº número, IVE: interrupción voluntaria del embarazo.

### 1.3. Antecedentes familiares

Respecto a los antecedentes familiares de factores de riesgo cardiovascular, en la cohorte de mujeres cuyos embarazos se desarrollaron con normalidad, el 17,1% y 37,1% de las pacientes presentaban antecedentes maternos de hipertensión arterial y DM, respectivamente. Por su parte, la distribución de estos factores a nivel paterno fue del 22,9% y 20%. El porcentaje de hipertensión arterial entre las hermanas y hermanos fue considerablemente menor situándose en 8,6% y 11,4% respectivamente. No se observaron antecedentes de DM entre las hermanas o hermanos. En la cohorte de mujeres con PE, se observó una mayor proporción de antecedentes familiares de hipertensión entre sus progenitores, ascendiendo el porcentaje al 41,8% (materno) y 47,5% (paterno) y, una ligera disminución entre las hermanas (8,2%) y hermanos (10,7%) con respecto al grupo control. En lo que respecta a la DM su distribución entre madres, padres hermanas y hermanos fue de un 18%, 33,6%, 7,4% y 3,3% respectivamente (Tabla 8).

**Tabla 8. Antecedentes familiares de factores de riesgo cardiovascular y patología cardiovascular.**

	Controles (n=35)	Preeclampsia (n=122)	p
<b>Madre n (%)</b>			
HTA	6 (17,1%)	51 (41,8%)	0,007
DM	13 (37,1%)	22 (18,0%)	0,017
IAM	---	9 (7,4%)	0,098
ACVA	1 (2,9%)	7 (5,7%)	0,495
<b>Padre n (%)</b>			
HTA	8 (22,9%)	58 (47,5%)	0,009
DM	7 (20,0%)	41 (33,6%)	0,124
IAM	3 (8,5%)	26 (21,3%)	0,087
ACVA	---	5 (4,1%)	---
<b>Hermana n (%)</b>			
HTA	3 (8,6%)	10 (8,2%)	0,943
DM	---	9 (7,4%)	---
IAM	---	---	---
ACVA	---	---	---
<b>Hermano n (%)</b>			
HTA	4 (11,4%)	13 (10,7%)	0,897
DM	---	4 (3,3%)	---
IAM	---	---	---
ACVA	---	---	---

ACVA: accidente cerebrovascular agudo, DM: diabetes mellitus, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio.

## 2. Datos gestación actual

### 2.1. Curso de la gestación

Las mujeres con embarazos normales utilizaron técnicas de reproducción asistida con mayor frecuencia que las mujeres que desarrollaron PE (42,9% vs. 16,4%), siendo la fecundación *in vitro* (FIV), el procedimiento más utilizado (40,0% vs. 13,1%,  $p < 0,001$ ). Entre las mujeres preeclámpticas, la finalización del embarazo se produjo mediante cesárea con mayor frecuencia que en aquellas con embarazos normales (58,2% vs. 31,4%,  $p = 0,005$ ), y el parto se produjo más de dos semanas antes (semana  $36,6 \pm 3,6$  vs. semana  $38,3 \pm 1,9$ ,  $p = 0,008$ ) (Tabla 9).

**Tabla 9. Datos de la gestación actual.**

	Controles (n=35)	Preeclampsia (n=122)	<i>p</i>
Técnicas reproducción asistida n (%)	15 (42,9%)	20 (16,4%)	0,002
FIV	15 (40,0%)	16 (13,1%)	<0,001
IA	1 (2,9%)	4 (3,3%)	0,915
Embarazo múltiple n (%)	3 (8,6%)	9 (7,4%)	0,815
Cesárea n (%)	11 (31,4%)	71 (58,2%)	0,005
Semana parto	38,3 ± 1,9	36,6 ± 3,6	0,008

FIV: fecundación in vitro, IA: inseminación artificial.

## 2.2. Datos del recién nacido

Los recién nacidos de mujeres que desarrollaron PE durante su embarazo presentaron valores inferiores y estadísticamente significativos en la puntuación del test de APGAR, peso del recién nacido y pH del cordón umbilical respecto a los nacidos de mujeres con embarazos normales. Igualmente, un 15,6% de los recién nacidos de madres preeclámpticas presentó CIR (Tabla 10).

**Tabla 10. Datos del recién nacido.**

	Controles (n=35)	Preeclampsia (n=122)	<i>p</i>
Puntuación test de APGAR	8,7 ± 0,6	7,8 ± 1,2	0,001
Peso del recién nacido (g)	3600,0 (3312,5-3777,5)	2900,0 (2300,0-3407,5)	<0,001
pH del cordón umbilical	7,3 ± 0,1	7,2 ± 0,1	0,012
CIR n (%)	---	19 (15,6%)	---

CIR: retraso crecimiento intrauterino, g: gramos.

## 2.3. Complicaciones de la madre

Entre las mujeres con embarazos normales, fueron escasas las complicaciones. Tan solo en 2 mujeres se detectó rotura previa de membrana (RPM) y diabetes gestacional, y en una sola se constató oligoamnios y hemorragia. Por lo que respecta a las mujeres con PE, la misma se diagnosticó como leve en el 45,9% de los casos, y grave en el 54,1%. Respecto al momento de aparición de la PE, un 35,2% de las preeclampsias

#### IV. Resultados

fueron detectadas con anterioridad a la semana 34 de gestación. Al margen de la hipertensión arterial (HTA), la distribución del resto de criterios diagnósticos de PE fue la siguiente: proteinuria (90,2%), trombopenia (36,1%), deterioro de función renal (14,8%), alteración de las pruebas de función hepática (19,7%), edema pulmonar (1,6%) y síntomas cerebrales o visuales (80,4%). Otras complicaciones a destacar entre las pacientes de esta cohorte fueron las siguientes: eclampsia 1,6%, síndrome de HELLP 13,1%, complicaciones hemorrágicas 5,7% diabetes gestacional 7,4% y desprendimiento prematuro de placenta normalmente inserta (DPPNI) 5,7% (Tabla 11).

**Tabla 11. Complicaciones durante la gestación.**

	Controles (n=35)	Preeclampsia (n=122)	p
<b>Complicaciones embarazo n (%)</b>			
Rotura prematura de membrana	2 (5,7%)	3 (2,5%)	0,334
Oligoamnios	1 (2,9%)	2 (1,6%)	0,533
DPPNI	---	7 (5,7%)	---
<b>Complicaciones maternas n (%)</b>			
Eclampsia	---	2 (1,6%)	---
Síndrome de HELLP	---	16 (13,1%)	0,023
Hemorragia	1 (2,9%)	7 (5,7%)	0,685
Diabetes gestacional	2 (5,7%)	9 (7,4%)	1,000
ITU	---	4 (3,3%)	---
Otras	---	4 (3,3%)	---
<b>Signos y síntomas n (%)</b>			
Cefalea	2(5,7%)	75 (61,5%)	<0,001
Epigastralgia	---	24 (19,7%)	---
Fotopsias	---	18 (14,8%)	---
Acúfenos	---	5 (4,1%)	---
Edemas	1 (2,9%)	80 (65,6%)	<0,001
<b>Alteraciones analíticas n (%)</b>			
Proteinuria	---	110 (90,2%)	---
Trombopenia	1 (2,9%)	44 (36,1%)	<0,001
Alteración pruebas función hepática	---	24 (19,7%)	---
Deterioro función renal	---	18 (14,8%)	---

DPPNI: Desprendimiento prematuro de placenta normalmente inserta, ITU: infección del tracto urinario.

### 3. Asociación de parámetros clínicos, analíticos y preeclampsia

En el análisis de regresión logística univariante, los parámetros que mostraron mayor asociación con la ocurrencia de PE fueron el poseer un IMC>25 (OR=4,64; IC 95% (2,07-10,43),  $p<0,001$ ), los antecedentes de HTA materna, (OR=3,47; IC 95% (1,34-9,98),  $p=0,010$ ), los antecedentes de HTA del padre (OR=3,06; IC 95% (1,29-7,27),  $p=0,011$ ) y los niveles de ácido úrico en el tercer trimestre de gestación (OR=3,78; IC 95% (2,33-6,13),  $p<0,001$ ). Como factor protector destacó el uso de TRA (OR=0,26; IC 95% (0,12-0,60),  $p=0,001$ ).

En el análisis multivariante, los principales factores asociados a la aparición de la PE fueron los antecedentes maternos de HTA (OR=5,62; IC 95%(1,43–22,16),  $p=0,014$ ) y los niveles de ácido úrico en el tercer trimestre de gestación (OR=4,13; IC 95% (2,29–7,42),  $p<0,001$ ) (Tabla 12).

Tabla 12. Parámetros asociados a la aparición de preeclampsia.

	Análisis univariante OR (IC 95%)	p	Análisis multivariante OR (IC 95%)	P
<b>Factores antropométricos y FRCV</b>				
Edad	0,98 (0,91-1,06)	0,639	---	---
IMC >25	4,64 (2,07-10,43)	<0,001	---	---
DM	---	---	---	---
Tabaquismo	0,66 (0,21-2,00)	0,458	---	---
Dislipemia	---	---	---	---
<b>Antecedentes obstétricos</b>				
Nº gestaciones previas	0,816 (0,57-1,18)	0,273	---	---
PE previa	0,20 (0,05-0,80)	0,023	0,05 (0,00-0,48)	0,009
Diabetes gestacional	0,57 (0,05-6,44)	0,647	---	---
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular</b>				
HTA madre	3,47 (1,34-9,98)	0,010	5,62 (1,43-22,16)	0,014
DM madre	0,37 (0,16-0,85)	0,019	---	---
IAM madre	---	---	---	---
ACVA madre	2,07 (0,25-17,4)	0,503	---	---
HTA padre	3,06 (1,29-7,27)	0,011	3,75 (1,10-12,77)	0,034
DM padre	2,03 (0,82-5,03)	0,128	---	---
IAM padre	2,89 (0,82-10,19)	0,099	---	---
ACVA padre	---	---	---	---
HTA hermana	0,95 (0,25-3,67)	0,943	---	---
DM hermana	---	---	---	---
HTA hermano	0,92 (0,28-30,4)	0,897	---	---
DM hermano	---	---	---	---
<b>Datos de la gestación actual</b>				
Técnicas reproducción asistida	0,26 (0,12-0,60)	0,001	0,17 (0,04-0,66)	0,011
Embarazo múltiple	0,85 (0,22-3,32)	0,815	---	---
<b>Complicaciones durante la gestación</b>				
<b>Alteraciones analíticas</b>				
Ácido úrico 3º T gestación	3,78 (2,33-6,13)	<0,001	4,13 (2,29-7,42)	<0,001

ACVA: accidente cerebrovascular agudo, DM: diabetes mellitus, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, Nº: número, PE: preeclampsia, T: trimestre.

## 4. Análisis de anticuerpos antifosfolípido

### 4.1. Prevalencia de anticuerpos

La distribución de los diferentes anticuerpos analizados puede observarse en la Tabla 13. Respecto a la población total, la positividad para nuevos aAFL duplicó ampliamente a la de aAFL convencionales (47,8% vs. 19,7%), siendo el aPS/PT IgM el anticuerpo más prevalente (40,1%).

**Tabla 13. Prevalencia de anticuerpos antifosfolípido en el total de la población.**

	(n=157)
<b>Ac clásicos n (%)</b>	31 (19,7%)
AL	5 (3,2%)
aCL IgG	9 (5,7%)
aCL IgM	5 (3,2%)
aβ2GPI IgG	18 (11,5%)
aβ2GPI IgM	12 (7,6%)
<b>Ac no convencionales n (%)</b>	75 (47,8%)
aCL IgA	4 (2,5%)
aβ2GPI IgA	12 (7,6%)
aPS/PT IgG	9 (5,7%)
aPS/PT IgM	63 (40,1%)

*Ac: anticuerpos, aβ2GI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, AL: anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina.*

La presencia de anticuerpos clásicos se observó en el 22,9% de los controles y en el 18,9% de los casos. Entre los controles, el Ac más frecuente fue el isotipo IgG del Ac aCL (8,6%), mientras que en los casos los más frecuentes fueron el isotipo IgG del Ac aβ2GPI (13,9%) y el isotipo IgM del Ac aβ2GPI (9,0%).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de anticuerpos clásicos entre ambos grupos de pacientes. La presencia de Ac no convencionales se observó en el 22,9% de los controles y en el 54,9% de los casos ( $p=0,001$ ), siendo el isotipo IgM del Ac aPS/PT, el anticuerpo más frecuente en ambas cohortes: 14,3% en los controles y 47,5% en los casos ( $p<0,001$ ) (Tabla 14).

**Tabla 14. Prevalencia de anticuerpos antifosfolípido en las cohortes control y preeclampsia.**

	Control (n=35)	PE (n=122)	p
<b>Ac clásicos n (%)</b>	8 (22,9%)	23 (18,9%)	0,600
AL	2 (5,7%)	3 (2,5%)	0,309
aCL IgG	3 (8,6%)	6 (4,9%)	0,418
aCL IgM	1 (2,9%)	5 (4,1%)	0,736
aβ2GPI IgG	2 (5,7%)	17 (13,9%)	0,248
aβ2GPI IgM	3 (8,6%)	11 (9,0%)	0,935
<b>Ac no convencionales n (%)</b>	8 (22,9%)	67 (54,9%)	0,001
aCL IgA	---	4 (3,3%)	---
aβ2GPI IgA	1 (2,9%)	9 (7,4%)	0,460
aPS/PT IgG	1 (2,9%)	10 (8,2%)	0,458
aPS/PT IgM	5 (14,3%)	58 (47,5%)	<0,001

Ac: anticuerpos, aβ2GI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, AL: anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, PE: preeclampsia.

En relación a la gravedad de la PE, únicamente se observaron diferencias significativas respecto a la presencia de Ac no convencionales, que afectaba al 37,5% de las PE leves y al 69,7% de las PE graves ( $p < 0,001$ ), siendo el anticuerpo más frecuente el aPS/PT IgM, encontrándose presente en el 28,6% y en el 63,6% de las pacientes, respectivamente, ( $p < 0,001$ ) (Tabla 15).

**Tabla 15. Prevalencia de anticuerpos antifosfolípido en función de la gravedad de la preeclampsia.**

	PE leve (n=56)	PE grave (n=66)	p
<b>Ac clásicos n (%)</b>	8 (14,3%)	15 (22,7%)	0,235
AL	2 (3,6%)	1 (1,5%)	0,593
aCL IgG	2 (3,6%)	4 (6,1%)	0,686
aCL IgM	---	5 (7,6%)	---
aβ2GPI IgG	6 (10,7%)	11 (16,7%)	0,344
aβ2GPI IgM	5 (8,9%)	6 (9,1%)	0,975
<b>Ac no convencionales n (%)</b>	21 (37,5%)	46 (69,7%)	<0,001
aCL IgA	1 (1,8%)	3 (4,5%)	0,624
aβ2GPI IgA	2 (3,6%)	7 (10,6%)	0,177
aPS/PT IgG	4 (7,1%)	6 (9,1%)	0,752
aPS/PT IgM	16 (28,6%)	42 (63,6%)	<0,001

Ac: anticuerpos, aβ2GI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, AL: anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, PE: preeclampsia.



## 4.2. Comparación de los niveles séricos de los diferentes anticuerpos antifosfolípido

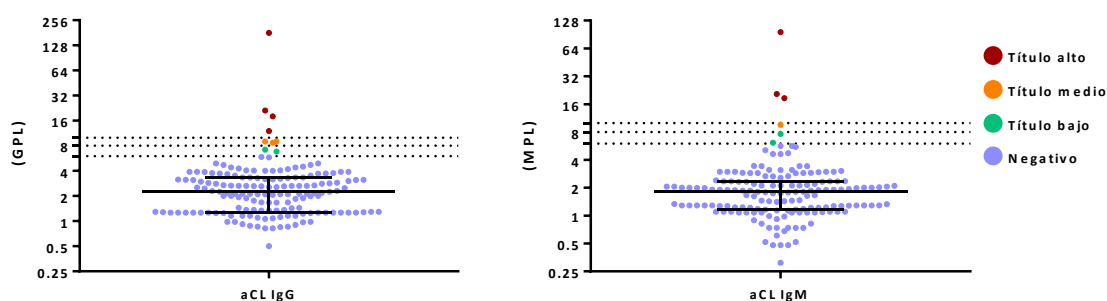
Respecto al total de la población, entre los anticuerpos clásicos el anticuerpo que mostró mayor positividad a títulos elevados fue el a $\beta$ 2GPI IgG (8,3%), y entre los anticuerpos no convencionales, la positividad a títulos elevados más alta correspondió al aPS/PT IgM (34,4%) (Tabla 16).

**Tabla 16. Prevalencia de titulaciones de anticuerpos antifosfolípido en el total de la población.**

	Bajo	Medio	Elevado
<b>Ac clásicos n (%)</b>			
aCL IgG	2 (1,3%)	3 (1,9%)	4 (2,5%)
aCL IgM	2 (1,3%)	1 (0,6%)	3 (1,9%)
a $\beta$ 2GPI IgG	1 (0,6%)	5 (3,2%)	13 (8,3%)
a $\beta$ 2GPI IgM	7 (4,5%)	4 (2,5%)	3 (1,9%)
<b>Ac no convencionales n (%)</b>			
aCL IgA	2 (1,3%)	---	2 (1,3%)
a $\beta$ 2GPI IgA	5 (3,2%)	---	5 (3,2%)
aPS/PT IgG	9 (5,7%)	---	2 (1,3%)
aPS/PT IgM	9 (5,7%)	---	54 (34,4%)

*Ac: anticuerpos, a $\beta$ 2GPI: anti- $\beta$ 2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina.*

Las figuras 9, 10, 11 y 12 reflejan la distribución de titulaciones de los distintos Ac clásicos y no convencionales en el total de la población (n=157).



**Figura 9. Distribución de las titulaciones de anticuerpos anticardiolipina (aCL) isotipos IgG e IgM en el total de la población.**

#### IV. Resultados

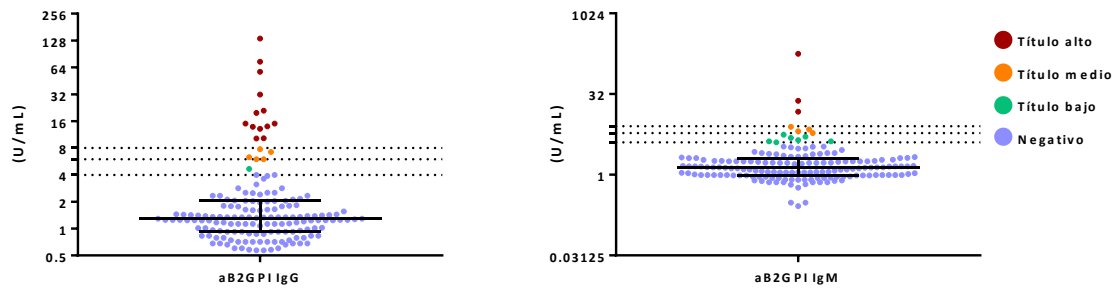


Figura 10. Distribución de las titulaciones de anticuerpos anti-β2-glicoproteína I (aB2GPI) isotipos IgG e IgM en el total de la población.

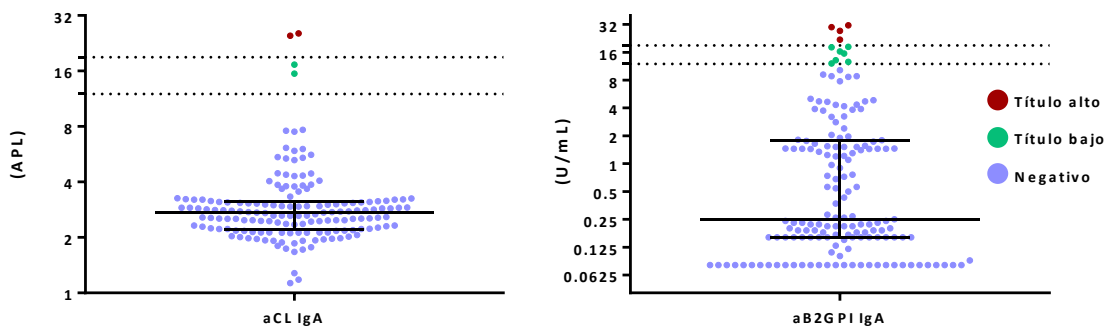


Figura 11. Distribución de las titulaciones de anticuerpos anticardiolipina (aCL) y anti-β2-glicoproteína I (aB2GPI) isotipo IgA en el total de la población.

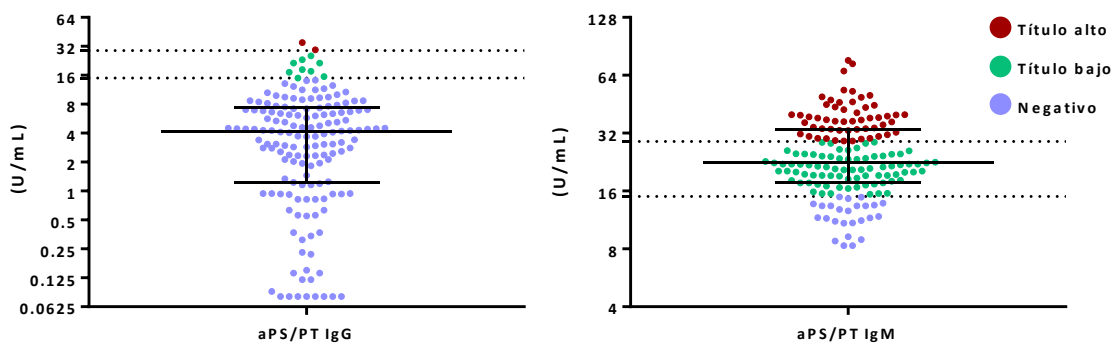


Figura 12. Distribución de las titulaciones de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina (aPS/PT) isotipos IgG e IgM en el total de la población.

En la cohorte de control, la prevalencia de titulaciones medias o elevadas de los distintos anticuerpos, tanto clásicos como no convencionales, fue muy escasa. El anticuerpo con mayor positividad a títulos elevados fue a $\beta$ 2GPI IgG (5,7%). Por su parte, en la cohorte de preeclampsia, entre los anticuerpos clásicos destacó igualmente a $\beta$ 2GPI IgG con una prevalencia de positividad a títulos elevados del 9,0%, y entre los anticuerpos no convencionales, el más prevalente fue aPS/PT IgM, con una positividad a títulos elevados del 43,4% (Tabla 17).

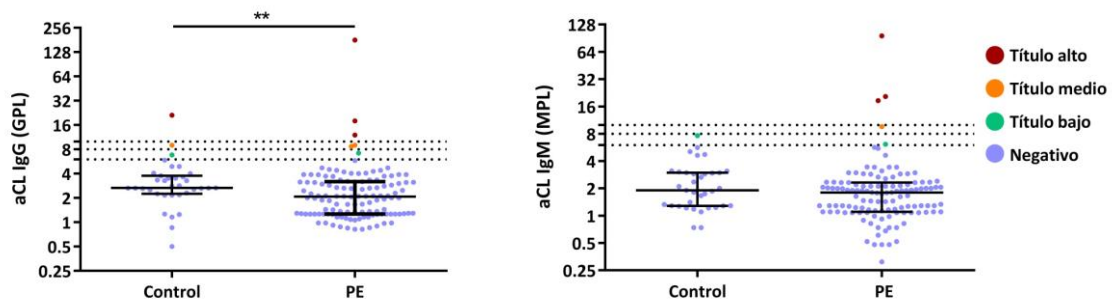
**Tabla 17. Prevalencia de titulaciones de anticuerpos antifosfolípido en las cohortes control y preeclampsia.**

Título:	Control (n=35)			Preeclampsia (n=122)		
	Bajo	Medio	Elevado	Bajo	Medio	Elevado
<b>Ac clásicos n (%)</b>						
aCL IgG	1 (2,9%)	1 (2,9%)	1 (2,9%)	1 (0,8%)	2 (1,6%)	3 (2,5%)
aCL IgM	1 (2,9%)	---	---	1 (0,8%)	1 (0,8%)	3 (2,5%)
a $\beta$ 2GPI IgG	---	---	2 (5,7%)	1 (0,8%)	5 (4,1%)	11 (9,0%)
a $\beta$ 2GPI IgM	2 (5,7%)	1 (2,9%)	---	5 (4,1%)	3 (2,5%)	3 (2,5%)
<b>Ac no convencionales n (%)</b>						
aCL IgA	---	---	---	2 (1,6%)	---	2 (1,6%)
a $\beta$ 2GPI IgA	---	---	1 (2,9%)	5 (4,1%)	---	4 (3,3%)
aPS/PT IgG	1 (2,9%)	---	---	8 (6,6%)	---	2 (1,6%)
aPS/PT IgM	4 (11,4%)	---	1 (2,9%)	5 (4,1%)	---	53 (43,4%)

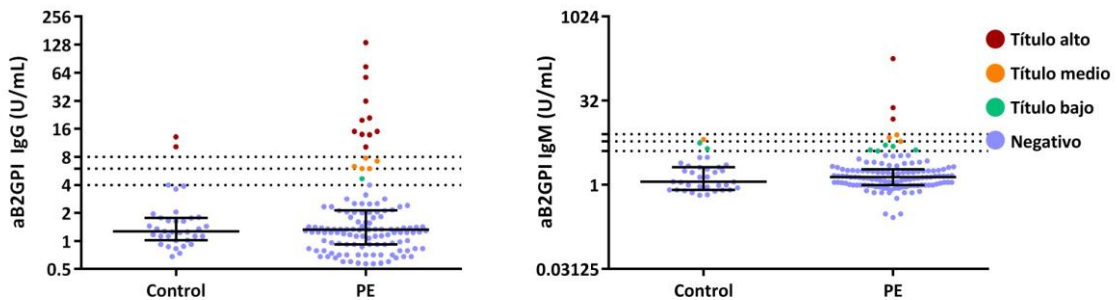
Ac: anticuerpos, a $\beta$ 2GPI: anti- $\beta$ 2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina.

Las figuras 13, 14, 15 y 16 reflejan la distribución de titulaciones de los distintos anticuerpos entre las dos cohortes:

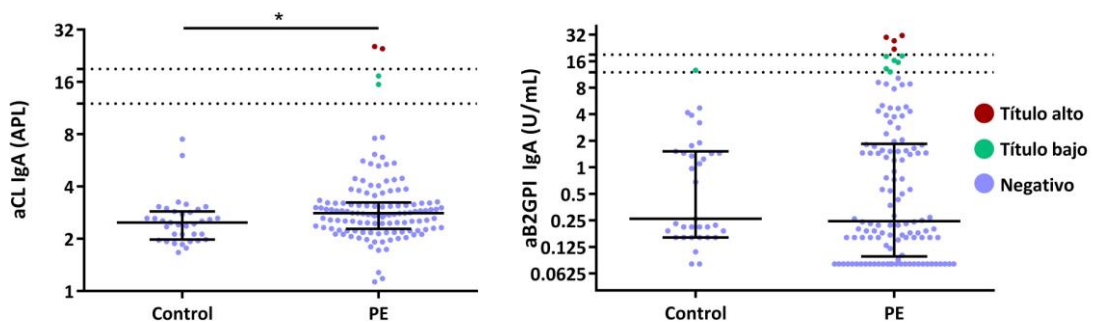
#### IV. Resultados



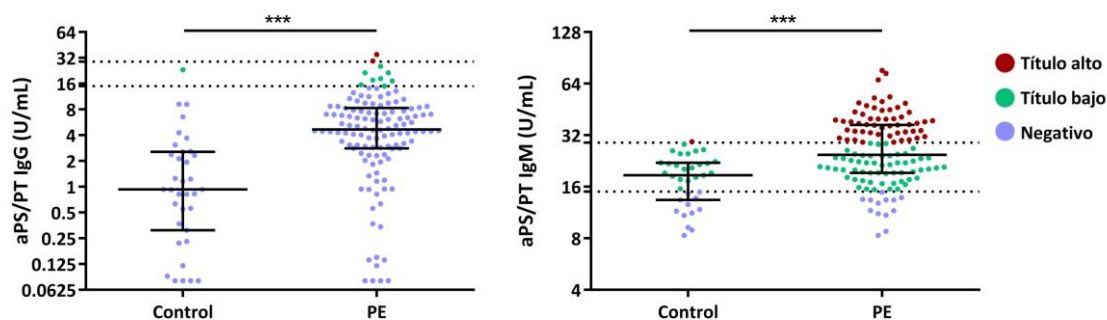
**Figura 13. Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anticardiolipina (aCL) isotipos IgG e IgM en las cohortes control y preeclampsia (PE).** Se observó un aumento significativo de los niveles de anticuerpos aCL isotipo IgG en la cohorte control (n=35) con respecto a la cohorte PE (n=122). No se observaron diferencias significativas en los niveles séricos de anticuerpos aCL isotipo IgM entre las pacientes preeclámplicas (n=122) y la cohorte control (n=35). \*\*Indica  $p < 0,01$ .



**Figura 14. Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anti-β2-glicoproteína I (aβ2GPI) isotipos IgG e IgM en las cohortes control y preeclampsia (PE).** No se observaron diferencias significativas en los niveles de anticuerpos aβ2GPI isotipo IgG o IgM en la cohorte control (n=35) con respecto a la cohorte PE (n=122).



**Figura 15. Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anticardiolipina (aCL) y anti-β2-glicoproteína I (aβ2GPI) isotipo IgA en las cohortes control y preeclampsia (PE).** Se observó un incremento significativo de los niveles séricos de aCL isotipo IgA en la cohorte PE (n=122) con respecto a la cohorte control (n=35). No se observaron diferencias significativas en los niveles séricos de anticuerpos aβ2GPI isotipo IgA entre la cohorte control (n=35) y la cohorte PE (n=122). \* Indica  $p < 0,05$



**Figura 16.** Distribución de los niveles séricos de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina (aPS/PT) isotipos IgG e IgM en las cohortes control y preeclampsia. Se observó un incremento significativo de los niveles de anticuerpos aPS/PT tanto isotipo IgG como IgM en la cohorte de mujeres preeclámpticas ( $n=122$ ) con respecto a la cohorte control ( $n=35$ ). \*\*\*Indica  $p<0,001$ .

### 4.3. Análisis de los niveles séricos de los diferentes anticuerpos antifosfolípido en función de la gravedad de la preeclampsia

En relación a la gravedad de la PE, el anticuerpo que mostró la mayor prevalencia de positividad a títulos elevados fue aPS/PT IgM, que en las PE leves ascendió al 23,2% y en las PE graves del 60,6% (Tabla 18).

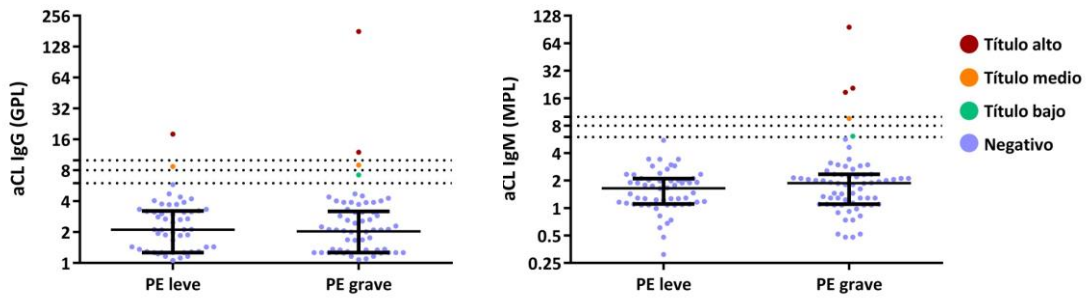
**Tabla 18.** Prevalencia de titulaciones de anticuerpos antifosfolípido en las cohortes preeclampsia leve y preeclampsia grave.

Título	PE leve ( $n=56$ )			PE grave ( $n=66$ )		
	Bajo	Medio	Elevado	Bajo	Medio	Elevado
<b>Ac clásicos n (%)</b>						
aCL IgG	---	1 (1,8%)	1 (1,8%)	1 (1,5%)	1 (1,5%)	2 (3,0%)
aCL IgM	---	---	---	1 (1,5%)	1 (1,5%)	3 (4,5%)
a $\beta$ 2GPI IgG	---	3 (5,4%)	3 (5,4%)	1 (1,5%)	2 (3,0%)	8 (12,1%)
a $\beta$ 2GPI IgM	1 (1,8%)	3 (5,4%)	1 (1,8%)	---	4 (6,1%)	2 (3,0%)
<b>Ac no convencionales n (%)</b>						
aCL IgA	---	---	1 (1,8%)	2 (3,0%)	---	1 (1,5%)
a $\beta$ 2GPI IgA	2 (3,6%)	---	1 (1,8%)	3 (4,5%)	---	3 (4,5%)
aPS/PT IgG	3 (5,4%)	---	1 (1,8%)	5 (7,6%)	---	1 (1,5%)
aPS/PT IgM	4 (7,1%)	---	13 (23,2%)	1 (1,5%)	---	40 (60,6%)

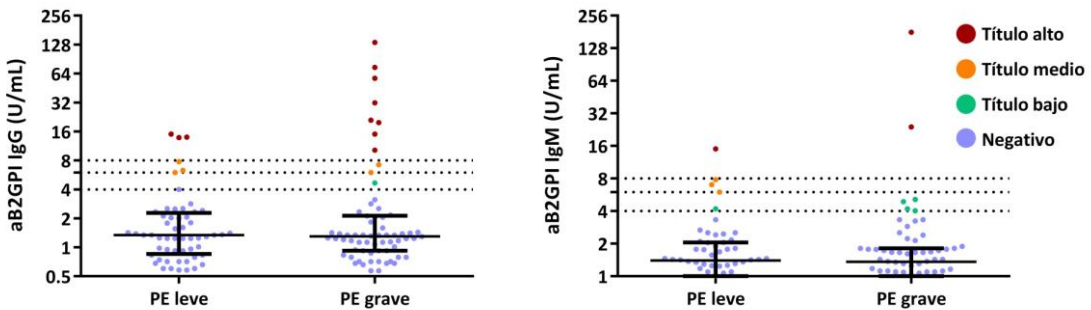
Ac: anticuerpos, a $\beta$ 2GPI: anti- $\beta$ 2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, PE: preeclampsia.

Las figuras 17, 18, 19 y 20 reflejan la distribución de titulaciones de los distintos anticuerpos en razón a la gravedad de la PE

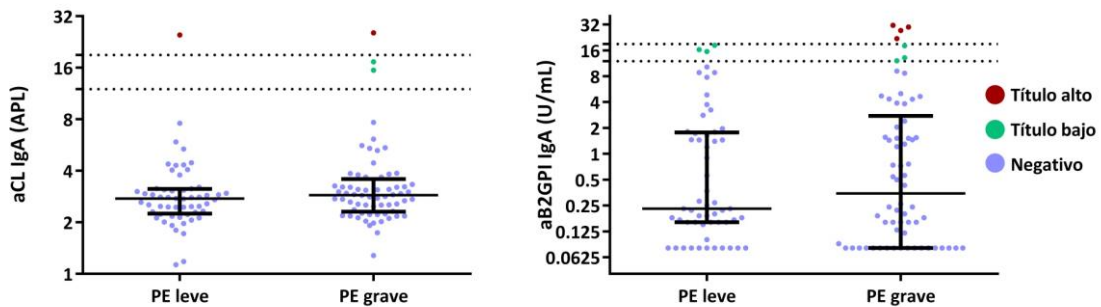
#### IV. Resultados



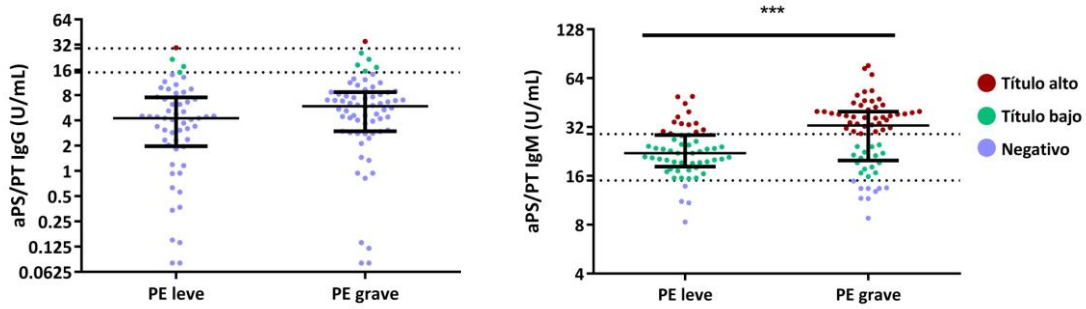
**Figura 17.** Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anticardiolipina (aCL) isotipos IgG e IgM en función de la gravedad de la preeclampsia (PE). No se observaron diferencias significativas en los niveles séricos de anticuerpos aCL IgG o IgM entre las cohortes de PE leve (n=56) y PE grave (n=66).



**Figura 18.** Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anti-β2-glicoproteína I (aβ2GPI) isotipos IgG e IgM en función de la gravedad de la preeclampsia (PE). No se observaron diferencias significativas en los niveles séricos de anticuerpos aβ2GPI isotipo IgG o IgM entre las cohortes de PE leve (n=56) y PE grave (n=66).

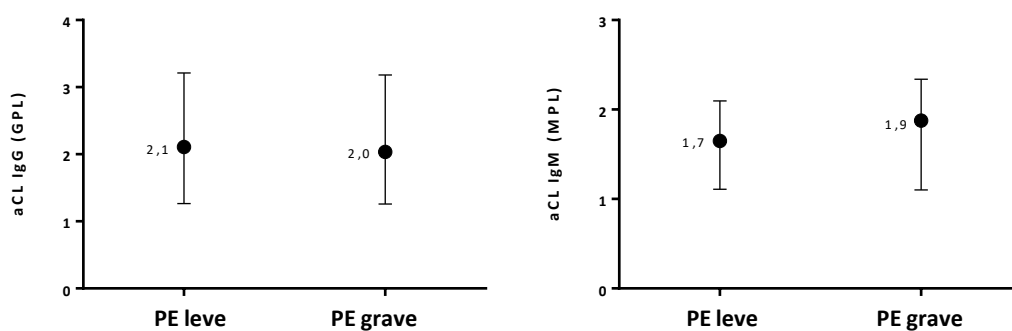


**Figura 19.** Distribución de los niveles séricos de anticuerpos anticardiolipina (aCL) y anti-β2-glicoproteína I (aβ2GPI) isotipo IgA en función de la gravedad de la preeclampsia (PE). No se observaron diferencias significativas en los niveles séricos de anticuerpos aCL o aβ2GPI isotipo IgA entre las cohortes de PE leve (n=56) y PE grave (n=66).



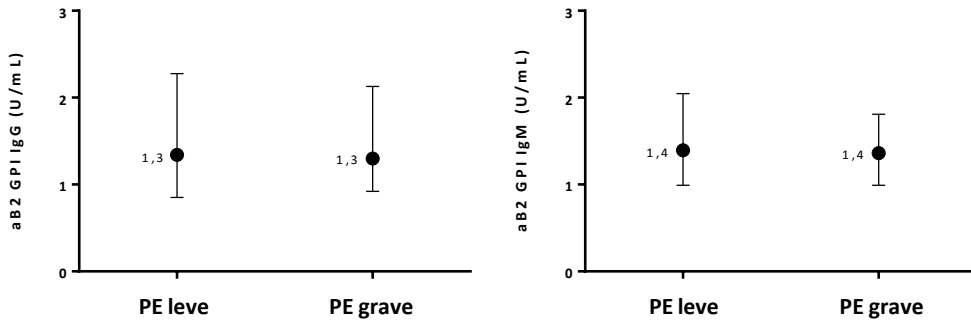
**Figura 20.** Distribución de los niveles séricos de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina (aPS/PT) isotipos IgG e IgM en función de la gravedad de la preeclampsia (PE). No se observaron diferencias significativas en los niveles séricos de anticuerpos aPS/PT entre la cohorte de PE leve ( $n=56$ ) y la cohorte de PE grave ( $n=66$ ). Se observó un incremento significativo de los niveles séricos de anticuerpos aPS/PT isotipo IgM entre la cohorte PE grave ( $n=66$ ) con respecto a la cohorte de PE leve ( $n=56$ ) \*\*\* indica  $p<0,001$ .

El análisis de los valores medianos de titulaciones de los distintos Ac en ambos subgrupos, se llevó a cabo tomando en consideración los títulos efectivos hallados en cada paciente, ya fueran positivos o negativos. Únicamente se observaron diferencias estadísticamente significativas en el aPS/PT IgM. Las figuras 21, 22, 23 y 24, reflejan los valores medianos de las titulaciones de los distintos Ac en los subgrupos de PE leve y PE grave.

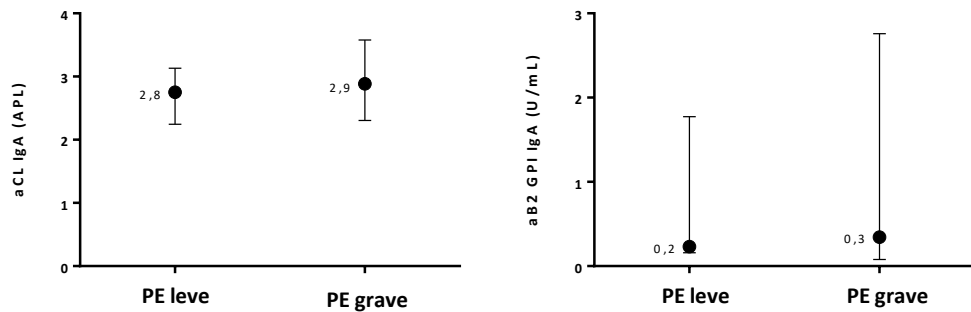


**Figura 21.** Valores medianos de anticuerpos anticardiolipina (aCL) isotipos IgG e IgM en función de la gravedad de la preeclampsia (PE). No se observaron diferencias significativas en los niveles medianos de anticuerpos aCL IgG o IgM entre las cohortes de PE leve ( $n=56$ ) y PE grave ( $n=66$ ). (Las barras de error identifican los percentiles 25 y 75).

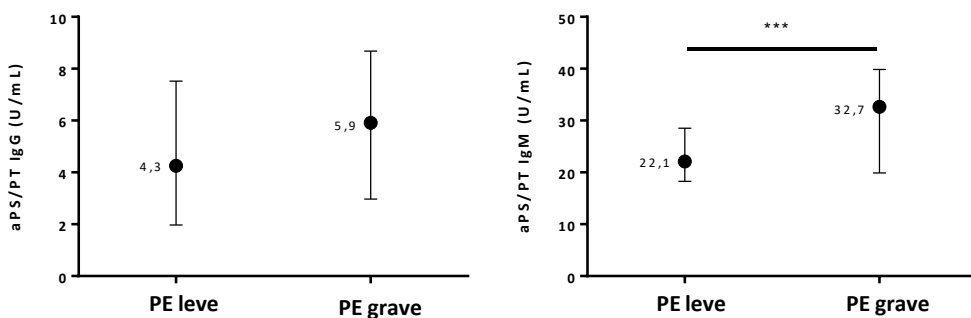
#### IV. Resultados



**Figura 22.** Valores medianos de anticuerpos anti- $\beta$ 2-glicoproteina I (aB2GPI) isotipos IgG e IgM en función de la gravedad de la preeclampsia (PE). No se observaron diferencias significativas en los valores medianos de anticuerpos aB2GPI isotipo IgG o IgM entre las cohortes PE leve ( $n=56$ ) y PE grave ( $n=66$ ). (Las barras de error identifican los percentiles 25 y 75).



**Figura 23.** Valores medianos de anticuerpos anticardiolipina (aCL) y anti- $\beta$ 2-glicoproteina I (aB2GPI) isotipo IgA en función de la gravedad de la preeclampsia (PE). No se observaron diferencias significativas en los valores medianos de anticuerpos aCL isotipo IgA entre las cohortes de PE leve ( $n=56$ ) y PE grave ( $n=66$ ). No se observaron diferencias significativas en los niveles séricos de anticuerpos aB2GPI isotipo IgA entre las cohortes de PE leve ( $n=56$ ) y PE grave ( $n=66$ ). (Las barras de error identifican los percentiles 25 y 75).



**Figura 24.** Valores medianos de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina (aPS/PT) isotipos IgG e IgM en función de la gravedad de la preeclampsia (PE). No se observaron diferencias significativas en los valores medianos de anticuerpos aPS/PT, isotipo IgG, entre la cohorte de PE leve ( $n=56$ ) y la cohorte de PE grave ( $n=66$ ). Se observó un incremento significativo del valor mediano de anticuerpos aPS/PT isotipo IgM entre la cohorte PE grave ( $n=66$ ) con respecto a la cohorte de PE leve ( $n=56$ ). (\*\*\*) indica  $p<0,001$ . Las barras de error identifican los percentiles 25 y 75).



#### 4.4. Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido

El análisis de diferencias de medias y proporciones de los distintos factores clínicos y analíticos, en función de la presencia o ausencia de Ac clásicos reflejó que las mujeres en las que se detectó la presencia de estos Ac presentaban, respecto a aquellas con ausencia de Ac, de forma estadísticamente significativa, con mayor frecuencia antecedentes maternos de ACVA (19,4% vs. 1,6%,  $p < 0,001$ ), menor peso del recién nacido ( $2.805,3 \pm 695,0$  gr vs  $3.154,0 \pm 657,0$ ;  $p = 0,012$ ), menor pH del cordón umbilical ( $7,1 \pm 0,2$  vs.  $7,3 \pm 0,1$ ;  $p = 0,008$ ) y mayor porcentaje de casos de CIR (22,6% vs. 9,5%;  $p = 0,046$ ). Sin embargo, la presencia de Ac clásicos no supuso un mayor porcentaje de terminaciones del parto mediante cesárea 35,5% vs. 56,6%;  $p = 0,037$  (Tabla Suplementaria 1).

El análisis segmentado poblacional determinó que en la cohorte de control tan sólo se observase un menor IMC en las pacientes con presencia de Ac clásicos que en aquellas con ausencia de este tipo de anticuerpos ( $22,3 \pm 2,7$  Kg/m<sup>2</sup> vs.  $25,8 \pm 6,7$  Kg/m<sup>2</sup>;  $p = 0,037$ ) (Tabla Suplementaria 2). Por su parte, en la cohorte de PE, los recién nacidos de pacientes con presencia de Ac clásicos mostraron, respecto a los de aquellas con ausencia de los mismos, menor peso y pH del cordón umbilical del recién nacido ( $2.519,1 \pm 480,7$  g vs.  $3.041,8 \pm 686,8$  g;  $p = 0,001$ ) y ( $7,1 \pm 0,2$  vs.  $7,2 \pm 0,1$ ;  $p = 0,005$ ). Así mismo, se observaron mayores porcentajes de antecedentes de ACVA maternos (21,7% vs. 2,0%;  $p < 0,001$ ), así como de otras complicaciones maternas en el embarazo (12,9% vs 1,0%;  $p = 0,02$ ) (Tabla Suplementaria 3).

Por lo que se refiere al análisis de diferencias de medias y porcentajes entre los distintos parámetros antropométricos, clínicos y analíticos en función de la presencia o ausencia del principal Ac no convencional (aPS/PT IgM), el análisis del total de la población, reflejó que los recién nacidos de mujeres con presencia de este isotipo, respecto a aquellas con ausencia del mismo, presentaban menor APGAR ( $7,5 \pm 1,2$  vs.  $8,5 \pm 0,9$ ;  $p < 0,001$ ), peso ( $2.564,9 \pm 505,6$  gr vs.  $3.410,0 \pm 558,8$  gr;  $p < 0,001$ ) y pH del cordón umbilical ( $7,2 \pm 0,1$  vs.  $7,3 \pm 0,1$ ;  $p < 0,001$ ). También se observaron mayores

#### IV. Resultados

porcentajes de casos de cefalea (61,9% vs 38,3%;  $p=0,007$ ), y edemas (71,4% vs. 37,2%;  $p<0,001$ ), proteinuria (90,5% vs. 56,4%;  $p=0,010$  y trombopenia (50,8% vs.13,8%;  $p<0,001$ ). Finalmente, el número de pacientes que presentaron PE en el embarazo también fue muy superior entre las pacientes con presencia de este Ac que entre aquellas con ausencia del mismo (92,1% vs. 68,1%;  $p=0,001$ ). Otros parámetros que mostraron diferencias significativas fueron la alteración de pruebas de función hepática, y el uso de TRA (Tabla Suplementaria 4).

El análisis segmentado reflejó, para las pacientes con presencia de aPS/PT IgM de la cohorte de control, un menor APGAR y peso del recién nacido, respecto a aquellas pacientes en la que dicho isotipo no fue detectado ( $7,6 \pm 0,9$  vs.  $8,9 \pm 0,3$ ;  $p=0,033$ ) y ( $3.060,0 \pm 368,3$  g vs  $3.631,7 \pm 346,2$  g;  $p=0,002$ ) (Tabla Suplementaria 5). Por su parte en la cohorte de PE los recién nacidos de pacientes con positividad para este isotipo presentaron menor APGAR ( $7,5 \pm 1,3$  vs  $8,3 \pm 1,1$ ;  $p<0,001$ ), peso ( $2.516,4 \pm 493,3$  g vs.  $3.301,0 \pm 611,5$  g;  $p<0,001$ ) y pH del cordón umbilical ( $7,2 \pm 0,1$  vs.  $7,3 \pm 0,1$ ;  $p<0,001$ ), así como mayores porcentajes de proteinuria (98,3% vs. 82,8%;  $p=0,010$ ) y trombopenia (55,2% vs. 18,8%;  $p<0,001$ ) (Tabla Suplementaria 6).

Por lo que se refiere a la afectación de parámetros antropométricos, clínicos y analíticos en la gravedad de la PE, en el subgrupo de PE leve no se observaron diferencias significativas en ninguna de las variables analizadas entre las pacientes con presencia o ausencia de Ac clásicos (Tabla Suplementaria 7). Por su parte en el subgrupo de PE grave, se observó entre los recién nacidos de mujeres con presencia de Ac clásicos, un menor peso ( $2.272,8 \pm 348,0$  g vs.  $2791,4 \pm 705,7$  g;  $p=0,001$ ) y un menor pH del cordón umbilical ( $7,1 \pm 0,2$  vs.  $7,2 \pm 0,1$ ;  $p=0,017$ ) (Tabla Suplementaria 8).

En lo que respecta a la presencia o ausencia del isotipo aPS/PT IgM, en el subgrupo de PE leve se observó un menor peso del recién nacido de mujeres con presencia de este isotipo que entre aquellas con ausencia del mismo ( $2.932,1 \pm 377,6$  g vs.  $3.383,9 \pm 548,3$  g;  $p=0,007$ ), así como mayores porcentajes de antecedentes paternos de HTA (82,4% vs. 38,5%;  $p=0,006$ ) y DM (64,7% vs. 20,5%;  $p=0,004$ ). Otras diferencias

estadísticamente significativas fueron observadas en los antecedentes de DM materna (35,3% vs. 7,7%;  $p=0,029$ ) y trombopenia (29,4% vs. 5,1%;  $p=0,022$ ) (Tabla Suplementaria 9). En lo que respecta al subgrupo de PE grave, la presencia del isotipo aPS/PT IgM, reflejó para los hijos de madres con positividad en estos anticuerpos un menor peso ( $2.359,0 \pm 440,3$  g vs.  $3.171,3 \pm 691,9$  g;  $p=0,001$ ) y un menor pH del cordón umbilical ( $7,1 \pm 0,1$  vs  $7,3 \pm 0,2$ ;  $p=0,001$ ) (Tabla Suplementaria 10).

#### **4.5. Asociación entre anticuerpos antifosfolípido y factores clínicos y analíticos**

En relación al total de la población, en el análisis de regresión logística univariante, no se encontraron factores asociados significativamente a la presencia de aAFL clásicos. Por lo que respecta al principal anticuerpo no convencional, aPS/PT IgM, los principales factores asociados fueron la hiperuricemia y trombopenia detectadas en el tercer trimestre de gestación (OR=8,26; IC 95% (3,93-17,39),  $p<0,001$  y OR=6,27; IC 95% (2,91-13,51),  $p<0,001$ , respectivamente), y el CIR (OR=7,03; IC 95% (2,21–22,37),  $p=0,001$ ) (Tabla 19).

**Tabla 19. Factores clínicos y analíticos asociados a la positividad de anticuerpos antifosfolípido en el total de la población.**

	Ac clásicos OR (IC 95%)	p	aPS/PT IgM OR (IC 95%)	p
<b>Factores antropométricos, FCRV y enfermedades cardiovasculares</b>				
Edad	0,98 (0,91-1,06)	0,641	1,00 (0,94-1,07)	0,917
IMC	0,99 (0,92-1,06)	0,689	1,04 (0,98-1,10)	0,236
DM	---	---	0,74 (0,07-8,36)	0,809
Dislipemia	1,37 (0,14-13,61)	0,790	0,49 (0,05-4,81)	0,540
Tabaquismo	0,51 (0,11-2,36)	0,389	2,35 (0,84-6,53)	0,103
<b>Antecedentes obstétricos</b>				
Número de gestaciones previas	0,94 (0,62-1,42)	0,755	1,10 (0,79-1,52)	0,585
PE previa	0,492 (0,06-4,08)	0,511	3,19 (0,77-13,28)	0,110
Diabetes gestacional	---	---	3,05 (0,27-34,36)	0,367
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular</b>				
HTA madre	0,80 (0,347-1,85)	0,601	1,14 (0,587-2,21)	0,703
DM madre	1,58 (0,65-3,82)	0,317	1,16 (0,54-2,48)	0,709
IAM madre	1,17 (0,23-5,94)	0,848	3,19 (0,77-13,28)	0,110
ACVA madre	14,88 (2,83-78,02)	0,001	0,89 (0,21-2,86)	0,876
HTA padre	0,99 (0,45-2,21)	0,990	1,47 (0,77-2,80)	0,247
DM padre	0,75 (0,31-1,82)	0,521	1,40 (0,71-2,79)	0,334
IAM padre	1,08 (0,40-2,92)	0,887	1,27 (0,56-2,286)	0,568
ACVA padre	---	---	2,30 (0,37-14,17)	0,369
HTA hermana	0,72 (0,15-3,43)	0,681	0,93 (0,29-2,97)	0,898
DM hermana	1,17 (0,23-5,92)	0,848	1,94 (0,50-7,52)	0,338
HTA hermano	0,51 (0,11-2,36)	0,389	0,794 (0,28-2,27)	0,667
DM hermano	1,37 (1,37-13,61)	0,790	---	---
<b>Datos de la gestación actual</b>				
Técnicas reproducción asistida	0,72 (0,30-1,71)	0,452	0,49 (0,29-1,02)	0,056
Embarazo múltiple	---	---	0,73 (0,21-2,53)	0,619
Semana de parto	0,97 (0,87-1,10)	0,641	0,94 (0,849-1,03)	0,170
<b>Datos del recién nacido</b>				
APGAR recién nacido	0,82 (0,60-1,14)	0,237	0,437 (0,30-0,63)	<0,001
Peso recién nacido	0,99 (0,98-1,10)	0,014	0,98 (0,97-0,99)	<0,001
CIR	2,77 (0,99-7,77)	---	7,03 (2,21-22,37)	0,001
<b>Complicaciones durante la gestación</b>				
<b>Signos y síntomas</b>				
Cefalea	1,40 (0,64-3,09)	0,401	2,57 (1,33-4,97)	0,005
Epigastralgia	1,07 (0,37-3,14)	0,898	2,92 (1,19-7,17)	0,020
Fotopsias	1,18 (0,36-3,85)	0,791	2,00 (0,74-5,40)	0,169
Acúfenos	1,00 (0,11-9,35)	0,994	0,98 (0,16-6,06)	0,986
Edemas	0,53 (0,24-1,18)	0,121	4,14 (2,08-8,25)	<0,001
<b>Alteraciones analíticas durante el 3ºT</b>				
Trombopenia	1,00 (0,42-2,38)	1,000	6,27 (2,91-13,51)	<0,001
Alt. función hepática	0,77 (0,24-2,44)	0,658	3,57 (1,42-8,98)	0,007
Alt. función renal	1,16 (0,36-3,82)	0,802	1,19 (0,44-3,21)	0,727
Hiperuricemia	1,90 (0,86-4,21)	0,115	8,26 (3,93-17,39)	<0,001

Ac: anticuerpos, ACVA: accidente cerebrovascular agudo, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, CIR: retraso crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, FRCV: Factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, PE: preeclampsia, T: trimestre.

En análisis de regresión logística univariante por grupos, entre los controles no se encontraron variables asociadas de forma significativa con la existencia de anticuerpos clásicos. En relación al principal anticuerpo no convencional, aPS/PT IgM, el factor clínico que mayor asociación mostró con la positividad de este anticuerpo fue el haber tenido PE en previos embarazos (OR=21,0; IC 95% (2,12-208,06), p=0,009). Igualmente, la puntuación en el test de APGAR mostró una asociación significativa con la positividad del anticuerpo (OR= 0,13; IC 95% (0,03-0,59), p=0,008) (Tabla 20).

**Tabla 20. Factores clínicos y analíticos asociados a la positividad de anticuerpos antifosfolípido en la cohorte control.**

	Ac clásicos OR (IC 95%)	<i>p</i>	aPS/PT IgM OR (IC 95%)	<i>p</i>
<b>Factores antropométricos, FRCV y enfermedades cardiovasculares</b>				
Edad	1,09 (0,93-1,29)	0,284	0,99 (0,82-1,20)	0,929
IMC	0,87 (0,70-1,07)	0,176	1,06 (0,918-1,21)	0,452
DM	---	---	---	---
Dislipemia	1,14 (0,10-12,78)	0,914	2,25 (0,29-27,27)	0,524
Tabaquismo	---	---	1,63 (0,14-18,48)	0,695
<b>Antecedentes obstétricos</b>				
Número de gestaciones previas	0,70 (0,28-1,76)	0,450	0,69 (0,22-2,18)	0,532
PE previa	---	---	21,0 (2,12-208,06)	0,009
Diabetes gestacional	---	---	---	---
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular</b>				
HTA madre	0,63 (0,06-6,33)	0,694	1,25 (0,11-13,68)	0,855
DM madre	2,00 (0,40-9,90)	0,396	1,15 (0,17-7,99)	0,886
IAM madre	---	---	---	---
ACVA madre	---	---	---	---
HTA padre	0,27 (0,47-14,89)	0,271	0,82 (0,08-8,6)	0,870
DM padre	1,47 (0,23-9,53)	0,668	---	---
IAM padre	1,79 (0,14-22,70)	0,655	---	---
ACVA padre	---	---	---	---
HTA hermana	---	---	3,50 (0,26-48,03)	0,349
DM hermana	---	---	---	---
HTA hermano	1,14 (0,10-12,78)	0,914	---	---
DM hermano	---	---	---	---
<b>Datos de la gestación actual</b>				
Técnicas reproducción asistida	1,99 (0,49-8,02)	0,336	0,29 (0,03-2,75)	0,282
Embarazo múltiple	---	---	---	---
Semana de parto	0,817 (0,54-1,23)	0,335	1,33 (0,71-2,50)	0,377
<b>Datos del recién nacido</b>				
APGAR recién nacido	0,83 (0,25-2,76)	0,754	0,13 (0,03-0,59)	0,008
Peso recién nacido	1,00 (0,99-1,00)	0,714	0,99 (0,99-1,00)	0,054
CIR	---	---	---	---
<b>Complicaciones durante la gestación</b>				
<b>Signos y síntomas</b>				
Cefalea	---	---	---	---
Epigastralgia	---	---	---	---
Fotopsias	---	---	---	---
Acúfenos	---	---	---	---
Edemas	---	---	---	---
<b>Alteraciones analíticas en el tercer T de gestación</b>				
Trombopenia	---	---	---	---
Alt. función hepática	---	---	---	---
Alt. función renal	---	---	---	---
Hiperuricemia	---	---	---	---

Ac: anticuerpos, ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, aPS/PT: antifosfatidilserina-protrombina, CIR: retraso crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, PE: preeclampsia, T: trimestre.

En la cohorte de mujeres que finalmente desarrollaron PE en su embarazo, los principales factores asociados de forma significativa con la presencia de anticuerpos clásicos fueron el diagnóstico de CIR (OR=3,17; IC 95% (1,08-9,29),  $p=0,035$ ) y la aparición durante el tercer trimestre de gestación de hiperuricemia (OR= 2,65; IC 95% (1,03-6,84),  $p=0,043$ ). Por lo que respecta a la positividad del principal de los anticuerpos no convencionales, el aPS/PT IgM, los principales factores asociados fueron la aparición de hiperuricemia y trombopenia durante el tercer trimestre de gestación (OR=6,67; IC 95% (3,02-14,74),  $p<0,001$  y OR=5,33; IC 95% (2,36-12,03),  $p<0,001$ , respectivamente), así como el diagnóstico de CIR (OR=5,23; IC 95% (1,62-16,86),  $p=0,006$  y la presencia de edemas en las etapas finales del embarazo (OR=2,87; IC 95% (1,30-6,32),  $p=0,009$ ) (Tabla 21).

**Tabla 21. Factores clínicos y analíticos asociados a la positividad de anticuerpos antifosfolípido en la cohorte preeclampsia.**

	Ac clásicos OR (IC 95%)	p	aPS/PT IgM OR (IC 95%)	p
<b>Factores antropométricos, factores de riesgo cardiovascular y enfermedades cardiovasculares</b>				
Edad	0,95 (0,87-1,03)	0,247	0,77 (0,94-1,08)	0,769
IMC	1,03 (0,94-1,11)	0,560	1,00 (0,94-1,08)	0,844
DM	---	---	0,54 (0,05-6,16)	0,623
Dislipemia	---	---	---	---
Tabaquismo	0,848 (0,17-4,16)	0,839	3,74 (0,96-14,55)	0,058
<b>Antecedentes obstétricos</b>				
Número de gestaciones previas	1,02 (0,63-1,66)	0,930	1,29 (0,87-1,91)	0,205
PE previa	1,46 (0,14-14,66)	0,751	3,44 (0,347-33,99)	0,291
Diabetes gestacional	---	---	---	---
<b>Antecedentes familiares de factores de riesgo cardiovascular y patología cardiovascular</b>				
HTA madre	0,87 (0,35-2,21)	0,773	0,84 (0,41-1,73)	0,647
DM madre	1,34 (0,44-4,11)	0,609	1,77 (0,69-4,51)	0,234
IAM madre	1,25 (0,24-6,46)	0,789	2,35 (0,56-9,85)	0,244
ACVA madre	13,47 (2,42-74,88)	0,003	0,82 (0,18-3,82)	0,799
HTA padre	0,82 (0,33-2,04)	0,665	1,21 (0,59-2,46)	0,605
DM padre	0,65 (0,23-1,79)	0,399	1,45 (0,681-3,08)	0,337
IAM padre	1,03 (0,34-1,11)	0,956	1,13 (0,48-2,70)	0,777
ACVA padre	---	---	1,69 (0,27-10,50)	0,573
HTA hermana	1,08 (0,21-5,48)	0,923	0,72 (0,19-2,68)	0,619
DM hermana	1,25 (0,24-6,46)	0,789	1,42 (0,36-5,55)	0,618
HTA hermano	0,33 (0,04-2,67)	0,299	0,94 (0,30-2,98)	0,916
DM hermano	1,46 (0,14-14,66)	0,751	---	---
<b>Datos de la gestación actual</b>				
Técnicas reproducción asistida	0,22 (0,03-1,53)	0,125	0,69 (0,32-1,52)	0,360
Embarazo múltiple	---	---	0,87 (0,22-3,43)	0,847
Tipo de parto	0,48 (0,19-1,20)	0,116	0,90 (0,44-1,86)	0,782
Semana de parto	0,98 (0,86-1,11)	0,740	0,96 (0,87-1,06)	0,401
<b>Datos del recién nacido</b>				
APGAR recién nacido	0,78 (0,55-1,11)	0,162	0,54 (0,37-0,77)	0,001
Peso recién nacido	0,99 (0,98-1,00)	0,002	0,99 (0,99-0,99)	<0,001
CIR	3,17 (1,08-9,29)	0,035	5,23 (1,62-16,86)	0,006
<b>Complicaciones durante la gestación</b>				
<b>Signos y síntomas</b>				
Cefalea	2,00 (0,73-5,52)	0,179	1,60 (0,76-3,34)	0,214
Epigastralgia	1,18 (0,39-3,55)	0,782	2,13 (0,85-5,34)	0,106
Fotopsias	1,28 (0,38-4,32)	0,693	1,46 (0,53-3,99)	0,462
Acúfenos	1,08 (0,12-10,14)	0,947	0,73 (0,12-4,51)	0,731
Edemas	0,50 (0,20-1,25)	0,138	2,87 (1,30-6,32)	0,009
<b>Alteraciones analíticas</b>				
Trombopenia	1,18 (0,47-2,99)	0,734	5,33 (2,36-12,03)	<0,001
Alt. función hepática	0,83 (0,25-2,72)	0,760	2,67 (1,04-6,82)	0,040
Alt. función renal	1,28 (0,38-4,32)	0,693	0,86 (0,32-2,36)	0,776
Hiperuricemia	2,65 (1,03-6,84)	0,043	6,67 (3,02-14,74)	<0,001

Ac: anticuerpos, ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, aPS/PT: antifosfatidilserina-protrombina, CIR: retraso crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, PE: preeclampsia, T: trimestre.



#### 4.6. Asociación de anticuerpos antifosfolípido con preeclampsia y su gravedad

En el análisis de regresión logística univariante, el único aAFL asociado a la ocurrencia de PE fue el aPS/PT IgM, OR=5,4; IC 95% (2,0–14,9),  $p < 0,001$ . En relación a la ocurrencia de PE grave, nuevamente el aPS/PT IgM fue el único que mostró asociación significativa: OR=4,4; IC 95% (2,0–9,4),  $p < 0,001$  (Tabla 22).

**Tabla 22. Asociación de anticuerpos antifosfolípido con preeclampsia y su gravedad.**

	PE OR (IC 95%)	<i>p</i>	PE grave OR (IC 95%)	<i>p</i>
<b>Ac clásicos</b>	<b>0,8 (0,3-1,9)</b>	<b>0,600</b>	<b>1,8 (0,7-4,5)</b>	<b>0,238</b>
AL	0,4 (0,1-2,6)	0,348	0,4 (0,0-4,7)	0,478
aCL IgG	0,6 (0,1-2,3)	0,418	1,7 (0,3-9,9)	0,531
aCL IgM	1,5 (0,2–12,9)	0,737	---	---
aβ2GPI IgG	2,7 (0,6–12,2)	0,204	1,7 (0,6–4,8)	0,348
aβ2GPI IgM	1,1 (0,3–4,0)	0,935	1,0 (0,3-3,5)	0,975
<b>Ac no convencionales</b>	<b>4,1 (1,7-9,8)</b>	<b>0,001</b>	<b>3,8 (1,8-8,1)</b>	<b>&lt;0,001</b>
aCL IgA	---	---	2,6 (0,3-25,9)	0,410
aβ2GPI IgA	2,7 (0,3–22,1)	0,353	3,2 (0,6–16,1)	0,157
aPS/PT IgG	3,0 (0,4–24,6)	0,298	1,3 (0,3–4,9)	0,697
aPS/PT IgM	5,4 (2,0–14,9)	<0,001	4,4 (2,0-9,4)	<0,001

Ac: anticuerpos, aβ2GPI: antiβ2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, PE: preeclampsia.

#### 4.7. Valor predictivo de preeclampsia de los anticuerpos antifosfolípido

Entre los autoanticuerpos clásicos el valor pronóstico detectado fue en general débil, con sensibilidades del orden del 80% y especificidades del orden del 20%. El autoanticuerpo que mostró mejor valor pronóstico fue el IgG aβ2GPI, con una sensibilidad (Se) del 88,9%, una especificidad (Sp) del 23,7% y unos valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) del 13,1% y 94,3%, respectivamente. Igualmente, las áreas bajo la curva de estos anticuerpos clásicos en general no fueron estadísticamente significativas.

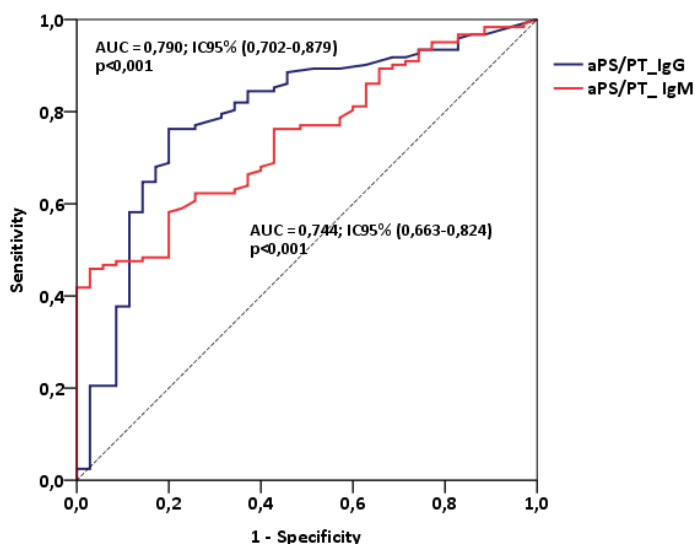
#### IV. Resultados

En lo que respecta a los autoanticuerpos no convencionales, observamos sensibilidades superiores al 80%, destacando entre todos ellos el aPS/PT IgM con un AUC del 0,744 (0,663-0,824) ( $p < 0,001$ ), con un punto de corte óptimo establecido en 22,04 U/mL, (Se=62,3%; Sp=74,3%; VPP=89,4% y VPN=36,1%) y el aPS/PT IgG, con un AUC del 0,790 (0,702-0,879) ( $p < 0,001$ ), con un punto de corte óptimo establecido en 2,78 U/mL, Se=76,2%; Sp=80,0%; VPP=93,0% y VPN=49,1%) (Tabla 23 y Figura 25).

**Tabla 23. Sensibilidad (%), especificidad (%), valores predictivos positivo y negativo (%), razón de verosimilitud positiva y negativa y área bajo la curva de anticuerpos antifosfolípido clásicos y no convencionales para la ocurrencia de preeclampsia.**

	Se	Sp	VPP	VPN	LR+	LR-	AUC
<b>Ac clásicos</b>							
AL	66,0	21,7	2,5	94,3	0,77	1,84	0,494 (0,373-0,594)
aCL IgG	66,7	21,6	4,9	91,4	0,85	1,54	0,250 (0,249-0,451)
aCL IgM	80,0	22,4	3,3	97,1	1,03	0,89	0,398 (0,292-0,504)
aβ2BPI IgG	88,9	23,7	13,1	94,3	1,17	0,47	0,486 (0,388-0,584)
aβ2BPI IgM	83,3	22,8	8,2	94,3	1,08	0,73	0,548 (0,430-0,665)
<b>Ac no convencionales</b>							
aCL IgA	100,0	22,9	3,3	100,0	1,30	0,00	0,648 (0,547-0,749)*
aβ2BPI IgA	83,3	22,8	8,2	94,3	1,08	0,73	0,452 (0,357-0,548)
aPS/PT IgG	88,9	23,0	6,6	97,1	1,15	0,48	0,790 (0,702-0,879)*
aPS/PT IgM	92,1	31,9	47,5	85,7	1,35	0,25	0,744 (0,663-0,824)*

Ac: Anticuerpos, aβ2GPI: anti-β2-glicoproteína, aCL: anticardiolipina, AL: Anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, AUC: área bajo la curva, LR: razón de verosimilitud positiva, LR-: razón de verosimilitud negativa, Se: Sensibilidad, Sp: Especificidad, VPN: Valor predictivo negativo, VPP: Valor predictivo positivo. \* Indica  $p < 0,05$ .



**Figura 25. Análisis de curvas ROC de los anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina (aPS/PT) isotipos IgG e IgM para el desarrollo de preeclampsia.** Tanto el isotipo IgG como el IgM del anticuerpo aPS/PT presentaron un AUC de 0,790 y 0,744 respectivamente, estadísticamente significativos.

Por lo que respecta a la gravedad de la PE, el anticuerpo que presentó mejor valor pronóstico de ocurrencia de PE grave fue aPS/PT isotipo IgM con un AUC de 0,669 (0,571-0,767),  $p < 0,001$ , con un punto de corte óptimo de 28,7 U/mL (Se=62,1%; Sp=76,8%; VPP=75,9% y VPN=63,2%) (Tabla 24 y Figura 26).

**Tabla 24. Sensibilidad (%), especificidad (%), valores predictivos positivo y negativo (%), razón de verosimilitud positiva y negativa y área bajo la curva de anticuerpos antifosfolípido clásicos y no convencionales para la ocurrencia de preeclampsia grave.**

	Se	Sp	VPP	VPN	LR+	LR-	AUC
<b>Ac clásicos</b>							
AL	33,3	45,4	1,5	96,4	0,61	1,64	0,490 (0,386-0,593)
aCL IgG	66,7	46,6	6,1	96,4	1,25	0,72	0,484 (0,380-0,587)
aCL IgM	100,0	47,5	6,1	100,0	1,90	0,00	0,561 (0,459-0,663)
a $\beta$ 2BPI IgG	68,8	48,1	16,7	91,1	1,33	0,65	0,502 (0,398-0,606)
a $\beta$ 2BPI IgM	50,0	45,5	7,6	91,1	0,92	1,09	0,491 (0,387-0,594)
<b>Ac no convencionales</b>							
aCL IgA	75,0	46,6	4,6	98,2	1,40	0,54	0,567 (0,465-0,669)
a $\beta$ 2BPI IgA	70,0	47,3	10,6	94,6	1,33	0,63	0,484 (0,384-0,590)
aPS/PT IgG	75,0	47,4	9,1	96,4	1,42	0,53	0,594 (0,492-0,696)
aPS/PT IgM	72,4	62,5	63,6	71,4	1,93	0,44	0,669 (0,571-0,767)*

Ac: Anticuerpos, a $\beta$ 2GPI: anti- $\beta$ 2-glicoproteinal, aCL: anticardiolipina, AL: Anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, AUC: área bajo la curva, LR+: razón de verosimilitud positiva, LR-: razón de verosimilitud negativa, Se: Sensibilidad, Sp: Especificidad, VPN: Valor predictivo negativo, VPP: Valor predictivo positivo. \* Indica  $p < 0,05$ .

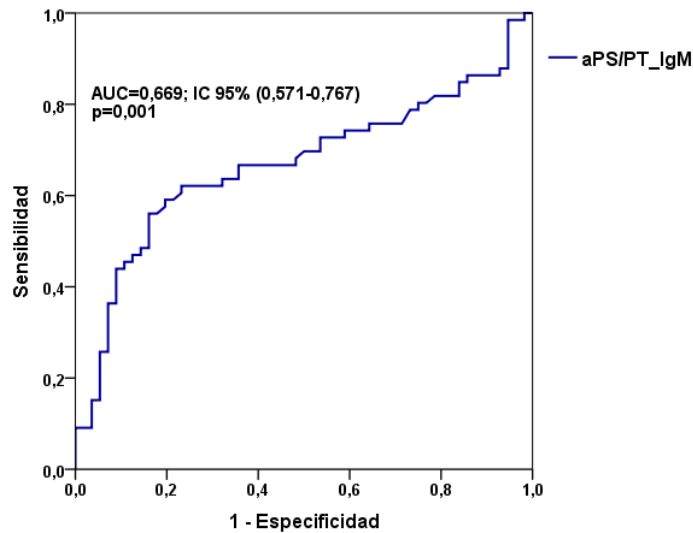


Figura 26. Análisis de curva ROC del anticuerpo antifosfatidilserina/protrombina (aPS/PT) IgM para el desarrollo de preeclampsia grave. El anticuerpo aPS/PT isotipo IgM presentó un AUC estadísticamente significativo con un valor de 0,699.

## 5. Análisis de los parámetros cardiovasculares

### 5.1. Velocidad de onda de pulso

El valor medio de la VOP en el total de la población analizada fue de 8,0 m/s (7,4-9,2) (Figura 27).

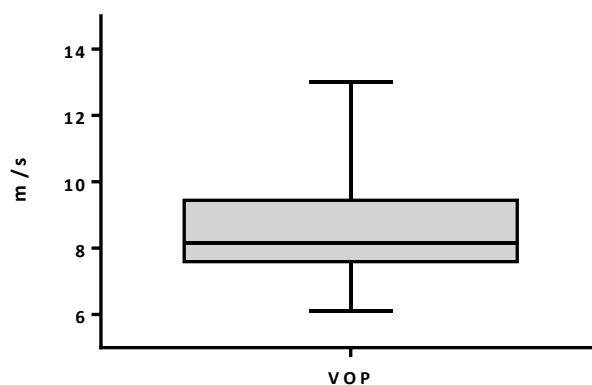
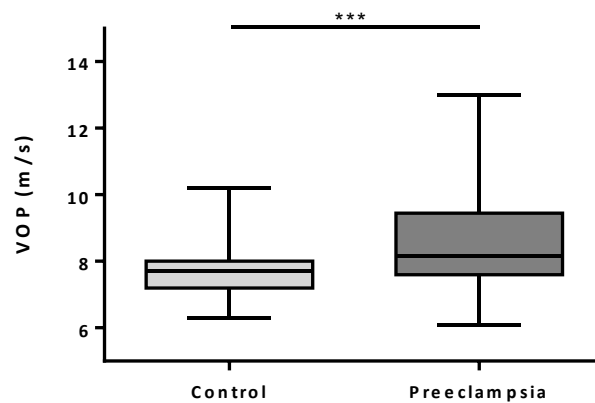


Figura 27. Representación gráfica de la distribución de la velocidad de onda de pulso (VOP) en el total de la población. Se aprecia una asimetría positiva, con un valor mediano de 8.0 m/s y un alto porcentaje de valores de VOP elevados.

### 5.1.1. Velocidad de onda de pulso en función de la presencia o ausencia de preeclampsia

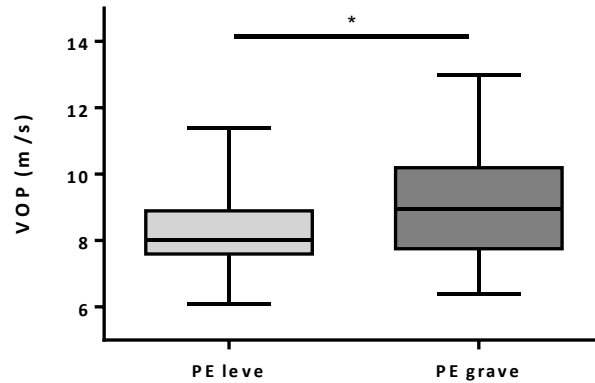
En el análisis por grupos, la cohorte de PE mostró valores medianos de VOP superiores de forma significativa a los de la cohorte control: 8,15 (7,60-9,45) m/s en el grupo de PE vs. 7,7 (7,2-8,00) m/s en el grupo de control;  $p < 0,001$ ) (Figura 28).



**Figura 28.** Representación gráfica de la distribución de la velocidad de onda de pulso (VOP) en las cohortes control y preeclampsia (PE). Se observó un incremento significativo de los valores medianos de VOP en el grupo PE con respecto al grupo control, así como una importante asimetría positiva en el grupo de PE. \*\*\* Indica  $p < 0,001$

### 5.1.2. Velocidad de onda de pulso en función de la gravedad de preeclampsia

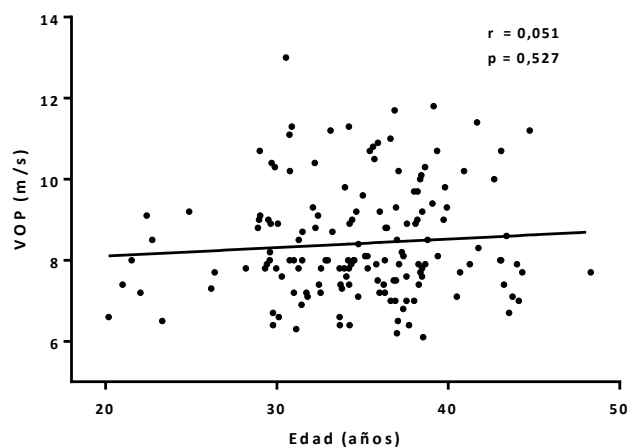
La gravedad de la PE supuso un importante y significativo incremento de la VOP (9,0 (7,8-10,2) m/s en el subgrupo de PE grave vs. 8,0 (7,6-8,9) m/s en el subgrupo de PE leve;  $p = 0,015$ ). La siguiente figura refleja la distribución de la VOP en estos dos subgrupos de PE (Figura 29).



**Figura 29.** Representación gráfica de la distribución de la velocidad de onda de pulso (VOP) en las cohortes preeclampsia (PE) leve y PE grave. Se observó un incremento significativo de los valores medianos de VOP en el grupo de PE grave con respecto al grupo de PE leve. \*Indica  $p < 0,05$ .

### 5.1.3. Velocidad de onda de pulso en función del rango de edad

El incremento de la edad se asocia habitualmente con una disminución de distensibilidad arterial (envejecimiento arterial). En nuestro estudio, el análisis de correlación lineal entre la edad y la VOP reflejó ausencia de correlación entre ambas variables ( $r=0,051$ ,  $p=0,527$ ). El siguiente gráfico de dispersión refleja la distribución de estados dos variables (Figura 30).



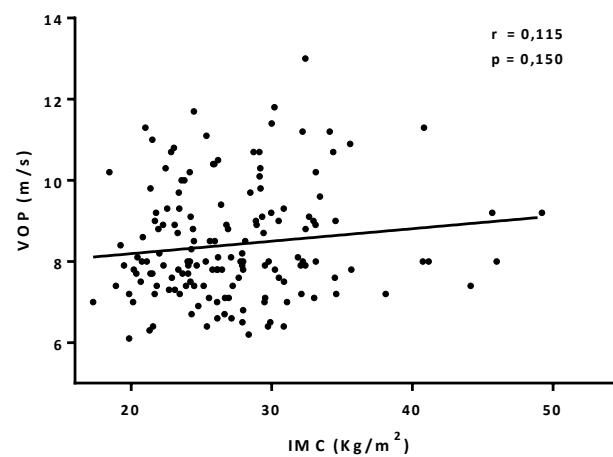
**Figura 30.** Correlación entre velocidad de onda de pulso (VOP) y edad en el total de la población. No se observó una correlación lineal significativa entre ambos parámetros.

#### 5.1.4. Velocidad de onda de pulso en función de la presencia de factores de riesgo cardiovascular

Adicionalmente se decidió analizar el comportamiento de la VOP en ambas cohortes en función de la presencia o ausencia de diferentes factores de riesgo cardiovascular (obesidad, dislipemia, diabetes mellitus, tabaquismo).

##### 5.1.4.1. Velocidad de onda de pulso y obesidad

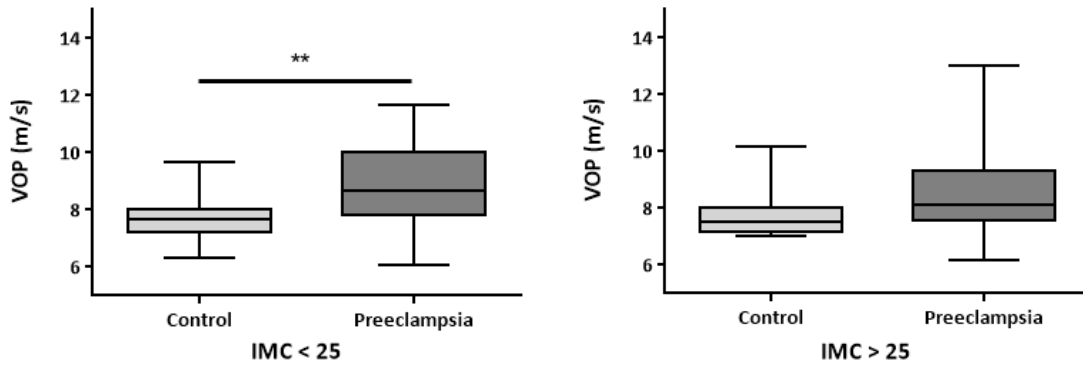
No se observó correlación lineal entre el IMC y la VOP (Figura 31).



**Figura 31.** Correlación entre velocidad de onda de pulso (VOP) e índice de masa corporal (IMC). No se observó correlación significativa entre ambos parámetros.

Sin embargo, si se observó un incremento de los valores de VOP en la cohorte de PE en comparación con el grupo control para el mismo rango de IMC (Figura 32).

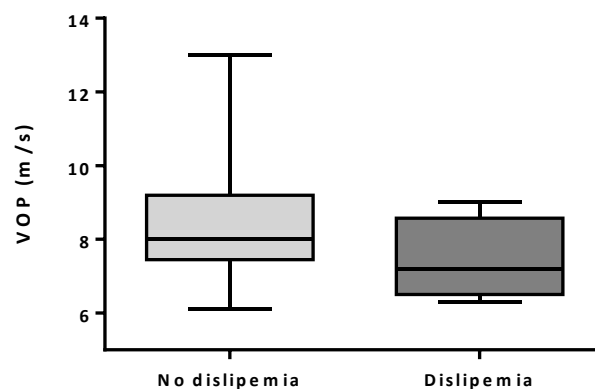
#### IV. Resultados



**Figura 32.** Valores medianos de velocidad de onda de pulso (VOP) en las cohortes control y preeclampsia en función del rango de índice de masa corporal (IMC). La cohorte de preeclampsia (PE) presentó valores medianos superiores a los de la cohorte control dentro del rango  $IMC < 25$  ( $p=0,007$ ) y dentro del rango  $IMC \geq 25$  ( $p=0,052$ ). \*\*significa  $p < 0,01$

#### 5.1.4.2. Velocidad de onda de pulso y otros factores de riesgo cardiovascular

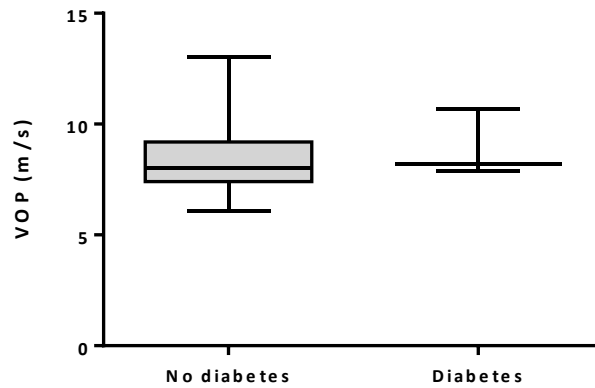
En el total de la población no se observaron diferencias en la VOP entre pacientes sin o con dislipemia (8,0 (7,5-9,2) m/s vs. 7,2 (6,5-8,6) m/s;  $p=0,110$ ) (Figura 33).



**Figura 33.** Valores medianos de velocidad de onda de pulso (VOP) en función de la ausencia o presencia de dislipemia. No se observan diferencias significativas de la VOP en función de la dislipemia.

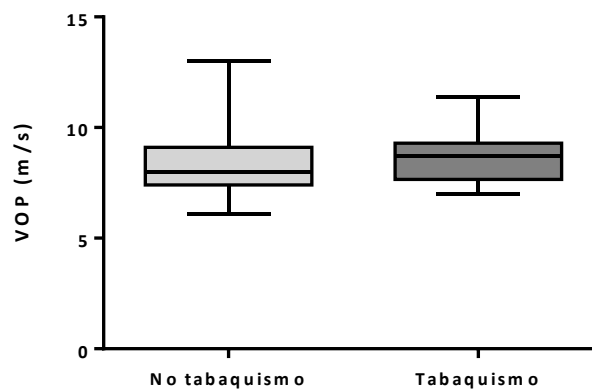


No se observaron diferencias significativas en función de la ausencia o presencia de antecedentes de DM en la paciente (8,0 (7,4-9,2) m/s en ausencia de DM vs. 8,2 (7,9-9,4) m/s en presencia de DM;  $p=0,404$ ) (Figura 34).



**Figura 34.** Valores medianos de velocidad de onda de pulso (VOP) en función de la ausencia o presencia de diabetes mellitus (DM). No se observaron diferencias significativas de la VOP en función de la existencia o no de antecedentes de DM.

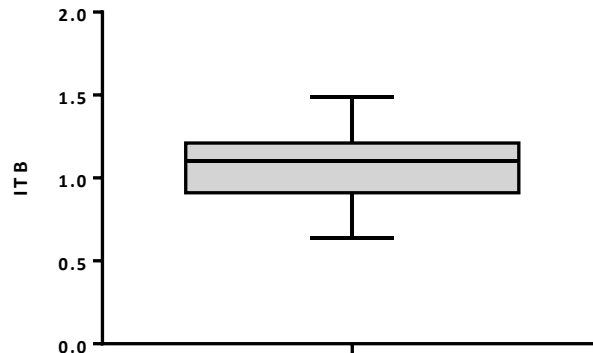
No se observaron diferencias significativas en los valores medianos de la VOP en función del hábito tabáquico 8,0 (7,4-9,1) m/s en ausencia de hábito tabáquico vs. 8,7 (7,7-9,3) m/s en presencia del hábito;  $p=0,290$  (Figura 35).



**Figura 35.** Valores medianos de velocidad de onda de pulso (VOP) en función de la ausencia o presencia de hábito tabáquico. No se observaron diferencias significativas de la VOP en función de la existencia o no de hábito tabáquico.

## 5.2. Índice tobillo-brazo

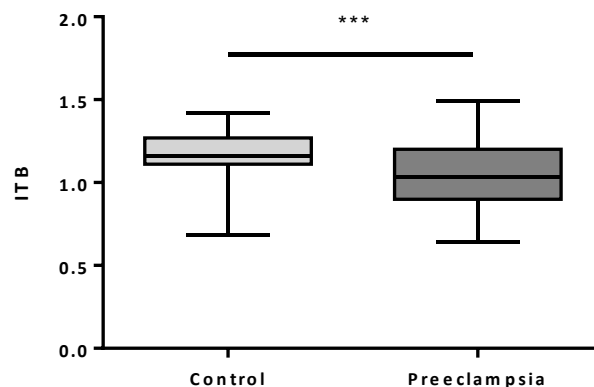
El valor mediano del ITB en el conjunto total de la población analizada fue de 1,10 (0,91-1,29) (Figura 36).



*Figura 36. Valores medianos de índice tobillo-brazo (ITB) en el total de la población. Se observa una ligera asimetría negativa del ITB.*

### 5.2.1. Índice tobillo brazo en función de la presencia o ausencia de preeclampsia

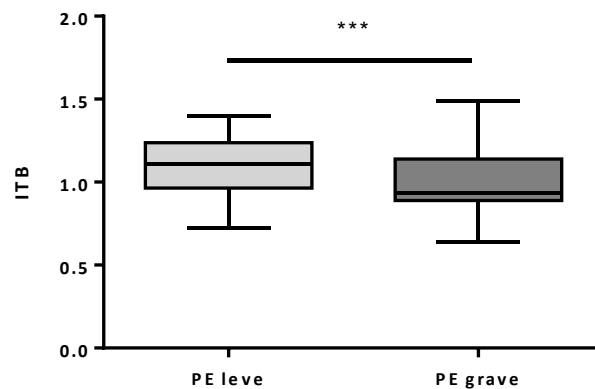
Se observaron valores medios de ITB inferiores en el grupo preeclampsia con respecto al grupo control con diferencias estadísticamente significativas entre ambas cohortes (1,04 (0,90-1,26) vs 1,16 (1,00-1,30),  $p < 0,001$ ) (Figura 37).



*Figura 37. Valores medianos de índice tobillo brazo (ITB) en las cohortes control y preeclampsia. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en los valores medios de ITB entre el grupo control (n=35) y el grupo preeclampsia (n=122).\*\*\*significa  $p < 0,001$ .*

### 5.2.2. Índice tobillo-brazo en función de la gravedad de preeclampsia

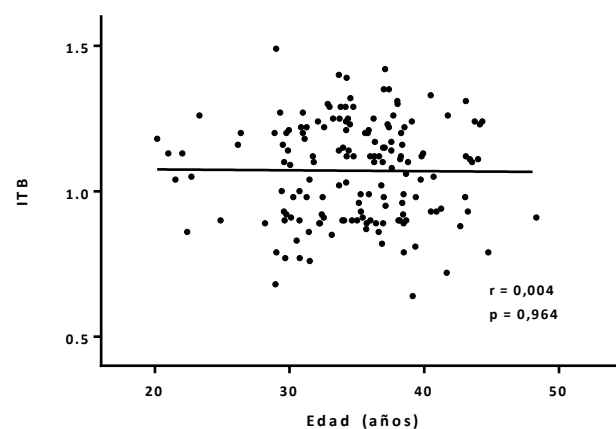
Se observaron valores medios de ITB inferiores en las pacientes con preeclampsia grave con respecto a aquellas que presentaron preeclampsia leve con diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos: 1,11 (0,97-1,36) en el subgrupo de PE leve vs. 0,94 (0,89-1,24) en el subgrupo de PE grave,  $p < 0,001$  (Figura 38).



**Figura 38.** Valores medianos de índice tobillo-brazo (ITB) en función de la gravedad de la preeclampsia (PE). Se observó un descenso significativo de los valores medios de ITB en las pacientes con PE grave ( $n=66$ ) con respecto a las pacientes con PE leve ( $n=56$ ) \*\*\* indica  $p < 0,001$ .

### 5.2.3. Índice tobillo-brazo en función del rango de edad.

No se observó correlación lineal entre el ITB y edad ( $r=0,004$ ,  $p=0,964$ ) (Figura 39).

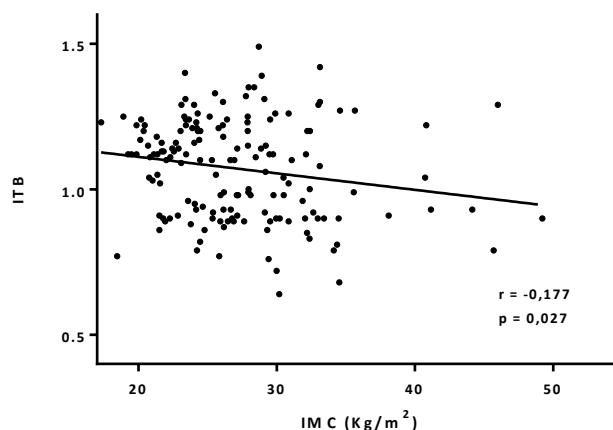


**Figura 39.** Correlación entre los valores de índice tobillo-brazo (ITB) y la edad. No se apreció correlación lineal entre ambas variables.

### 5.2.4. Índice tobillo-brazo en función de la presencia de factores de riesgo cardiovascular

#### 5.2.4.1. Índice tobillo-brazo y obesidad

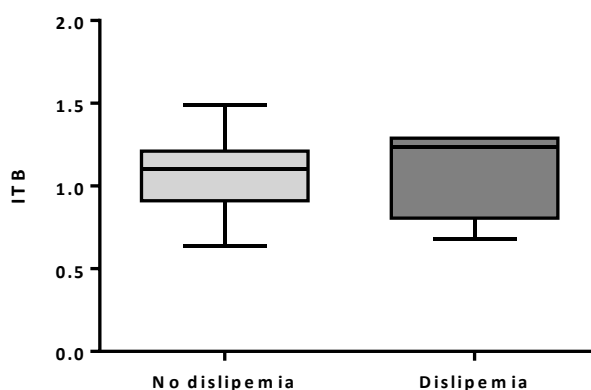
Se observó un ligero descenso de los valores de ITB con el incremento del IMC, siendo la correlación entre ambos parámetros estadísticamente significativa (Figura 40).



*Figura 40. Correlación entre los valores de índice tobillo-brazo (ITB) e índice de masa corporal (IMC). Se observa correlación lineal negativa prácticamente nula, aunque estadísticamente significativa entre ambos parámetros.*

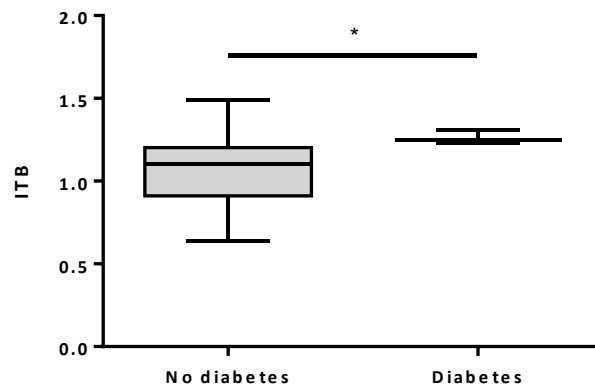
#### 5.2.4.2. Índice tobillo-brazo y otros factores de riesgo cardiovascular

En el total de la población no se observaron diferencias en el ITB entre pacientes sin o con dislipemia (1,10 (0,91-1,21) vs. 1,24 (0,81-1,29),  $p=0,364$ ) (Figura 41).



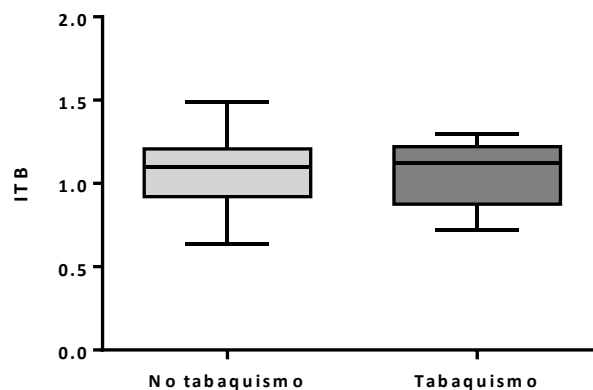
*Figura 41. Valores medianos de índice tobillo-brazo (ITB) en función de la ausencia o presencia de dislipemia. No se observan diferencias significativas del ITB en función de la existencia o no de dislipemia.*

Se observaron niveles medios de ITB mayores en las pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus (1,25 (1,23-1,28)) con respecto a las pacientes no diabéticas (1,10 (0,91-1,20)), con diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0,027$ ), situándose no obstante los valores medios de ITB en rango normal en ambos casos (Figura 42).



**Figura 42. Valores medianos de índice tobillo-brazo (ITB) en función de la ausencia o presencia de diabetes mellitus (DM).** Los antecedentes de DM supusieron un incremento significativo del valor mediano del ITB. \* significa  $p<0,05$ .

No se observaron diferencias significativas en los valores medianos de la VOP en función del hábito tabáquico (1,10 (0,92-1,21) en ausencia de hábito tabáquico vs. 1,12 (0,88-1,22) en presencia del hábito;  $p=0,655$ ) (Figura 43).



**Figura 43. Valores medianos de índice tobillo-brazo (ITB) en función de la ausencia o presencia de hábito tabáquico.** No se observan diferencias significativas en el ITB en función de la existencia o no de hábito tabáquico.

## 6. Relación entre anticuerpos antifosfolípido y parámetros cardiovasculares

### 6.1. Correlación entre parámetros cardiovasculares y niveles séricos de anticuerpos antifosfolípido

#### 6.1.1. Correlación entre velocidad de onda de pulso y anticuerpos antifosfolípido

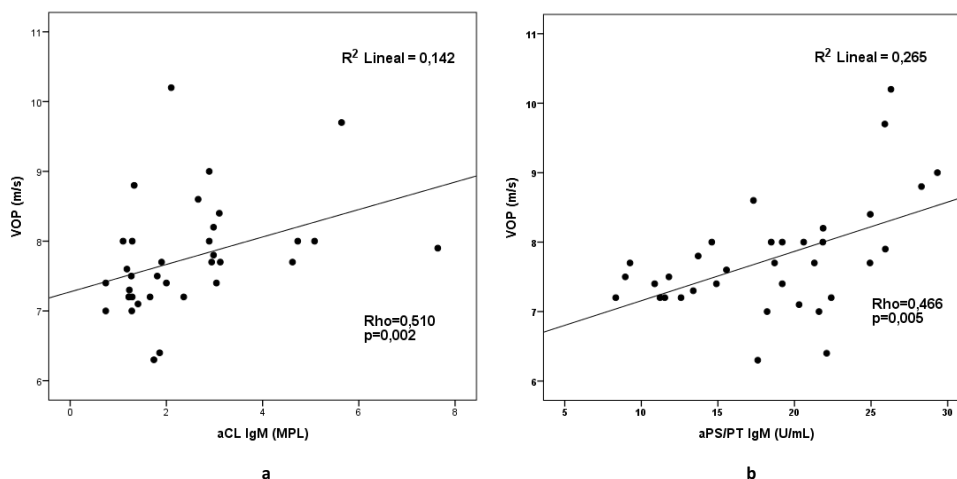
En la cohorte de controles, tan sólo dos anticuerpos mostraron correlación significativa con la VOP. El aCL IgM ( $\rho=0,510$ ,  $p=0,002$ ) entre los anticuerpos clásicos y el aPS/PT IgM ( $\rho=0,466$ ,  $p=0,005$ ) entre los anticuerpos no convencionales (Tabla 25).

**Tabla 25. Correlación entre niveles séricos de anticuerpos antifosfolípido y velocidad de onda de pulso en la cohorte control.**

	<i>rho</i>	<i>p</i>
<b>Ac clásicos</b>		
aCL IgG	0,028	0,873
aCL IgM	0,510	0,002
a $\beta$ 2GPI IgG	-0,004	0,980
a $\beta$ 2GPI IgM	0,309	0,071
<b>Ac no convencionales</b>		
aCL IgA	-0,233	0,178
a $\beta$ 2GPI IgA	0,168	0,335
aPS/PT IgG	0,117	0,505
aPS/PT IgM	0,466	0,005

*Ac: anticuerpos, a $\beta$ 2GPI: anti- $\beta$ 2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina.*

En el ajuste lineal de la correlación entre anticuerpos aCL IgM y VOP, el coeficiente de determinación muestra que estos anticuerpos explicarían tan solo el 14,2% de la variabilidad de la VOP. Por su parte, el ajuste lineal de aPS/PT IgM y VOP indica que los títulos de estos anticuerpos explicarían el 26,5% de la variabilidad de la VOP (Figura 44).



**Figura 44. Correlación lineal entre anticuerpos antifosfolípido y velocidad de onda de pulso (VOP).** a) Correlación lineal muy débil entre aCL IgM y VOP que explicaría el 14,2% de la variabilidad de la VOP. b) Correlación lineal débil entre aPS/PT IgM y VOP que explicaría el 26,5% de la variabilidad de la VOP.

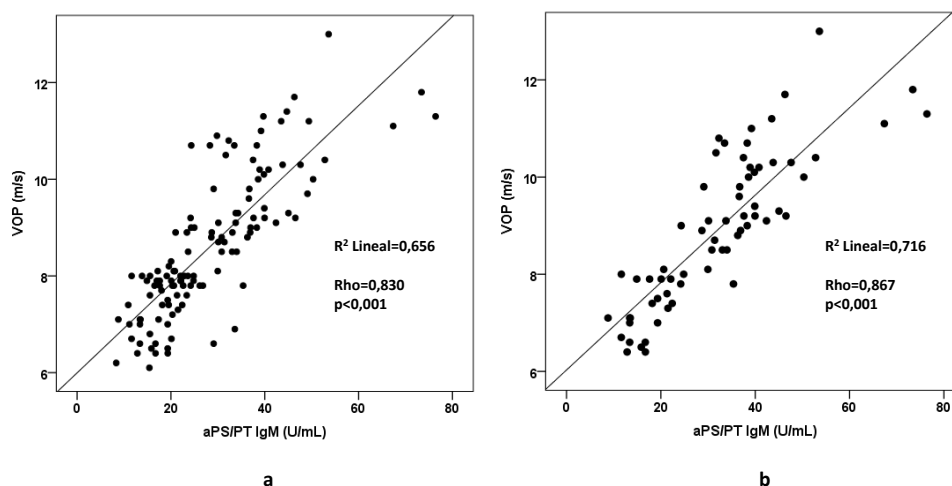
Por su parte, en la cohorte de mujeres preeclámpticas, tan sólo aPS/PT IgM presentó un elevado grado de correlación lineal ( $\rho = 0,830$ ,  $p < 0,001$ ), incrementándose dicha correlación en los casos de PE grave ( $\rho = 0,867$ ,  $p < 0,001$ ). En el ajuste lineal de la correlación entre anticuerpos aPS/PT IgM y VOP, el coeficiente de determinación muestra que estos anticuerpos explicarían el 65,6% de la variabilidad de la VOP. Por su parte, en caso de PE grave el ajuste lineal de aPS/PT IgM y VOP indica que los títulos de estos anticuerpos llegarían a explicar el 71,6% de la variabilidad de la VOP (Tabla 26 y Figura 45).

**Tabla 26. Correlación entre niveles séricos de anticuerpos antifosfolípido y velocidad de onda de pulso en la cohorte preeclampsia.**

	<i>rho</i>	<i>p</i>
<b>Ac clásicos</b>		
aCL IgG	0,131	0,151
aCL IgM	0,048	0,597
a $\beta$ 2GPI IgG	0,245	0,006
a $\beta$ 2GPI IgM	-0,077	0,399
<b>Ac no convencionales</b>		
aCL IgA	-0,021	0,816
a $\beta$ 2GPI IgA	-0,113	0,216
aPS/PT IgG	-0,015	0,874
aPS/PT IgM	0,830	<0,001

Ac: anticuerpos, a $\beta$ 2GPI: anti- $\beta$ 2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina.

#### IV. Resultados



**Figura 45. Correlación lineal entre anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina (aPS/PT) y velocidad de onda de pulso (VOP) en la cohorte preeclampsia (PE).** a) Correlación lineal entre aPS/PT IgM y VOP que explicaría el 65,6% de la variabilidad de la VOP. b) Correlación lineal entre PS/PT IgM y VOP en casos de PE grave que explicaría el 71,6% de la variabilidad de la VOP.

#### 6.1.2. Correlación entre índice tobillo-brazo y anticuerpos antifosfolípido

En la cohorte de controles, ninguno de los anticuerpos analizados mostró correlación lineal significativa con los valores de ITB (Tabla 27).

**Tabla 27. Correlación entre niveles séricos de anticuerpos antifosfolípido e índice tobillo-brazo en la cohorte control.**

	<i>rho</i>	<i>p</i>
<b>Ac clásicos</b>		
aCL IgG	-0,080	0,646
aCL IgM	-0,087	0,618
aβ2GPI IgG	0,061	0,728
aβ2GPI IgM	0,186	0,285
<b>Ac no convencionales</b>		
aCL IgA	-0,028	0,875
aβ2GPI IgA	-0,049	0,780
aPS/PT IgG	-0,098	0,575
aPS/PT IgM	-0,024	0,893

*Ac: anticuerpos, aβ2GPI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina.*



Por su parte, en la cohorte de mujeres preeclámplicas, dos anticuerpos reflejaron correlación nivel con el ITB. El aCL IgG ( $\rho=0,243$ ,  $p=0,007$ ) entre los anticuerpos clásicos y el aPS/PT IgM ( $\rho=-0,466$ ,  $p <0,001$ ) entre los anticuerpos no convencionales.

En el ajuste lineal de la correlación entre anticuerpos aCL IgG y e ITB, el coeficiente de determinación muestra que estos anticuerpos explicarían tan solo el 6,0% de la variabilidad del ITB. Por su parte, el ajuste lineal de aPS/PT IgM e ITB indica que los títulos de estos anticuerpos explicarían el 18,0% de la variabilidad del ITB (Tabla 28).

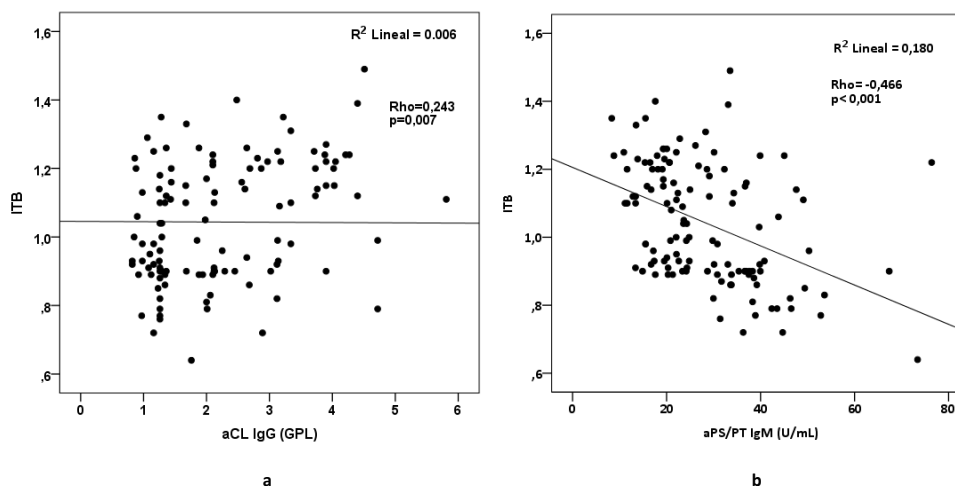
**Tabla 28. Correlación entre niveles séricos de anticuerpos antifosfolípido e índice tobillo-brazo en la cohorte preeclampsia.**

	<i>rho</i>	<i>p</i>
<b>Ac clásicos</b>		
aCL IgG	0,243	0,007
aCL IgM	0,088	0,337
a $\beta$ 2GPI IgG	-0,067	0,466
a $\beta$ 2GPI IgM	-0,030	0,744
<b>Ac no convencionales</b>		
aCL IgA	-0,023	0,805
a $\beta$ 2GPI IgA	0,029	0,752
aPS/PT IgG	-0,113	0,216
aPS/PT IgM	-0,466	<0,001

*Ac: anticuerpos, a $\beta$ 2GPI: anti- $\beta$ 2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina.*

La Figura 46 muestra la correlación entre aCL IgG y aPS/PT IgM e ITB en la cohorte de preeclampsia.

#### IV. Resultados



**Figura 46. Correlación lineal entre anticuerpos antifosfolípido e índice tobillo-braza (ITB) en la cohorte preeclampsia (PE) a) Correlación lineal entre anticuerpos anticardiolipina (aCL) IgG e ITB que explicaría el 6,0% de la variabilidad del ITB. b) Correlación lineal entre anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina (aPS/PT) IgM e ITB que explicaría el 18,0% de la variabilidad del ITB.**

## 6.2. Asociación entre anticuerpos antifosfolípido y parámetros cardiovasculares

### 6.2.1. Asociación entre anticuerpos antifosfolípido y velocidad de onda de pulso

En los modelos de regresión logística univariante y multivariante, se incluyeron los tradicionales factores de riesgo CV (edad, IMC, DM y hábito tabáquico), así como los distintos aAFL, tanto clásicos como no convencionales.

En el análisis univariante sobre la población total, tan sólo la edad OR=0,84; IC 95% (0,73-0.96),  $p=0,012$  y el isotipo IgM del aPS/PT OR=1,18; IC 95% (1,06-1,32),  $p=0,003$ , mostraron asociación significativa con la presencia de valores alterados de VOP. En el análisis multivariante, estas mismas variables formaron parte del modelo final, con valores de OR similares, e intervalos de confianza ligeramente más amplios (Tabla 29).

**Tabla 29. Parámetros asociados con la presencia de valores anormales de velocidad de onda de pulso en el total de la población.**

	Análisis univariante		Análisis multivariante	
	OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>p</i>
<b>Factores de RCV</b>				
Edad	0,84 (0,73-0,96)	0,012	0,84 (0,72-0,97)	0,019
IMC	1,08 (0,95-1,23)	0,255	---	---
DM	0,15 (0,01-1,86)	0,139	---	---
Hábito tabáquico	1,36 (0,17-11,28)	0,773	---	---
<b>Ac clásicos</b>				
AL	---	---	---	---
aCL IgG	1,12 (0,78-1,59)	0,545	---	---
aCL IgM	1,60 (0,77-3,35)	0,209	---	---
aβ2GPI IgG	1,52 (0,68-3,39)	0,310	---	---
aβ2GPI IgM	1,24 (0,69-2,23)	0,478	---	---
<b>Ac no convencionales</b>				
aCL IgA	1,05 (0,81-1,36)	0,735	---	---
aβ2GPI IgA	1,04 (0,90-1,19)	0,606	---	---
aPS/PT IgG	1,10 (0,94-1,29)	0,236	---	---
aPS/PT IgM	1,18 (1,06-1,32)	0,003	1,19 (1,05-1,34)	0,005

*Ac: Anticuerpos, aβ2GPI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, AL: Anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, DM: diabetes mellitus, IMC: índice de masa corporal, RCV: riesgo cardiovascular.*

En el análisis por subgrupos, en la cohorte de control, tanto el análisis univariante, como el multivariante, no mostraron parámetro alguno asociado significativamente a la aparición de valores anómalos de VOP (Tabla 30).

IV. Resultados

**Tabla 30. Parámetros asociados con la presencia de valores anormales de velocidad de onda de pulso en la cohorte control.**

	Análisis univariante		Análisis multivariante	
	OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>p</i>
<b>Factores de RCV</b>				
Edad	0,95 (0,75-1,21)	0,691	---	---
IMC	1,74 (0,84-3,60)	0,134	---	---
DM	---	---	---	---
Hábito tabáquico	---	---	---	---
<b>Ac clásicos</b>				
AL	---	---	---	---
aCL IgG	1,10 (0,62-1,96)	0,743	---	---
aCL IgM	3,07 (0,44-21,36)	0,258	---	---
aβ2GPI IgG	1,01 (0,62-1,64)	0,970	---	---
aβ2GPI IgM	1,56 (0,35-6,94)	0,560	---	---
<b>Ac no convencionales</b>				
aCL IgA	1,20 (0,30-4,85)	0,795	---	---
aβ2GPI IgA	1,03 (0,32-65,26)	0,263	---	---
aPS/PT IgG	4,57 (0,94-1,29)	0,236	---	---
aPS/PT IgM	0,97 (0,79-1,19)	0,770	---	---

*Ac: Anticuerpos, aβ2GPI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, AL: Anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, DM: diabetes mellitus, IMC: índice de masa corporal, RCV: riesgo cardiovascular.*

Por lo que respecta a la cohorte de PE, tanto el análisis univariante como el multivariante reflejaron al isotipo IgM del aPS/PT, como único factor asociado a la aparición de valores alterados de VOP, OR=1,33; IC 95% (1,11-1,59), p=0,002 y OR=1,38; IC 95% (1,10-1,73), p=0,006, respectivamente (Tabla 31).

**Tabla 31. Parámetros asociados con la presencia de valores anormales de velocidad de onda de pulso en la cohorte preeclampsia.**

	Análisis univariante		Análisis multivariante	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
<b>Factores de RCV</b>				
Edad	0,82 (0,66-1,02)	0,073	---	---
IMC	1,03 (0,89-1,18)	0,720	---	---
DM	0,14 (0,01-1,77)	0,130	---	---
Hábito tabáquico	0,86 (0,10-7,56)	0,894	---	---
<b>Ac clásicos</b>				
AL	---	---	---	---
aCL IgG	1,14 (0,72-1,82)	0,570	---	---
aCL IgM	1,36 (0,62-3,03)	0,443	---	---
aβ2GPI IgG	4,01 (0,72-22,28)	0,113	---	---
aβ2GPI IgM	1,18 (0,65-2,11)	0,602	---	---
<b>Ac no convencionales</b>				
aCL IgA	1,04 (0,80-1,34)	0,782	---	---
aβ2GPI IgA	1,04 (0,89-1,21)	0,654	---	---
aPS/PT IgG	1,08 (0,92-1,27)	0,360	---	---
aPS/PT IgM	1,33 (1,11-1,59)	0,002	1,38 (1,10-1,73)	0,006

Ac: Anticuerpos, aβ2GPI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, AL: Anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, DM: diabetes mellitus, IMC: índice de masa corporal, RCV: riesgo cardiovascular.

Por último, en la cohorte de PE grave, el análisis univariante, reflejó asociación significativa para dos anticuerpos no convencionales, IgA aβ2GPI, OR=1,08; IC 95% (1,01-1,15), p=0,023 e IgM aPS/PT, OR=1,08; IC 95% (1,04-1,13), p<0,001. En el análisis multivariante, estos mismos anticuerpos formaron parte del modelo final, con asociaciones ligeramente superiores e intervalos de confianza más amplios: IgA aβ2GPI, OR=1,10; IC 95% (1,02-1,18), p=0,012 e IgM aPS/PT, OR=1,09; IC 95%(1,04-1,14), p<0,001 (Tabla 32).

**Tabla 32. Parámetros asociados con la presencia de valores anormales de velocidad de onda de pulso en la cohorte preeclampsia grave.**

	Análisis univariante		Análisis multivariante	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
<b>Factores de RCV</b>				
Edad	1,00 (0,93-1,10)	0,841	---	---
IMC	1,01 (0,93-1,10)	0,762	---	---
DM	1,25 (0,11-14,24)	0,857	---	---
Hábito tabáquico	3,21 (0,93-11,17)	0,066	---	---
<b>Ac clásicos</b>				
AL	---	---	---	---
aCL IgG	1,15 (0,56-2,34)	0,702	---	---
aCL IgM	1,37 (0,46-4,12)	0,572	---	---
aβ2GPI IgG	4,70 (0,25-87,97)	0,301	---	---
aβ2GPI IgM	1,02 (0,82-1,28)	0,858	---	---
<b>Ac no convencionales</b>				
aCL IgA	1,00 (0,88-1,14)	0,990	---	---
aβ2GPI IgA	1,08 (1,01-1,15)	0,023	1,10 (1,02-1,18)	0,012
aPS/PT IgG	1,06 (1,00-1,14)	0,071	---	---
aPS/PT IgM	1,08 (1,04-1,13)	<0,001	1,09 (1,04-1,14)	<0,001

Ac: Anticuerpos, aβ2GPI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, AL: Anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, DM: diabetes mellitus, IMC: índice de masa corporal, RCV: riesgo cardiovascular.

### 6.2.2. Asociación entre anticuerpos antifosfolípido e índice tobillo-brazo

Al igual que en el análisis de la VOP, para el análisis del ITB, los modelos de regresión logística univariante y multivariante, incluyeron los tradicionales factores de riesgo CV (edad, IMC, DM y hábito tabáquico), así como los distintos aAFL, tanto clásicos como no convencionales.

En el análisis univariante llevado a cabo sobre la población total, entre los aAFL clásicos, aβ2GPI IgG, OR=1,05; IC 95% (1,00-1,10), p=0,037, fue el único que reflejó asociación estadísticamente significativa. Entre los AAF no convencionales, los isotipos IgG e IgM del aPS/PT, reflejaron una asociación significativa ligeramente más intensa, OR=1,08; IC 95% (1,01-1,15), p=0,018 y OR=1,10; IC 95% (1,05-1,14), p<0,001, respectivamente. Por lo que se refiere al análisis multivariante, el modelo final sólo incluyó al isotipo IgM del aPS/PT, OR=1,09; IC 95% (1,05-1,14), p<0,001 (Tabla 33).

**Tabla 33. Parámetros asociados con la presencia de valores de índice tobillo-brazo <0,9 en el total de la población.**

	Análisis univariante		Análisis multivariante	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
<b>Factores de RCV</b>				
Edad	0,99 (0,92-1,08)	0,871	---	---
IMC	1,04 (0,97-1,12)	0,250	---	---
DM	2,58 (0,23-29,55)	0,446	---	---
Hábito tabáquico	2,36 (0,75-7,40)	0,140	---	---
<b>Ac clásicos</b>				
AL	3,56 (0,56-22,42)	0,177	---	---
aCL IgG	1,02 (0,99-1,05)	0,225	---	---
aCL IgM	1,03 (0,98-1,11)	0,207	---	---
aβ2GPI IgG	1,05 (1,00-1,10)	0,037	---	---
aβ2GPI IgM	1,09 (0,95-1,26)	0,221	---	---
<b>Ac no convencionales</b>				
aCL IgA	1,02 (0,90-1,15)	0,767	---	---
aβ2GPI IgA	1,04 (0,99-1,09)	0,132	---	---
aPS/PT IgG	1,08 (1,01-1,15)	0,018	---	---
aPS/PT IgM	1,10 (1,05-1,14)	<0,001	1,09 (1,05-1,14)	<0,001

Ac: Anticuerpos, aβ2GPI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, AL: Anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, DM: diabetes mellitus, IMC: índice de masa corporal, RCV: riesgo cardiovascular.

En el análisis por subgrupos, en la cohorte de control, tanto el análisis univariante, como el multivariante, no mostraron parámetro alguno asociado significativamente a la aparición de valores anómalos de ITB (<0,9) (Tabla 34).

**Tabla 34. Parámetros asociados con la presencia de valores de índice tobillo-brazo <0,9 en la cohorte control.**

	Análisis univariante		Análisis multivariante	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
<b>Factores de RCV</b>				
Edad	0,77 (0,52-1,16)	0,213	---	---
IMC	1,18 (0,93-1,50)	0,183	---	---
DM	---	---	---	---
Hábito tabáquico	---	---	---	---
<b>Ac clásicos</b>				
AL	---	---	---	---
aCL IgG	0,86 (0,25-2,94)	0,804	---	---
aCL IgM	1,19 (0,40-3,56)	0,761	---	---
aβ2GPI IgG	---	---	---	---
aβ2GPI IgM	1,02 (0,24-4,33)	0,977	---	---
<b>Ac no convencionales</b>				
aCL IgA	0,74 (0,05-12,34)	0,836	---	---
aβ2GPI IgA	0,12 (0,00-318,23)	0,596	---	---
aPS/PT IgG	0,99 (0,61-1,63)	0,979	---	---
aPS/PT IgM	---	---	---	---

Ac: Anticuerpos, aβ2GPI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, AL: Anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, DM: diabetes mellitus, IMC: índice de masa corporal, RCV: riesgo cardiovascular.

En la cohorte de mujeres con PE, en el análisis univariante, mostraron asociación significativa con la presencia de un ITB <0,9, aβ2GPI IgA, OR=1,08; IC 95% (1,01-1,15), p=0,023 y aPS/PT IgM, OR=1,08; IC 95% (1,04-1,13), p<0,001. En el análisis multivariante, el modelo final incluyó a aβ2GPI IgA, OR=1,10; IC 95% (1,02-1,18), p=0,012 y aPS/PT IgM OR=1,09; IC 95% (1,04-1,14), p<0,001 (Tabla 35).



**Tabla 35. Parámetros asociados con la presencia de valores de índice tobillo-brazo <0,9 en la cohorte preeclampsia.**

	Análisis univariante		Análisis multivariante	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
<b>Factores de RCV</b>				
Edad	1,01 (0,93-1,1)	0,841	---	---
IMC	1,01 (0,93-1,1)	0,762	---	---
DM	1,98 (0,17-22,75)	0,584	---	---
Hábito tabáquico	3,21 (0,92-11,17)	0,066	---	---
<b>Ac clásicos</b>				
AL	8,35 (0,73-96,08)	0,089	---	---
aCL IgG	1,02 (0,98-1,06)	0,282	---	---
aCL IgM	1,04 (0,97-1,11)	0,241	---	---
aβ2GPI IgG	1,04 (1,00-1,09)	0,052	---	---
aβ2GPI IgM	1,08 (0,94-1,25)	0,277	---	---
<b>Ac no convencionales</b>				
aCL IgA	1,00 (0,88-1,14)	0,990	---	---
aβ2GPI IgA	1,08 (1,01-1,15)	0,023	1,10 (1,02-1,18)	0,012
aPS/PT IgG	1,06 (1,00-1,14)	0,071	---	---
aPS/PT IgM	1,08 (1,04-1,13)	<0,001	1,09 (1,04-1,14)	<0,001

Ac: Anticuerpos, aβ2GPI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, AL: Anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, DM: diabetes mellitus, IMC: índice de masa corporal, RCV: riesgo cardiovascular.

Por último, en el subgrupo de mujeres que llegaron a desarrollar PE grave, en el análisis univariante, tan sólo aPS/PT IgM, OR=1,06; IC 95%(1,01-1,10), p=0,013, mostró asociación significativa con la aparición de ITB <0,9. En el análisis multivariante, el modelo final quedó conformado con aβ2GPI IgA, OR=1,10; IC 95% (1,02-1,18), p=0,012 y aPS/PT IgM, OR=1,09; IC 95% (1,04-1,14), p<0,001 (Tabla 36).

**Tabla 36. Parámetros asociados con la presencia de valores de índice tobillo-brazo <0,9 en la cohorte preeclampsia grave.**

	Análisis univariante		Análisis multivariante	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
<b>Factores de RCV</b>				
Edad	1,01 (0,91-1,14)	0,752	---	---
IMC	1,03 (0,94-1,13)	0,534	---	---
DM	2,56 (0,15-43,08)	0,515	---	---
Hábito tabáquico	2,24 (0,53-9,46)	0,273	---	---
<b>Ac clásicos</b>				
AL	---	---	---	---
aCL IgG	1,02 (0,97-1,08)	0,404	---	---
aCL IgM	1,03 (0,97-1,10)	0,299	---	---
aβ2GPI IgG	1,04 (1,00-1,09)	0,090	---	---
aβ2GPI IgM	1,23 (0,84-1,80)	0,288	---	---
<b>Ac no convencionales</b>				
aCL IgA	1,00 (0,87-1,16)	0,972	---	---
aβ2GPI IgA	1,06 (0,98-1,15)	0,123	1,10 (1,00-1,22)	0,039
aPS/PT IgG	1,06 (0,97-1,15)	0,189	---	---
aPS/PT IgM	1,06 (1,01-1,10)	0,013	1,06 (1,01-1,12)	0,012

Ac: Anticuerpos, aβ2GPI: anti-β2-glicoproteína I, aCL: anticardiolipina, AL: Anticoagulante lúpico, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, DM: diabetes mellitus, IMC: índice de masa corporal, RCV: riesgo cardiovascular.

## ***V. DISCUSIÓN***





El principal hallazgo del presente estudio fue que los aAFL no convencionales se relacionaron específicamente con el desarrollo previo de PE y, además, con una mayor gravedad de la misma., así como con DE objetivada como alteración de la VOP e ITB. Los resultados corroboran ciertos aspectos descritos en estudios previos y aportan una nueva perspectiva sobre el papel de los aAFL y los parámetros de disfunción endotelial en el contexto de la PE.

## **1. Prevalencia de anticuerpos antifosfolípido**

La prevalencia de aAFL clásicos en la población obstétrica de bajo riesgo varía entre 1 y el 9% [145–149], habiéndose sugerido, en muchos casos de forma inconsistente, una asociación entre estos anticuerpos y la morbilidad obstétrica (pérdidas fetales, PE, desprendimiento de placenta y restricción del crecimiento intrauterino).

En mujeres que desarrollaron trastornos hipertensivos durante el embarazo, en especial PE, diversos estudios señalan cifras dispares de prevalencia de aAFL clásicos dependiendo del o de los anticuerpos analizados, los valores de corte utilizados para determinar la positividad de los mismos y el momento evolutivo de su determinación. A pesar de la disparidad de criterios existente, la prevalencia de aAFL clásicos entre estas pacientes, puede estimarse entre un 4,4 y un 20% [149–154]. Los resultados de nuestro estudio no mostraron especiales diferencias de prevalencia de aAFL clásicos entre las pacientes que desarrollaron PE. La prevalencia observada de anticuerpos clásicos (cualquiera), ascendió al 18,9%, lo que se encuentra dentro de los rangos mencionados, siendo a $\beta$ 2GPI IgG el más prevalente entre ellos (13,9%). En lo que respecta a anticuerpos no convencionales, no hemos encontrado reseñas de prevalencia de los mismos en mujeres preeclámpticas sin criterios de SAF. En consecuencia, a nuestro juicio, nuestro estudio es el primero en reflejar una prevalencia de anticuerpos no convencionales entre estas pacientes, que casi triplicó a la de anticuerpos clásicos (54,9%), con aPS/PT IgM como el anticuerpo más prevalente (47,5%).

## 2. Asociación de anticuerpos antifosfolípido y patología obstétrica

Los criterios de Sidney de 2006 [91] de clasificación del síndrome antifosfolípido no contienen varias manifestaciones clínicas no trombóticas que están asociadas con la presencia de aAFL tales como epilepsia, deterioro cognitivo, cefalea crónica, hipoacusia neurosensorial, mielitis transversa, pseudo-esclerosis múltiple, amaurosis fugax, livedo reticularis, necrosis isquémica ósea o anemia hemolítica [155]. Al mismo tiempo, algunos pacientes presentan manifestaciones clínicas altamente sugestivas de SAF, mientras que las pruebas de laboratorio de aAFL reconocidos como criterio clasificatorio, son persistentemente negativas. Por este motivo, está actualmente en debate el examen de la utilidad de llevar a cabo pruebas para otras especificidades de aAFL “no clásicos” [155,156].

Mientras que la mayoría de los estudios que han analizado la relación de aAFL y las complicaciones obstétricas del SAF, o de la PE, se han centrado, al margen del AL, en los isotipos IgG e IgM de los anticuerpos incluidos como criterio clasificatorio para SAF (aCL, o a $\beta$ 2GPI), tan solo unos pocos han analizado la importancia patogénica del isotipo IgA de estos anticuerpos. Diversos estudios indican que en mujeres que presentan resultados negativos para AL e IgG/IgM aCL, la positividad de anticuerpos a $\beta$ 2GPI IgA se encuentra más fuertemente asociada con abortos espontáneos recurrentes y muertes fetales inexplicables, que los anticuerpos aCL IgA. Una posible explicación para esta observación es que la correlación entre a $\beta$ 2GPI IgA y aCL IgA es más débil que la existente entre los isotipos IgG e IgM de estos anticuerpos [157,158]. Aunque varios autores han informado que algunos pacientes que no cumplen con los criterios clasificatorios de SAF podrían beneficiarse de la determinación de aAFL isotipo IgA, otros no han llegado a demostrar la utilidad clínica de llevar a cabo pruebas de aCL IgA y a $\beta$ 2GPI IgA, probablemente, debido al tipo de diseño del estudio, el carácter retrospectivo de la mayoría, la heterogeneidad de las poblaciones analizadas, la baja prevalencia detectada, la falta de estandarización en su detección y valores de corte utilizados para definir su positividad [133,159].

Hasta donde sabemos, ningún estudio ha analizado la presencia de estos isotipos IgA en mujeres preeclámpticas. En nuestro trabajo, si los analizamos, y observamos una baja prevalencia, una práctica ausencia de correlación con el resto de anticuerpos, así como una inexistente asociación tanto con la PE como con su gravedad, lo que induce a señalar que estos isotipos poseen escasa relevancia en la PE.

Por su parte, los anticuerpos contra la protrombina o el complejo fosfatidilserina/protrombina, englobados como aAFL no convencionales, son biomarcadores emergentes del SAF. Así, se ha informado que la presencia de aPS/PT constituye un factor de riesgo elevado de trombosis, principalmente en pacientes con LES y SAF [120], y que en combinación con AL y a $\beta$ 2GPI, pueden ser útiles para identificar subgrupos de pacientes con riesgo de eventos tromboembólicos [160]. Diversos estudios han demostrado la utilidad clínica de aPS/PT en el diagnóstico de SAF, especialmente en ausencia de los anticuerpos incluidos en los criterios oficiales [122–124]. Igualmente, varios estudios han señalado una fuerte asociación entre los anticuerpos aPS/PT y la morbilidad obstétrica [120,135,136]. Sin embargo, el pequeño tamaño en que se sustentan estos datos, las diferencias metodológicas en su diseño, la falta de estandarización en su determinación y los resultados contradictorios relativos a su asociación con el SAF, hace que no hayan sido aún incluidos entre los criterios oficiales de clasificación. En cualquier caso, está ampliamente admitido que los aPS/PT pueden considerarse como una herramienta adicional a considerar cuando se investiga a un paciente con sospecha de SAF, particularmente en ausencia de positividad para aAFL convencionales o como parte de las estrategias de evaluación de riesgos [134,135], aun así, estos anticuerpos siguen sin estar incluidos entre los criterios clasificatorios del SAF.

El papel potencial de los nuevos aAFL no convencionales en el embarazo y sus complicaciones como la PE, también ha sido objeto de estudio. En mujeres con SAF o enfermedades autoinmunes, se han constatado prevalencias de aPT superiores al 30% en pacientes con resultados adversos del embarazo, 10 veces superior a la observada en controles sanos (OR=10,92; IC 95% (4,52–26,38), habiéndose sugerido que los aPT pueden tener un efecto trombogénico en la circulación sistémica y/o placentaria de

pacientes dando lugar a resultados adversos del embarazo [136]. En una reciente revisión sistemática de Radin *et al* [135] sobre la asociación de aPS/PT con manifestaciones clínicas del SAF, se constató una asociación estadísticamente significativa entre cualquier resultado obstétrico adverso [91] y positividad de aPS/PT isotipos IgG/IgM indistintamente, (OR=10,6; IC 95% (3,54-35,38),  $p<0,05$ ), y particularmente positividad de aPS/PT IgG (OR= 6,7; IC 95% (3,04–21,6),  $p<0,05$ ).

### 3. Correlación entre anticuerpos antifosfolípido

En lo que se refiere a la correlación entre los anticuerpos no convencionales y los anticuerpos clásicos, Hoxha *et al* [161] en un estudio sobre pacientes con SAF seronegativo (32,5% con morbilidad obstétrica, 55% con antecedentes de trombosis y 12,5% con antecedentes tanto de trombosis como de morbilidad obstétrica), encontraron una asociación de aPS/PT IgG con aCL IgG, a $\beta$ 2GPI IgG y AL ( $p<0,001$  para todos), mientras que el isotipo IgM del aPS/PT solo se asoció con AL ( $p<0,001$ ). Igualmente, informaron de una correlación significativa entre los niveles de aPS/PT IgG y los de aCL IgG y a $\beta$ 2GPI IgG ( $p=0,42$  y  $p=0,40$ , respectivamente), así como entre aPS/PT IgG y aPS/PT IgM con AL ( $p=0,44$  y  $p=0,50$ , respectivamente). Los autores consideran que esta correlación entre aPS/PT IgG y LA, aCL IgG y anti- $\beta$  2GPI IgG, que generalmente se consideran clínicamente relevantes dada su asociación con efectos trombóticos [162,163] reflejan la relevancia de aPS/PT IgG como un factor de riesgo independiente de trombosis. Sin embargo, se dio escasa relevancia clínica a aPS/PT IgM ante la ausencia de correlación de con aCL IgM e anti- $\beta$ 2GPI IgM.

Los resultados del presente trabajo, referidos a mujeres preeclámpticas sin criterios de SAF, difieren sustancialmente de los descritos. No hemos encontrado correlación significativa alguna entre aPS/PT IgG/IgM con ninguno de los anticuerpos clásicos, hallando tan sólo una correlación débil y significativa entre los isotipos IgA de aCL y a $\beta$ 2GPI ( $p=0,225$ ;  $p=0,005$ ). El hecho de que nuestras pacientes no presentasen sintomatología tan grave como la que se observa en la vertiente obstétrica del SAF, podría justificar esta ausencia de correlación.



#### 4. Asociación entre anticuerpos antifosfolípido y preeclampsia

En lo que se refiere a la asociación entre aAFL y PE, en el presente trabajo no se ha encontrado asociación entre los anticuerpos clásicos (aCL, a $\beta$ 2GPI o AL) con la PE [95], lo que resulta acorde con estudios previos. Así, una revisión sistemática y metanálisis de Abou-Nassar *et al* [164], concluía que los aAFL convencionales, parecían estar asociados con pérdidas fetales tardías, aunque su asociación con otras complicaciones mediadas por la placenta, como la PE resultaba inconsistente. Al mismo tiempo, estos autores señalaban que los datos no respaldaban un vínculo significativo entre los anticuerpos a $\beta$ 2GPI y la morbilidad del embarazo. En otra revisión sistemática y metanálisis de do Prado *et al* [165], observaron que títulos de moderados a altos de aCL se asociaban con PE en mujeres sin enfermedades autoinmunes. Aunque en el metaanálisis, el gráfico en embudo mostraba asimetría, la ausencia de significación de la prueba de Egger ( $p=0,359$ ) no corroboró sesgo de publicación. Al mismo tiempo, encontraron heterogeneidad estadística moderada para el metaanálisis de todos los estudios, identificándose en su investigación con metarregresión el diseño y el tamaño muestral como los principales factores relacionados con la heterogeneidad. Por último, teniendo en cuenta el pequeño número de estudios finales, su reducido tamaño y el escaso número de pacientes con aCL, los autores concluían que no existían evidencias suficientes para usar este tipo de Ac como predictores de PE en la práctica clínica.

La relación entre aAFL y la PE en mujeres sin evidencia de enfermedades autoinmunes, ha sido el foco de muchos estudios durante las últimas décadas, principalmente en pequeños estudios de cohortes y de casos y controles [145,147,171–177,150,152,154,166–170], así como algunas revisiones sistemáticas y metanálisis [164,165], cuyo objeto de atención han sido principalmente los anticuerpos aCL y a $\beta$ 2GPI, y en muy escasa medida, alguno de los Ac no convencionales como aPS/PT. Sin embargo, diferencias metodológicas en el diseño, principalmente respecto al momento evolutivo elegido para el análisis de los Ac, así como los procedimientos de determinación y puntos de corte de los mismos, hace que esta relación continúe siendo controvertida. La Tabla 37 resume las características, resultados y conclusiones de los principales estudios que han analizado esta asociación.

**Tabla 37. Principales estudios que analizan la asociación entre anticuerpos antifosfolípido y preeclampsia en mujeres sin evidencia de enfermedades autoinmunes.**

Autor	Tipo	N	Objeto estudio/momento evolutivo analizado	Principales resultados/ Conclusiones
Yasuda et al. (1995) [145]	Ch	860	<p><b>OBJETIVO:</b> Positividad en aCL IgG vs. no positividad, como riesgo de aborto espontáneo, PE y CIR</p> <p><b>ME:</b> Primer trimestre de gestación</p>	<p><b>RESULTADOS:</b> Positividad aCL IgG vs. No positividad</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• RR abortos espontáneos: 2,56; IC 95% (1,37-4,81)</li> <li>• RR PE: 6,22; IC 95% (2,43-16,0)</li> <li>• RR CIR: 6,22; IC 95% (2,43-16,0)</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> aCL IgG se asocia con resultados adversos del embarazo como el aborto espontáneo, PE y CIR</p>
Allen et al. (1996) [150]	Cc	100+100	<p><b>OBJETIVO:</b> Analizar aCL y aPS/PT (IgA, IgG, IgM) en PE</p> <p><b>ME:</b> Parto</p>	<p><b>RESULTADOS:</b> Prevalencia aCL o aPS/PT (IgA, IgG, IgM)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 11% en casos vs 3% en controles. p&lt;0,05</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> Los aAFL pueden desempeñar un papel patógeno en algunas mujeres con PE</p>
Branch et al (1989) [152]	Cc	43+43	<p><b>OBJETIVO:</b> Analizar aCL (IgG/IgM) en PE grave</p> <p><b>ME:</b> Parto o en los 3 días posteriores</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 16% casos niveles elevados aCL (IgG/IgM) vs 0% controles</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> aCL IgG/IgM se encuentran en una proporción sustancial de casos de PE grave de inicio temprano</p>
Heilmann et al (2000) [166]	Cc	61+61	<p><b>OBJETIVO:</b> Analizar mujeres con PE grave o síndrome HELLP por defectos de coagulación congénitos o adquiridos</p> <p><b>ME:</b> al menos 6 meses postparto</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mutación del factor V Leiden 20% en casos vs 5% en controles OR 4,7; IC 95% (1,4-15,8) p = 0,003.</li> <li>• aCL IgG/IgM) en 41% vs 3% OR 20,5; IC95% (5,2-81,4) p=0,001.</li> <li>• AL en 54% vs 3% OR 34,8; IC 95% (8,9 - 134,7) p &lt;0,001.</li> <li>• Deficiencia proteína C/S en 10% vs 5% OR 2,1; IC 95% (0,6-8,0) p=0,25)</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> Las mujeres con PE grave o síndrome HELLP tienen una alta incidencia de defectos de coagulación congénitos o adquiridos</p>

<p>Branch et al. (2001) [167]</p>	<p>Ch</p>	<p>317</p>	<p><b>OBJETIVO:</b> Analizar si la positividad en aCL, aPS/PT, antifosfatidilinositol, antifosfatidilglicerol y antifosfatidiletanolamina (IgG/IgM) se asocia con PE recurrente, PE grave, CIR, y parto prematuro en mujeres con antecedentes de PE</p> <p><b>ME:</b> Segundo trimestre embarazo</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Positividad aCL, aPS/PT, antifosfatidilinositol, antifosfatidilglicerol y antifosfatidiletanolamina (IgG/IgM) no se asociaron con PE recurrente</li> <li>• Positividad en percentil 99 para aPS/PT IgG se asociaron con PE grave</li> <li>• Positividad en percentil 99 para aCL, antifosfatidilinositol y antifosfatidilglicerol IgG se asociaron con CIR</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> aAFL durante el embarazo son de poca importancia en la evaluación del riesgo de PE recurrente entre mujeres con antecedentes de PE</p>
<p>Valdes-Macho et al. (2002) [168]</p>	<p>Cc</p>	<p>125+127</p>	<p><b>OBJETIVO:</b> Determinar la frecuencia de aCL y aβ2GPI en pacientes con trastornos hipertensivos del embarazo</p> <p><b>ME:</b> Parto/Puerperio</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• No se encontraron diferencias en la frecuencia de aβ2GPI IgG o aCL IgG/IgM en suero o aCL IgG en orina entre casos y controles.</li> <li>• Mayor frecuencia de aβ2GPI IgG en la orina de los casos (26,1%) en comparación con los controles 9,4% (p&lt;0,001)</li> <li>• Asociación entre aβ2GPI IgG urinario y PE: OR 4,3; IC 95% (1,95–9,62), p &lt;0,0001)</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> Las pruebas de orina son necesarias para determinar si los Ac aβ2GPI IgG están asociados con la PE</p>
<p>Taylor et al (1991) 158 [169]</p>	<p>Cc</p>	<p>20+20</p>	<p><b>OBJETIVO:</b> Determinar la asociación entre aCL y PE</p> <p><b>ME:</b> No definido</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se detectó aCL IgG en 5 casos y 8 controles y aCL IgM en 3 casos y un control</li> <li>• De los 7 casos que tenían aCL IgG, IgM o ambos, 4 tenían controles coincidentes con niveles positivos de aCL</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> El aparente aumento fisiológico en aCL asociado con el embarazo normal enfatizan la dificultad de atribuir importancia a un hallazgo individual de niveles elevados en mujeres embarazadas</p>

Dekker et al. (1995) [170]	Ch	101	<p><b>OBJETIVO:</b> Determinar si los pacientes con PE grave de inicio temprano tienen anomalías hemostáticas o metabólicas que se asocian con una tendencia a la trombosis vascular</p> <p><b>ME:</b> ≥ 10 semanas postparto</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 27 pacientes (28,4%) presentaron aCL IgG/IgM detectables.</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> Los pacientes con antecedentes de PE grave de inicio temprano deben someterse a pruebas de detección de aCL, ya que los resultados pueden tener un impacto en el asesoramiento y el manejo de futuros embarazos</p>
Kurki et al. (1996) [171]	Cc	20+42	<p><b>OBJETIVO:</b> Determinar si aCL y aPS/PT (IgG) están presentes en el plasma de mujeres con PE, y valorar si estos Ac podrían predecir el riesgo de PE</p> <p><b>ME:</b> 10-17 semanas gestación</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Los niveles de aCL o aPS/PT IgG de las mujeres con PE no difirieron de los niveles de mujeres normotensas.</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> Los anticuerpos aCL o aPS/PT IgG no logran predecir el riesgo de PE</p>
D'Anna et al (1997) [172]	Cc	28+28	<p><b>OBJETIVO:</b> Establecer una asociación de niveles de aCL IgG/IgM y PE o CIR</p> <p><b>ME:</b> no definido</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de aCL IgG/IgM, entre los grupos estudiados.</li> <li>• Ninguno alcanzó títulos de aCL IgG/IgM clínicamente relevantes</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> No se encontró asociación en niveles de aCL IgG/IgM entre la PE y/o CIR versus grupo control</p>
Martínez-Abundis et al (1999) [173]	Cc	52+52	<p><b>OBJETIVO:</b> Identificar y comparar aCL I/IgG/IgM) en pacientes con eclampsia, diferentes grados de PE y mujeres con embarazo normotenso</p> <p><b>ME:</b> 3º trimestre gestación</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• El análisis ANOVA no reflejó diferencias significativas en aCL IgG entre pacientes con eclampsia, PE grave, PE leve y embarazadas normotensas.</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> Los niveles séricos de aCL IgG/IgM fueron similares en pacientes con diferentes grados de PE-eclampsia y mujeres con embarazo normotenso</p>

<p>von Tempelhoff et al (2000) [174]</p>	<p>Cc</p>	<p>61+61</p>	<p><b>OBJETIVO:</b> Determinar prevalencia de aCL IgG y/o AL en mujeres con PE grave o síndrome de HELLP vs mujeres con embarazos normales</p> <p><b>ME:</b> 4 meses postparto</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>aCL IgG y/o AL estuvo presente en el 69% de las pacientes con PE grave/HELLP vs. 5% en controles</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> La presencia de aAFL imparte un riesgo particularmente alto para el desarrollo de complicaciones, y parece obligatorio monitorizar a estas mujeres de manera cuidadosa y con mayor frecuencia para detectar PE o síndrome HELLP</p>
<p>Lynch et al. (1994) [147]</p>	<p>Ch</p>	<p>389</p>	<p><b>OBJETIVO:</b> Determinar si la presencia de un perfil de aCL (IgA/IgG/IgM) y AL en mujeres embarazadas sanas está asociado con resultados adversos del embarazo (pérdida fetal, complicaciones maternas del embarazo, bajo peso al nacer y Apgar bajo)</p> <p><b>ME:</b> ≤ 25 semanas gestación.</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Un 24,4% de las pacientes presentó valores anormales respecto al perfil preestablecido en la primera visita prenatal y un 18.8% tras el parto</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> Las pacientes con niveles elevados de aCL (IgA/IgG/IgM) y AL en su visita prenatal inicial tuvieron un aumento en la pérdida fetal, pero sin aumento de las complicaciones maternas del embarazo, bajo peso al nacer o puntuaciones de Apgar bajas. aCL IgG fue el único asociado con la pérdida fetal</p>
<p>Lee et al. (2003) [176]</p>	<p>Cc</p>	<p>300+100</p>	<p><b>OBJETIVO:</b> Estimar si los aCL y aβ2GPI (IgG/IgM) están asociados con la PE</p> <p><b>ME:</b> Postparto no definido</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>No se observaron niveles significativamente elevados de aCL o aβ2GPI (IgG/IgM) ni un incremento en la proporción de positividad para estos Ac en las mujeres con PE leve/grave/HELLP con respecto al grupo control</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> Los niveles circulantes de aCL o aβ2GPI (IgG/IgM) no aumentaron en pacientes con PE leve/grave/HELLP en comparación con los controles normotensos. Los datos no apoyan las pruebas de rutina para anticuerpos aCL o aβ2GPI (IgG/IgM) en mujeres con PE</p>

<p>Dreyfus et al. (2001) [154]</p>	<p>Cc</p>	<p>180+360</p>	<p><b>OBJETIVO:</b> Evaluar la asociación entre la primera aparición de PE y aCL (IgA/IgG/IgM) y AL</p> <p><b>ME:</b> Momento de la inclusión (postparto)</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ausencia de asociación entre aCL (IgA/IgG/IgM) AL y PE: OR=0,95, IC 95% (0,45-2,61)</li> <li>• Hubo una activación clara y confirmada de la coagulación durante la PE</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> A pesar de la evidencia de un estado protrombótico durante la PE, es poco probable que los Ac aCL IgA/IgG/IgM) y AL representen factores de riesgo de PE en mujeres sin PE previa y sin antecedentes de trombosis o enfermedad autoinmune sistémica.</p>
<p>Marchetti, et al (2016) [177]</p>	<p>Cc</p>	<p>342+195</p>	<p><b>OBJETIVO:</b> Determinar la incidencia de AL, aCL, aβ2GPI, aPS/PT en mujeres con antecedentes de PE leve (n=199) y PE grave (n=143). Grupo control (n=195)</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• No se encontraron asociaciones en el grupo de PE leve</li> <li>• La PE grave se asoció con aβ2GPI IgG (OR=16,91, IC 95% (3,71-77,06))</li> <li>• aβ2GPI IgG se asoció con aCL, y aPS/PT IgG en los tres grupos</li> <li>• aPS/PT IgG se asoció con aCL IgG y aPS/PT IgM</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> PE grave es una entidad distinta de PE leve y se asocia principalmente con la presencia de aβ2GPI IgG. El dominio aβ2GPI se correlaciona con otras aAFL</p>
<p>do Prado et al. (2010) [165]</p>	<p>Rs/Ma</p>	<p>12 est.</p>	<p><b>OBJETIVO:</b> Revisar sistemáticamente la evidencia de asociación de aCL IgG/IgM con PE</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• La asociación de aCL (IgG/IgM) con PE fue OR=2,86, IC 95% (1,37-5,98)</li> <li>• El OR combinado de aCL con PE grave fue 11,1 IC 95% (2,66-46,75)</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> Niveles moderados /altos de aCL se asocian con PE, pero no hay evidencia suficiente para usar aCL como predictores de PE en la práctica clínica</p>

<p>Abou-Nassar et al (2011) [164]</p>	<p>Rs/Ma</p>	<p>28 est.</p>	<p><b>OBJETIVO:</b> Evaluar la asociación entre aAFL y complicaciones mediadas por la placenta en mujeres sin enfermedades autoinmunes</p>	<p><b>RESULTADOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• El AL se asoció con PE (OR=2,34; IC 95% (1,18-4,64)), CIR (OR=4,65; IC 95% (1,29-16,71)) y pérdida fetal tardía (OR 4,73; IC 95% (1,08-20,81)) entre los estudios de casos y controles, y sólo con pérdida fetal tardía (OR=10,59; IC 95% (1,87-59,88)) entre los estudios de cohorte.</li> <li>• aCL se asoció con PE (OR=1,52; IC 95% (1,05-2,20)) y pérdida fetal tardía (OR=4,29; IC 95% (1,34-13,68)) entre los estudios de casos y controles y sólo pérdida fetal tardía (OR=8,85, IC 95% (1,84 -42,50)) entre los estudios de cohortes.</li> <li>• aβGPI mostraron asociaciones con PE (OR=19,14; IC 95% (6,34-57,77)), CIR (OR=20,03; IC 95% (4,59-87,43)) y pérdida fetal tardía (OR=23,46; IC 95% (1,21-455,01)) en los estudios de cohortes.</li> </ul> <p><b>CONCLUSIÓN:</b> Los aAFL parecen estar asociados con pérdidas fetales tardías. Sin embargo, la asociación entre aAFL y otras complicaciones mediadas por la placenta son inconsistentes. AL se asocia más fuerte y consistentemente con complicaciones mediadas por la placenta. Actualmente hay datos insuficientes para respaldar un vínculo significativo entre anticuerpos aβ2GPI y morbilidad del embarazo.</p>
<p>aAFL: anticuerpos antifosfolípido, aβ2GPI: anti- β2-glicoproteína I, Ac: anticuerpos, aCL: anticardiolipina, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, Cc: casos y controles, Ch: cohortes, CIR; retraso del crecimiento intrauterino, est: estudios, ME: momento evolutivo, PE: preeclampsia, Rs/Ma: revisión sistemática/metaanálisis</p>				

## V. Discusión

Por lo que se refiere a la asociación entre los anticuerpos no convencionales y la PE, en los análisis de regresión logística univariante realizados en este trabajo, aPS/PT IgG e IgM, fueron los únicos que mostraron asociación significativa con la PE (OR=1,31; IC 95% (1,13-1,52),  $p<0,001$  y OR=1,12; IC 95% (1,06-1,19),  $p<0,001$ , respectivamente), lo que se halla en línea de lo señalado por Žigon *et al* [139], quienes señalan que los aPS/PT constituyen un factor de riesgo independiente más fuerte para complicaciones obstétricas en comparación con AL, aCL y a $\beta$ 2GPI. Sin embargo, hasta el momento, el mecanismo por el cual los aPS/PT podrían estar involucrados en la PE no se encuentra aclarado, habiéndose sugerido que los aPT pueden promover trombosis placentaria microvascular [178] o activar el complemento [179], siendo necesario investigar más a fondo las vías por las que los aPS/PT participan en la patogénesis de la PE. En pacientes con SAFO de alto riesgo, la detección del perfil de aAFL no convencionales podría permitir una mejor evaluación del riesgo y permitir la adopción de medidas terapéuticas adecuadas. Sin embargo, el pequeño número de estudios realizados, el número limitado de pacientes incluidos y las diferencias metodológicas en su diseño, hacen que estos resultados deban interpretarse con cautela. Por otro lado, uno de los criterios para definir un autoanticuerpo como patogénico, es su capacidad de transferir pasivamente la manifestación clínica relevante a un animal normal. A este respecto, se han establecido modelos murinos que demuestran que la infusión de aAFL puede inducir pérdida fetal y trombosis. Igualmente, es bien conocido que cualquier fenómeno inflamatorio puede ser inductor de aAFL, por lo que no se puede descartar que el estado inflamatorio asociado a la PE haya inducido la producción de aAFL y, que el hallazgo de estos anticuerpos tres meses después del parto, y su asociación con la PE, pudiera ser el resultado de una falacia de causalidad inversa [180–186].

Al margen de estas premisas, los resultados del presente trabajo son más robustos y reproducibles que los obtenidos en los estudios y metanálisis anteriormente mencionados. A diferencia de los mismos, en los que la determinación de aAFL se lleva a cabo en diferentes momentos evolutivos, lo que puede dar lugar a importantes sesgos de confusión debidos a la existencia de diversos factores (hipertensión gestacional, afectación hepática o renal, alteraciones analíticas, etc.), que pueden llegar a alterar la positividad de los aAFL o su titulación, en el presente trabajo, la



determinación de los aAFL se llevó a cabo una vez acaecido el parto y resueltos los trastornos hipertensivos del embarazo. Por otro lado, y a diferencia de los procedimientos heterogéneos y la diversidad de puntos de corte para determinar la positividad de los aAFL, los kits estandarizados comerciales utilizados en nuestro estudio, garantizan una elevada fiabilidad y reproducibilidad.

## 5. Disfunción endotelial y preeclampsia

Los mecanismos subyacentes al incremento del RCV entre las mujeres con antecedentes de PE no se hallan del todo dilucidados. Se ha observado un deterioro de la función endotelial tanto en la PE como en la aterosclerosis, lo que proporciona un vínculo plausible entre las dos afecciones [187]. Está ampliamente documentado que la PE tiene un impacto en la salud y el bienestar de las mujeres que se extiende más allá de los resultados del embarazo. La PE se asocia con un aumento de hasta 4 veces en la insuficiencia cardíaca incidente futura y un riesgo hasta 2 veces mayor de enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular y muerte por enfermedad coronaria o cardiovascular, lo que induce a recomendar una especial vigilancia de los factores de riesgo cardiovascular en mujeres con antecedentes de PE [188,189].

Además de los factores de riesgo tradicionales para la aterosclerosis, como la hipertensión, la hipercolesterolemia, la DM o el tabaquismo, diversos estudios señalan que el sistema inmune puede tener un papel en la progresión de la aterosclerosis, habiéndose sugerido que los aAFL pueden estar asociados con la aterosclerosis acelerada en pacientes con SAF [111,190,191]. Estudios sobre pacientes con esta patología han informado de un amplio espectro de signos de aterosclerosis, que van desde la manifestación de aterosclerosis como primer síntoma de SAF hasta las manifestaciones a largo plazo [109]. Mientras que la relación entre la aterosclerosis subclínica y el SAF se ha investigado ampliamente, se sabe poco sobre la aterosclerosis subclínica en portadores asintomáticos con positividad aislada de aAFL [192–196]. En pacientes con LES, se ha señalado que los anticuerpos aCL y a $\beta$ 2GPI son capaces de activar la célula endotelial favoreciendo la adhesión de monocitos, uno de los primeros

pasos del proceso inflamatorio típico de la aterosclerosis [115,197]. Igualmente, en el ámbito del SAF, las evidencias respaldan que una vasculopatía de grandes vasos puede conducir a lesiones estenóticas arteriales, contribuyendo posiblemente a oclusiones vasculares y morbilidad del embarazo [118].

Si bien la relación entre PE y disfunción endotelial y procesos ateroscleróticos posteriores se ha estudiado en profundidad [50,198,199], tan solo hemos localizado un estudio que asocie la disfunción endotelial en la PE y los aAFL [200].

Las evaluaciones no invasivas de la función vascular y la disfunción endotelial inducidas durante la PE pueden llevarse a cabo entre otros mediante la determinación de VOP e ITB.

Un aumento de la rigidez arterial puede ser un marcador de cambios vasculares tempranos que pueden conducir a una enfermedad vascular mayor [201,202]. La VOP es una herramienta diagnóstica bien estudiada y cuenta con una evidencia máxima que apoya su papel predictivo del desarrollo de eventos cardiovasculares, por lo que se la considera el 'estándar de oro' para la evaluación de la rigidez aórtica [61,62,203].

Durante el embarazo normal se producen una serie de adaptaciones hemodinámicas que implican una disminución de la VOP entre el primer y segundo trimestre de gestación, aumentando desde el inicio del tercer trimestre hasta inmediatamente después del parto, y disminuyendo hasta niveles similares al comienzo del embarazo aproximadamente un mes después del parto [204–206]. Por el contrario, las mujeres con PE, muestran un aumento significativo de la VOP a lo largo de todo el embarazo, que incluso perdura después del parto [66,207], lo que viene a sugerir que las pacientes con PE presentan un mayor RCV tras el parto. Una revisión sistemática de Hausvater *et al* [208] señala que la PE está asociada con una mayor rigidez arterial durante y después del embarazo, así como la existencia de una asociación homogénea entre la gravedad de la PE y la rigidez arterial [208].

Tras ajustar por posibles factores de confusión, se ha constatado una correlación inversa y significativa entre la VOP y la función endotelial global en pacientes sanos ( $r=0,69$ ;  $p=0,001$ ) [209]. Por otro lado, se ha señalado que la rigidez arterial se asocia con hipertrofia ventricular izquierda en pacientes normotensos e hipertensos [210] y se correlaciona con la aterosclerosis, debido probablemente a los efectos del estrés cíclico en el engrosamiento de la pared arterial [211,212]. Una revisión sistemática de Cecelja *et al* [213] constató que con la excepción de la edad y la hipertensión, la VOP es en gran medida independiente de los factores de riesgo clásicos para la aterosclerosis, cuya contribución, o resulta pequeña como en el caso de la DM, o es insignificante como en el caso del sexo, la dislipemia, el tabaquismo o el IMC. Los resultados del presente trabajo vienen a confirmar en parte los anteriormente descritos, ya que, en el momento de evaluación de la VOP, nuestras pacientes ya habían resuelto sus problemas hipertensivos por lo que, al margen de la positividad en PS/PT IgM únicamente encontramos a la edad como factor asociado a alteraciones de la VOP.

La relevancia de la aterosclerosis subclínica radica en su capacidad para predecir el RCV y contribuir aún más a la morbilidad de las pacientes afectadas. El ITB es un método objetivo y ampliamente reconocido para evaluar la función vascular periférica en personas asintomáticas. Un valor de ITB  $<0,9$  es un buen predictor de la morbimortalidad cardiovascular relacionada con la enfermedad arterial periférica, presentando con una sensibilidad del 95% y una especificidad cercana al 100% a la detección de la enfermedad por métodos angiográficos [81]. Ambrosino *et al* [113] en una revisión sistemática y metaanálisis constataron una mayor prevalencia de ITB patológico en pacientes con SAF en comparación con controles sanos (OR 7,26; IC 95% (1,77-29,71)). Otra amplia revisión sistemática y metaanálisis [77], constató que la mortalidad cardiovascular a 10 años en mujeres con un ITB bajo ( $\leq 0,9$ ) fue del 12,6% (IC 95%: 6,2%-19,0%), y del 4,1% (IC 95%: 2,2%-6,1%) con un ITB normal, (HR=3,5; IC 95%: 2,4-5,1). Es posible que la disfunción endotelial transitoria pero grave, observada en la PE potencie una cascada de eventos que progresa a aterosclerosis [189]. No obstante, a pesar de que en el presente trabajo únicamente hemos encontrado a la

edad y la positividad en aPS/PT IgM como factores asociados a la aterosclerosis subclínica, no parece que sean los únicos parámetros responsables de la misma.

## **6. Relación entre anticuerpos antifosfolípido y disfunción endotelial**

Nuestra comprensión de los mecanismos precisos por los cuales los aAFL inducen disfunción endotelial sigue siendo limitada [192,214]. En el presente trabajo, hemos encontrado una elevada correlación positiva entre los niveles de aPT/PS IgM y VOP ( $\rho=0,830$ ;  $p<0,001$ ), así como una moderada correlación inversa con el ITB ( $\rho=-0,469$ ;  $p<0,001$ ). El análisis de los parámetros de afectación vascular demostró que entre las mujeres con embarazos normales y títulos negativos de aPS/PT IgM, respecto a aquellas con positividad para dicho anticuerpo, no existían diferencias en el ITB, aunque sí en la VOP 7,50 (7,20-8,00) m/s vs. 9,00 (8,35-9,95) m/s,  $p<0,001$ , mientras que entre las mujeres con PE, observamos diferencias significativas tanto en el ITB 1,11 (0,95-1,22) vs 0,90 (0,86-1,14),  $p<0,001$ , como en la VOP 7,80 (7,10-8,00) m/s vs. 9,50 (8,88-10,70) m/s,  $p<0,001$ , lo que sugiere que la disfunción endotelial de las mujeres preeclámpticas puede acentuarse de forma importante en presencia de aPS/PT IgM.

En nuestro trabajo hemos detectado por primera vez que los aPS/PT no están solo asociados con una mayor frecuencia y gravedad de la PE, sino que también se relacionan con la disfunción endotelial subclínica que la PE desencadena. Aunque nuestro trabajo no permite analizar qué mecanismos subyacen a esta relación, no podemos dejar de destacarla por su potencial relevancia. ¿Son los aPS/PT el factor patogénico común entre la PE y la DE?, ¿son los aPS/PT un epifenómeno desencadenado por la PE que podrían ser, al menos, marcadores de la disfunción endotelial secundaria? Nuestros hallazgos plantean nuevas hipótesis a analizar en el futuro.

## 7. Análisis de otros factores de riesgo tradicionales de preeclampsia

Finalmente, con respecto a los factores de riesgo tradicionales para el desarrollo de PE, entre las mujeres que desarrollaron PE se observaron mayores porcentajes de primiparidad,  $IMC > 25 \text{ Kg/m}^2$  y antecedentes familiares de hipertensión, DM, cardiopatía o ictus y menores porcentajes de tabaquismo y antecedentes de aborto, que entre aquellas cuyo embarazo se desarrolló con normalidad. Igualmente, la anticipación del parto en casi dos semanas en las mujeres preeclámpticas tuvo como resultado un menor peso en el recién nacido. También observamos que los recién nacidos de mujeres que presentaron PE, presentaron una menor puntuación en el test de APGAR y un pH menor del cordón umbilical.

Sin embargo, en el presente trabajo se han obtenido algunos resultados dispares en relación a otros previos. Identificamos algunos factores tradicionales de riesgo de ocurrencia de PE, como la existencia de un  $IMC > 25$ , que en el análisis de regresión logística, ajustado por factores de riesgo como la HTA, DM y la dislipemia, todos ellos individualmente potenciales factores sensibilizadores que contribuyen a la patogénesis de la preeclampsia [215–217], multiplicaba por cinco el riesgo de PE (OR=5,20; IC 95% (2,19-12,34),  $p < 0,001$ ), superando ampliamente lo informado en estudios previos [26,218–221]. Igualmente, los antecedentes familiares de HTA, mostraron una asociación con el desarrollo de PE más intensa que la descrita en estudios previos, (OR materna= 3,47; IC 95% (1,34-8,98),  $p = 0,010$  y OR paterna= 3,06; IC 95% (1,29-7,27),  $p = 0,011$ ), si bien tan sólo los antecedentes maternos de HTA figuraron en el modelo final de regresión logística multivariante, con una fuerte asociación: OR=8,3; IC 95% (1,2-57,4),  $p = 0,032$ , lo que viene a confirmar la contribución de este componente familiar a la aparición de la PE [219]. Por otro lado, no hemos observado asociación con otros factores tradicionales de riesgo. Así, a pesar de que 12 de las 16 mujeres con edad superior a 40 años presentaron PE, no encontramos aumento significativo del riesgo a consecuencia de una edad avanzada, posiblemente, porque 9 de las 12 no sobrepasaban los 43 años, y las otras 3 no excedían de 44 años [219], lo que viene a coincidir con lo indicado por Lehmann [222], que no encontró un claro aumento en la

incidencia de preeclampsia hasta después de que las mujeres alcanzaran la edad de 45 años. Tampoco observamos asociación entre la PE y el uso de TRA. Se ha constatado que los embarazos llevados a cabo mediante uso de TRA, especialmente los embarazos múltiples, están acompañados por un mayor riesgo de complicaciones hipertensivas, habiéndose sugerido que diversos factores tales como una placentación anormal, efectos epigenéticos y estrés oxidativo pueden asociarse a este riesgo [223]. Una edad materna avanzada, la hipertensión previa a la concepción y la disfunción endotelial pueden contribuir aún más a la mayor incidencia de complicaciones hipertensivas. Nuestros resultados, aunque reflejaron que 20 de las 35 mujeres que utilizaron TRA desarrollaron PE, no confirmaron dicha asociación tras la regresión logística.

Tampoco pudimos confirmar el efecto protector del hábito tabáquico. Se ha constatado que el hábito de fumar puede reducir el riesgo de PE hasta en un 50% con un patrón de dosis-respuesta, encontrándose de forma consistente un efecto protector tanto en nulíparas como en multíparas, embarazos únicos y multifetales, y para PE leve y grave y aunque los mecanismos biológicos no están claros, se teoriza con que el tabaco podría tener efectos sobre los factores angiogénicos, la función endotelial y el sistema inmune que actúan para reducir el riesgo de PE [224]. Nuestros resultados señalaron que el hábito tabáquico se encontraba presente en el 9,8% de las mujeres preeclámplicas, aunque no se detectó asociación significativa con su aparición. Por último, el escaso número de pacientes con antecedentes de PE (9/157) e infección del tracto urinario (4/157), no permitió establecer asociación de estos dos factores con la PE [225–228].

Como principales debilidades de nuestro estudio, destacamos el pequeño tamaño del grupo de control en comparación con el grupo de PE, así como la ausencia de determinación de aAFL y parámetros cardiovasculares durante el embarazo. En estudios futuros, deberíamos analizar si los aAFL no convencionales ya se desarrollan en los primeros meses de embarazo y si pudieran constituir un factor patógeno de esta enfermedad.

## ***VI. CONCLUSIONES***







1. La presencia de aAFL postparto en mujeres no preeclámpticas es poco frecuente, sin observarse diferencias entre aAFL clásicos y no convencionales.
2. Los anticuerpos aAFL no convencionales, muestran una prevalencia postparto casi tres veces superior a la de aAFL clásicos en mujeres sin criterios de SAF que desarrollan preeclampsia durante su gestación, siendo el aPS/PT IgM el anticuerpo más frecuentemente detectado.
3. La presencia de aPS/PT IgM postparto, se encuentra asociada y se relaciona de manera proporcional con la gravedad de la preeclampsia en mujeres que no reúnen criterios de SAF.
4. Existen datos sugestivos de disfunción endotelial postparto en mujeres sin criterios de SAF que desarrollan preeclampsia, deducidos mediante la presencia de un incremento en los valores de VOP y una disminución del valor de ITB.
5. La presencia de aPS/PT IgM postparto en mujeres sin criterios de SAF que desarrollan preeclampsia se asocia con la presencia de disfunción endotelial definida como presencia de valores alterados de VOP o ITB.
6. En aquellas pacientes que desarrollan preeclampsia, la presencia de aPS/PT IgM podría ser un biomarcador de utilidad para la estratificación del riesgo cardiovascular, ayudando a identificar mujeres que se podrían beneficiar de una monitorización más estrecha.



## ***VII. BIBLIOGRAFÍA***



1. Hnat, M.D.; Sibai, B.M.; Caritis, S.; Hauth, J.; Lindheimer, M.D.; MacPherson, C.; Van Dorsten, J.P.; Landon, M.; Miodovnik, M.; Paul, R.; et al. Perinatal outcome in women with recurrent preeclampsia compared with women who develop preeclampsia as nulliparas. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2002**, *186*, 422–426, doi:10.1067/mob.2002.120280.
2. Madazli, R.; Yuksel, M.A.; 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, doi:10.1007/s00404-014-3176-x.
3. Sarno, L.; Maruotti, G.M.; Saccone, G.; Sirico, A.; Mazzarelli, L.L.; Martinelli, P. Pregnancy outcome in proteinuria-onset and hypertension-onset preeclampsia. *Hypertens. Pregnancy* **2015**, *34*, 284–290, doi:10.3109/10641955.2015.1015731.
4. Sibai, B.M. Immunologic aspects of preeclampsia. *Clin Obs. Gynecol* **1991**, *34*, 27–34.
5. Backes, C.H.; Markham, K.; Moorehead, P.; Cordero, L.; Nankervis, C.A.; Giannone, P.J. Maternal preeclampsia and neonatal outcomes. *J. Pregnancy* 2011, *2011*, 214365.
6. Berg, C.J.; Atrash, H.K.; Koonin, L.M.; Tucker, M. Pregnancy-related mortality in the United States, 1987-1990. *Obstet. Gynecol.* **1996**, *88*, 161–167, doi:10.1016/0029-7844(96)00135-4.
7. Vikse, B.E.; Irgens, L.M.; Leivestad, T.; Skjærven, R.; Iversen, B.M. Preeclampsia and the risk of end-stage renal disease. *N. Engl. J. Med.* **2008**, *359*, 800–809, doi:10.1056/NEJMoa0706790.
8. Ghulmiyyah, L.; Sibai, B. Maternal Mortality From Preeclampsia/Eclampsia. *Semin. Perinatol.* 2012, *36*, 56–59.
9. Armaly, Z.; Jadaon, J.E.; Jabbour, A.; Abassi, Z.A. Preeclampsia: Novel mechanisms and potential therapeutic approaches. *Front. Physiol.* 2018, *9*.
10. Sibai, B.M.; Stella, C.L. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2009**, *200*, 481.e1-481.e7, doi:10.1016/j.ajog.2008.07.048.

## VII. Bibliografia

11. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstet. Gynecol.* **2020**, *135*, e237–e260, doi:10.1097/AOG.0000000000003891.
12. Brown, M.A.; Magee, L.A.; Kenny, L.C.; Karumanchi, S.A.; McCarthy, F.P.; Saito, S.; Hall, D.R.; Warren, C.E.; Adoyi, G.; Ishaku, S. The hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis & management recommendations for international practice. *Pregnancy Hypertens.* 2018, *13*, 291–310.
13. Raymond, D.; Peterson, E. A critical review of early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstet. Gynecol. Surv.* 2011, *66*, 497–506.
14. Lisonkova, S.; Joseph, K.S. Incidence of preeclampsia: Risk factors and outcomes associated with early-versus late-onset disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2013**, *209*, 544.e1-544.e12, doi:10.1016/j.ajog.2013.08.019.
15. Villa, P.M.; Marttinen, P.; Gillberg, J.; Inkeri Lokki, A.; Majander, K.; Ordén, M.R.; Taipale, P.; Pesonen, A.; Räikkönen, K.; Hämäläinen, E.; et al. Cluster analysis to estimate the risk of preeclampsia in the high-risk Prediction and Prevention of Preeclampsia and Intrauterine Growth Restriction (PREDO) study. *PLoS One* **2017**, *12*, doi:10.1371/journal.pone.0174399.
16. Erez, O.; Romero, R.; Maymon, E.; Chaemsathong, P.; Done, B.; Pacora, P.; Panaitescu, B.; Chaiworapongsa, T.; Hassan, S.S.; Tarca, A.L. The prediction of late-onset preeclampsia: Results from a longitudinal proteomics study. *PLoS One* **2017**, *12*, doi:10.1371/journal.pone.0181468.
17. Von Dadelszen, P.; Magee, L.A.; Roberts, J.M. Subclassification of Preeclampsia. *Hypertens. Pregnancy* 2003, *22*, 143–148.
18. Valensise, H.; Vasapollo, B.; Gagliardi, G.; Novelli, G.P. Early and Late preeclampsia: Two different maternal hemodynamic states in the latent phase of the disease. *Hypertension* **2008**, *52*, 873–880, doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.117358.
19. Anderson, U.D.; Olsson, M.G.; Kristensen, K.H.; Åkerström, B.; Hansson, S.R. Review: Biochemical markers to predict preeclampsia. In *Proceedings of the Placenta; Placenta*, 2012; Vol. 33.

20. Gratacós, E.; Cabero, L. Diagnóstico de preeclampsia y eclampsia. *Jano* **2000**, *58*, 61–63.
21. Steegers, E.A.P.; Von Dadelszen, P.; Duvekot, J.J.; Pijnenborg, R. Pre-eclampsia. In Proceedings of the The Lancet; Lancet, 2010; Vol. 376, pp. 631–644.
22. Khan, K.S.; Wojdyla, D.; Say, L.; Gülmezoglu, A.M.; Van Look, P.F. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet* **2006**, *367*, 1066–1074, doi:10.1016/S0140-6736(06)68397-9.
23. Curiel-Balsera, E.; Prieto-Palomino, M.A.; Muñoz-Bono, J.; Ruiz de Elvira, M.J.; Galeas, J.L.; Quesada García, G. Análisis de la morbimortalidad materna de las pacientes con preeclampsia grave, eclampsia y síndrome HELLP que ingresan en una Unidad de Cuidados Intensivos gineco-obstétrica. *Med. Intensiva* **2011**, *35*, 478–483, doi:10.1016/j.medin.2011.05.011.
24. Chesley, L.C.; Cooper, D.W. Genetics of hypertension in pregnancy: possible single gene control of pre-eclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women. *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* **1986**, *93*, 898–908, doi:10.1111/j.1471-0528.1986.tb08006.x.
25. Warrington, J.P.; George, E.M.; Palei, A.C.; Spradley, F.T.; Granger, J.P. Recent advances in the understanding of the pathophysiology of preeclampsia. *Hypertension* **2013**, *62*, 666–673, doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.00588.
26. Bartsch, E.; Medcalf, K.E.; Park, A.L.; Ray, J.G.; Al-Rubaie, Z.T.A.; Askie, L.M.; Berger, H.; Blake, J.; Graves, L.; Kingdom, J.C.; et al. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: Systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *BMJ* **2016**, *353*, doi:10.1136/bmj.i1753.
27. Fukui, A.; Yokota, M.; Funamizu, A.; Nakamura, R.; Fukuhara, R.; Yamada, K.; Kimura, H.; Fukuyama, A.; Kamoi, M.; Tanaka, K.; et al. Changes of NK Cells in Preeclampsia. *Am. J. Reprod. Immunol.* **2012**, *67*, 278–286.
28. Nelissen, E.C.M.; van Montfoort, A.P.A.; Dumoulin, J.C.M.; Evers, J.L.H. Epigenetics and the placenta. *Hum. Reprod. Update* **2011**, *17*, 397–417, doi:10.1093/humupd/dmq052.
29. Pijnenborg, R.; Vercruyse, L.; Hanssens, M. Fetal-maternal conflict, trophoblast invasion, preeclampsia, and the red queen. *Hypertens. Pregnancy* **2008**, *27*, 183–196.

## VII. Bibliografia

30. LaMarca, B.D.; Gilbert, J.; Granger, J.P. Recent progress toward the understanding of the pathophysiology of hypertension during preeclampsia. *Hypertension* 2008, *51*, 982–988.
31. Brosen, I.; Robertson, W.; Dixon, H. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obs. Gynecol Annu* **1972**, *1*, 177–191.
32. Gathiram, P.; Moodley, J. Pre-eclampsia: Its pathogenesis and pathophysiology. *Cardiovasc. J. Afr.* 2016, *27*, 71–78.
33. Roberts, J.M.; Gammill, H.S. Preeclampsia: Recent insights. *Hypertension* 2005, *46*, 1243–1249.
34. Ali, S.M.; Khalil, R.A. Genetic, immune and vasoactive factors in the vascular dysfunction associated with hypertension in pregnancy. *Expert Opin. Ther. Targets* 2015, *19*, 1495–1515.
35. Possomato-Vieira, J.S.; Khalil, R.A. Mechanisms of Endothelial Dysfunction in Hypertensive Pregnancy and Preeclampsia. In *Advances in Pharmacology*; Academic Press Inc., 2016; Vol. 77, pp. 361–431 ISBN 9780128043967.
36. Phippard, A.F.; Horvath, J.S.; Glynn, E.M.; Garner, M.G.; Fletcher, P.J.; Duggin, G.G.; Tiller, D.J. Circulatory adaptation to pregnancy — serial studies of haemodynamics, blood volume, renin and aldosterone in the baboon (*Papio hamadryas*). *J. Hypertens.* **1986**, *4*, 773–779, doi:10.1097/00004872-198612000-00013.
37. Morton, J.S.; Davidge, S.T. Arterial endothelium-derived hyperpolarization: Potential role in pregnancy adaptations and complications. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **2013**, *61*, 197–203, doi:10.1097/FJC.0b013e31827b6367.
38. Friedman, S.A.; Schiff, E.; Emeis, J.J.; Dekker, G.A.; Sibai, B.M. Biochemical corroboration of endothelial involvement in severe preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1995**, *172*, 202–203, doi:10.1016/0002-9378(95)90113-2.
39. Knowles, R.G.; Moncada, S. Nitric oxide as a signal in blood vessels. *Trends Biochem. Sci.* **1992**, *17*, 399–402, doi:10.1016/0968-0004(92)90008-W.
40. Seligman, S.P.; Buyon, J.P.; Clancy, R.M.; Young, B.K.; Abramson, S.B. The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1994**, *171*, 944–948, doi:10.1016/S0002-9378(94)70064-8.



41. Bilodeau, J.F.; Hubel, C.A. Current concepts in the use of antioxidants for the treatment of preeclampsia. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* **2003**, *25*, 742–750, doi:10.1016/S1701-2163(16)31003-9.
42. Lahera, V.; Cediell, E.; de las Heras, N.; Vázquez-Pérez, S.; Sanz-Rosa, D.; Vázquez-Cruz, B.; Cachofeiro, V. Endothelial dysfunction in hypertension. *Nefrologia* **2003**, *23*, 3–12.
43. Khalil, A.; Akolekar, R.; Syngelaki, A.; Elkhouli, M.; Nicolaides, K.H. Maternal hemodynamics at 11-13 weeks' gestation and risk of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2012**, *40*, 28–34, doi:10.1002/uog.11183.
44. James M., R.; Robert N, T.; Alan, G. Clinical and biochemical evidence of endothelial cell dysfunction in the pregnancy syndrome preeclampsia. *Am. J. Hypertens.* **1991**, *4*, 700–708, doi:10.1093/ajh/4.8.700.
45. Fournie, A.; Monrozies, M.; Pontonnier, G.; Boneu, B.; Blerme, R. Factor VIII complex in normal pregnancy, pre-eclampsia and fetal growth retardation. *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* **1981**, *88*, 250–254, doi:10.1111/j.1471-0528.1981.tb00977.x.
46. Lockwood, C.J.; Peters, J.H. Increased plasma levels of ED1+ cellular fibronectin precede the clinical signs of preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1990**, *162*, 358–362, doi:10.1016/0002-9378(90)90385-K.
47. Friedman, S.A. Preeclampsia: a review of the role of prostaglandins. *Obs. Gynecol* **1988**, *71*, 122–137.
48. Levin, M.; Walters, M.D.S.; Waterfield, M.D.; Stroobant, P.; Cheng, D.J.; Barratt, T.M. Platelet-derived growth factors as possible mediators of vascular proliferation in the sporadic haemolytic uraemic syndrome . *Lancet* **1986**, *328*, 830–833, doi:10.1016/S0140-6736(86)92868-0.
49. Musci, T.J.; Roberts, J.M.; Rodgers, G.M.; Taylor, R.N. Mitogenic activity is increased in the sera of preeclamptic women before delivery. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1988**, *159*, 1446–1451, doi:10.1016/0002-9378(88)90572-8.
50. Roberts, J. Endothelial Dysfunction in Preeclampsia. *Semin. Reprod. Med.* **1998**, *16*, 5–15, doi:10.1055/s-2007-1016248.

## VII. Bibliografia

51. Chappell, L.C.; Seed, P.T.; Briley, A.L.; Kelly, F.J.; Lee, R.; Hunt, B.J.; Parmar, K.; Bewley, S.J.; Shennan, A.H.; Steer, P.J.; et al. Effect of antioxidants on the occurrence of pre-eclampsia in women at increased risk: A randomised trial. *Lancet* **1999**, *354*, 810–816, doi:10.1016/S0140-6736(99)80010-5.
52. Taylor, R.N.; De Groot, C.J.M.; Cho, Y.K.; Lim, K.H. Circulating factors as markers and mediators of endothelial cell dysfunction in preeclampsia. *Semin. Reprod. Endocrinol.* 1998, *16*, 17–31.
53. Roberts, J.M.; Hubel, C.A. The Two Stage Model of Preeclampsia: Variations on the Theme. *Placenta* **2009**, *30*, 32–37, doi:10.1016/j.placenta.2008.11.009.
54. Leung, D.Y.; Leung, M. Non-invasive/invasive imaging: Significance and assessment of coronary microvascular dysfunction. *Heart* **2011**, *97*, 587–595, doi:10.1136/hrt.2009.183327.
55. Goligorsky, M.S. Endothelial cell dysfunction: Can't live with it, how to live without it. *Am. J. Physiol. - Ren. Physiol.* 2005, *288*.
56. Félétou, M.; Vanhoutte, P.M. Endothelial dysfunction: A multifaceted disorder. In Proceedings of the American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology; Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006; Vol. 291.
57. Van Hoydonck, P.G.A.; Schouten, E.G.; Temme, E.H.M. Reproducibility of blood markers of oxidative status and endothelial function in healthy individuals. *Clin. Chem.* **2003**, *49*, 963–965, doi:10.1373/49.6.963.
58. Arrebola-Moreno, A.L.; Laclaustra, M.; Kaski, J.C. Noninvasive assessment of endothelial function in clinical practice. *Rev. Esp. Cardiol.* 2012, *65*, 80–90.
59. Naka, K.K.; Tweddel, A.C.; Doshi, S.N.; Goodfellow, J.; Henderson, A.H. Flow-mediated changes in pulse wave velocity: A new clinical measure of endothelial function. *Eur. Heart J.* **2006**, *27*, 302–309, doi:10.1093/eurheartj/ehi619.
60. Torrado, J.; Bia, D.; Zócalo, Y.; Valls, G.; Lluberas, S.; Craiem, D.; Armentano, R.L. Reactive hyperemia-related changes in carotid-radial pulse wave velocity as a potential tool to characterize the endothelial dynamics. In Proceedings of the Proceedings of the 31st Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society: Engineering the Future of Biomedicine, EMBC 2009; IEEE Computer Society, 2009; Vol. 2009, pp. 1800–1803.

61. Williams, B.; Mancia, G.; Spiering, W.; Rosei, E.A.; Azizi, M.; Burnier, M.; Clement, D.L.; Coca, A.; De Simone, G.; Dominiczak, A.; et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *J. Hypertens.* 2018, *36*, 1956–2041.
62. Laurent, S.; Cockcroft, J.; Van Bortel, L.; Boutouyrie, P.; Giannattasio, C.; Hayoz, D.; Pannier, B.; Vlachopoulos, C.; Wilkinson, I.; Struijker-Boudier, H. Expert consensus document on arterial stiffness: Methodological issues and clinical applications. *Eur. Heart J.* **2006**, *27*, 2588–2605, doi:10.1093/eurheartj/ehl254.
63. Shokawa, T.; Imazu, M.; Yamamoto, H.; Toyofuku, M.; Tasaki, N.; Okimoto, T.; Yamane, K.; Kohno, N. Pulse wave velocity predicts cardiovascular mortality: Findings from the Hawaii-Los Angeles-Hiroshima study. *Circ. J.* **2005**, *69*, 259–264, doi:10.1253/circj.69.259.
64. Sutton-Tyrrell, K.; Najjar, S.S.; Boudreau, R.M.; Venkitachalam, L.; Kupelian, V.; Simonsick, E.M.; Havlik, R.; Lakatta, E.G.; Spurgeon, H.; Kritchevsky, S.; et al. Elevated aortic pulse wave velocity, a marker of arterial stiffness, predicts cardiovascular events in well-functioning older adults. *Circulation* **2005**, *111*, 3384–3390, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.483628.
65. Hansen, T.W.; Staessen, J.A.; Torp-Pedersen, C.; Rasmussen, S.; Thijs, L.; Ibsen, H.; Jeppesen, J. Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation* **2006**, *113*, 664–670, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.579342.
66. Franz, M.B.; Burgmann, M.; Neubauer, A.; Zeisler, H.; Sanani, R.; Gottsauner-Wolf, M.; Schiessl, B.; Andreas, M. Augmentation index and pulse wave velocity in normotensive and pre-eclamptic pregnancies. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **2013**, *92*, 960–966, doi:10.1111/aogs.12145.
67. Cavalcante, J.L.; Lima, J.A.C.; Redheuil, A.; Al-Mallah, M.H. Aortic stiffness: Current understanding and future directions. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2011, *57*, 1511–1522.
68. Blacher, J.; Asmar, R.; Djane, S.; London, G.M.; Safar, M.E. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. *Hypertension* **1999**, *33*, 1111–1117, doi:10.1161/01.HYP.33.5.1111.

## VII. Bibliografía

69. Johansen, N.B.; Vistisen, D.; Brunner, E.J.; Tabák, A.G.; Shipley, M.J.; Wilkinson, I.B.; McEniery, C.M.; Roden, M.; Herder, C.; Kivimäki, M.; et al. Determinants of aortic stiffness: 16-year follow-up of the Whitehall II study. *PLoS One* **2012**, *7*, doi:10.1371/journal.pone.0037165.
70. Mattace-Raso, F.U.S.; Hofman, A.; Verwoert, G.C.; Wittemana, J.C.M.; Wilkinson, I.; Cockcroft, J.; McEniery, C.; Yasmina; Laurent, S.; Boutouyrie, P.; et al. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'Establishing normal and reference values.' *Eur. Heart J.* **2010**, *31*, 2338–2350, doi:10.1093/eurheartj/ehq165.
71. Papamichael, C.M.; Lekakis, J.P.; Stamatelopoulos, K.S.; Papaioannou, T.G.; Alevizaki, M.K.; Cimponeriu, A.T.; Kanakakis, J.E.; Papapanagiotou, A.; Kalofoutis, A.T.; Stamatelopoulos, S.F. Ankle-brachial index as a predictor of the extent of coronary atherosclerosis and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* **2000**, *86*, 615–618, doi:10.1016/S0002-9149(00)01038-9.
72. Sikkink, C.J.J.M.; Van Asten, W.N.J.C.; Van 'T Hof, M.A.; Van Langen, H.; Van Der Vliet, J.A. Decreased ankle/brachial indices in relation to morbidity and mortality in patients with peripheral arterial disease. *Vasc. Med.* **1997**, *2*, 169–173, doi:10.1177/1358863X9700200302.
73. Zheng, Z.J.; Sharrett, A.R.; Chambless, L.E.; Rosamond, W.D.; Nieto, F.J.; Sheps, D.S.; Dobs, A.; Evans, G.W.; Heiss, G. Associations of ankle-brachial index with clinical coronary heart disease, stroke and preclinical carotid and popliteal atherosclerosis: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Atherosclerosis* **1997**, *131*, 115–125, doi:10.1016/S0021-9150(97)06089-9.
74. McKenna, M.; Wolfson, S.; Kuller, L. The ratio of ankle and arm arterial pressure as an independent predictor of mortality. *Atherosclerosis* **1991**, *87*, 119–128, doi:10.1016/0021-9150(91)90014-T.
75. Tsai, A.W.; Folsom, A.R.; Rosamond, W.D.; Jones, D.W. Ankle-brachial index and 7-year ischemic stroke incidence the ARIC study. *Stroke* **2001**, *32*, 1721–1724, doi:10.1161/01.STR.32.8.1721.
76. Jiménez, M.; Dorado, L.; Hernández-Pérez, M.; Alzamora, M.T.; Pera, G.; Torán, P.; Gomis, M.; Pérez de la Ossa, N.; Millán, M.; Escudero, D.; et al. Ankle-brachial index in screening for asymptomatic carotid and intracranial atherosclerosis. *Atherosclerosis* **2014**, *233*, 72–75, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.021.

77. Fowkes, G.; Fowkes, F.G.R.; Murray, G.D.; Butcher, I.; Heald, C.L.; Lee, R.J.; Chambless, L.E.; Folsom, A.R.; Hirsch, A.T.; Dramaix, M.; et al. Ankle brachial index combined with Framingham risk score to predict cardiovascular events and mortality: A meta-analysis. *JAMA - J. Am. Med. Assoc.* **2008**, *300*, 197–208, doi:10.1001/jama.300.2.197.
78. Guindo, J.; Martínez-Ruiz, M.D.; Gusi, G.; Puntí, J.; Bermúdez, P.; Martínez-Rubio, A. Diagnosis of Peripheral Vascular Disease. Usefulness of the Ankle-Brachial Index for Screening. *Rev. Esp. Cardiol. Supl.* **2009**, *9*, 11–17, doi:10.1016/S1131-3587(09)73285-6.
79. Feringa, H.H.H.; Bax, J.J.J.; Van Waning, V.H.; Boersma, E.; Elhendy, A.; Schouten, O.; Tangelder, M.J.; Van Sambeek, M.H.R.M.; Van Den Meiracker, A.H.; Poldermans, D. The long-term prognostic value of the resting and postexercise ankle-brachial index. *Arch. Intern. Med.* **2006**, *166*, 529–535, doi:10.1001/archinte.166.5.529.
80. Guo, X.; Li, J.; Pang, W.; Zhao, M.; Luo, Y.; Sun, Y.; Hu, D. Sensitivity and specificity of ankle-brachial index for detecting angiographic stenosis of peripheral arteries. *Circ. J.* **2008**, *72*, 605–610, doi:10.1253/circj.72.605.
81. Belch, J.J.F.; Topol, E.J.; Agnelli, G.; Bertrand, M.; Califf, R.M.; Clement, D.L.; Creager, M.A.; Easton, J.D.; Gavin, J.R.; Greenland, P.; et al. Critical issues in peripheral arterial disease detection and management: A call to action. *Arch. Intern. Med.* **2003**, *163*, 884–892.
82. Hiatt, W.R. Medical treatment of peripheral arterial disease and claudication. *N. Engl. J. Med.* **2001**, *344*, 1608–1621.
83. Baena-Díez, J.M.; Alzamora, M.T.; Forés, R.; Pera, G.; Torán, P.; Sorribes, M. Ankle-brachial index improves the classification of cardiovascular risk: PERART/ARTPER Study. *Rev. Esp. Cardiol.* **2011**, *64*, 186–192, doi:10.1016/j.recesp.2010.10.024.
84. Manso, J.J.A.; Martín, B.J.; Chacón, E.G.; Martínez, C.R. Ankle brachial index as indicator for vascular mortality. *Gerokomos* **2012**, *23*, 88–91.
85. Mostaza, J.M.; Manzano, L.; Suárez, C.; Cairols, M.; María Ferreira, E.; Rovira, E.; Sánchez, A.; Suárez-Tembra, M.A.; Estirado, E.; de Dios Estrella, J.; et al. Prevalence of asymptomatic peripheral artery disease detected by the ankle-brachial index in patients with cardiovascular disease. MERITO II study. *Med. Clin. (Barc)*. **2008**, *131*, 561–565, doi:10.1157/13128016.

## VII. Bibliografia

86. Aboyans, V.; Criqui, M.H. Can we improve cardiovascular risk prediction beyond risk equations in the physician's office? *J. Clin. Epidemiol.* 2006, *59*, 547–558
87. Norgren, L.; Hiatt, W.R.; Dormandy, J.A.; Nehler, M.R.; Harris, K.A.; Fowkes, F.G.R. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *J. Vasc. Surg.* 2007, *45*.
88. Rosendorff, C.; Black, H.R.; Cannon, C.P.; Gersh, B.J.; Gore, J.; Izzo, J.L.; Kaplan, N.M.; O'Connor, C.M.; O'Gara, P.T.; Oparil, S. Treatment of hypertension in the prevention and management of ischemic heart disease: A scientific statement from the American Heart Association council for high blood pressure research and the councils on clinical cardiology and epidemiology and prevention. *Circulation* 2007, *115*, 2761–2788.
89. Ringleb, P.A.; Bhatt, D.L.; Hirsch, A.T.; Topol, E.J.; Hacke, W. Benefit of Clopidogrel over Aspirin Is Amplified in Patients with a History of Ischemic Events. *Stroke* **2004**, *35*, 528–532, doi:10.1161/01.STR.0000110221.54366.49.
90. Bhatt, D.L.; Flather, M.D.; Hacke, W.; Berger, P.B.; Black, H.R.; Boden, W.E.; Cacoub, P.; Cohen, E.A.; Creager, M.A.; Easton, J.D.; et al. Patients With Prior Myocardial Infarction, Stroke, or Symptomatic Peripheral Arterial Disease in the CHARISMA Trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2007**, *49*, 1982–1988, doi:10.1016/j.jacc.2007.03.025.
91. Miyakis, S.; Lockshin, M.D.; Atsumi, T.; Branch, D.W.; Brey, R.L.; Cervera, R.; Derkesen, R.H.W.M.; De Groot, P.G.; Koike, T.; Meroni, P.L.; et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J. Thromb. Haemost.* **2006**, *4*, 295–306, doi:10.1111/j.1538-7836.2006.01753.x.
92. De Jesus, G.R.; Agmon-Levin, N.; Andrade, C.A.; Andreoli, L.; Chighizola, C.B.; Flint Porter, T.; Salmon, J.; Silver, R.M.; Tincani, A.; Ware Branch, D. 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force Report on Obstetric Antiphospholipid Syndrome. *Autoimmun. Rev.* 2014, *13*, 795–813.
93. Arachchillage, D.R.J.; Machin, S.J.; Mackie, I.J.; Cohen, H. Diagnosis and management of non-criteria obstetric antiphospholipid syndrome. *Thromb. Haemost.* 2015, *113*, 13–19.

94. Chighizola, C.B.; Gerosa, M.; Trespidi, L.; Di Giacomo, A.; Rossi, F.; Acaia, B.; Meroni, P.L. Update on the current recommendations and outcomes in pregnant women with antiphospholipid syndrome. *Expert Rev. Clin. Immunol.* 2014, *10*, 1505–1517.
95. Žigon, P.; Perdani Pirkmajer, K.; Tomšič, M.; Kveder, T.; Božič, B.; Sodin Šemrl, S.; Čučnik, S.; Ambrožič, A. Anti-Phosphatidylserine/Prothrombin Antibodies Are Associated with Adverse Pregnancy Outcomes. *J. Immunol. Res.* **2015**, 2015, doi:10.1155/2015/975704.
96. Galli, M.; Luciani, D.; Bertolini, G.; Barbui, T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: A systematic review of the literature. *Blood* **2003**, *101*, 1827–1832, doi:10.1182/blood-2002-02-0441.
97. Horbach, D.; van Oort, E.; Donders, R.; Derksen, R.; de Groot, P. Lupus anticoagulant is the strongest risk factor for both venous and arterial thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. Comparison between different assays for the detection of antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* **1996**, *76*, 916–924.
98. Wahl, D.G.; Guillemin, F.; De Maistre, E.; Perret, C.; Lecompte, T.; Thibaut, G. Risk for venous thrombosis related to antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. A meta-analysis. *Lupus* **1997**, *6*, 467–473, doi:10.1177/096120339700600510.
99. Viall, C.A.; Chamley, L.W. Histopathology in the placentae of women with antiphospholipid antibodies: A systematic review of the literature. *Autoimmun. Rev.* **2015**, doi:10.1016/j.autrev.2015.01.008.
100. De Carolis, S.; Botta, A.; Santucci, S.; Salvi, S.; Moresi, S.; Di Pasquo, E.; Del Sordo, G.; Martino, C. Complementemia and obstetric outcome in pregnancy with antiphospholipid syndrome. In Proceedings of the Lupus; Lupus, 2012; Vol. 21, pp. 776–778.
101. Alijotas-Reig, J.; Ferrer-Oliveras, R.; Ruffatti, A.; Tincani, A.; Lefkou, E.; Bertero, M.T.; Coloma-Bazan, E.; de Carolis, S.; Espinosa, G.; Rovere-Querini, P.; et al. The European Registry on Obstetric Antiphospholipid Syndrome (EUROAPS): A survey of 247 consecutive cases. *Autoimmun. Rev.* 2015, *14*, 387–395.

## VII. Bibliografia

102. Mekinian, A.; Loire-Berson, P.; Nicaise-Roland, P.; Lachassinne, E.; Stirnemann, J.; Boffa, M.C.; Chollet-Martin, S.; Carbillon, L.; Fain, O. Outcomes and treatment of obstetrical antiphospholipid syndrome in women with low antiphospholipid antibody levels. *J. Reprod. Immunol.* **2012**, *94*, 222–226, doi:10.1016/j.jri.2012.02.004.
103. Swadzba, J.; Sydor, W.J.; Kołodziejczyk, J.; Musiał, J. Summary of the 9th meeting of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies. In Proceedings of the Lupus; SAGE Publications Ltd, 2014; Vol. 23, pp. 395–399.
104. Ruffatti, A.; Tonello, M.; Visentin, M.S.; Bontadi, A.; Hoxha, A.; De Carolis, S.; Botta, A.; Salvi, S.; Nuzzo, M.; Rovere-Querini, P.; et al. Risk factors for pregnancy failure in patients with anti-phospholipid syndrome treated with conventional therapies: A multicentre, case-control study. *Rheumatology* **2011**, *50*, 1684–1689, doi:10.1093/rheumatology/ker139.
105. Reverter, J.C.; Tàssies, D.; Font, J.; Monteagudo, J.; Escolar, G.; Ingelmo, M.; Ordinas, A. Hypercoagulable state in patients with antiphospholipid syndrome is related to high induced tissue factor expression on monocytes and to low free protein S. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **1996**, *16*, 1319–1326, doi:10.1161/01.ATV.16.11.1319.
106. Reverter, J.C.; Tàssies, D.; Font, J.; Khamashta, M.A.; Ichikawa, K.; Cervera, R.; Escolar, G.; Hughes, G.R.V.; Ingelmo, M.; Ordinas, A. Effects of human monoclonal anticardiolipin antibodies on platelet function and on tissue factor expression on monocytes. *Arthritis Rheum.* **1998**, *41*, 1420–1427, doi:10.1002/1529-0131(199808)41:8<1420::AID-ART11>3.0.CO;2-U.
107. Oosting, J.; Derksen, R.; Blokzijl, L.; Sixma, J.; de Groot, P. Antiphospholipid antibody positive sera enhance endothelial cell procoagulant activity--studies in a thrombosis model. *Thromb Haemost* **1992**, *68*, 278–284.
108. Branch, D.W.; Rodgers, G.M. Induction of endothelial cell tissue factor activity by sera from patients with antiphospholipid syndrome: A possible mechanism of thrombosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1993**, *168*, 206–210, doi:10.1016/S0002-9378(12)90915-1.
109. Jara, L.J.; Medina, G.; Vera-Lastra, O.; Amigo, M.C. Accelerated atherosclerosis, immune response and autoimmune rheumatic diseases. In Proceedings of the Autoimmunity Reviews; Autoimmun Rev, 2006; Vol. 5, pp. 195–201.



110. Pahor, A.; Hojs, R.; Holc, I.; Ambrožič, A.; Čučnik, S.; Kveder, T.; Rozman, B. Antiphospholipid antibodies as a possible risk factor for atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Immunobiology* **2006**, *211*, 689–694, doi:10.1016/j.imbio.2006.01.004.
111. Matsuura, E.; Kobayashi, K.; Tabuchi, M.; Lopez, L.R. Accelerated Atheroma in the Antiphospholipid Syndrome. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 2006, *32*, 537–551.
112. Vlachoyiannopoulos, P.G.; Samarkos, M. Peripheral vascular disease in antiphospholipid syndrome. In Proceedings of the Thrombosis Research; Thromb Res, 2004; Vol. 114, pp. 509–519.
113. Ambrosino, P.; Lupoli, R.; Di Minno, A.; Iervolino, S.; Peluso, R.; Di Minno, M.N.D. Markers of cardiovascular risk in patients with antiphospholipid syndrome: A meta-analysis of literature studies. *Ann. Med.* **2014**, *46*, 693–702, doi:10.3109/07853890.2014.959559.
114. Soltész, P.; Kerekes, G.; Dér, H.; Szücs, G.; Szántó, S.; Kiss, E.; Bodolay, E.; Zeher, M.; Timár, O.; Szodoray, P.; et al. Comparative assessment of vascular function in autoimmune rheumatic diseases: Considerations of prevention and treatment. *Autoimmun. Rev.* 2011, *10*, 416–425.
115. Bilora, F.; Boccioletti, V.; Girolami, B.; Zanon, E.; Armani, M.; Petrobelli, F.; Girolami, A. Are antiphospholipid antibodies an independent risk factor for atherosclerosis? *Clin. Appl. Thromb.* **2002**, *8*, 103–113, doi:10.1177/107602960200800205.
116. Petri, M. Update on anti-phospholipid antibodies in SLE: The Hopkins Lupus Cohort. *Lupus* 2010, *19*, 419–423.
117. Christodoulou, C.; Zain, M.; Bertolaccini, M.L.; Sangle, S.; Khamashta, M.A.; Hughes, G.R.V.; D’Cruz, D.P. Prevalence of an abnormal ankle-brachial index in patients with antiphospholipid syndrome with pregnancy loss but without thrombosis: A controlled study. *Ann. Rheum. Dis.* 2006, *65*, 683–684.
118. Christodoulou, C.; Sangle, S.; D’Cruz, D.P. Vasculopathy and arterial stenotic lesions in the antiphospholipid syndrome. *Rheumatology* 2007, *46*, 907–910.

## VII. Bibliografia

119. Bertolaccini, M.L.; Amengual, O.; Andreoli, L.; Atsumi, T.; Chighizola, C.B.; Forastiero, R.; de Groot, P.; Lakos, G.; Lambert, M.; Meroni, P.; et al. 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force. Report on antiphospholipid syndrome laboratory diagnostics and trends. *Autoimmun. Rev.* 2014, *13*, 917–930.
120. Sciascia, S.; Sanna, G.; Murru, V.; Roccatello, D.; Khamashta, M.A.; Bertolaccini, M.L. Anti-prothrombin (aPT) and anti-phosphatidylserine/prothrombin (aPS/PT) antibodies and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome a systematic review. *Thromb. Haemost.* **2013**, *111*, 354–364, doi:10.1160/TH13-06-0509.
121. Bertolaccini, M.L.; Gomez, S.; Pareja, J.F.P.; Theodoridou, A.; Sanna, G.; Hughes, G.R.V.; Khamashta, M.A. Antiphospholipid antibody tests: Spreading the net. *Ann. Rheum. Dis.* **2005**, *64*, 1639–1643, doi:10.1136/ard.2005.035824.
122. Atsumi, T.; Amengual, O.; Yasuda, S.; Koike, T. Antiprothrombin antibodies - Are they worth assaying? In Proceedings of the Thrombosis Research; Thromb Res, 2004; Vol. 114, pp. 533–538.
123. Bertolaccini, M.L.; Amengual, O.; Atsumi, T.; Binder, W.L.; De Laat, B.; Forastiero, R.; Kutteh, W.H.; Lambert, M.; Matsubayashi, H.; Murthy, V.; et al. “Non-criteria” aPL tests: Report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. In Proceedings of the Lupus; SAGE Publications Ltd, 2011; Vol. 20, pp. 191–205.
124. Ghirardello, A.; Bizzaro, N.; Zampieri, S.; Iaccarino, L.; Bassi, N.; Tozzoli, R.; Ruffatti, A.; Villalta, D.; Tonutti, E.; Doria, A. Biological and clinical relevance of anti-prothrombin antibodies. In Proceedings of the Annals of the New York Academy of Sciences; Blackwell Publishing Inc., 2007; Vol. 1109, pp. 503–510.
125. Hughes, G.R.V.; Khamashta, M.A. ‘Seronegative antiphospholipid syndrome’: an update. *Lupus* 2019, *28*, 273–274.
126. Truglia, S.; Capozzi, A.; Mancuso, S.; Recalchi, S.; Spinelli, F.R.; Perricone, C.; De Carolis, C.; Manganelli, V.; Riitano, G.; Garofalo, T.; et al. A monocentric cohort of obstetric seronegative anti-phospholipid syndrome. *Front. Immunol.* **2018**, *9*, doi:10.3389/fimmu.2018.01678.

127. Nayfe, R.; Uthman, I.; Aoun, J.; Aldin, E.S.; Merashli, M.; Khamashta, M.A. Seronegative antiphospholipid syndrome. *Rheumatol. (United Kingdom)* **2013**, *52*, 1358–1367, doi:10.1093/rheumatology/ket126.
128. Salle, V.; Mazière, J.C.; Smail, A.; Cévallos, R.; Mazière, C.; Fuentes, V.; Tramier, B.; Makdassi, R.; Choukroun, G.; Vittecoq, O.; et al. Anti-annexin II antibodies in systemic autoimmune diseases and antiphospholipid syndrome. *J. Clin. Immunol.* **2008**, *28*, 291–297, doi:10.1007/s10875-008-9188-1.
129. Cesarman-Maus, G.; Ríos-Luna, N.P.; Deora, A.B.; Huang, B.; Villa, R.; Cravioto, M.D.C.; Alarcón-Segovia, D.; Sánchez-Guerrero, J.; Hajjar, K.A. Autoantibodies against the fibrinolytic receptor, annexin 2, in antiphospholipid syndrome. *Blood* **2006**, *107*, 4375–4382, doi:10.1182/blood-2005-07-2636.
130. Bećarević, M. The IgG and IgM isotypes of anti-annexin A5 antibodies: relevance for primary antiphospholipid syndrome. *J. Thromb. Thrombolysis* 2016, *42*, 552–557.
131. Ortona, E.; Capozzi, A.; Colasanti, T.; Conti, F.; Alessandri, C.; Longo, A.; Garofalo, T.; Margutti, P.; Misasi, R.; Khamashta, M.A.; et al. Vimentin/cardioliipin complex as a new antigenic target of the antiphospholipid syndrome. *Blood* **2010**, *116*, 2960–2967, doi:10.1182/blood-2010-04-279208.
132. Valesini, G.; Alessandri, C. New facet of antiphospholipid antibodies. In Proceedings of the Annals of the New York Academy of Sciences; New York Academy of Sciences, 2005; Vol. 1051, pp. 487–497.
133. Sciascia, S.; Amigo, M.C.; Roccatello, D.; Khamashta, M. Diagnosing antiphospholipid syndrome: “extra-criteria” manifestations and technical advances. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2017, *13*, 548–560.
134. Zohoury, N.; Bertolaccini, M.L.; Rodriguez-Garcia, J.L.; Shums, Z.; Ateka-Barrutia, O.; Sorice, M.; Norman, G.L.; Khamashta, M. Closing the serological gap in the antiphospholipid syndrome: The value of “non-criteria” antiphospholipid antibodies. *J. Rheumatol.* **2017**, *44*, 1597–1602, doi:10.3899/jrheum.170044.
135. Radin, M.; Foddai, S.G.; Cecchi, I.; Rubini, E.; Schreiber, K.; Roccatello, D.; Bertolaccini, M.L.; Sciascia, S. Antiphosphatidylserine/Prothrombin Antibodies: An Update on Their Association with Clinical Manifestations of Antiphospholipid Syndrome. *Thromb. Haemost.* **2020**, *120*, 592–598, doi:10.1055/s-0040-1705115.

## VII. Bibliografia

136. Marozio, L.; Curti, A.; Botta, G.; Canuto, E.M.; Salton, L.; Tavella, A.M.; Benedetto, C. Anti-prothrombin antibodies are associated with adverse pregnancy outcome. *Am. J. Reprod. Immunol.* **2011**, *66*, 404–409, doi:10.1111/j.1600-0897.2011.01031.x.
137. Vlagea, A.; Gil, A.; Cuesta, M. V.; Arribas, F.; Diez, J.; Lavilla, P.; Pascual-Salcedo, D. Antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies (aPS/PT) as potential markers of antiphospholipid syndrome. *Clin. Appl. Thromb.* **2013**, *19*, 289–296, doi:10.1177/1076029612437578.
138. Akimoto, T.; Akama, T.; Saitoh, M.; Kono, I.; Sumida, T. Antiprothrombin autoantibodies in severe preeclampsia and abortion. *Am. J. Med.* **2001**, *110*, 188–191, doi:10.1016/S0002-9343(00)00694-X.
139. Žigon, P.; Čučnik, S.; Ambrožič, A.; Kveder, T.; Šemrl, S.S.; Rozman, B.; Božič, B. Detection of antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies and their potential diagnostic value. *Clin. Dev. Immunol.* **2013**, *2013*, doi:10.1155/2013/724592.
140. Forastiero, R.; Martinuzzo, M.; Cerrato, G.; Kordich, L.; Carreras, L. Relationship of anti beta2-glycoprotein I and anti prothrombin antibodies to thrombosis and pregnancy loss in patients with antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* **1997**, *78*, 1008–1014.
141. Sugiura-Ogasawara, M.; Atsumi, T.; Ozaki, Y.; Koike, T.; Suzumori, K. Phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibodies are not useful markers for high-risk women with recurrent miscarriages. *Fertil. Steril.* **2004**, *82*, 1440–1442, doi:10.1016/j.fertnstert.2004.06.034.
142. Sciascia, S.; Murru, V.; Sanna, G.; Roccatello, D.; Khamashta, M.A.; Bertolaccini, M.L. Clinical accuracy for diagnosis of antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus: Evaluation of 23 possible combinations of antiphospholipid antibody specificities. *J. Thromb. Haemost.* **2012**, *10*, 2512–2518, doi:10.1111/jth.12014.
143. Bertolaccini, M.L.; Sanna, G. Recent advances in understanding antiphospholipid syndrome. *F1000Research* 2016, *5*.
144. Pengo, V.; Tripodi, A.; Reber, G.; Rand, J.H.; Ortel, T.L.; Galli, M.; De groot, P.G. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J. Thromb. Haemost.* **2009**, *7*, 1737–1740.

145. Yasuda, M.; Takakuwa, K.; Tokunaga A; Tanaka, K. Prospective Studies of the Association Between Anticardiolipin Antibody and Outcome of Pregnancy. *Obstet. Gynecol.* **1995**, *86*, 555–559, doi:10.1016/0029-7844(95)00247-o.
146. Lockwood, C.J.; Romero, R.; Feinberg, R.F.; Clyne, L.P.; Coster, B.; Hobbins, J.C. The prevalence and biologic significance of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a general obstetric population. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1989**, *161*, 369–373, doi:10.1016/0002-9378(89)90522-X.
147. Lynch, A.; Marlar, R.; Murphy, J.; Davila, G.; Santos, M.; Rutledge, J.; Emlen, W. Antiphospholipid antibodies in predicting adverse pregnancy outcome: A prospective study. *Ann. Intern. Med.* **1994**, *120*, 470–475, doi:10.7326/0003-4819-120-6-199403150-00004.
148. Matthiesen, L.S.; Berg, G.; Ernerudh, J.; Skogh, T. A prospective study on the occurrence of autoantibodies in low-risk pregnancies. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **1999**, *83*, 21–26, doi:10.1016/S0301-2115(98)00233-4.
149. Tsapanos, V.; Kanellopoulos, N.; Cardamakis, E.; Fotopoulos, A.; Schinas, V.; Kondakis, X.; Tzingounis, V. Anticardiolipin antibodies levels in healthy pregnant and non-pregnant woman. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2000**, *263*, 111–115, doi:10.1007/s004040050007.
150. Allen, J.Y.; Tapia-Santiago, C.; Kutteh, W.H. Antiphospholipid antibodies in patients with preeclampsia. *Am. J. Reprod. Immunol.* **1996**, *36*, 81–85, doi:10.1111/j.1600-0897.1996.tb00143.x.
151. Yamamoto, T.; Yoshimura, S.; Geshi, Y.; Sasamori, Y.; Okinaga, S.; Kobayashi, T.; Mori, H. Measurement of antiphospholipid antibody by ELISA using purified beta 2-glycoprotein I in preeclampsia. **1993**, *94*, 196–200.
152. Branch, D.; Andres, R.; Digre, K.; Rote, N.; Scott, J. The association of antiphospholipid antibodies with severe preeclampsia. *Obs. Gynecol* **1989**, *73*, 541–545.
153. Arun Rao, A.; Ananthakrishna, N.C. Anticardiolipin antibodies in eclampsia. *Int. J. Gynecol. Obstet.* **1992**, *38*, 37–40, doi:10.1016/0020-7292(92)90727-Z.
154. Dreyfus, M.; Hedelin, G.; Kutnahorsky, R.; Lehmann, M.; Viville, B.; Langer, B.; Fleury, A.; M'Barek, M.; Treisser, A.; Wiesel, M.L.; et al. Antiphospholipid antibodies and preeclampsia: A case-control study. *Obstet. Gynecol.* **2001**, *97*, 29–34, doi:10.1016/S0029-7844(00)01099-1.

## VII. Bibliografía

155. Radin, M.; Cecchi, I.; Pérez-Sánchez, C. Antiphospholipid antibodies negativization: Time for testing for non-criteria aPL? *Lupus* 2017, *26*, 1457–1458.
156. Sciascia, S.; Radin, M.; Bazzan, M.; Roccatello, D. Novel diagnostic and therapeutic frontiers in thrombotic anti-phospholipid syndrome. *Intern. Emerg. Med.* 2017, *12*.
157. Yamada, H.; Tsutsumi, A.; Ichikawa, K.; Kato, E.; Koike, T.; Fujimoto, S. IgA-class anti-beta2-glycoprotein I in women with unexplained recurrent spontaneous abortion. *Arthritis Rheum.* **1999**, *42*, doi:10.1002/1529-0131(199912)42:12<2727::AID-ANR33>3.0.CO;2-Q.
158. Lee, R.M.; Branch, D.W.; Silver, R.M. Immunoglobulin A anti-β2-glycoprotein antibodies in women who experience unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained fetal death. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2001**, *185*, 748–753, doi:10.1067/mob.2001.117659.
159. Meijide, H.; Sciascia, S.; Sanna, G.; Khamashta, M.A.; Bertolaccini, M.L. The clinical relevance of IgA anticardiolipin and IgA anti-β2 glycoprotein I antiphospholipid antibodies. A systematic review. *Autoimmun. Rev.* 2013, *12*, 421–425.
160. Pengo, V.; Del Ross, T.; Ruffatti, A.; Bison, E.; Cattini, M.G.; Pontara, E.; Testa, S.; Legnani, C.; Pozzi, N.; Peterle, D.; et al. Lupus anticoagulant identifies two distinct groups of patients with different antibody patterns. *Thromb. Res.* **2018**, *172*, 172–178, doi:10.1016/j.thromres.2018.11.003.
161. Hoxha, A.; Ruffatti, A.; Mattia, E.; Meneghel, L.; Tonello, M.; Salvan, E.; Pengo, V.; Punzi, L. Relationship between antiphosphatidylserine/prothrombin and conventional antiphospholipid antibodies in primary antiphospholipid syndrome. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2015**, *53*, 1265–1270, doi:10.1515/cclm-2014-1129.
162. Galli, M.; Borrelli, G.; Jacobsen, E.M.; Marfisi, R.M.; Finazzi, G.; Marchioli, R.; Wisloff, F.; Marziali, S.; Morboeuf, O.; Barbui, T. Clinical significance of different antiphospholipid antibodies in the WAPS (warfarin in the antiphospholipid syndrome) study. *Blood* **2007**, *110*, 1178–1183, doi:10.1182/blood-2007-01-066043.

163. Naess, I.A.; Christiansen, S.C.; Cannegieter, S.C.; Rosendaal, F.R.; Hammerstroem, J. A prospective study of anticardiolipin antibodies as a risk factor for venous thrombosis in a general population (the HUNT study). *J. Thromb. Haemost.* **2006**, *4*, 44–49, doi:10.1111/j.1538-7836.2005.01691.x.
164. Abou-Nassar, K.; Carrier, M.; Ramsay, T.; Rodger, M.A. The association between antiphospholipid antibodies and placenta mediated complications: A systematic review and meta-analysis. *Thromb. Res.* **2011**, *128*, 77–85, doi:10.1016/j.thromres.2011.02.006.
165. Do Prado, A.D.; Piovesan, D.M.; Staub, H.L.; Horta, B.L. Association of anticardiolipin antibodies with preeclampsia: A systematic review and meta-analysis. *Obstet. Gynecol.* **2010**, *116*, 1433–1443.
166. Heilmann, L.; Schneider, D.M.; Tempelhoff, C.F.; Kuse, S. Antiphospholipid-antibodies and other thrombophilic defects in patients with a history of early onset severe preeclampsia or HELLP-syndrome. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* **2000**, *60*, 95–100, doi:10.1055/s-2000-5987.
167. Branch, D.W.; Porter, T.F.; Rittenhouse, L.; Caritis, S.; Sibai, B.; Hogg, B.; Lindheimer, M.D.; Klebanoff, M.; MacPherson, C.; VanDorsten, J.P.; et al. Antiphospholipid antibodies in women at risk for preeclampsia. In *Proceedings of the American Journal of Obstetrics and Gynecology*; Mosby Inc., 2001; Vol. 184, pp. 825–834.
168. Valdés-Macho, E.; Cabiedes, J.; Villa, A.R.; Cabral, A.R.; Alarcón-Segovia, D. Anticardiolipin and anti- $\beta$ 2-glycoprotein-I antibodies in hypertensive disorders of pregnancy. *Arch. Med. Res.* **2002**, *33*, 460–465, doi:10.1016/S0188-4409(02)00367-3.
169. Taylor, P. V.; Skerrow, S.M.; Redman, C.W.G. Pre-eclampsia and anti-phospholipid antibody. *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* **1991**, *98*, 604–606, doi:10.1111/j.1471-0528.1991.tb10382.x.
170. Dekker, G.A.; de Vries, J.I.P.; Doelitzsch, P.M.; Huijgens, P.C.; von Blomberg, B.M.E.; Jakobs, C.; van Geijn, H.P. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1995**, *173*, 1042–1048, doi:10.1016/0002-9378(95)91324-6.

## VII. Bibliografía

171. Kurki, T.; Ailus, K.; Palosuo, T.; Ylikorkala, O. Antibodies to oxidized low-density lipoprotein, cardiolipin, and phosphatidyl serine fail to predict the risk of preeclampsia. *Hypertens. Pregnancy* **1996**, *15*, 251–256, doi:10.3109/10641959609015708.
172. D'Anna, R.; Scilipoti, A.; Leonardi, J.; Scuderi, M.; Jasonni, V.; Leonardi, R. Anticardiolipin antibodies in pre-eclampsia and intrauterine growth retardation. *Clin Exp Obs. Gynecol* **1997**, *24*, 135–137.
173. Martínez-Abundis, E.; González-Ortiz, M.; Cortés-Llamas, V.; Salazar-Páramo, M. Anticardiolipin antibodies and the severity of preeclampsia-eclampsia. *Gynecol. Obstet. Invest.* **1999**, *48*, 168–171, doi:10.1159/000010166.
174. Von Tempelhoff, G.F.; Heilmann, L.; Spanuth, E.; Kunzmann, E.; Hommel, G. Incidence of the Factor V Leiden-mutation, coagulation inhibitor deficiency, and elevated antiphospholipid-antibodies in patients with preeclampsia or HELLP-Syndrome. *Thromb. Res.* 2000, *100*, 363–365.
175. Nestorowicz, B.; Ostanek, L.; Ronin-Walknowska, E.; Fidorowicz-Fabrycy, I.; Skoczowska, M.; Czajkowska, E.; Fischer, K. Antiphospholipid antibodies in high-risk pregnancy. *Ginekol Pol* **2000**, *71*, 500–508.
176. Lee, R.M.; Brown, M.A.; Branch, D.W.; Ward, K.; Silver, R.M. Anticardiolipin and anti- $\beta$ 2-glycoprotein-I antibodies in preeclampsia. *Obstet. Gynecol.* **2003**, *102*, 294–300, doi:10.1016/S0029-7844(03)00477-0.
177. Marchetti, T.; de Moerloose, P.; Gris, J.C. Antiphospholipid antibodies and the risk of severe and non-severe pre-eclampsia: The NOHA case-control study. *J. Thromb. Haemost.* **2016**, *14*, 675–684, doi:10.1111/jth.13257.
178. Kujovich, J.L. Thrombophilia and pregnancy complications. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2004, *191*, 412–424.
179. Oku, K.; Amengual, O.; Atsumi, T. Pathophysiology of thrombosis and pregnancy morbidity in the antiphospholipid syndrome. *Eur. J. Clin. Invest.* 2012, *42*, 1126–1135.
180. Bona, C.A. Postulates defining pathogenic autoantibodies and t cells. *Autoimmunity* 1991, *10*, 169–172.



181. Pierangeli, S.; Barker, J.; Stikovac, D.; Ackerman, D.; Anderson, G.; Barquinero, J.; Acland, R.; Harris, E. Effect of human IgG antiphospholipid antibodies on an in vivo thrombosis model in mice. *Thromb Haemost* **1994**, *71*, 670–674.
182. Pierangeli, S.; Liu, X.; Barker, J.; Anderson, G.; Harris, E. Induction of thrombosis in a mouse model by IgG, IgM and IgA immunoglobulins from patients with the antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost* **1995**, *74*, 1361–1367.
183. Pierangeli, S.S.; Liu, X.W.; Anderson, G.; Barker, J.H.; Harris, E.N. Thrombogenic properties of murine anti-cardiolipin antibodies induced by  $\beta$ 2 glycoprotein 1 and human immunoglobulin G antiphospholipid antibodies. *Circulation* **1996**, *94*, 1746–1751, doi:10.1161/01.CIR.94.7.1746.
184. Olee, T.; Pierangeli, S.S.; Handley, H.H.; Le, D.T.; Wei, X.; Lai, C.J.; En, J.; Novotny, W.; Harris, E.N.; Woods, V.L.; et al. A monoclonal IgG anticardiolipin antibody from a patient with the antiphospholipid syndrome is thrombogenic in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1996**, *93*, 8606–8611, doi:10.1073/pnas.93.16.8606.
185. Fernández-Fresnedo, G.; López-Hoyos, M.; San Segundo, D.; Crespo, J.; Ruiz, J.C.; De Francisco, A.L.M.; Arias, M. Clinical significance of antiphospholipid antibodies on allograft and patient outcome after kidney transplantation. In Proceedings of the Transplantation Proceedings; Transplant Proc, 2005; Vol. 37, pp. 3710–3711.
186. López-Escribano, H.; Miñambres, E.; Labrador, M.; Bartolomé, M.J.; López-Hoyos, M. Induction of cell death by sera from patients with acute brain injury as a mechanism of production of autoantibodies. *Arthritis Rheum.* **2002**, *46*, 3290–3300, doi:10.1002/art.10684.
187. Lampinen, K.H.; Rönneck, M.; Kaaja, R.J.; Groop, P.H. Impaired vascular dilatation in women with a history of pre-eclampsia. *J. Hypertens.* **2006**, *24*, 751–756, doi:10.1097/01.hjh.0000217859.27864.19.
188. Wu, P.; Haththotuwa, R.; Kwok, C.S.; Babu, A.; Kotronias, R.A.; Rushton, C.; Zaman, A.; Fryer, A.A.; Kadam, U.; Chew-Graham, C.A.; et al. Preeclampsia and future cardiovascular health. *Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes* **2017**, *10*.
189. Bellamy, L.; Casas, J.P.; Hingorani, A.D.; Williams, D.J. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: Systematic review and meta-analysis. *Br. Med. J.* **2007**, *335*, 974–977, doi:10.1136/bmj.39335.385301.BE.

## VII. Bibliografía

190. Vaarala, O. Antiphospholipid antibodies and atherosclerosis. In Proceedings of the Lupus; SAGE Publications Ltd, 1996; Vol. 5, pp. 442–447.
191. Petri, M. Detection of coronary artery disease and the role of traditional risk factors in the Hopkins Lupus Cohort. *Lupus* 2000, *9*, 170–175.
192. Velásquez, M.; Rojas, M.; Abrahams, V.M.; Escudero, C.; Cadavid, Á.P. Mechanisms of Endothelial Dysfunction in Antiphospholipid Syndrome: Association With Clinical Manifestations. *Front. Physiol.* **2018**, *9*, doi:10.3389/fphys.2018.01840.
193. Polytaichou, K.; Varvarousis, D.; Manolis, A.S. Cardiovascular Disease in Antiphospholipid Syndrome. *Curr. Vasc. Pharmacol.* **2019**, *18*, 538–548, doi:10.2174/1570161117666190830101341.
194. Di Minno, M.N.D.; Emmi, G.; Ambrosino, P.; Scalera, A.; Tufano, A.; Cafaro, G.; Peluso, R.; Bettiol, A.; Di Scala, G.; Silvestri, E.; et al. Subclinical atherosclerosis in asymptomatic carriers of persistent antiphospholipid antibodies positivity: A cross-sectional study. *Int. J. Cardiol.* **2019**, *274*, 1–6, doi:10.1016/j.ijcard.2018.06.010.
195. Nicolo, D.; Monestier, M. Antiphospholipid antibodies and atherosclerosis. *Clin. Immunol.* **2004**, *112*, 183–189, doi:10.1016/j.clim.2004.02.016.
196. Sherer, Y.; Shoenfeld, Y. Antiphospholipid antibodies: Are they pro-atherogenic or an epiphenomenon of atherosclerosis? *Immunobiology* 2003, *207*, 13–16.
197. Ross, R. Atherosclerosis - An inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999, *340*, 115–126.
198. Tomimatsu, T.; Mimura, K.; Matsuzaki, S.; Endo, M.; Kumasawa, K.; Kimura, T. Preeclampsia: Maternal systemic vascular disorder caused by generalized endothelial dysfunction due to placental antiangiogenic factors. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, *20*.
199. de Jager, S.C.A.; Meeuwse, J.A.L.; van Pijpen, F.M.; Zoet, G.A.; Barendrecht, A.D.; Franx, A.; Pasterkamp, G.; van Rijn, B.B.; Goumans, M.J.; den Ruijter, H.M. Preeclampsia and coronary plaque erosion: Manifestations of endothelial dysfunction resulting in cardiovascular events in women. *Eur. J. Pharmacol.* **2017**, *816*, 129–137, doi:10.1016/j.ejphar.2017.09.012.

200. Vega, L.B.; Fresnedo, G.F.; Ventura, J.I.; Toural, V.O.; Vicario, M.H.; Millán, J.C.R.S.; Rodrigo, E.; Hoyos, M.L. Non-criteria antiphospholipid antibodies: Risk factors for endothelial dysfunction in women with pre-eclampsia. *Life* **2020**, *10*, 1–16, doi:10.3390/life10100241.
201. Asmar, R.; Benetos, A.; Topouchian, J.; Laurent, P.; Pannier, B.; Brisac, A.M.; Target, R.; Levy, B.I. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement: Validation and clinical application studies. *Hypertension* **1995**, *26*, 485–490, doi:10.1161/01.HYP.26.3.485.
202. Taquet, A.; Bonithon-Kopp, C.; Simon, A.; Levenson, J.; Scarabin, Y.; Malmejac, A.; Ducimetiere, P.; Guize, L. Relations of cardiovascular risk factors to aortic pulse wave velocity in asymptomatic middle-aged women. *Eur. J. Epidemiol.* **1993**, *9*, 298–306, doi:10.1007/BF00146267.
203. Sequí-Domínguez, I.; Cavero-Redondo, I.; Álvarez-Bueno, C.; Pozuelo-Carrascosa, D.P.; Nuñez de Arenas-Arroyo, S.; Martínez-Vizcaíno, V. Accuracy of Pulse Wave Velocity Predicting Cardiovascular and All-Cause Mortality. A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 2080, doi:10.3390/jcm9072080.
204. Macedo, M.L.; Luminoso, D.; Savvidou, M.D.; McEniery, C.M.; Nicolaidis, K.H. Maternal wave reflections and arterial stiffness in normal pregnancy as assessed by applanation tonometry. *Hypertension* **2008**, *51*, 1047–1051, doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.106062.
205. Oyama-Kato, M.; Ohmichi, M.; Takahashi, K.; Suzuki, S.; Henmi, N.; Yokoyama, Y.; Kurachi, H. Change in pulse wave velocity throughout normal pregnancy and its value in predicting pregnancy-induced hypertension: A longitudinal study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2006**, *195*, 464–469, doi:10.1016/j.ajog.2006.01.104.
206. Khalil, A.; Jauniaux, E.; Cooper, D.; Harrington, K. Pulse wave analysis in normal pregnancy: A prospective longitudinal study. *PLoS One* **2009**, *4*, doi:10.1371/journal.pone.0006134.
207. Robb, A.O.; Din, J.N.; Mills, N.L.; Smith, I.B.J.; Blomberg, A.; Zikry, M.N.L.; Raftis, J.B.; Newby, D.E.; Denison, F.C. The influence of the menstrual cycle, normal pregnancy and pre-eclampsia on platelet activation. *Thromb. Haemost.* **2010**, *103*, 372–378, doi:10.1160/TH08-12-0780.
208. Hausvater, A.; Giannone, T.; Sandoval, Y.H.G.; Doonan, R.J.; Antonopoulos, C.N.; Matsoukis, I.L.; Petridou, E.T.; Daskalopoulou, S.S. The association between preeclampsia and arterial stiffness. *J. Hypertens.* **2012**, *30*, 17–33.

## VII. Bibliografia

209. McEniery, C.M.; Wallace, S.; MacKenzie, I.S.; McDonnell, B.; Newby, D.E.; Cockcroft, J.R.; Wilkinson, I.B. Endothelial function is associated with pulse pressure, pulse wave velocity, and augmentation index in healthy humans. *Hypertension* **2006**, *48*, 602–608, doi:10.1161/01.HYP.0000239206.64270.5f.
210. Girerd, X.; Laurent, S.; Pannier, B.; Asmar, R.; Safar, M. Arterial distensibility and left ventricular hypertrophy in patients with sustained essential hypertension. *Am. Heart J.* **1991**, *122*, 1210–1214, doi:10.1016/0002-8703(91)90941-A.
211. Farrar, D.J.; Bond, M.G.; Riley, W.A.; Sawyer, J.K. Anatomic correlates of aortic pulse wave velocity and carotid artery elasticity during atherosclerosis progression and regression in monkeys. *Circulation* **1991**, *83*, 1754–1763, doi:10.1161/01.CIR.83.5.1754.
212. Lyon, R.; Runyon-Hass, A.; Davis, H.; Glagov, S.; Zarins, C. Protection from atherosclerotic lesion formation by reduction of artery wall motion. *J Vasc Surg* **1987**, *5*, 59–67.
213. Cecelja, M.; Chowienczyk, P. Dissociation of aortic pulse wave velocity with risk factors for cardiovascular disease other than hypertension: A systematic review. *Hypertension* **2009**, *54*, 1328–1336, doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.137653.
214. Chen, Q.; Guo, F.; Hensby-Bennett, S.; Stone, P.; Chamley, L. Antiphospholipid antibodies prolong the activation of endothelial cells induced by necrotic trophoblastic debris: Implications for the pathogenesis of preeclampsia. *Placenta* **2012**, *33*, 810–815, doi:10.1016/j.placenta.2012.07.019.
215. Shahul, S.; Ramadan, H.; Mueller, A.; Nizamuddin, J.; Nasim, R.; Lopes Perdigao, J.; Chinthala, S.; Tung, A.; Rana, S. Abnormal mid-trimester cardiac strain in women with chronic hypertension predates superimposed preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* **2017**, *10*, 251–255, doi:10.1016/j.preghy.2017.10.009.
216. Vieira, M.C.; Begum, S.; Seed, P.T.; Badran, D.; Briley, A.L.; Gill, C.; Godfrey, K.M.; Lawlor, D.A.; Nelson, S.M.; Patel, N.; et al. Gestational diabetes modifies the association between PIGF in early pregnancy and preeclampsia in women with obesity. *Pregnancy Hypertens.* **2018**, *13*, 267–272, doi:10.1016/j.preghy.2018.07.003.

217. Barden, A.E.; Beilin, L.J.; Ritchie, J.; Walters, B.N.; Michael, C. Does a predisposition to the metabolic syndrome sensitize women to develop preeclampsia? *J. Hypertens.* **1999**, *17*, 1307–1315, doi:10.1097/00004872-199917090-00011.
218. González, A.; Ulloa Galván, G.; Alpuche, G.; Romero Arauz, J. Risk factors for preeclampsia. Multivariate analysis. *Ginecol Obs. Mex* **2000**, *68*, 357–362.
219. Eskenazi, B. A Multivariate Analysis of Risk Factors for Preeclampsia. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **1991**, *266*, 237, doi:10.1001/jama.1991.03470020063033.
220. Poorolajal, J.; Jenabi, E. The association between body mass index and preeclampsia: a meta-analysis. *J. Matern. Neonatal Med.* **2016**, *29*, 3670–3676.
221. He, X.J.; Dai, R. xue; Hu, C.L. Maternal prepregnancy overweight and obesity and the risk of preeclampsia: A meta-analysis of cohort studies. *Obes. Res. Clin. Pract.* **2020**, *14*, 27–33.
222. Lehmann, K.; Eklampsien; Danmark; Aarene Copenhagen, Denmark: Busck. *Copenhagen, Denmark: Busck* **1933**, 1918–1927.
223. 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.
224. England, L.; Zhang, J. Smoking and risk of preeclampsia: A systematic review. *Front. Biosci.* **2007**, *12*, 2471–2483.
225. Sibai, B.M.; El-Nazer, A.; Gonzalez-Ruiz, A. Severe preeclampsia-eclampsia in young primigravid women: Subsequent pregnancy outcome and remote prognosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1986**, *155*, 1011–1016, doi:10.1016/0002-9378(86)90336-4.
226. Sibai, B.M.; Mercer, B.; Sarinoglu, C. Severe preeclampsia in the second trimester: Recurrence risk and long-term prognosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1991**, *165*, 1408–1412, doi:10.1016/0002-9378(91)90379-6.
227. Pfau, A.; Sacks, T.G. Effective Prophylaxis for Recurrent Urinary Tract Infections during Pregnancy. *Clin. Infect. Dis.* **1992**, *14*, 810–814, doi:10.1093/clinids/14.4.810.

## VII. Bibliografía

228. Schieve, L.A.; Handler, A.; Hershow, R.; Persky, V.; Davis, F. Urinary tract infection during pregnancy: Its association with maternal morbidity and perinatal outcome. *Am. J. Public Health* **1994**, *84*, 405–410, doi:10.2105/AJPH.84.3.405.

## ***VIII. ANEXOS***





**Tabla Suplementaria 1. Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido clásicos en el total de la población.**

	Ausencia de Ac clásicos (n=126)	Presencia de Ac clásicos (n=31)	P
<b>Factores antropométricos, FRCV y enfermedades cardiovasculares</b>			
Edad (años)	34,9 ± 5,2	34,5 ± 4,7	0,643
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	27,3 ± 5,6	26,9 ± 5,8	0,691
Alteración IMC n (%)	77 (61,1%)	17 (54,8%)	0,523
Sobrepeso	46 (36,5%)	10 (32,3%)	0,658
Obesidad	31 (24,6%)	7 (22,6%)	0,814
DM n (%)	3 (2,4%)	---	---
Dislipemia n (%)	3 (2,4%)	1 (3,2%)	1,000
Tabaquismo n (%)	15 (11,9%)	2 (6,5%)	0,381
Trombosis arterial o venosa n (%)	---	---	---
ACVA n (%)	---	---	---
IAM n (%)	---	---	---
<b>Antecedentes obstétricos n (%)</b>			
Número de gestaciones previas			
Primípara	79 (62,7%)	19 (61,3%)	1,000
Una gestación	41 (32,5%)	9 (29,0%)	0,707
Dos o más gestaciones	20 (15,9%)	5 (16,1%)	0,972
Preeclampsia previa	8 (6,3%)	1 (3,2%)	0,503
Diabetes gestacional	3 (2,4%)	---	---
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular n (%)</b>			
Madre			
HTA	47 (37,3%)	10 (32,3%)	0,601
DM	26 (20,6%)	9 (29,0%)	0,314
IAM	7 (5,6%)	2 (6,5%)	0,848
ACVA	2 (1,6%)	6 (19,4%)	<0,001
Padre			
HTA	53 (42,1%)	13 (41,9%)	0,990
DM	40 (31,7%)	8 (25,8%)	0,520
IAM	23 (18,3%)	6 (19,4%)	0,887
ACVA	5 (4,0%)	---	---
<b>Datos de la gestación actual</b>			
Técnicas reproducción asistida n (%)	29 (23,0%)	6 (19,4%)	0,661
Embarazo múltiple n (%)	12 (9,5%)	---	---
Cesárea n (%)	71 (56,6%)	11 (35,5%)	0,037
Semana de parto	37,1 ± 3,2	36,7 ± 4,0	0,643
<b>Datos del recién nacido</b>			
APGAR recién nacido	8,2 ± 1,1	7,9 ± 1,3	0,235
Peso recién nacido	3.154,0 ± 657,0	2.805,3 ± 695,0	0,012
pH del cordón umbilical	7,3 ± 0,1	7,1 ± 0,2	0,008
CIR n (%)	12 (9,5%)	7 (22,6%)	0,046
<b>Complicaciones embarazo n (%)</b>			
Rotura prematura de membrana	5 (4,0%)	---	---
Oligoamnios	1 (0,8%)	2 (6,5%)	0,100
DPPNI	4 (3,2%)	3 (9,7%)	0,116

VIII. Anexo

<b>Complicaciones maternas n (%)</b>			
Preeclampsia	99 (78,6%)	23 (74,2%)	0,600
Eclampsia	2 (1,6%)	---	---
Síndrome de HELLP	15 (11,9%)	1 (3,2%)	0,152
Hemorragia	7 (5,6%)	1 (3,2%)	0,597
Diabetes gestacional	7 (5,6%)	4 (12,9%)	0,151
ITU	3 (2,4%)	1 (3,2%)	---
Otras	1 (0,8%)	3 (9,6%)	0,025
<b>Signos y síntomas n (%)</b>			
Cefalea	58 (46,0%)	17 (54,8%)	0,400
Epigastralgia	19 (15,1%)	5 (16,1%)	0,898
Fotopsias	14 (11,1%)	4 (12,9%)	0,790
Acúfenos	4 (3,2%)	1 (3,2%)	1,000
Edemas	68 (54,0%)	12 (38,7%)	0,118
<b>Alt analíticas durante el 3ºT n (%)</b>			
Proteinuria	89 (89,9%)	21 (91,3%)	1,000
Trombopenia	36 (28,6%)	9 (29,0%)	1,000
Alt. pruebas de función hepática	20 (15,9%)	4 (12,9%)	0,657
Deterioro de función renal	14 (11,11%)	4 (12,9%)	0,802

*Ac: anticuerpos, ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, CIR: retraso del crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, DPPNI: desprendimiento de placenta normalmente inserta, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, ITU: infección del tracto urinario, T: trimestre.*

**Tabla Suplementaria 2. Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido clásicos en la cohorte control.**

	Ausencia de Ac clásicos (n=27)	Presencia de Ac clásicos (n=8)	P
<b>Factores antropométricos, FRCV enfermedades cardiovasculares</b>			
Edad (años)	34,7 ± 5,1	36,9 ± 4,8	0,288
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	25,8 ± 6,7	22,3 ± 2,7	0,037
Alteración IMC n (%)	10 (37,0%)	1 (12,5%)	0,189
Sobrepeso	2 (7,4%)	1 (12,5%)	0,553
Obesidad	8 (29,6%)	---	---
DM n (%)	---	---	---
Dislipemia n (%)	3 (11,1%)	1 (12,5%)	---
Tabaquismo n (%)	5 (18,5%)	---	---
Trombosis arterial o venosa n (%)	---	---	---
ACVA n (%)	---	---	---
IAM n (%)	---	---	---
<b>Antecedentes obstétricos n (%)</b>			
Número de gestaciones previas			
Primípara	14 (51,9%)	6 (75,0%)	0,419
Una gestación	12 (44,4%)	2 (25,0%)	0,431
Dos o más gestaciones	5 (18,5%)	1 (12,5%)	1,000
Preeclampsia previa	5 (18,5%)	---	---
Diabetes gestacional	1 (3,7%)	---	---
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular n (%)</b>			
Madre			
HTA	5 (18,5%)	1 (12,5%)	1,000
DM	9 (33,3%)	4 (50,0%)	0,392
IAM	---	---	---
ACVA	---	1 (12,5%)	---
Padre			
HTA	5 (18,5%)	3 (37,5%)	0,261
DM	5 (18,5%)	2 (25,0%)	0,687
IAM	2 (7,4%)	1 (12,5%)	0,553
ACVA	---	---	---
<b>Datos de la gestación actual</b>			
Técnicas reproducción asistida n (%)	10 (37,0%)	5 (62,5%)	0,246
Embarazo múltiple n (%)	3 (11,1%)	---	---
Cesárea n (%)	10 (37,0)	1 (12,5%)	0,189
Semana de parto	38,5 ± 1,6	37,8 ± 2,7	0,340
<b>Datos del recién nacido</b>			
APGAR recién nacido	8,7 ± 0,6	8,6 ± 0,7	0,762
Peso recién nacido	3.533,9 ± 339,1	3592,5 ± 585,1	0,723
pH del cordón umbilical	7,3 ± 0,1	7,3 ± 0,1	0,663
CIR n (%)	---	---	---
<b>Complicaciones embarazo n (%)</b>			
Rotura prematura de membrana	2 (7,4%)	---	---
Oligoamnios	---	1 (12,5%)	---
DPPNI	---	---	---

<b>Complicaciones maternas n (%)</b>			
Hemorragia	---	1 (12,5%)	---
Diabetes gestacional	2 (7,4%)	---	---
ITU	---	---	---
Otras	---	---	---
<b>Signos y síntomas n (%)</b>			
Cefalea	1 (3,7%)	---	---
Epigastralgia	---	---	---
Fotopsias	---	---	---
Acúfenos	---	---	---
Edemas	---	---	---
<b>Alt analíticas durante el 3ºT n (%)</b>			
Proteinuria	---	---	---
Trombopenia	1 (3,7%)	---	---
Alt. pruebas de función hepática	---	---	---
Deterioro de función renal	---	---	---

*Ac: anticuerpos, ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, CIR: retraso del crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, DPPNI: desprendimiento de placenta normalmente inserta, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, ITU: infección del tracto urinario, T: trimestre.*

**Tabla Suplementaria 3. Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido clásicos en la cohorte preeclampsia.**

	Ausencia de Ac clásicos (n=99)	Presencia de Ac clásicos (n=23)	P
<b>Factores antropométricos, FRCV y enfermedades cardiovasculares</b>			
Edad (años)	35,0 ± 5,3	33,6 ± 4,5	0,247
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	27,7 ± 5,2	28,4 ± 5,8	0,560
Alteración IMC n (%)	67 (67,7%)	16 (69,6%)	0,861
Sobrepeso	44(44,4%)	9 (39,1%)	0,818
Obesidad	23 (23,2%)	7 (30,4%)	0,650
DM n (%)	3 (3,0%)	---	---
Dislipemia n (%)	---	---	---
Tabaquismo n (%)	10 (10,1%)	2 (8,7%)	0,838
Trombosis arterial o venosa (%)	---	---	---
ACVA n (%)	---	---	---
IAM n (%)	---	---	---
<b>Antecedentes obstétricos n (%)</b>			
Número de gestaciones previas			
Primípara	55 (55,6%)	12 (52,2%)	0,769
Una gestación	29 (29,3%)	7 (30,4%)	0,914
Dos o más gestaciones	15 (15,2%)	4 (17,4%)	0,790
Preeclampsia previa	3 (3,0%)	1 (4,3%)	0,571
Diabetes gestacional	2 (2,0%)	---	---
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular n (%)</b>			
Madre			
HTA	42 (42,4%)	9 (39,1%)	0,773
DM	17 (17,2%)	5 (21,7%)	0,608
IAM	7 (7,1%)	2 (8,7%)	0,788
ACVA	2 (2,0%)	5 (21,7%)	<0,001
Padre			
HTA	48 (48,5%)	10 (43,5%)	0,665
DM	35 (35,4%)	6 (26,1%)	0,397
IAM	21 (21,2%)	5 (21,7%)	0,956
ACVA	5 (5,1%)	---	---
<b>Datos de la gestación actual</b>			
Técnicas reproducción asistida n (%)	19 (19,2%)	1 (4,3%)	0,083
Embarazo múltiple n (%)	9 (9,1%)	---	---
Cesárea n (%)	61 (61,6%)	10 (43,5%)	0,112
Semana de parto	36,7 ± 3,4	36,4 ± 4,4	0,742
<b>Datos del recién nacido</b>			
APGAR recién nacido	8,0 ± 1,2	7,6 ± 1,3	0,157
Peso recién nacido	3.041,8 ± 686,8	2.519,1 ± 480,7	0,001
pH del cordón umbilical	7,2 ± 0,1	7,1 ± 0,2	0,005
CIR n (%)	12 (12,1%)	7 (30,4%)	---
<b>Complicaciones embarazo n (%)</b>			
Rotura prematura de membrana	3 (3,0%)	---	---
Oligoamnios	1 (1,0%)	1 (4,3%)	0,343
DPPNI	4 (4,0%)	3 (13,0%)	0,240

VIII. Anexo

<b>Complicaciones maternas n (%)</b>			
Eclampsia	2 (2,0%)	---	---
Síndrome de HELLP	15 (15,2%)	1 (4,3%)	0,298
Hemorragia	7 (7,1%)	---	---
Diabetes gestacional	5(5,1%)	4(17,4%)	0,110
ITU	3 (3,0%)	1 (4,3%)	0,571
Otras	1 (1,0%)	3 (12,9%)	0,021
<b>Signos y síntomas n (%)</b>			
Cefalea	58 (58,6%)	17 (73,9%)	0,262
Epigastralgia	19 (19,2%)	5 (21,7%)	1,000
Fotopsias	14 (14,1%)	4 (17,4%)	0,945
Acúfenos	4 (4,0%)	1 (4,3%)	1,000
Edemas	68 (68,7%)	12 (52,2%)	0,208
<b>Alt analíticas durante el 3ºT n (%)</b>			
Proteinuria	89 (89,9%)	21 (91,3%)	1,000
Trombopenia	35 (35,4%)	9 (39,1%)	0,921
Alt. pruebas de función hepática	20 (20,2%)	4 (17,4%)	0,989
Deterioro de función renal	14 (14,1%)	4 (17,4%)	0,945

*Ac: anticuerpos, ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, CIR: retraso del crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, DPPNI: desprendimiento de placenta normalmente inserta, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, ITU: infección del tracto urinario, T: trimestre.*

**Tabla Suplementaria 4. Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina IgM en el total de la población.**

	Ausencia de aPS/PT IgM (n=94)	Presencia de aPS/PT IgM (n=63)	P
<b>Factores antropométricos, FRCV y enfermedades cardiovasculares</b>			
Edad (años)	35,0 ± 5,3	34,6 ± 4,9	0,565
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26,8 ± 5,4	27,9 ± 5,8	0,188
Alteración IMC n (%)	54 (57,4%)	40 (63,5%)	0,554
Sobrepeso	34 (36,2%)	22 (34,9%)	1,000
Obesidad	20 (21,3%)	18 (28,6%)	0,392
DM n (%)	2 (2,1%)	1 (1,6%)	1,000
Dislipemia n (%)	3 (3,2%)	1 (1,6%)	0,650
Tabaquismo n (%)	8 (8,5%)	9 (14,3%)	0,379
Trombosis arterial o venosa n (%)	---	---	---
ACVA n (%)	---	---	---
IAM n (%)	---	---	---
<b>Antecedentes obstétricos n (%)</b>			
Número de gestaciones previas			
Primípara	59 (62,8%)	39 (61,9%)	1,000
Una gestación	33 (35,1%)	17 (27,0%)	0,370
Dos o más gestaciones	13 (12,8%)	12 (20,6%)	0,514
Preeclampsia previa	4 (4,3%)	5 (7,9%)	0,331
Diabetes gestacional	1 (1,1%)	2 (3,2%)	0,565
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular</b>			
Madre			
HTA	33 (35,1%)	24 (38,1%)	0,832
DM	20 (21,3%)	15 (23,8%)	0,859
IAM	3 (3,2%)	6 (9,5%)	0,186
ACVA	4 (4,3%)	4 (6,3%)	0,715
Padre			
HTA	34 (36,2%)	32 (50,8%)	0,098
DM	25 (26,5%)	23 (36,5%)	0,252
IAM	16 (17,0%)	13 (20,6%)	0,717
ACVA	2 (2,1%)	3 (4,8%)	0,391
<b>Datos de la gestación actual</b>			
Técnicas reproducción asistida n (%)	29 (30,9%)	6 (9,5%)	0,003
Embarazo múltiple n (%)	9 (9,6%)	3 (4,8%)	0,420
Cesárea n (%)	49 (52,1%)	33 (52,4%)	1,000
Semana de parto	37,1 ± 3,3	36,8 ± 3,5	0,543
<b>Datos del recién nacido</b>			
APGAR recién nacido	8,5 ± 0,9	7,5 ± 1,2	<0,001
Peso recién nacido	3.410,0 ± 558,8	2.564,9 ± 505,6	<0,001
pH del cordón umbilical	7,3 ± 0,1	7,2 ± 0,1	<0,001
CIR n (%)	4 (4,3%)	15 (23,8%)	<0,001
<b>Complicaciones embarazo n (%)</b>			
Rotura prematura de membrana	3 (3,2%)	2 (3,2%)	1,000
Oligoamnios	1 (1,1%)	2 (3,2%)	0,565
DPPNI	3 (3,2%)	4 (6,3%)	0,440

VIII. Anexo

<b>Complicaciones maternas n (%)</b>			
Preeclampsia	64 (68,1%)	58 (92,1%)	0,001
Eclampsia	1 (1,1%)	1 (1,6%)	1,000
Síndrome de HELLP	5 (5,3%)	11 (17,5%)	0,028
Hemorragia	6 (6,4%)	2 (3,2%)	0,477
Diabetes gestacional	7 (7,4%)	4 (6,3%)	1,000
ITU	3 (3,2%)	1 (1,6%)	0,650
Otras	1 (1,1%)	3 (4,8%)	0,456
<b>Signos y síntomas n (%)</b>			
Cefalea	36 (38,3%)	39 (61,9)	0,007
Epigastralgia	10 (10,6%)	14 (22,2)	0,085
Fotopsias	9 (9,6%)	9 (14,3)	0,530
Acúfenos	3 (3,2%)	2 (3,2)	1,000
Edemas	35 (37,2%)	45 (71,4)	<0,001
<b>Alt analíticas durante el 3ºT n (%)</b>			
Proteinuria	53 (56,4%)	57 (90,5%)	0,010
Trombopenia	13 (13,8%)	32 (50,8%)	<0,001
Alt. pruebas de función hepática	9 (8,5%)	15 (25,4%)	0,032
Deterioro de función renal	10 (10,6%)	8 (12,7%)	0,925

ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, CIR: retraso del crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, DPPNI: desprendimiento de placenta normalmente inserta, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, ITU: infección del tracto urinario, T: trimestre.



**Tabla Suplementaria 5. Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina IgM en la cohorte control.**

	Ausencia de aPS/PT IgM (n=30)	Presencia de aPS/PT IgM (n=5)	P
<b>Factores antropométricos, FRCV enfermedades cardiovasculares</b>			
Edad (años)	35,1 ± 5,3	35,7 ± 3,9	0,809
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	24,7 ± 6,1	27,0 ± 6,5	0,446
Alteración IMC n (%)	9 (39,0%)	2 (40%)	0,640
Sobrepeso	3 (10,0%)	---	---
Obesidad	6 (20,0%)	2 (40,0%)	0,568
DM n (%)	---	---	---
Dislipemia n (%)	3 (10,0%)	1 (20,0%)	0,477
Tabaquismo n (%)	5 (16,7%)	---	---
Trombosis arterial o venosa n (%)	---	---	---
ACVA n (%)	---	---	---
IAM n (%)	---	---	---
<b>Antecedentes obstétricos n (%)</b>			
Número de gestaciones previas			
Primípara	17 (56,7%)	3 (60,0%)	1,000
Una gestación	12 (40,0%)	2 (40,0%)	1,000
Dos o más gestaciones	6 (20,0%)	---	---
Preeclampsia previa	3 (10,0%)	2(40,0%)	0,139
Diabetes gestacional	1 (3,3%)	---	---
<b>Antecedentes familiares de factores de FRCV y patología cardiovascular</b>			
Madre			
HTA	5 (16,7%)	1 (20,0%)	1,000
DM	12 (40,0%)	1 (20,0%)	0,630
IAM	---	---	---
ACVA	---	1 (20,0%)	---
Padre			
HTA	7 /23,3%)	1 (20,0%)	1, 000
DM	7 (23,3%)	---	---
IAM	3 (10,0%)	---	---
ACVA	---	---	---
<b>Datos de la gestación actual</b>			
Técnicas reproducción asistida n (%)	14 (46,6%)	1 (20,0%)	0,365
Embarazo múltiple n (%)	3 (10,0%)	---	---
Cesárea n (%)	11 (36,7%)	---	---
Semana de parto	38,3 ± 2,0	38,6 ± 0,9	0,719
<b>Datos del recién nacido</b>			
APGAR recién nacido	8,9 ± 0,3	7,6 ± 0,9	0,033
Peso recién nacido	3.631,7 ± 346,2	3.060,0 ± 368,3	0,002
pH del cordón umbilical	7,3 ± 0,1	7,3 ± 0,1	0,454
CIR n (%)	---	---	---
<b>Complicaciones embarazo n (%)</b>			
Rotura prematura de membrana	1 (3,3%)	1 (20,0%)	0,269
Oligoamnios	---	1 (20,0%)	---
DPPNI	---	---	---

VIII. Anexo

<b>Complicaciones maternas n (%)</b>			
Hemorragia	1 (3,3%)	---	---
Diabetes gestacional	2 (6,7%)	---	---
ITU	---	---	---
Otras	---	---	---
<b>Signos y síntomas n (%)</b>			
Cefalea	---	---	---
Epigastralgia	---	---	---
Fotopsias	---	---	---
Acúfenos	---	---	---
Edemas	---	---	---
<b>Alt analíticas durante el 3ºT n (%)</b>			
Proteinuria	---	---	---
Trombopenia	1 (3,3%)	---	---
Alt. pruebas de función hepática	---	---	---
Deterioro de función renal	---	---	---

ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, CIR: retraso del crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, DPPNI: desprendimiento de placenta normalmente inserta, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, ITU: infección del tracto urinario, T: trimestre.

**Tabla Suplementaria 6. Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina IgM en la cohorte preeclampsia.**

	Ausencia de aPS/PT IgM (n=64)	Presencia de aPS/PT IgM (n=58)	P
<b>Factores antropométricos, FRCV y enfermedades cardiovasculares</b>			
Edad (años)	35,0 ± 5,3	34,5 ± 5,0	0,561
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	27,7 ± 4,8	28,0 ± 5,0	0,736
Alteración IMC n (%)	45 (70,37%)	38 (65,5%)	0,709
Sobrepeso	31 (48,4%)	22 (37,9%)	0,324
Obesidad	---	16 (27,6%)	0,602
DM n (%)	---	1 (1,7%)	1,000
Dislipemia n (%)	---	---	---
Tabaquismo n (%)	3 (4,7%)	9 (15,5%)	0,089
Trombosis arterial o venosa	---	---	---
ACVA	---	---	---
IAM	---	---	---
<b>Antecedentes obstétricos n (%)</b>			
Número de gestaciones previas			
Primípara	36 (56,3%)	31 (53,4%)	0,749
Una gestación	21 (32,8%)	15 (25,9%)	0,521
Dos o más gestaciones	7 (10,9%)	12 (20,7%)	0,217
Preeclampsia previa	1 (1,6%)	3 (5,2%)	0,345
Diabetes gestacional	---	2 (3,4%)	---
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular n (%)</b>			
Madre			
HTA	28 (43,8%)	23 (39,7%)	0,784
DM	8 (12,5%)	14 (24,1%)	0,152
IAM	3 (4,7%)	6 (10,3%)	0,306
ACVA	4 (6,3%)	3 (5,2%)	1,000
Padre			
HTA	27 (42,2%)	31 (53,4%)	0,288
DM	18 (28,1%)	23 (39,7%)	0,248
IAM	13 (20,3%)	13 (22,4%)	0,951
ACVA	2 (3,1%)	3 (5,2)	0,668
<b>Datos de la gestación actual</b>			
Técnicas reproducción asistida n (%)	15 (23,4%)	5 (8,5%)	0,051
Embarazo múltiple n (%)	6 (9,4%)	3 (5,2%)	0,496
Cesárea n (%)	38 (59,4%)	33 (56,9%)	0,926
Semana de parto	36,6 ± 3,6	36,6 ± 3,6	0,946
<b>Datos del recién nacido</b>			
APGAR recién nacido	8,3 ± 1,1	7,5 ± 1,3	<0,001
Peso recién nacido	3.301,0 ± 611,5	2.516,4 ± 493,3	<0,001
pH del cordón umbilical	7,3 ± 0,1	7,2 ± 0,1	<0,001
CIR	4 (6,3%)	15 (25,9%)	0,003
<b>Complicaciones embarazo n (%)</b>			
Rotura prematura de membrana	2 (3,1%)	1 (1,7%)	1,000
Oligoamnios	1 (1,6%)	1 (1,7%)	1,000
DPPNI	3 (4,7%)	4 (6,9%)	0,707

VIII. Anexo

<b>Complicaciones maternas n (%)</b>			
Eclampsia	1 (1,6%)	1 (1,7%)	1,000
Síndrome de HELLP	5 (7,8%)	11 (19,0%)	0,120
Hemorragia	5 (7,8%)	2 (3,4%)	0,443
Diabetes gestacional	5 (7,8%)	4 (6,9%)	1,000
ITU	3 (4,7%)	1 (1,7%)	0,621
Otras	1(1,6%)	3 (5,2%)	0,269
<b>Signos y síntomas n (%)</b>			
Cefalea	36 (56,3%)	39 (67,2%)	0,289
Epigastralgia	10 (15,6%)	14 (24,1%)	0,340
Fotopsias	9 (14,1%)	9 (15,5%)	1,000
Acúfenos	3 (4,7%)	2 (3,4%)	1,000
Edemas	35 (54,7%)	45 (77,6%)	0,008
<b>Alt analíticas durante el 3ºT n (%)</b>			
Proteinuria	53 (82,8%)	57 (98,3%)	0,010
Trombopenia	12 (18,8%)	32 (55,2%)	<0,001
Alt. pruebas de función hepática	9 (14,1%)	15 (25,9%)	0,159
Deterioro de función renal	10 (15,6%)	8 (13,8%)	0,977

ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, CIR: retraso del crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, DPPNI: desprendimiento de placenta normalmente inserta, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, ITU: infección del tracto urinario, T: trimestre.

**Tabla Suplementaria 7. Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido clásicos en la cohorte preeclampsia leve.**

	Ausencia de Ac clásicos (n=48)	Presencia de Ac clásicos (n=8)	P
<b>Factores antropométricos, FRCV y enfermedades cardiovasculares</b>			
Edad (años)	34,5 ± 5,5	34,6 ± 5,9	0,939
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	28,2 ± 4,9	27,7 ± 6,5	0,781
Alteración IMC n (%)	35 (72,9%)	5 (62,5%)	0,856
Sobrepeso	22 (45,8%)	2 (25,0%)	0,444
Obesidad	13 (27,1)	3 (37,5%)	0,856
Diabetes Mellitus n (%)	1 (2,1%)	---	---
Dislipemia n (%)	---	---	---
Tabaquismo n (%)	2 (4,2%)	1 (12,5%)	0,376
Trombosis arterial o venosa n (%)	---	---	---
ACVA n (%)	---	---	---
IAM n (%)	---	---	---
<b>Antecedentes obstétricos n (%)</b>			
Número de gestaciones previas	0,5 ± 0,7	0,9 ± 0,8	0,170
Primípara	28 (58,3%)	3 (37,5%)	0,278
Una gestación	17 (35,4%)	3 (37,5%)	1,000
Dos o más gestaciones	3 (6,3%)	2 (25,0%)	0,144
Preeclampsia previa	1 (2,1%)	---	---
Diabetes gestacional	1 (2,1%)	---	---
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular n (%)</b>			
Madre			
HTA	21 (43,8%)	4 (50,0%)	1,000
DM	8 (16,7%)	1 (12,5%)	1,000
IAM	3 (6,3%)	---	---
ACVA	---	2 (25,0%)	---
Padre			
HTA	24 (50,0%)	5 (62,5%)	0,707
DM	17 (35,4%)	2 (25,0%)	0,863
IAM	8 (16,7%)	2 (25,0%)	0,943
ACVA	3 (6,3%)	---	---
<b>Datos de la gestación actual</b>			
Técnicas reproducción asistida n (%)	11 (22,9%)	1 (12,5%)	0,842
Embarazo múltiple n (%)	5 (10,4%)	---	---
Cesárea n (%)	24 (50,0%)	2 (25,0%)	0,563
Semana de parto	37,6 ± 2,4	39,4 ± 1,2	0,052
<b>Datos del recién nacido</b>			
APGAR recién nacido	8,5 ± 0,8	8,0 ± 1,8	0,494
Peso recién nacido	3316,0 ± 554,2	2950,0 ± 367,1	0,080
pH del cordón umbilical	7,3 ± 0,1	7,2 ± 0,2	0,216
CIR n (%)	1 (2,1%)	1 (12,5%)	0,268
<b>Complicaciones embarazo n (%)</b>			
Rotura prematura de membrana	2 (4,2%)	---	---
Oligoamnios	1 (2,1%)	---	---
DPPNI	1 (2,1%)	---	---

VIII. Anexo

<b>Complicaciones maternas n (%)</b>			
Hemorragia	2 (4,2%)	---	---
Diabetes gestacional	3 (6,3%)	1 (12,5%)	0,470
ITU	3 (6,3%)	1 (12,5%)	0,470
Otras	---	---	---
<b>Signos y síntomas n (%)</b>			
Cefalea	23 (47,9%)	5 (62,5%)	0,705
Epigastralgia	4 (8,3%)	---	---
Fotopsias	5 (10,4%)	2 (25,0%)	0,564
Acúfenos	2 (4,2%)	---	---
Edemas	23 (47,9%)	2 (25,0%)	0,277
<b>Alt analíticas durante el 3ºT n (%)</b>			
Proteinuria	40 (83,3%)	7 (87,5%)	1,000
Trombopenia	6 (12,5%)	1 (12,5%)	1,000
Alt. pruebas de función hepática	5 (10,4%)	2 (25,0%)	0,564
Deterioro de función renal	4 (8,3%)	3 (37,5%)	0,083

*Ac: anticuerpos, ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, CIR: retraso del crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, DPPNI: desprendimiento de placenta normalmente inserta, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, ITU: infección del tracto urinario, T: trimestre.*

**Tabla Suplementaria 8. Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfolípido clásicos en la cohorte preeclampsia grave.**

	Ausencia de Ac clásicos (n=51)	Presencia de Ac clásicos (n=15)	P
<b>Factores antropométricos, FRCV y enfermedades cardiovasculares</b>			
Edad (años)	35,5 ± 5,1	33,1 ± 3,7	0,091
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	27,2 ± 5,5	28,8 ± 6,1	0,340
Alteración IMC n (%)	32 (62,7%)	11 (73,3%)	0,654
Sobrepeso	22 (43,1%)	7 (46,7%)	1,000
Obesidad	10 (19,6%)	4 (26,7%)	0,819
DM n (%)	2 (3,9%)	---	---
Dislipemia n (%)	---	---	---
Tabaquismo n (%)	8 (15,7%)	1 (6,7%)	0,641
Trombosis arterial o venosa	---	---	---
ACVA	---	---	---
IAM	---	---	---
<b>Antecedentes obstétricos n (%)</b>			
Número de gestaciones previas			
Primípara	27 (52,9%)	9 (60,0%)	0,630
Una gestación	12 (23,5%)	4 (26,7%)	1,000
Dos o más gestaciones	12 (23,5%)	2 (13,3%)	0,624
Preeclampsia previa	2 (3,9%)	1 (6,7%)	0,545
Diabetes gestacional	1 (2,0%)	---	---
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular n (%)</b>			
Madre			
HTA	21 (41,2%)	5 (33,3%)	0,806
DM	9 (17,6%)	4 (26,7%)	0,687
IAM	4 (7,8%)	2 (13,3%)	0,612
ACVA	2 (3,9%)	3 (20,0%)	0,073
Padre			
HTA	24 (47,1%)	5 (33,3%)	0,519
DM	18 (35,3%)	4 (26,7%)	0,755
IAM	13 (25,5%)	3 (20,0%)	0,926
ACVA	2 (3,9%)	---	---
<b>Datos de la gestación actual</b>			
Técnicas reproducción asistida n (%)	8 (15,7%)	---	---
Embarazo múltiple n (%)	4 (7,8%)	---	---
Semana de parto	35,8 ± 3,9	34,8 ± 4,7	0,426
<b>Datos del recién nacido</b>			
APGAR recién nacido	7,6 ± 1,4	7,4 ± 1,0	0,522
Peso recién nacido	2791,4 ± 705,7	2272,8 ± 348,0	0,001
pH del cordón umbilical	7,2 ± 0,1	7,1 ± 0,2	0,017
CIR n (%)	11 (21,6%)	6 (40,0%)	0,272
<b>Complicaciones embarazo n (%)</b>			
Rotura prematura de membrana	1 (2,0%)	---	---
Oligoamnios	---	1 (6,7%)	---
DPPNI	3 (5,9%)	3 (20,0%)	0,125

VIII. Anexo

<b>Complicaciones maternas n (%)</b>			
Eclampsia	2 (3,9%)	---	---
Síndrome de HELLP	15 (29,4%)	1 (6,7%)	0,143
Hemorragia	5 (9,8%)	---	---
Diabetes gestacional	2 (3,9%)	3 (20,0%)	0,073
ITU	---	---	---
Otras	---	---	---
<b>Signos y síntomas n (%)</b>			
Cefalea	35 (68,6%)	12 (80,0%)	0,596
Epigastralgia	15 (29,4%)	5 (33,3%)	1,000
Fotopsias	9 (17,6%)	2 (13,3%)	1,000
Acúfenos	2 (3,9%)	1 (6,7%)	1,000
Edemas	45 (88,2%)	10 (66,7%)	0,115
<b>Alt analíticas durante el 3ºT n (%)</b>			
Proteinuria	49 (96,1%)	14 (93,3%)	0,545
Trombopenia	29 (56,9%)	8 (53,3%)	1,000
Alt. pruebas de función hepática	15 (29,4%)	2 (13,3%)	0,360
Deterioro de función renal	10 (19,6%)	1 (6,7%)	0,431

*Ac: anticuerpos, ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, CIR: retraso del crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, DPPNI: desprendimiento de placenta normalmente inserta, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, ITU: infección del tracto urinario, T: trimestre.*



**Tabla Suplementaria 9. Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina IgM en la cohorte preeclampsia leve.**

	Ausencia de aPS/PT IgM (n=64)	Presencia de aPS/PT IgM (n=58)	P
<b>Factores antropométricos, FRCV y enfermedades cardiovasculares</b>			
Edad (años)	34,9 ± 5,5	33,6 ± 5,5	0,444
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	28,4 ± 5,0	27,7 ± 4,8	0,635
Alteración IMC n (%)	29 (74,4%)	11 (64,7%)	0,679
Sobrepeso	18 (46,2%)	6 (35,3%)	0,644
Obesidad	11 (28,2%)	5 (29,4%)	1,000
DM n (%)	---	1 (5,9%)	---
Dislipemia n (%)	---	---	---
Tabaquismo n (%)	2 (5,1%)	1 (5,9%)	1,000
Trombosis arterial o venosa	---	---	---
ACVA	---	---	---
IAM	---	---	---
<b>Antecedentes obstétricos n (%)</b>			
Número de gestaciones previas			
Primípara	21 (52,5%)	10 (62,5%)	0,267
Una gestación	16 (41%)	4 (23,5%)	0,341
Dos o más gestaciones	2 (5,1%)	3 (17,6%)	0,158
Preeclampsia previa	---	1 (5,9%)	---
Diabetes gestacional	---	1 (5,9%)	---
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular n (%)</b>			
Madre			
HTA	15 (38,5%)	10 (58,8%)	0,264
DM	3 (7,7%)	6 (35,3%)	0,029
IAM	1 (2,6%)	2 (11,8%)	0,216
ACVA	2 (5,1%)	---	---
Padre			
HTA	15 (38,5%)	14 (82,4%)	0,006
DM	8 (20,5%)	11 (64,7%)	0,004
IAM	6 (15,4%)	4 (23,5%)	0,725
ACVA	2 (5,1%)	1 (5,9%)	1,000
<b>Datos de la gestación actual</b>			
Técnicas reproducción asistida n (%)	10 (25,6%)	2 (11,8%)	0,418
Embarazo múltiple n (%)	4 (10,3%)	1 (5,9%)	1,000
Cesárea n (%)	17 (43,6%)	9 (52,9%)	0,723
Semana de parto	37,9 ± 2,6	37,9 ± 1,9	0,988
<b>Datos del recién nacido</b>			
APGAR recién nacido	8,5 ± 0,8	8,2 ± 1,4	0,291
Peso recién nacido	3.383,9 ± 548,3	2.932,1 ± 377,6	0,007
pH del cordón umbilical	7,3 ± 0,1	7,2 ± 0,1	0,389
CIR n (%)	1 (2,6%)	1 (5,9%)	0,519
<b>Complicaciones embarazo n (%)</b>			
Rotura prematura de membrana	2 (5,1%)	---	---
Oligoamnios	1 (2,6%)	---	---
DPPNI	1 (2,6%)	---	---

VIII. Anexo

<b>Complicaciones maternas n (%)</b>			
Hemorragia	1 (2,6%)	1 (5,9%)	0,519
Diabetes gestacional	4 (10,3%)	---	---
ITU	3 (7,7%)	1 (5,9%)	1,000
Otras	---	---	---
<b>Signos y síntomas n (%)</b>			
Cefalea	17 (43,6%)	11 (64,7%)	0,245
Epigastralgia	3 (7,7%)	1 (5,9%)	1,000
Fotopsias	4 (10,3%)	3 (17,6%)	0,662
Acúfenos	1 (2,6%)	1 (5,9%)	0,519
Edemas	16 (41,0%)	9 (52,9%)	0,594
<b>Alt analíticas durante el 3ºT n (%)</b>			
Proteinuria	30 (76,9%)	17 (100,0%)	0,077
Trombopenia	2 (5,1%)	5 (29,4%)	0,022
Alt. pruebas de función hepática	4 (10,3%)	3 (17,6%)	0,662
Deterioro de función renal	4 (10,3%)	3 (17,6%)	0,662

ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, CIR: retraso del crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, DPPNI: desprendimiento de placenta normalmente inserta, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, ITU: infección del tracto urinario, T: trimestre.

**Tabla Suplementaria 10. Factores clínicos y analíticos en función de la presencia de anticuerpos antifosfatidilserina/protrombina IgM en la cohorte preeclampsia grave.**

	Ausencia de aPS/PT IgM (n=64)	Presencia de aPS/PT IgM (n=58)	P
<b>Factores antropométricos, FRCV y enfermedades cardiovasculares</b>			
Edad (años)	35,2 ± 5,2	34,8 ± 4,8	0,751
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26,6 ± 4,4	28,2 ± 6,3	0,295
Alteración IMC n (%)	16 (64,0%)	27 (65,9%)	1,000
Sobrepeso	13 (52,0%)	16 (39,0%)	0,439
Obesidad	3 (12,0%)	11 (26,8%)	0,263
DM n (%)	2 (8,0%)	---	---
Dislipemia n (%)	---	---	---
Tabaquismo n (%)	1 (4,0%)	8 (19,5%)	0,158
Trombosis arterial o venosa	---	---	---
ACVA	---	---	---
IAM	---	---	---
<b>Antecedentes obstétricos n (%)</b>			
Número de gestaciones previas			
Primípara	15 (62,5%)	21 (50,0%)	0,166
Una gestación	5 (20,0%)	11 (26,8%)	0,740
Dos o más gestaciones	5 (20,0%)	9 (22,0%)	1,000
Preeclampsia previa	1 (4,0%)	2 (4,9%)	1,000
Diabetes gestacional	---	1 (2,4%)	---
<b>Antecedentes familiares de FRCV y patología cardiovascular n (%)</b>			
Madre			
HTA	13 (52,0%)	13 (31,7%)	0,169
DM	5 (20,0%)	8 (19,5%)	1,000
IAM	2 (8,0%)	4 (9,8%)	1,000
ACVA	2 (8,0%)	3 (7,3%)	1,000
Padre			
HTA	12 (48,0%)	17 (41,5%)	0,792
DM	10 (40,0%)	12 (29,3%)	0,530
IAM	7 (28,0%)	9 (22,0%)	0,795
ACVA	---	2 (4,9%)	---
<b>Datos de la gestación actual</b>			
Técnicas reproducción asistida n (%)	5 (20,0%)	3 (7,3%)	0,242
Embarazo múltiple n (%)	2 (8,0%)	2 (4,9%)	0,630
Cesárea n (%)	21 (84,0%)	24 (58,5%)	0,060
Semana de parto	34,6 ± 4,1	36,1 ± 4,0	0,144
<b>Datos del recién nacido</b>			
APGAR recién nacido	8,1 ± 1,4	7,3 ± 1,1	0,009
Peso recién nacido	3.171,3 ± 691,9	2.359,0 ± 440,3	<0,001
pH del cordón umbilical	7,3 ± 0,2	7,1 ± 0,1	0,001
CIR n (%)	3 (12,0%)	14 (60,9%)	0,088
<b>Complicaciones embarazo n (%)</b>			
Rotura prematura de membrana	---	1 (2,4%)	---
Oligoamnios	---	1 (2,4%)	---
DPPNI	2 (8,0%)	4 (9,8%)	1,000




VIII. Anexo

<b>Complicaciones maternas n (%)</b>			
Eclampsia	1 (4,0%)	1 (2,4%)	1,000
Síndrome de HELLP	5 (20,0%)	11 (26,8%)	0,740
Hemorragia	4 (16,0%)	1 (2,4%)	0,064
Diabetes gestacional	1 (4,0%)	4 (9,8%)	0,642
ITU	---	---	---
Otras	---	---	---
<b>Signos y síntomas n (%)</b>			
Cefalea	19 (76,0%)	28 (68,3%)	0,696
Epigastralgia	7 (28,0%)	13 (31,7%)	0,967
Fotopsias	5 (20,0%)	6 (14,6%)	0,820
Acúfenos	2 (8,0%)	1 (2,4%)	0,552
Edemas	19 (76,0%)	36 (87,8%)	0,364
<b>Alt analíticas durante el 3ºT n (%)</b>			
Proteinuria	23 (92,0%)	40 (97,6%)	0,552
Trombopenia	10 (40,0%)	27 (65,9%)	0,072
Alt. pruebas de función hepática	5 (20,0%)	12 (29,3%)	0,586
Deterioro de función renal	6 (24,0%)	5 (12,2%)	0,364

ACVA: accidente cerebrovascular agudo, Alt: alteración, aPS/PT: antifosfatidilserina/protrombina, CIR: retraso del crecimiento intrauterino, DM: diabetes mellitus, DPPNI: desprendimiento de placenta normalmente inserta, FRCV: factores de riesgo cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, IAM: infarto agudo de miocardio, IMC: índice de masa corporal, ITU: infección del tracto urinario, T: trimestre.

Article

# Non-Criteria Antiphospholipid Antibodies: Risk Factors for Endothelial Dysfunction in Women with Pre-Eclampsia

Lara Belmar Vega <sup>1,\*</sup>, Gema Fernández Fresnedo <sup>1</sup>, Juan Irure Ventura <sup>2</sup>, Victoria Orallo Toural <sup>3</sup>, Milagros Heras Vicario <sup>1</sup>, Juan Carlos Ruiz San Millán <sup>1</sup>, Emilio Rodrigo <sup>1</sup> and Marcos López Hoyos <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Nephrology Service, University Hospital Marqués de Valdecilla, 39008 Santander, Spain; gema.fernandezf@scsalud.es (G.F.F.); mmilagros.heras@scsalud.es (M.H.V.); juancarlos.ruiz@scsalud.es (J.C.R.S.M.); emilio.rodrigo@scsalud.es (E.R.)

<sup>2</sup> Immunology Service, University Hospital Marqués de Valdecilla, 39008 Santander, Spain; juan.irure@scsalud.es (J.I.V.); marcos.lopez@scsalud.es (M.L.H.)

<sup>3</sup> Obstetrics and Gynecology Service, University Hospital Marqués de Valdecilla, 39008 Santander, Spain; victoria.orallo@scsalud.es

\* Correspondence: belmarvega@outlook.es

Received: 14 September 2020; Accepted: 12 October 2020; Published: 14 October 2020



**Abstract:** The association between unconventional antiphospholipid antibodies and pre-eclampsia in patients without thrombotic manifestations and its relationship with endothelial dysfunction after delivery has been studied poorly. We included 157 pregnant women, 122 of them having developed pre-eclampsia (56 non-severe and 66 severe). The determination of classical and unconventional, as well as pulse wave velocity and ankle-brachial index were performed at three months after delivery. The prevalence of unconventional antiphospholipid antibodies was 22.9% and 54.9% in patients included in control and pre-eclampsia groups, respectively ( $p = 0.001$ ). The most frequent antiphospholipid antibody was IgM anti-phosphatidylserine/prothrombin in both cohorts. The presence of IgM anti-phosphatidylserine/prothrombin showed an association with the development of pre-eclampsia (OR = 5.4; CI 95% (2.0–14.9),  $p = 0.001$ ) with an AUC of 0.744 ( $p < 0.001$ ). Likewise, IgM anti-phosphatidylserine/prothrombin exhibited a positive linear correlation with pulse wave velocity values ( $\rho = 0.830$ ;  $p < 0.001$ ) and an association with the presence of pulse wave velocity altered values (OR = 1.33; CI 95% (1.10–1.59),  $p = 0.002$ ). With regard to ankle braquial index values, the presence of IgM anti-phosphatidylserine/prothrombin displayed a weak negative correlation ( $\rho = -0.466$ ;  $p < 0.001$ ) and an association with altered ankle braquial index values (OR = 1.08; CI 95% (1.04–1.13),  $p < 0.001$ ). In patients who developed preeclampsia, the presence of IgM anti-phosphatidylserine/prothrombin could be associated with endothelial dysfunction, causing alteration of cardiovascular parameters.

**Keywords:** pre-eclampsia; antiphospholipid antibodies; antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies; pulse wave velocity; ankle-brachial index

## 1. Introduction

Pre-eclampsia (PE) is a hypertensive disorder of pregnancy, whose presentation includes the combination of maternal new-onset hypertension, which occurs most often after 20 weeks of gestation and frequently near term, and proteinuria, or evidence of other end-organ damage in the absence of proteinuria [1,2]. In pregnant women, this disease can cause a multisystem disease with central nervous system disturbances, liver, hematologic or renal dysfunction; and in the fetus, a fetal growth

restriction with a potential risk of fetal death and forcing the pregnancy to end before term [3,4]. The pathophysiology of PE is not well understood. The main theories include genetic predisposition [5], loss of immunological tolerance between the fetoplacental unit and the maternal tissue, angiogenic imbalance, endothelial cell dysfunction, systemic inflammatory process, as well as alterations in the renin angiotensin aldosterone system and oxidative stress [6].

It is hypothesized that early-onset PE is mediated by the abnormal invasion of trophoblastic tissue into the maternal uterine wall, resulting in hypoperfusion and hypoxemia of the placenta and release of different cytokines and inflammatory factors in the maternal circulation that result in maternal endothelial damage [7,8]. On the other hand, in late-onset PE, the endothelial cell dysfunction has been linked to maternal “constitutional” factors, such as chronic hypertension, age, obesity or diabetes mellitus [9].

One of the main systemic autoimmune diseases associated with pregnancy morbidity and mortality is the antiphospholipid syndrome (APS) [10]. APS is a systemic autoimmune disorder defined by the persistent presence of antiphospholipid antibodies (aPL) in plasma of patients with vascular thrombosis and/or pregnancy morbidity. In its obstetric aspect, a patient is diagnosed with APS if she meets one or more of the clinical criteria, which include: one or more unexplained fetal deaths of morphologically normal fetus (normal fetal morphology confirmed by ultrasound or direct examination) at or beyond 10 weeks of gestation; one or more premature births of a morphologically normal neonate before the 34th week of gestation; prematurity must be secondary to eclampsia, severe preeclampsia, or placental insufficiency; or three or more consecutive spontaneous abortions before the 10th week of gestation after ruling out any anatomic or hormonal abnormalities in the mother and parental chromosomal causes. Together, these match the currently accepted Sydney criteria [11] with at least one of the following laboratory criteria, which require obtaining positive results in serum or plasma on two or more occasions separated by at least 12 weeks of lupus anticoagulant (LA), IgG and/or IgM anticardiolipin antibodies (aCL) measured by ELISA at medium or high titers or IgG and/or IgM anti- $\beta$ 2 glycoprotein antibodies I (a $\beta$ 2GPI) measured by ELISA at medium or high titers. The presence of these autoantibodies has been associated with endothelial dysfunction [12–14].

However, there are some women with clinical signs that are highly suggestive of obstetric antiphospholipid syndrome (OAPS), but who are persistently negative for “criteria” aPL. This clinical entity is known as “seronegative OAPS” [15–17]. As a consequence of this seronegativity, several authors have suggested that testing for new aPL specificities [16,18] may help to more clearly identify OAPS in these patients. These “non-criteria” aPL include antibodies against prothrombin (aPT) and antibodies against the phosphatidylserine-prothrombin complex (aPS/PT) [19]. Although various studies indicate an association between aPS/PT and obstetric morbidity [20–22], suggesting that aPS/PT are an independent risk factor for obstetric complications stronger than classic aPL [23], other studies have not found this association [24–26]. Besides, the IgA aCL and ant $\beta$ 2GPI have been associated with thrombosis in renal transplantation [27], but their role in OAPS or obstetric manifestations is not clear. Due to these contradictory results, the presence of these autoantibodies have not been yet included in the diagnostic criteria of APS.

In recent years, several non-invasive techniques have been developed in order to evaluate the endothelial dysfunction of the peripheral blood vessels in an indirect manner, such as pulse wave velocity (PWV) and ankle-brachial index (ABI) [28]. PWV determination is a short-term non-invasive procedure, and simple to carry out in healthcare practice [29,30]. PWV is considered one of the most important organic damage markers with higher cardiovascular predictive value, higher reproducibility, and with an acceptable cost-effectiveness ratio [31–33]. There is evidence that in healthy pregnant women, the hemodynamic adaptations that occur during pregnancy determine a significant decrease of the PWV from the first to the second trimester of pregnancy, which increases at the beginning of the third trimester and returns to basal levels after delivery [34]. By contrast, in pregnant women who develop PE, a stronger vasoconstriction promotes an increase of the PWV throughout pregnancy and that even extends beyond delivery [35].

Moreover, the ankle-brachial index (ABI) is a non-invasive, inexpensive, simple technique that allows the evaluation of the risk of developing atherosclerosis. It has been demonstrated as a good predictor of peripheral vascular disease, as well as of stroke and cardiovascular events in middle-age and older populations, being at the same time an effective tool for the screening of subclinical atherosclerotic disease [36–38].

In the present study we aimed to highlight the relevance of unconventional aPLs and to establish their relationship with the appearance of abnormal parameters suggestive of endothelial dysfunction.

## 2. Results

### 2.1. Anthropometric Factors, Personal, Family and Obstetric History. Pregnancy Data

The main variables of control and PE groups are shown in Supplementary Table S1. No significant differences were observed in the mean age of pregnant women included in both cohorts. However, those who developed PE had higher prevalence of familial antecedents of hypertension and a lower percentage of the use of assisted reproductive techniques in comparison with the control group. Delivery in women belonging to the PE group occurred significantly earlier than in control group. For this reason, newborns of PE women had lower scores on the APGAR test, lower weight, and lower pH in blood drawn from the umbilical cord at birth time.

Eclampsia was diagnosed in only two women and HELLP syndrome in 16 women. Proteinuria was observed in 90.2% of the PE women and thrombopenia, alterations in liver and kidney function, were observed in 36.1%, 19.7% and 14.8%, respectively.

### 2.2. Association between Antiphospholipid Antibodies and Pre-Eclampsia

The prevalence of classical and unconventional aPL is shown in Table 1. Although there was no significant difference in the prevalence of classical aPLs between the control and the PE group, the rate of positivity for unconventional aPLs was significantly higher for the PE group, being IgM aPS/PT the aPL most related to PE. Of note, unconventional aPL and specifically IgM aPS/PT are more prevalent in the severe PE group than in the non-severe PE group.

**Table 1.** Prevalence of Antiphospholipid Antibodies.

	Analysis Group				Severity of PE		
	Total n = 157	Control n = 35	PE n = 122	<i>p</i>	NS-PE n = 56	S-PE n = 66	<i>p</i>
<b>Classical aPLs</b>	31 (19.7%)	8 (22.9%)	23 (18.9%)	0.600	8 (14.3%)	15 (22.7%)	0.235
LA	5 (3.2%)	2 (5.7%)	3 (2.5%)	0.309	2 (3.6%)	1 (1.5%)	0.593
IgG aCL	9 (5.7%)	3 (8.6%)	6 (4.9%)	0.418	2 (3.6%)	4 (6.1%)	0.686
IgM aCL	6 (3.8%)	1 (2.9%)	5 (4.1%)	0.736	–	5 (7.6%)	–
IgG aβ2GPI	19 (12.1%)	2 (5.7%)	17 (13.9%)	0.248	6 (10.7%)	11 (16.7%)	0.344
IgM aβ2GPI	14 (8.9%)	3 (8.6%)	11 (9.0%)	0.935	5 (8.9%)	6 (9.1%)	0.975
<b>Unconventional aPLs</b>	75 (47.8%)	8 (22.9%)	67 (54.9%)	0.001	21 (37.5%)	46 (69.7%)	<0.001
IgA aCL	4 (2.5%)	–	4 (3.3%)	–	1 (1.8%)	3 (4.5%)	0.624
IgA aβ2GPI	10 (6.4%)	1 (2.9%)	9 (7.4%)	0.460	2 (3.6%)	7 (10.6%)	0.177
IgG aPS/PT	11 (7.0%)	1 (2.9%)	10 (8.2%)	0.458	4 (7.1%)	6 (9.1%)	0.752
IgM aPS/PT	63 (40.1%)	5 (14.3%)	58 (47.5%)	<0.001	16 (28.6%)	42 (63.6%)	<0.001

PE: pre-eclampsia; NS-PE: non-severe pre-eclampsia; S-PE: severe pre-eclampsia; aPL: antiphospholipid antibodies; LA: lupus anticoagulant; aCL: anticardiolipin; aβ2GPI: anti-β2-glycoprotein I; aPS/PT: antiphosphatidylserine/pro-thrombin.

The prevalence of classical versus unconventional aPL was identical in the control group, being 22.9% for both types of aPLs. Among classical aPL, IgG aCL was the most prevalent, whereas IgM aPS/PT was the most prevalent of the unconventional aPLs.

In the PE cohort, the prevalence of unconventional aPL (54.9%) was almost three times higher than the prevalence of classical aPL (18.9%). In this group of patients, the most prevalent classical



aPL was IgG a $\beta$ 2GPI (13.9%), and among unconventional aPL, IgM aPS/PT (47.5%). The post-hoc analysis showed that the study provided 80% of statistical power to detect differences  $\geq 17\%$  in the prevalence rates of antibodies between the pre-eclampsia and control groups. Regarding the severity of PE, patients that developed severe PE (S-PE) showed higher prevalence for all the aPLs that were analyzed (classical and unconventional), except for LA. Considering all the aPLs, IgM aPS/PT remained the most prevalent antibody in S-PE group (Table 1).

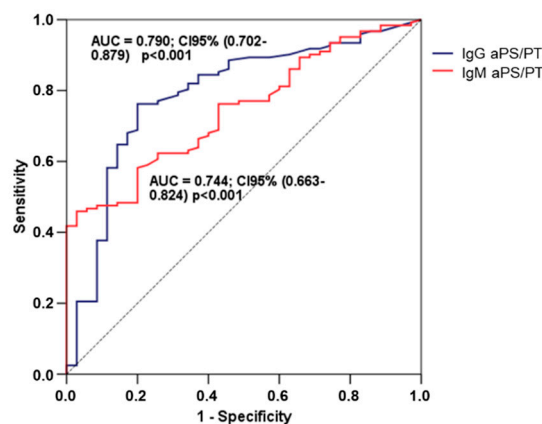
In the univariate logistic regression analysis, only IgM aPS/PT showed a significant association with the development of PE (OR = 5.4; 95% CI (2.0–14.9),  $p = 0.001$ ). Likewise, when PE patients were divided according to the severity of the disease, this autoantibody was uniquely associated with the development of S-PE (OR = 4.4; 95% CI (2.0–9.4),  $p < 0.001$ ) (Table 2).

**Table 2.** Association Between Antiphospholipid Antibodies and pre-Eclampsia Severity.

	PE OR (CI 95%)	<i>p</i>	S-PE OR (CI 95%)	<i>p</i>
<b>Classical aPLs</b>	<b>0.8 (0.3–1.9)</b>	<b>0.600</b>	<b>1.8 (0.7–4.5)</b>	<b>0.238</b>
LA	0.4 (0.1–2.6)	0.348	0.4 (0.0–4.7)	0.478
IgG aCL	0.6 (0.1–2.3)	0.418	1.7 (0.3–9.9)	0.531
IgM aCL	1.5 (0.2–12.9)	0.737	–	–
IgG a $\beta$ 2GPI	2.7 (0.6–12.2)	0.204	1.7 (0.6–4.8)	0.348
IgM a $\beta$ 2GPI	1.1 (0.3–4.0)	0.935	1.0 (0.3–3.5)	0.975
<b>Unconventional aPLs</b>	<b>4.1 (1.7–9.8)</b>	<b>0.001</b>	<b>3.8 (1.8–8.1)</b>	<b>&lt;0.001</b>
IgA aCL	–	–	2.6 (0.3–25.9)	0.410
IgA a $\beta$ 2GPI	2.7 (0.3–22.1)	0.353	3.2 (0.6–16.1)	0.157
IgG aPS/PT	3.0 (0.4–24.6)	0.298	1.3 (0.3–4.9)	0.697
IgM aPS/PT	5.4 (2.0–14.9)	0.001	4.4 (2.0–9.4)	<0.001

PE: pre-eclampsia; S-PE: severe pre-eclampsia; CI: confidence interval; aPLs: antiphospholipid antibodies; LA: lupus anticoagulant; aCL: anticardiolipin; a $\beta$ 2GPI: anti- $\beta$ 2-glycoprotein I; aPS/PT: antiphosphatidylserine/prothrombin.

According to receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, none of the classical aPLs showed a statistically significant association with PE. Regarding unconventional antibodies, IgM aPS/PT reflected an AUC of 0.744 95% CI (0.663–0.824) ( $p < 0.001$ ), with an optimal cut-off point established at 22.04 U/mL, (sensitivity = 62.3%; specificity = 74.3%; positive predictive value = 89.4% and negative predictive value = 36.1%) and the IgG aPS/PT showed an AUC of 0.790 95% CI (0.702–0.879) ( $p < 0.001$ ), with an optimal cut-off point established at 2.78 U/mL, sensitivity = 76.2%; specificity = 80.0%; positive predictive value = 93.0% and negative predictive value = 49.1%) (Figure 1).



**Figure 1.** Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis for the development of preeclampsia. Only the IgG and IgM aPS/PT antibodies presented statistically significant AUC (0.790 and 0.744, respectively).



### 2.3. Main Parameters of Cardiovascular Involvement (PWV and ABI)

PWV was significantly higher in the PE group in comparison with control group (8.2 m/s; IQR (7.6–9.5) vs. 7.7 m/s; IQR (7.2–8.0),  $p < 0.001$ ). Moreover, considering the severity of the PE, those patients who suffered S-PE showed higher levels of PWV (9.0 m/s; IQR (7.8–10.2)) than NS-PE group (8.0 m/s; IQR (7.6–8.9)),  $p = 0.015$  (Table 3).

**Table 3.** Cardiovascular Parameters in Women with PE 3 Months after Delivery.

	Analysis Group			Severity of PE		
	Control n = 35	PE n = 122	<i>p</i>	NS-PE n = 56	S-PE n = 66	<i>p</i>
<b>BMI (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	23.1 (20.0–27.8)	27.0 (24.2–30.0)	0.001	27.9 (24.2–30.9)	26.8 (24.1–29.5)	0.342
<b>SBP (mm Hg)</b>	122.0 (112.0–129.0)	120.0 (111.0–126.0)	0.166	121.0 (111.0–128.0)	119.0 (110.8–124.0)	0.256
<b>DBP (mm Hg)</b>	72.0 (71.0–80.0)	76.0 (71.0–84.0)	0.132	76.0 (70.3–82.8)	77.0 (71.8–85.0)	0.666
<b>PWV (m/s)</b>	7.7 (7.2–8.0)	8.2 (7.6–9.5)	<0.001	8.0 (7.6–8.9)	9.0 (7.8–10.2)	0.015
<b>ABI</b>	1.16 (1.00–1.30)	1.04 (0.90–1.26)	<0.001	1.11 (0.97–1.36)	0.94 (0.89–1.24)	<0.001

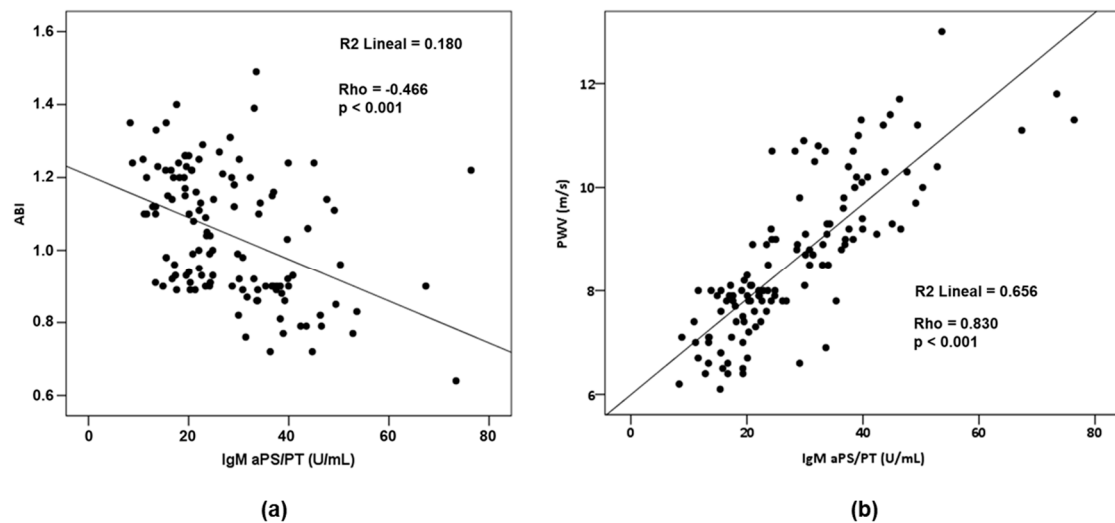
PE: pre-eclampsia; NS-PE: non-severe pre-eclampsia; S-PE: severe pre-eclampsia; BMI: body mass index, SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; PWV: pulse wave velocity; ABI: ankle-brachial index.

No linear correlation was observed between age and PWV ( $\rho = 0.051$ ;  $p = 0.527$ ), nor between BMI and PWV ( $\rho = 0.115$ ;  $p = 0.150$ ). Regarding other cardiovascular risk factors, no significantly differences were found in the levels of PWV between patients with or without dyslipidemia, diabetes mellitus or smoking habit.

Regarding ABI, the ABI values were significantly lower in patients who developed PE (1.04; IQR (0.90–1.26)) than in the control group (1.16; IQR (1.00–1.30)),  $p < 0.001$ . Likewise, considering the severity of the PE, those patients who suffered S-PE showed lower values of ABI (0.94; IQR (0.89–1.24)) than NS-PE group (1.11; IQR (0.97–1.36)),  $p < 0.001$  (Table 3). No linear correlation was observed between age and ABI ( $\rho = 0.004$ ;  $p = 0.964$ ), nor between BMI and ABI ( $\rho = 0.177$ ;  $p = 0.027$ ). With respect to other cardiovascular risk factors, no significant differences were found in the values of ABI between patients with or without dyslipidemia or smoking habit. However, patients who presented diabetes mellitus had significantly lower ABI values than those patients without the disease (1.10; IQR (0.91–1.20) vs. 1.25; IQR (1.23–1.28)),  $p = 0.027$ .

### 2.4. Relationship between aPLs and Cardiovascular Parameters

In the control group, the presence of IgM aCL and IgM aPS/PT showed a positive linear correlation with PWV ( $\rho = 0.510$ ;  $p = 0.002$  and  $\rho = 0.466$ ;  $p = 0.005$ , respectively). However, none of the aPLs showed a linear significant correlation with the ABI. On the other hand, considering those women who developed PE, the presence of IgM aPS/PT showed an intense positive linear correlation with PWV ( $\rho = 0.830$ ;  $p < 0.001$ ) and a weak negative correlation with ABI ( $\rho = -0.466$ ;  $p < 0.001$ ) (Figure 2a,b).



**Figure 2.** (a) Linear correlation between IgM aPS/PT and ankle brachial index (ABI). (b) Linear correlation between IgM aPS/PT and pulse wave velocity (PWV).

In the control group, the univariate logistic regression analysis showed no significant association between classical or unconventional aPL and the presence of PWV values higher than the reference value established for the corresponding age group. In the same way, no significant association was observed with ABI values suggestive of vascular pathology.

Concerning the PE group, the univariate logistic regression analysis showed that IgM aPS/PT (OR = 1.33; CI 95% (1.10–1.59),  $p = 0.002$ ) was significantly associated with the presence of PWV values higher than the reference value established for the corresponding age group (Supplementary Table S2). In the same way, no significant association was observed with ABI values suggestive of vascular pathology. For its part, only IgA a $\beta$ 2GPI (OR = 1.08; CI 95% (1.01–1.15),  $p = 0.023$ ) and IgM aPS/PT (OR = 1.08; CI 95% (1.04–1.13),  $p \leq 0.001$ ) showed significant association with ABI values suggestive of vascular pathology.

In the multivariate logistic regression analysis, the initial models included the different variables that were identified as potential predictors in the univariate regression analysis, as well as the classical cardiovascular risk factors (age, BMI, hypertension, dyslipidemia, diabetes, smoking). In the resulting models, IgM aPS/PT (OR = 1.37; CI 95%: 1.10–1.72;  $p = 0.006$ ) was associated with the presence of altered PWV values. Moreover, IgA a $\beta$ 2GPI (OR = 1.10 CI 95% (1.02–1.18)) and IgM aPS/PT (OR = 1.09; CI 95% (1.04–1.14) were associated with the presence of altered ABI values,  $p = 0.012$  and  $p < 0.001$ , respectively (Table 4).

**Table 4.** Parameters Associated with Cardiovascular Alterations in PE group.

	Altered PWV				Altered ABI			
	Univariate Analysis		Multivariate Analysis		Univariate Analysis		Multivariate Analysis	
	OR (CI 95%)	<i>p</i>	OR (CI 95%)	<i>p</i>	OR (CI 95%)	<i>p</i>	OR (CI 95%)	<i>p</i>
<i>Cardiovascular risk factors</i>								
Age	0.82 (0.66–1.02)	0.073	0.75 (0.54–1.05)	0.098	1.00 (0.93–1.10)	0.841	1.04 (0.95–1.12)	0.412
BMI	1.03 (0.89–1.18)	0.720	1.05 (0.87–1.28)	0.608	1.01 (0.93–1.10)	0.762	1.01 (0.94–1.10)	0.723
Diabetes	0.14 (0.01–1.77)	0.130	0.21 (0.03–1.81)	0.158	1.25 (0.11–14.24)	0.857	1.18 (0.09–12.51)	0.726
Smoking	0.86 (0.10–7.56)	0.894	0.82 (0.24–5.43)	0.921	3.21 (0.93–11.17)	0.066	0.98 (0.24–3.93)	0.976
<i>Unconventional aPLs</i>								
IgA aCL	1.04 (0.80–1.34)	0.782	0.92 (0.69–1.23)	0.560	1.00 (0.88–1.14)	0.990	0.97 (0.85–1.10)	0.623
IgA aβ2GPI	1.04 (0.89–1.21)	0.654	0.93 (0.78–1.13)	0.474	1.08 (1.01–1.15)	0.023	1.10 (1.02–1.18)	0.012
IgG aPS/PT	1.08 (0.92–1.27)	0.360	1.16 (0.88–1.53)	0.281	1.06 (1.00–1.14)	0.071	1.08 (1.00–1.16)	0.051
IgM aPS/PT	1.33 (1.10–1.59)	0.002	1.38 (1.10–1.73)	0.006	1.08 (1.04–1.13)	<0.001	1.09 (1.04–1.14)	<0.001

PE: pre-eclampsia; CI: confidence interval; PWV: pulse wave velocity; ABI: ankle-brachial index; BMI: body mass index; aPLs: antiphospholipid antibodies; aCL: anticardiolipin; aβ2GPI: antiβ2GPI; aPS/PT: antiphosphatidylserine/prothrombin.

### 3. Discussion

Our main finding was that unconventional aPL was specifically related to the previous development of PE and, besides, related to a higher PE severity. The results obtained in the present work corroborate certain aspects described in previous studies and provide a new perspective on the role of aPLs and endothelial dysfunction parameters in the context of PE.

The prevalence of classical aPLs in the low risk obstetric population is around 1%–9% [39–41], and around 11%–20% [42,43] in women with PE. These data suggest, although inconsistently, an association between the presence of these antibodies and obstetric morbidity. The relationship between aPLs and PE in women without evidence of autoimmune diseases has been pursued in last decades [39,42,44–50]. However, it remains unclear and different researchers have not found such an association [51–54]. On the other hand, it is well known that any inflammatory phenomenon can be an inducer of aPL [55,56], so it cannot be ruled out that the inflammatory state associated with PE could have induced the production of aPL and that the finding of these antibodies three months after delivery could be the result of reverse causality.

While most of the studies that have analyzed the relationship between aPLs and obstetric complications of APS, or PE, have focused on the antibodies included as diagnosis criteria for APS (AL, aCL or a $\beta$ 2GPI) and mainly on the estimation of IgG and IgM isotypes, only a few studies have analyzed the pathogenic importance of the IgA isotype of aPLs [57,58].

Several studies indicate that the positivity for IgA a $\beta$ 2GPI antibodies is more strongly associated with recurrent miscarriages and unexplained fetal deaths than IgA aCL antibodies in women who show negative results for AL and IgG and IgM aCL isotypes. A possible explanation for this observation is that the correlation between IgA a $\beta$ 2GPI and IgA aCL is weaker than the correlation between the IgG and IgM isotypes of these antibodies [57,58].

The presence of aPS/PT has been reported as a high risk factor for thrombosis [59] and its combination with AL and a $\beta$ 2GPI, can be useful to identify subgroups of patients at risk for thromboembolic events [60]. Various studies have demonstrated the clinical utility of aPS/PT in the diagnosis of APS, especially in the absence of antibodies included in the diagnostic criteria [15,61,62]. Likewise, several studies have indicated a strong association between aPS/PT antibodies and obstetric morbidity [20,59,63]. However, they have not yet been included as classification criteria for APS because some drawbacks in the studies, such as the small size on which these data are based, the methodological differences in their design, the lack of standardization in their determination and the contradictory results related to their association with the APS.

The results of our study show that among the patients who developed PE, the prevalence of classical antibodies was 18.9%, being IgG a $\beta$ 2GPI the most prevalent among them (13.9%), while the prevalence of unconventional antibodies was around four times higher than classical antibodies (54.9%), with IgM aPS/PT as the most prevalent antibody (47.5%). Unlike previous studies [64], we have not found any significant correlation between IgG/IgM aPS/PT with any of the classical antibodies. The fact that our patients did not present symptoms as severe as those observed in the OAPS, could justify this lack of correlation. Regarding the association between aPL and PE, we have not found an association between aCL, a $\beta$ 2GPI or AL with PE, which is in agreement with previous studies. Thus Abou-Nassar et al. [65], showed that AL and a $\beta$ 2GPI are much more associated with thrombotic than with obstetric events, while aCL and aPS/PT seem to be associated with both types of complications. In another systematic review and meta-analysis, do Prado et al. [66] observed that moderate-high aCL titers are associated with PE, although they did not find evidence enough to use this type of antibody as predictor of PE in clinical practice. Regarding unconventional antibodies, our results are in agreement with those obtained by Žigon et al. [23], who indicate that aPS/PT are a stronger independent risk factor for obstetric complications compared to AL, aCL and a $\beta$ 2GPI.

The mechanisms of the increased cardiovascular risk among women with a history of PE [67,68] are not well understood. An endothelial dysfunction has been observed in both PE and atherosclerosis, providing a plausible link between these two conditions [69], whose non-invasive evaluation can

be carried out using PWV [70] and the ABI [71]. In normal pregnancy, several hemodynamic adaptations take place involving a decrease in PWV during the first and second trimester of gestation, increasing from the beginning of the third trimester to immediately after delivery, and decreasing to similar levels at the beginning of pregnancy approximately one month later childbirth [34,72]. Conversely, women with PE show a significant increase in PWV throughout the three trimesters of pregnancy, which persists even after delivery [35] and suggests that patients with PE have a higher cardiovascular risk after delivery. A systematic review shows that preeclampsia is associated with increased arterial stiffness during and after pregnancy, as well as the existence of an association between the severity of preeclampsia and arterial stiffness [73,74]. After adjusting for possible confounding factors, a significant and inverse correlation was found between PWV and global endothelial function in healthy patients ( $r = 0.69$ ;  $p = 0.001$ ). A systematic review by Cecelja et al. [75] found that, despite the exception of age and hypertension, PWV is practically independent of the classical risk factors for atherosclerosis. Our results confirm these data because at the time of PWV evaluation, the patients included in the study were already not hypertensive, so that, in addition to positivity in IgM aPS/PT, we only found age as a factor associated with altered PWV values.

The ABI is an objective and recognized method for the evaluation of peripheral vascular function in asymptomatic people. An ABI value  $< 0.9$  is a good predictor of cardiovascular morbidity and mortality related to peripheral arterial disease, with a sensitivity of 95% and a specificity of almost 100% for detecting the disease by angiographic methods [71]. A comprehensive systematic review and meta-analysis [76] found that the 10-year cardiovascular mortality in women with a low ABI ( $\leq 0.9$ ) was 12.6% (95% CI, 6.2%–19.0%) and 4.1% (95% CI, 2.2%–6.1%) in those women with a normal ABI (HR, 3.5; 95% CI, 2.4–5.1). It is possible that the transient but severe endothelial dysfunction seen in PE potentiates a cascade of events that progresses to atherosclerosis [68]. However, despite the fact that in our study we have only found age and the positivity of IgM aPS/PT as factors associated with subclinical atherosclerosis, it does not seem that they are the only parameters responsible for it. In our study, we found a high positive correlation between IgM aPTPS and PWV levels ( $\rho = 0.830$ ;  $p < 0.001$ ), as well as a moderate inverse correlation with the ABI ( $\rho = -0.469$ ;  $p < 0.001$ ).

The analysis of the vascular parameters showed that those patients with normal pregnancies and negative IgM aPS/PT titers presented lower PWV levels in comparison with women that had IgM aPS/PT antibodies (PWV 7.50 (7.20–8.00) m/s vs. 9.00 (8.35–9.95) m/s;  $p < 0.001$ ). However, ABI was similar between both groups of patients. Furthermore, significant differences in PWV (7.80 (7.10–8.00) m/s vs. 9.50 (8.88–10.70) m/s;  $p < 0.001$ ) and ABI (1.11 (0.95–1.22) vs 0.90 (0.86–1.14);  $p < 0.001$ ) were observed between those women who developed PE and presented IgM aPS/PT in comparison with PE women without IgM aPS/PT, which suggest that endothelial dysfunction in preeclamptic women may be significantly accentuated in the presence of IgM aPS/PT.

Finally, regarding traditional risk factors for PE, we identified an association between family history of hypertension and the development of PE (OR maternal = 3.47; IC 95% (1.34–8.98);  $p = 0.010$ ) and (OR paternal = 3.06; IC 95% (1.29–7.27);  $p = 0.011$ ). However, only maternal family history of hypertension was included in the final multivariate regression analysis, showing an intense association OR = 8.3 (1.2–57.4),  $p = 0.032$ . These results confirm the contribution of the familial component in the appearance of PE [77]. Nevertheless, we did not observe any association with other classically associated risk factors. In this way, despite 12 of 16 women included in the study with an age above 40 years developed PE, we did not find a significant increase in the risk of PE as a consequence of the advanced age. This could be explained because all the women were under 44 years old. These results are in agreement with the results obtained by Lehman [78], who did not find a clear increase in the incidence of PE until the women reached 45 years old. Although the use of assisted reproductive techniques has been associated with the development of PE, especially in the case of multiple pregnancies [79], we did not observe any association. Finally, due to the small number of patients with the following antecedents, we could not confirm the increased risk of PE derived from a

history of PE in previous pregnancies [80], the presence of urinary tract infections [81], or the protective effect of smoking in the development of PE [82].

As main weaknesses of our study, we highlight the small size of the control group compared to the PD group, as well as the absence of determination of aPL and cardiovascular parameters during pregnancy. In future studies, we should analyze whether unconventional APLs already develop in the first months of pregnancy and could be a pathogenic factor of this disease.

In conclusion, although its clinical relevance and its mechanisms of action are far from being well understood, the observed results suggest that in those patients who have developed PE, the presence of IgM aPS/PT could be useful for the stratification of CV risk, helping to identify those women who could benefit from an adequate therapeutic treatment. However, multicenter studies are required to validate the independent effects of these antibodies and, where appropriate, to confirm their usefulness in clinical practice.

## 4. Materials and Methods

### 4.1. Patients

The patients of this study included 157 pregnant women with a high risk of PE, defined as one or more of the following criteria: previous PE, chronic kidney disease, diabetes mellitus (pre-pregnancy), pregnancy by assisted reproduction techniques, maternal age > 40 years, BMI > 35 Kg/m<sup>2</sup> at the beginning of pregnancy; multiple pregnancy or familial history of PE were included in the present study. Further, 122 (77.71%) women developed PE (56 non-severe PE (NS-PE) and 66 severe PE (S-PE)). The gestation proceeded without hypertensive disorders of pregnancy in the remaining 35 women.

The main demographic data, as well as personal, familial and obstetric history were collected using an individualized questionnaire supplemented with the patient's clinical history. Pregnancy and analytical data were obtained from records incorporated into the clinical history. The study was conducted following the rules of Declaration of Helsinki and approved by the Regional Ethics Committee in our Institution (reference number: 2018.170). All the patients included in the present study gave informed consent before inclusion in the study. Diagnostic criteria for PE include a systolic blood pressure of 140 mm Hg or more or diastolic blood pressure of 90 mm Hg or more on two occasions at least 4 h apart after 20 weeks of gestation in a woman with a previously normal blood pressure and proteinuria of 300 mg or more per 24 h urine collection (or this amount extrapolated from a timed collection) or protein/creatinine ratio of 0.3 mg/dL or more or dipstick reading of 2+ (used only if other quantitative methods not available). Preeclampsia with severe features include systolic blood pressure of 160 mm Hg or more, or diastolic blood pressure of 110 mm Hg or more on two occasions at least 4 h apart (unless antihypertensive therapy is initiated before this time), thrombocytopenia (platelet count less than  $100 \times 10^9/L$ , impaired liver function that is not accounted for by alternative diagnoses and as indicated by abnormally elevated blood concentrations of liver enzymes (to more than twice the upper limit normal concentrations), or by severe persistent right upper quadrant or epigastric pain unresponsive to medications, renal insufficiency (serum creatinine concentration more than 1.1 mg/dL or a doubling of the serum creatinine concentration in the absence of other renal disease), pulmonary edema, new-onset headache unresponsive to medication and not accounted for by alternative diagnoses or visual disturbances. The clinical criteria used for the diagnosis and classification of PE were reviewed, checking their adjustment to guidelines established by The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG, Task Force on Hypertension in Pregnancy) [1].

The determination of the classical and unconventional aPLs together with the vascular parameters (PWV and ABI) was performed at three months after delivery, once solved the hypertension and the proteinuria in those patients with PE during pregnancy.



#### 4.2. ELISA Serum Antiphospholipid Antibodies

Ten ml of peripheral blood was collected at three months postpartum in a tube without anticoagulant. The serum was extracted by centrifugation at 3000 revolutions per minute during 10 min at room temperature.

This serum was used to determine the presence of aPLs by ELISA following manufacturer instructions. Specifically, IgG and IgM aCL and IgG and IgM a $\beta$ 2GPI were measured using ORGENTEC detection kit (Diagnostika GmbH<sup>®</sup>, Straßberg, Germany) (ref ORG 515 y 521, respectively). Additionally, IgA aCL (ref 708635), IgA a $\beta$ 2GPI (ref 708675), and IgG and IgM aPS/PT (ref 708835 and 708845, respectively) were detected using QUANTA Lite<sup>®</sup> (Inova Diagnostics, Inc., San Diego, CA, USA). The cut-off points established to determine the positivity of the different aPLs are depicted in Supplementary Table S3.

#### 4.3. Lupus Anticoagulant Test

Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)-based mixing test and Russell Viper Venom Time (RVVT) test were used to determine lupus anticoagulant.

#### 4.4. PWV and ABI Determination

The PWV was determined using the automated device SphymoCor XCEL and the ABI was measured using the WatchBP Office ABI system (Microfile watchBP AG, Widnau, Switzerland).

PWV values were considered abnormal if they exceeded the median reference value of the patient's age group, established for the European population [83] (Supplementary Table S2). Abnormal ABI values were considered those less than 0.9.

#### 4.5. Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SPSS v.15.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). The distribution of continuous variables was assessed using Kolmogorov–Smirnov/Shapiro–Wilk tests where indicated. Results were expressed as mean  $\pm$  standard deviation or median + interquartile range (IQR) for continuous variables and percentages for categorical data. Comparisons were based on the chi squared test or Fisher's exact test for categorical data and Mann–Whitney U test for nonparametric continuous data. Receiver operating characteristic (ROC) analysis and Youden's index were used to determine the optimal cut-point with higher sensitivity and specificity of each aPL for the development of PE. Spearman rank correlation was used to quantify the association between aPL titers and cardiovascular parameters (PWV and ABI) considering both as continuous variables. In the multivariate logistic regression analysis the Backward Stepwise procedure was used after selecting the variables identified by the univariate models as potential predictors, as well as those others whose presence in the model was methodologically justified. Only variables considered statistically significant ( $p < 0.05$ ) were included in the final model.

**Supplementary Materials:** The following are available online at <http://www.mdpi.com/2075-1729/10/10/241/s1>, Table S1: Personal, Family and Obstetric History. Pregnancy Data, Table S2: PWV Reference Values, Table S3: Cut-off Points Established for the Different Antiphospholipid Antibodies.

**Author Contributions:** Conceptualization, L.B.V., G.F.F., E.R. and M.L.H.; methodology, L.B.V., J.I.V., M.H.V. and V.O.T.; software, L.B.V. and J.I.V.; formal analysis, L.B.V.; investigation, L.B.V., G.F.F., J.I.V., M.H.V., V.O.T., J.C.R.S.M., E.R. and M.L.H.; data curation, L.B.V., G.F.F., J.I.V., E.R. and M.L.H.; writing—original draft preparation, L.B.V.; writing—review and editing, L.B.V., G.F.F., J.I.V., J.C.R.S.M., E.R. and M.L.H. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Conflicts of Interest:** The authors have no conflicts of interest to declare.

## Abbreviations

a $\beta$ 2GPI	Anti $\beta$ 2glycoprotein-I antibodies
ABI	Ankle-brachial index
aCL	Anticardiolipin antibodies
aPL	Antiphospholipid antibodies
APS	Antiphospholipid syndrome
aPS/PT	Antiphosphatidylserine-prothrombin complex antibodies
aPT	Antiprothrombin antibodies
APTT	Activated Partial Thromboplastin Time
BMI	Body mass index
DBP	Diastolic blood pressure
LA	Lupus anticoagulant
NS-PE	Non-severe pre-eclampsia
OAPS	Obstetric antiphospholipid syndrome
PE	Pre-eclampsia
PWV	Pulse wave velocity
RVVT	Russell Viper Venom Time
SBP	Systolic blood pressure
S-PE	Severe pre-eclampsia

## References

1. American College of Obstetricians and Gynecologists. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstet. Gynecol.* **2020**, *135*, e237–e260. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Homer, C.S.E.; Brown, M.A.; Mangos, G.; Davis, G.K. Non-proteinuric pre-eclampsia: A novel risk indicator in women with gestational hypertension. *J. Hypertens.* **2008**, *26*, 295–302. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Hnat, M.D.; Sibai, B.M.; Caritis, S.; Hauth, J.; Lindheimer, M.D.; MacPherson, C.; Van Dorsten, J.P.; Landon, M.; Miodovnik, M.; Paul, R.; et al. Perinatal outcome in women with recurrent preeclampsia compared with women who develop preeclampsia as nulliparas. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2002**, *186*, 422–426. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Sarno, L.; Maruotti, G.M.; Saccone, G.; Sirico, A.; Mazzarelli, L.L.; Martinelli, P. Pregnancy outcome in proteinuria-onset and hypertension-onset preeclampsia. *Hypertens. Pregnancy* **2015**, *34*, 284–290. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Chesley, L.C.; Cooper, D.W. Genetics of hypertension in pregnancy: Possible single gene control of pre-eclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **1986**, *93*, 898–908. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Warrington, J.P.; George, E.M.; Palei, A.C.; Spradley, F.T.; Granger, J.P. Recent advances in the understanding of the pathophysiology of preeclampsia. *Hypertension* **2013**, *62*, 666–673. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Roberts, J. Endothelial Dysfunction in Preeclampsia. *Semin. Reprod. Med.* **1998**, *16*, 5–15. [[CrossRef](#)]
8. Taylor, R.N.; De Groot, C.J.M.; Cho, Y.K.; Lim, K.H. Circulating factors as markers and mediators of endothelial cell dysfunction in preeclampsia. *Semin. Reprod. Endocrinol.* **1998**, *16*, 17–31. [[CrossRef](#)]
9. Wadhvani, P.; Saha, P.K.; Kalra, J.K.; Gaider, S.; Sundaram, V. A study to compare maternal and perinatal outcome in early vs. late onset preeclampsia. *Obstet. Gynecol. Sci.* **2020**, *63*, 270–277. [[CrossRef](#)]
10. De Jesus, G.R.; Agmon-Levin, N.; Andrade, C.A.; Andreoli, L.; Chighizola, C.B.; Porter, T.F.; Salmon, J.; Silver, R.M.; Tincani, A.; Branch, D.W. 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force Report on Obstetric Antiphospholipid Syndrome. *Autoimmun. Rev.* **2014**, *13*, 795–813. [[CrossRef](#)]
11. Miyakis, S.; Lockshin, M.D.; Atsumi, T.; Branch, D.W.; Brey, R.L.; Cervera, R.; Derkesen, R.H.W.M.; De Groot, P.G.; Koike, T.; Meroni, P.L.; et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J. Thromb. Haemost.* **2006**, *4*, 295–306. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Jara, L.J.; Medina, G.; Vera-Lastra, O.; Amigo, M.C. Accelerated atherosclerosis, immune response and autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmun. Rev.* **2006**, *5*, 195–201. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



13. Pahor, A.; Hojs, R.; Holc, I.; Ambrožič, A.; Čučnik, S.; Kveder, T.; Rozman, B. Antiphospholipid antibodies as a possible risk factor for atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Immunobiology* **2006**, *211*, 689–694. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Vlachoyiannopoulos, P.G.; Samarkos, M. Peripheral vascular disease in antiphospholipid syndrome. *Thromb. Res.* **2004**, *114*, 509–519. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Bertolaccini, M.L.; Amengual, O.; Atsumi, T.; Binder, W.L.; De Laat, B.; Forastiero, R.; Kutteh, W.H.; Lambert, M.; Matsubayashi, H.; Murthy, V.; et al. “Non-criteria” aPL tests: Report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. *Lupus* **2011**, *20*, 191–205. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Nayfe, R.; Uthman, I.; Aoun, J.; Aldin, E.S.; Merashli, M.; Khamashta, M.A. Seronegative antiphospholipid syndrome. *Rheumatology* **2013**, *52*, 1358–1367. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Zohoury, N.; Bertolaccini, M.L.; Rodriguez-Garcia, J.L.; Shums, Z.; Ateka-Barrutia, O.; Sorice, M.; Norman, G.L.; Khamashta, M. Closing the serological gap in the antiphospholipid syndrome: The value of “non-criteria” antiphospholipid antibodies. *J. Rheumatol.* **2017**, *44*, 1597–1602. [[CrossRef](#)]
18. Shi, H.; Zheng, H.; Yin, Y.F.; Hu, Q.Y.; Teng, J.L.; Sun, Y.; Liu, H.L.; Cheng, X.B.; Ye, J.N.; Su, Y.T.; et al. Antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies (aPS/PT) as potential diagnostic markers and risk predictors of venous thrombosis and obstetric complications in antiphospholipid syndrome. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2018**, *56*, 614–624. [[CrossRef](#)]
19. Sciascia, S.; Amigo, M.C.; Roccatello, D.; Khamashta, M. Diagnosing antiphospholipid syndrome: “extra-criteria” manifestations and technical advances. *Nat. Rev. Rheumatol.* **2017**, *13*, 548–560. [[CrossRef](#)]
20. Marozio, L.; Curti, A.; Botta, G.; Canuto, E.M.; Salton, L.; Tavella, A.M.; Benedetto, C. Anti-prothrombin antibodies are associated with adverse pregnancy outcome. *Am. J. Reprod. Immunol.* **2011**, *66*, 404–409. [[CrossRef](#)]
21. Von Landenberg, P.; Matthias, T.; Zaech, J.; Schultz, M.; Lorber, M.; Blank, M.; Shoenfeld, Y. Antiprothrombin antibodies are associated with pregnancy loss in patients with the antiphospholipid syndrome. *Am. J. Reprod. Immunol.* **2003**, *49*, 51–56. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Sabatini, L.; Torricelli, M.; Scaccia, V.; Fineschi, D.; Pescaglioni, M.; Gasparri, L.; Florio, P.; Petraglia, F. Increased plasma concentrations of antiprothrombin antibodies in women with recurrent spontaneous abortions. *Clin. Chem.* **2007**, *53*, 228–232. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Žigon, P.; Čučnik, S.; Ambrožič, A.; Kveder, T.; Šemrl, S.S.; Rozman, B.; Božič, B. Detection of antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies and their potential diagnostic value. *Clin. Dev. Immunol.* **2013**, *2013*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Sugiura-Ogasawara, M.; Atsumi, T.; Ozaki, Y.; Koike, T.; Suzumori, K. Phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibodies are not useful markers for high-risk women with recurrent miscarriages. *Fertil. Steril.* **2004**, *82*, 1440–1442. [[CrossRef](#)]
25. Tsutsumi, A.; Atsumi, T.; Yamada, H.; Kato, E.H.; Ichikawa, K.; Fujimoto, S.; Koike, T. Anti-phosphatidylserine/prothrombin antibodies are not frequently found in patients with unexplained recurrent miscarriages. *Am. J. Reprod. Immunol.* **2001**, *46*, 242–244. [[CrossRef](#)]
26. Zhu, L.; Li, C.; Liu, N.; Yang, X.; Jia, R.L.; Mu, R.; Su, Y.; Li, Z.G. Diagnostic value of antibodies to phosphatidylserine/prothrombin complex for antiphospholipid syndrome in Chinese patients. *Clin. Rheumatol.* **2017**, *36*, 401–406. [[CrossRef](#)]
27. Morales, J.M.; Serrano, M.; Martínez-Flores, J.A.; Pérez, D.; Castro, M.J.; Sánchez, E.; García, F.; Rodríguez-Antolín, A.; Alonso, M.; Gutierrez, E.; et al. The presence of pretransplant antiphospholipid antibodies iga anti-b-2-glycoprotein i as a predictor of graft thrombosis after renal transplantation. *Transplantation* **2017**, *101*, 597–607. [[CrossRef](#)]
28. Arrebola-Moreno, A.L.; Laclaustra, M.; Kaski, J.C. Noninvasive assessment of endothelial function in clinical practice. *Rev. Esp. Cardiol.* **2012**, *65*, 80–90. [[CrossRef](#)]
29. Naka, K.K.; Tweddel, A.C.; Doshi, S.N.; Goodfellow, J.; Henderson, A.H. Flow-mediated changes in pulse wave velocity: A new clinical measure of endothelial function. *Eur. Heart J.* **2006**, *27*, 302–309. [[CrossRef](#)]

30. Torrado, J.; Bia, D.; Zócalo, Y.; Valls, G.; Lluberás, S.; Craiem, D.; Armentano, R.L. Reactive hyperemia-related changes in carotid-radial pulse wave velocity as a potential tool to characterize the endothelial dynamics. In Proceedings of the 31st Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society: Engineering the Future of Biomedicine, IEEE Computer Society, Minneapolis, MN, USA, 3–6 September 2009; pp. 1800–1803.
31. Williams, B.; Mancia, G.; Spiering, W.; Rosei, E.A.; Azizi, M.; Burnier, M.; Clement, D.L.; Coca, A.; De Simone, G.; Dominiczak, A.; et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *J. Hypertens.* **2018**, *36*, 1956–2041. [[CrossRef](#)]
32. Laurent, S.; Cockcroft, J.; Van Bortel, L.; Boutouyrie, P.; Giannattasio, C.; Hayoz, D.; Pannier, B.; Vlachopoulos, C.; Wilkinson, I.; Struijker-Boudier, H. Expert consensus document on arterial stiffness: Methodological issues and clinical applications. *Eur. Heart J.* **2006**, *27*, 2588–2605. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Hansen, T.W.; Staessen, J.A.; Torp-Pedersen, C.; Rasmussen, S.; Thijs, L.; Ibsen, H.; Jeppesen, J. Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation* **2006**, *113*, 664–670. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Oyama-Kato, M.; Ohmichi, M.; Takahashi, K.; Suzuki, S.; Henmi, N.; Yokoyama, Y.; Kurachi, H. Change in pulse wave velocity throughout normal pregnancy and its value in predicting pregnancy-induced hypertension: A longitudinal study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2006**, *195*, 464–469. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Franz, M.B.; Burgmann, M.; Neubauer, A.; Zeisler, H.; Sanani, R.; Gottsauner-Wolf, M.; Schiessl, B.; Andreas, M. Augmentation index and pulse wave velocity in normotensive and pre-eclamptic pregnancies. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **2013**, *92*, 960–966. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Papamichael, C.M.; Lekakis, J.P.; Stamatelopoulos, K.S.; Papaioannou, T.G.; Alevizaki, M.K.; Cimponeriu, A.T.; Kanakakis, J.E.; Papapanagiotou, A.; Kalofoutis, A.T.; Stamatelopoulos, S.F. Ankle-brachial index as a predictor of the extent of coronary atherosclerosis and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* **2000**, *86*, 615–618. [[CrossRef](#)]
37. Sikkink, C.J.J.M.; Van Asten, W.N.J.C.; Van Hof, M.A.; Van Langen, H.; Van Der Vliet, J.A. Decreased ankle/brachial indices in relation to morbidity and mortality in patients with peripheral arterial disease. *Vasc. Med.* **1997**, *2*, 169–173. [[CrossRef](#)]
38. McKenna, M.; Wolfson, S.; Kuller, L. The ratio of ankle and arm arterial pressure as an independent predictor of mortality. *Atherosclerosis* **1991**, *87*, 119–128. [[CrossRef](#)]
39. Yasuda, M.; Takakuwa, K.; Tokunaga, A.; Tanaka, K. Prospective Studies of the Association Between Anticardiolipin Antibody and Outcome of Pregnancy. *Obstet. Gynecol.* **1995**, *86*, 555–559. [[CrossRef](#)]
40. Lockwood, C.J.; Romero, R.; Feinberg, R.F.; Clyne, L.P.; Coster, B.; Hobbins, J.C. The prevalence and biologic significance of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a general obstetric population. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1989**, *161*, 369–373. [[CrossRef](#)]
41. Tsapanos, V.; Kanellopoulos, N.; Cardamakis, E.; Fotopoulos, A.; Schinas, V.; Kondakis, X.; Tzingounis, V. Anticardiolipin antibodies levels in healthy pregnant and non-pregnant woman. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2000**, *263*, 111–115. [[CrossRef](#)]
42. Allen, J.Y.; Tapia-Santiago, C.; Kutteh, W.H. Antiphospholipid antibodies in patients with preeclampsia. *Am. J. Reprod. Immunol.* **1996**, *36*, 81–85. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Yamamoto, T.; Yoshimura, S.; Geshi, Y.; Sasamori, Y.; Okinaga, S.; Kobayashi, T.; Mori, H. Measurement of antiphospholipid antibody by ELISA using purified beta 2-glycoprotein I in preeclampsia. *Clin. Exp. Immunol.* **1993**, *94*, 196–200. [[CrossRef](#)]
44. Taylor, P.V.; Skerrow, S.M.; Redman, C.W.G. Pre-eclampsia and anti-phospholipid antibody. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **1991**, *98*, 604–606. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Dekker, G.A.; de Vries, J.I.P.; Doelitzsch, P.M.; Huijgens, P.C.; von Blomberg, B.M.E.; Jakobs, C.; van Geijn, H.P. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1995**, *173*, 1042–1048. [[CrossRef](#)]
46. Kurki, T.; Ailus, K.; Palosuo, T.; Ylikorkala, O. Antibodies to oxidized low-density lipoprotein, cardiolipin, and phosphatidyl serine fail to predict the risk of preeclampsia. *Hypertens. Pregnancy* **1996**, *15*, 251–256. [[CrossRef](#)]
47. Martínez-Abundis, E.; González-Ortiz, M.; Cortés-Llamas, V.; Salazar-Páramo, M. Anticardiolipin antibodies and the severity of preeclampsia-eclampsia. *Gynecol. Obstet. Investig.* **1999**, *48*, 168–171. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

48. Von Tempelhoff, G.F.; Heilmann, L.; Spanuth, E.; Kunzmann, E.; Hommel, G. Incidence of the Factor V Leiden-mutation, coagulation inhibitor deficiency, and elevated antiphospholipid-antibodies in patients with preeclampsia or HELLP-Syndrome. *Thromb. Res.* **2000**, *100*, 363–365. [[CrossRef](#)]
49. Heilmann, L.; Schneider, D.M.; Tempelhoff, C.F.; Kuse, S. Antiphospholipid-antibodies and other thrombophilic defects in patients with a history of early onset severe preeclampsia or HELLP-syndrome. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* **2000**, *60*, 95–100. [[CrossRef](#)]
50. Branch, D.W.; Porter, T.F.; Rittenhouse, L.; Caritis, S.; Sibai, B.; Hogg, B.; Lindheimer, M.D.; Klebanoff, M.; MacPherson, C.; VanDorsten, J.P.; et al. Antiphospholipid antibodies in women at risk for preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2001**, *184*, 825–834. [[CrossRef](#)]
51. Lee, R.M.; Brown, M.A.; Branch, D.W.; Ward, K.; Silver, R.M. Anticardiolipin and anti- $\beta$ 2-glycoprotein-I antibodies in preeclampsia. *Obstet. Gynecol.* **2003**, *102*, 294–300.
52. Out, H.J.; Bruinse, H.W.; Christiaens, G.C.M.L.; van Vliet, M.; de Groot, P.G.; Nieuwenhuis, H.K.; Derksen, R.H.W.M. A prospective, controlled multicenter study on the obstetric risks of pregnant women with antiphospholipid antibodies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1992**, *167*, 26–32. [[CrossRef](#)]
53. Lynch, A.; Marlar, R.; Murphy, J.; Davila, G.; Santos, M.; Rutledge, J.; Emlen, W. Antiphospholipid antibodies in predicting adverse pregnancy outcome: A prospective study. *Ann. Intern. Med.* **1994**, *120*, 470–475. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Dreyfus, M.; Hedelin, G.; Kutnahorsky, R.; Lehmann, M.; Viville, B.; Langer, B.; Fleury, A.; M'Barek, M.; Treisser, A.; Wiesel, M.L.; et al. Antiphospholipid antibodies and preeclampsia: A case-control study. *Obstet. Gynecol.* **2001**, *97*, 29–34. [[CrossRef](#)]
55. Fernández-Fresnedo, G.; López-Hoyos, M.; San Segundo, D.; Crespo, J.; Ruiz, J.C.; De Francisco, A.L.M.; Arias, M. Clinical significance of antiphospholipid antibodies on allograft and patient outcome after kidney transplantation. *Transplant. Proc.* **2005**, *37*, 3710–3711. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. López-Escribano, H.; Miñambres, E.; Labrador, M.; Bartolomé, M.J.; López-Hoyos, M. Induction of cell death by sera from patients with acute brain injury as a mechanism of production of autoantibodies. *Arthritis Rheum.* **2002**, *46*, 3290–3300. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Yamada, H.; Tsutsumi, A.; Ichikawa, K.; Kato, E.; Koike, T.; Fujimoto, S. IgA-class anti-beta2-glycoprotein I in women with unexplained recurrent spontaneous abortion. *Arthritis Rheum.* **1999**, *42*, 2727–2728. [[CrossRef](#)]
58. Lee, R.M.; Branch, D.W.; Silver, R.M. Immunoglobulin A anti- $\beta$ 2-glycoprotein antibodies in women who experience unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained fetal death. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2001**, *185*, 748–753. [[CrossRef](#)]
59. Sciascia, S.; Sanna, G.; Murru, V.; Roccatello, D.; Khamashta, M.A.; Bertolaccini, M.L. Anti-prothrombin (aPT) and anti-phosphatidylserine/prothrombin (aPS/PT) antibodies and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome a systematic review. *Thromb. Haemost.* **2013**, *111*, 354–364. [[CrossRef](#)]
60. Pengo, V.; Del Ross, T.; Ruffatti, A.; Bison, E.; Cattini, M.G.; Pontara, E.; Testa, S.; Legnani, C.; Pozzi, N.; Peterle, D.; et al. Lupus anticoagulant identifies two distinct groups of patients with different antibody patterns. *Thromb. Res.* **2018**, *172*, 172–178. [[CrossRef](#)]
61. Atsumi, T.; Amengual, O.; Yasuda, S.; Koike, T. Antiprothrombin antibodies—Are they worth assaying? *Thromb. Res.* **2004**, *114*, 533–538. [[CrossRef](#)]
62. Ghirardello, A.; Bizzaro, N.; Zampieri, S.; Iaccarino, L.; Bassi, N.; Tozzoli, R.; Ruffatti, A.; Villalta, D.; Tonutti, E.; Doria, A. Biological and clinical relevance of anti-prothrombin antibodies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2007**, *1109*, 503–510. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Radin, M.; Foddai, S.G.; Cecchi, I.; Rubini, E.; Schreiber, K.; Roccatello, D.; Bertolaccini, M.L.; Sciascia, S. Antiphosphatidylserine/Prothrombin Antibodies: An Update on Their Association with Clinical Manifestations of Antiphospholipid Syndrome. *Thromb. Haemost.* **2020**, *120*, 592–598. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Hoxha, A.; Ruffatti, A.; Mattia, E.; Meneghel, L.; Tonello, M.; Salvan, E.; Pengo, V.; Punzi, L. Relationship between antiphosphatidylserine/prothrombin and conventional antiphospholipid antibodies in primary antiphospholipid syndrome. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2015**, *53*, 1265–1270. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Abou-Nassar, K.; Carrier, M.; Ramsay, T.; Rodger, M.A. The association between antiphospholipid antibodies and placenta mediated complications: A systematic review and meta-analysis. *Thromb. Res.* **2011**, *128*, 77–85. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Do Prado, A.D.; Piovesan, D.M.; Staub, H.L.; Horta, B.L. Association of anticardiolipin antibodies with preeclampsia: A systematic review and meta-analysis. *Obstet. Gynecol.* **2010**, *116*, 1433–1443. [[CrossRef](#)]

67. Wu, P.; Haththotuwa, R.; Kwok, C.S.; Babu, A.; Kotronias, R.A.; Rushton, C.; Zaman, A.; Fryer, A.A.; Kadam, U.; Chew-Graham, C.A.; et al. Preeclampsia and future cardiovascular health. *Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes* **2017**, *10*, e003497. [[CrossRef](#)]
68. Bellamy, L.; Casas, J.P.; Hingorani, A.D.; Williams, D.J. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: Systematic review and meta-analysis. *Br. Med. J.* **2007**, *335*, 974–977. [[CrossRef](#)]
69. Lampinen, K.H.; Rönnback, M.; Kaaja, R.J.; Groop, P.H. Impaired vascular dilatation in women with a history of pre-eclampsia. *J. Hypertens.* **2006**, *24*, 751–756. [[CrossRef](#)]
70. Asmar, R.; Benetos, A.; Topouchian, J.; Laurent, P.; Pannier, B.; Brisac, A.M.; Target, R.; Levy, B.I. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement: Validation and clinical application studies. *Hypertension* **1995**, *26*, 485–490. [[CrossRef](#)]
71. Belch, J.J.F.; Topol, E.J.; Agnelli, G.; Bertrand, M.; Califf, R.M.; Clement, D.L.; Creager, M.A.; Easton, J.D.; Gavin, J.R.; Greenland, P.; et al. Critical issues in peripheral arterial disease detection and management: A call to action. *Arch. Intern. Med.* **2003**, *163*, 884–892. [[CrossRef](#)]
72. Khalil, A.; Jauniaux, E.; Cooper, D.; Harrington, K. Pulse wave analysis in normal pregnancy: A prospective longitudinal study. *PLoS ONE* **2009**, *4*, e6134. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Hausvater, A.; Giannone, T.; Sandoval, Y.H.G.; Doonan, R.J.; Antonopoulos, C.N.; Matsoukis, I.L.; Petridou, E.T.; Daskalopoulou, S.S. The association between preeclampsia and arterial stiffness. *J. Hypertens.* **2012**, *30*, 17–33. [[CrossRef](#)]
74. Avni, B.; Frenkel, G.; Shahar, L.; Golik, A.; Sherman, D.; Dishy, V. Aortic stiffness in normal and hypertensive pregnancy. *Blood Press.* **2010**, *19*, 11–15. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Cecelja, M.; Chowienzyk, P. Dissociation of aortic pulse wave velocity with risk factors for cardiovascular disease other than hypertension: A systematic review. *Hypertension* **2009**, *54*, 1328–1336. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Fowkes, G.; Fowkes, F.G.R.; Murray, G.D.; Butcher, I.; Heald, C.L.; Lee, R.J.; Chambless, L.E.; Folsom, A.R.; Hirsch, A.T.; Dramaix, M.; et al. Ankle brachial index combined with Framingham risk score to predict cardiovascular events and mortality: A meta-analysis. *J. Am. Med. Assoc.* **2008**, *300*, 197–208.
77. Eskenazi, B. A Multivariate Analysis of Risk Factors for Preeclampsia. *J. Am. Med. Assoc.* **1991**, *266*, 237. [[CrossRef](#)]
78. Lehmann, K. *Eklampsien i Danmark i Aarene*; Busck: Copenhagen, Denmark, 1933; pp. 1918–1927.
79. 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. [[CrossRef](#)]
80. Sibai, B.M.; Mercer, B.; Sarinoglu, C. Severe preeclampsia in the second trimester: Recurrence risk and long-term prognosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1991**, *165*, 1408–1412. [[CrossRef](#)]
81. Schieve, L.A.; Handler, A.; Hershov, R.; Persky, V.; Davis, F. Urinary tract infection during pregnancy: Its association with maternal morbidity and perinatal outcome. *Am. J. Public Health* **1994**, *84*, 405–410. [[CrossRef](#)]
82. England, L.; Zhang, J. Smoking and risk of preeclampsia: A systematic review. *Front. Biosci.* **2007**, *12*, 2471–2483. [[CrossRef](#)]
83. Mattace-Raso, F.U.S.; Hofman, A.; Verwoert, G.C.; Wittemana, J.C.M.; Wilkinson, I.; Cockcroft, J.; McEniery, C.; Yasmina; Laurent, S.; Boutouyrie, P.; et al. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: ‘Establishing normal and reference values’. *Eur. Heart J.* **2010**, *31*, 2338–2350.

**Publisher’s Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).