

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

**Implementación clínica del cociente sFlt-1/PlGF como  
herramienta diagnóstica y pronóstica de la preeclampsia y la  
restricción del crecimiento intrauterino**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Elisa Simón San José**

Director

**Ignacio Herraiz García**

Madrid

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

FACULTAD DE MEDICINA



**TESIS DOCTORAL**

**Implementación clínica del cociente sFlt-1/PIGF como  
herramienta diagnóstica y pronóstica de la preeclampsia y la  
restricción del crecimiento intrauterino**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA POR

**Elisa Simón San José**

Director

**Ignacio Herraiz García**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

FACULTAD DE MEDICINA

Doctorado en investigación en ciencias médico-quirúrgicas



**TESIS DOCTORAL**

**Implementación clínica del cociente sFlt-1/PlGF como  
herramienta diagnóstica y pronóstica de la preeclampsia y la  
restricción del crecimiento intrauterino**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA POR

**Elisa Simón San José**

Director

**Ignacio Herraiz García**

Madrid, 2022

*A ti, Mamá.*

## AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Alberto Galindo Izquierdo, por tutorizar la presente tesis doctoral, y por fomentar y acompañar en la búsqueda de la excelencia a todos los profesionales que trabajamos bajo su ala.

Al Dr. Ignacio Herraiz García, por confiar en mí desde mis inicios y enseñarme con infinita dedicación a comprender, valorar y apreciar la investigación; por su entrega y su pasión por la docencia, la preeclampsia y la medicina fetal.

A la Dra. Eney Gómez Montes, por transmitirme seguridad desde el principio, por su confianza, por sus confidencias, por conseguir hacer de lo extraordinario una constante, por contar conmigo y hacerme sentir parte del grupo.

A la Dra. Cecilia Villalaín González, por su inestimable ayuda, sus consejos, su generosidad, su calidad profesional, y por hacer parecer fácil lo difícil.

A todos los miembros de la Unidad de Medicina fetal del Hospital 12 de Octubre, tanto médicos (Juan Arbués, David Escribano, Eney Gómez, Paula Gómez, José Manuel Puente, Soledad Quezada, Jesús Rodríguez, Cecilia Villalaín) como el resto de personal (Manuela, Juan Carlos, Celia, y tantas otras personas con las que he compartido horas y horas), por transmitirme su energía y su afán insaciable de conocimiento, por hacer equipo y remar juntos contra viento y marea, y por haber convertido el trabajo en familia.

A la Dra. Reyes Oliver Pérez, por las largas horas de conversaciones, por ser un ejemplo de excelencia, de profesionalidad y de compromiso con el trabajo, la medicina y las pacientes.

A todos los miembros del servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital 12 de Octubre, por acompañarme en el camino desde el comienzo de la residencia, y por formarme profesionalmente.

A mis amigos, por entenderme y apoyarme en cada decisión, por ser mi soporte en los momentos malos y celebrar como nadie los momentos buenos.

A María José y Mariano, amigos y “padres postizos”, consejeros de la vida y del alma, pilares de nuestro bienestar.

A mi familia, en especial a mis abuelos, y sobre todo a mi abuela Felisa. Por haber sentado unas sólidas bases sobre las que crecer, por ser un ejemplo de resiliencia, de lucha, de esfuerzo y superación; por entregarse con maestría a la tremenda empresa de formar y mantener una familia.

A mi padre Juan, por hacer de la exigencia excelencia, por transmitirme su capacidad de entrega en el trabajo y el valor del esfuerzo y la responsabilidad; por dejarse la piel por y para nosotros. A mis hermanos Juan e Ignacio, por ser los mejores compañeros de viaje, por divertirnos juntos en los buenos momentos y ser mi apoyo incondicional en los malos; por sacar lo mejor de mí, por dejarme ser, por haberme enseñado a crecer, y por convertirme sin quererlo en la persona que soy hoy.

A mi marido Jaime, por su entrega, su comprensión, su paciencia; por buscar mi bienestar, por creer en mí más que yo misma, por compartir conmigo cada paso y vencer juntos las adversidades.

A mis hijos Juan y Carmen, por ser el motor de mi vida. Por haberse convertido en la tarea más gratificante y la mejor empresa que jamás hubiese imaginado. Por enseñarme la grandeza que esconden las cosas pequeñas, el valor de lo cotidiano, la tremenda fortaleza de lo frágil. Por demostrarme que no hay reto imposible, y que con tenacidad y constancia se consiguen cosas increíbles. Por quererme incondicionalmente, por completarme, y por concederme el honor de acompañarlos en su camino.

Y sobre todo, gracias a mi madre Chus. A ti, Mamá. Por tu entrega sin reservas, por tu amor incondicional. Por ser la luz que me y nos iluminó siempre el camino. Por enseñarme el valor de un corazón agradecido. Gracias por estar a mi lado y acompañarme a cada paso, incluso desde allí arriba. Gracias por demostrarme que la serenidad, la discreción, la generosidad, el altruismo y la bondad llenan la vida de sentido. Gracias por haber sido un ejemplo de superación y constancia: “adelante, siempre adelante; porque donde hay un deseo, hay un camino”. Si esta tesis ve hoy la luz, es por ti.

## PRESENTACIÓN

La presente Tesis Doctoral se estructura siguiendo las directrices de la normativa para la presentación de Tesis Doctorales en formato de publicaciones, aprobada por la Comisión de Doctorado de la Facultad de Medicina. Los tres artículos incluidos en esta Tesis pertenecen a una misma unidad temática y han sido publicados en una revista indexada en bases de datos internacionales con índices de calidad contrastados:

### Artículo 1

Herraiz I, Simón E, Gómez-Arriaga PI, Quezada MS, García-Burguillo A, López-Jiménez EA, Galindo A. Clinical implementation of the sFlt-1/PlGF ratio to identify preeclampsia and fetal growth restriction: a prospective cohort study. *Pregnancy Hypertens.* 2018 Jul; 13: 279-285. DOI: 10.1016/j.preghy.2018.06.017.

Estado: Publicado. Factor de impacto: 1,992 según Journal Citation Reports (Clarivate Analytics, 2020). Posición que ocupa la revista en la categoría “Obstetrics & Gynecology”: 47/83 (Q3). Calidad: 2º autor.

### Artículo 2

Simón E, Herraiz I, Villalaín C, Gómez-Arriaga PI, Quezada MS, López-Jiménez EA, Galindo A. Correlation of Kryptor and Elecsys immunoassay sFlt-1/PlGF ratio on early diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction: a case-control study. *Pregnancy Hypertens.* 2020 Apr; 20: 44-49. DOI: 10.1016/j.preghy.2020.03.002.

Estado: Publicado. Factor de impacto: 2,899 según Journal Citation Reports (Clarivate Analytics, 2020). Posición que ocupa la revista en la categoría “Obstetrics & Gynecology”: 37/83 (Q2). Calidad: 1º autor.

### Artículo 3

Simón E, Permuy C, Sacristán L, Zamoro-Lorenci MJ, Villalaín C, Galindo A, Herraiz I. sFlt-1/PlGF ratio for the prediction of delivery within 48 hours and adverse outcomes in expectantly managed early-onset preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2020 Jul 15; 22: 17-23. DOI: 10.1016/j.preghy.2020.07.007.

Estado: Publicado. Factor de impacto: 2,899 según Journal Citation Reports (Clarivate Analytics, 2020). Posición que ocupa la revista en la categoría “Obstetrics & Gynecology”: 37/83 (Q2). Calidad: 1º autor.

## **ABREVIATURAS**

ACM, arteria cerebral media

ACOG, American College of Obstetricians and Gynecologists

AU, arteria umbilical

AUC, área bajo la curva

AUt, arterias uterinas

CIR, crecimiento intrauterino restringido

DP, disfunción placentaria

DV, ductus venoso

EG, edad gestacional

FTD, flujo telediastólico

HELLP (síndrome de), hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y trombopenia

HTA, hipertensión arterial

ICP, índice cerebro placentario

IMC, índice de masa corporal

NICE, the National Institute for health and Care Excellence

IP, índice de pulsatilidad

IPm-AUt, índice de pulsatilidad medio en arterias uterinas

p, percentil

PAM, presión arterial media

PFE, peso fetal estimado

PE, preeclampsia

PIGF, factor de crecimiento placentario

ROC, “receiver operating characteristic” (curva ROC)

RCTG, registro cardiotocográfico

SEGO, Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia

sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase receptor-1

TAD, tensión arterial diastólica

TAS, tensión arterial sistólica

TRA, técnica de reproducción asistida

VEGF, factor de crecimiento vascular endotelial

VPN, valor predictivo negativo

VPP, valor predictivo positivo



# ÍNDICE

<b>1</b>	<b>RESUMEN .....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>23</b>
<b>3.1</b>	<b>Disfunción placentaria en la restricción del crecimiento intrauterino y la preeclampsia:.....</b>	<b>23</b>
3.1.1	Conceptos .....	23
3.1.1.1	Crecimiento intrauterino restringido .....	23
3.1.1.2	Preeclampsia .....	26
3.1.2	Etiopatogenia de la disfunción placentaria.....	27
3.1.3	Factores de riesgo .....	31
<b>3.2</b>	<b>Diagnóstico y seguimiento de la disfunción placentaria.....</b>	<b>33</b>
3.2.1	Diagnóstico clásico y evolución de los conceptos.....	33
3.2.2	Marcadores de disfunción placentaria .....	35
3.2.2.1	Arterias uterinas.....	35
3.2.2.2	Cociente sFlt-1/PIGF .....	37
3.2.3	Limitaciones actuales de los marcadores angiogénicos.....	42
<b>3.3</b>	<b>Hacia la implementación clínica del cociente sFlt-1/PIGF .....</b>	<b>44</b>
<b>4</b>	<b>HIPÓTESIS DE TRABAJO.....</b>	<b>46</b>
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>47</b>
5.1	Objetivo general .....	47
5.2	Objetivos específicos.....	47
<b>6</b>	<b>DEFINICIONES Y MÉTODOS PARA EL CONJUNTO DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>48</b>
<b>7</b>	<b>ARTÍCULOS.....</b>	<b>53</b>
7.1	Primer artículo .....	53
7.2	Segundo artículo .....	79
7.3	Tercer artículo.....	100
<b>8</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>123</b>
<b>9</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>126</b>
<b>10</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>127</b>
10.1	Certificado del comité de ética para la realización de la tesis doctoral.....	127
10.2	Expediente de financiación de la investigación marco de esta tesis doctoral .....	129
10.3	Permisos para la publicación de los artículos originales en la tesis doctoral.....	130
10.4	Material suplementario del primer artículo.....	134
10.5	Material suplementario del segundo artículo. ....	141
10.6	Material suplementario del tercer artículo.....	144
<b>11</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>147</b>

## 1 RESUMEN

### Implementación clínica del cociente sFlt-1/PlGF como herramienta diagnóstica y pronóstica de la preeclampsia y la restricción del crecimiento intrauterino.

#### Introducción

La preeclampsia (PE) es un trastorno hipertensivo gestacional que se caracteriza por la existencia de un daño vascular sistémico materno. Afecta al 2-8% de los embarazos y es la segunda causa de mortalidad obstétrica, estando involucrada en el 15% de las muertes maternas, lo que supone más de 50.000 casos anuales (1, 2). Por su parte, la restricción del crecimiento intrauterino (CIR) hace referencia a una situación en la que el feto no alcanza todo su potencial de crecimiento. Afecta al 3-5% de gestaciones en nuestro medio, y se ha relacionado con una mayor morbilidad neonatal y otras comorbilidades en la infancia y edad adulta (3). Ambas se engloban en el mismo espectro de complicaciones gestacionales derivadas de una disfunción placentaria (DP), y se asocian con un aumento de la morbilidad tanto materna como fetal, especialmente cuando abocan a una finalización de la gestación antes del término. Por tanto, comparten factores de riesgo, y con frecuencia ocurren de manera simultánea, circunstancia que incrementa los resultados adversos (4). Un diagnóstico preciso y precoz, así como una optimización de los cuidados prenatales, resultan críticos para la reducción de sus posibles complicaciones (5).

Los diagnósticos de PE y CIR se han basado tradicionalmente en criterios clínicos, analíticos y ecográficos relativamente inespecíficos, al no estar fundamentados en la etiopatogenia subyacente. Se ha catalogado como PE aquella gestación complicada con hipertensión arterial (HTA) y proteinuria de nueva aparición a partir de la semana 20 de embarazo, admitiéndose en los últimos años que, en ausencia de proteinuria, la existencia de otro dato de afectación de órgano diana (alteraciones hepáticas, renales o neurológicas) también permite su diagnóstico (6), y como CIR aquel feto con un peso fetal estimado (PFE) menor del percentil (p) 10 con alteración hemodinámica (de la arteria umbilical (AU), arteria cerebral media (ACM) o ductus venoso (DV)) o con un PFE < p 3 (7, 8). Sin embargo, estos hallazgos no siempre preceden al desarrollo de complicaciones, y por

tanto su capacidad predictiva de complicaciones de origen placentario es limitada: complicaciones tan graves como el síndrome de hemólisis, elevación de transaminasas y plaquetopenia (HELLP) y la eclampsia, por ejemplo, debutan sin HTA y/o proteinuria en un 15% y 40% de los casos, respectivamente (9). De hecho, se ha cuestionado incluso que todos estos criterios estén realmente relacionados con un peor pronóstico materno y/o fetal: el estudio PIERS (*Preeclampsia Integrated Estimate of Risk*) ha analizado la relación entre los criterios de severidad y la aparición de fenómenos adversos, y ha concluido que algunos de estos criterios como la aparición de cefalea, alteraciones visuales, dolor epigástrico, TAS  $\geq$  160 mmHg o proteinuria intensa en la tira de orina no se relacionan de forma significativa con un aumento final de la morbimortalidad materna y fetal (5).

Desde hace más de medio siglo (10), se especula con la existencia de una relación entre una placentación deficiente y la inducción de un daño vascular materno a través de algún tipo de “factor tóxico” liberado por la placenta dañada. Y ha sido en las últimas dos décadas cuando se ha conseguido atribuir este vínculo a la aparición de un desequilibrio entre factores reguladores de la angiogénesis: la placenta hipoperfundida libera de forma masiva a la circulación materna el factor anti-angiogénico “soluble fms-like tyrosin kinase-1” (sFlt-1). Éste se adhiere a los dominios de unión de los factores pro-angiogénicos “vascular endothelial growth factor (VEGF) y “placental growth factor” (PlGF), variando la configuración de estas proteínas e induciendo una reducción significativa de la cantidad de VEGF y PlGF en suero materno. El desequilibrio entre estos factores parece ser el responsable del daño endotelial que origina el cuadro clínico de PE (11). Ya en diversos estudios se han encontrado, en el suero de madres que desarrollan PE, concentraciones aumentadas del cociente sFlt-1/PlGF entre cinco y ocho semanas antes de su establecimiento clínico (12). De un modo similar, tanto la severidad como la velocidad de progresión de la PE se han correlacionado positivamente con las concentraciones circulantes del cociente sFlt-1/PlGF. Y, por último, se ha observado que los niveles del cociente sFlt-1/PlGF en caso de PE se normalizan tras el parto (11). El trabajo de Rana *et al.* publicado en 2012 (13) introdujo un enfoque novedoso para demostrar la fuerte correlación entre la elevación del cociente sFlt-1/PlGF en gestantes con sospecha de PE y la aparición de eventos adversos que obligan a adelantar la finalización del embarazo: antes de la semana 34, el parto tuvo lugar en las siguientes dos semanas en el 86% de los casos con un cociente sFlt-1/PlGF  $\geq$  85 vs. 16% con un cociente

sFlt-1/PIGF < 85 (RR 15.2; IC 95%: 8.0 - 28.7). Además, el cociente sFlt-1/PIGF fue el mejor predictor de resultados adversos con un área bajo la curva (AUC) de 0.85, IC 95%: 0.79 – 0.91), en comparación con otros parámetros tradicionalmente diagnósticos de PE como la tensión arterial sistólica (0.76), ácido úrico (0.79), creatinina (0.68) y ALT (0.62). Por último, una vez diagnosticada la PE, también se ha comprobado la estrecha relación inversa entre los valores del cociente sFlt-1/PIGF y el tiempo restante hasta el parto (14).

La calidad de la atención médica ha resultado ser hasta el momento el único factor pronóstico modificable de la PE, de modo que la optimización de la actitud médica basada en guías de actuación con evidencia científica hace que disminuya de manera sustancial la tasa de complicaciones maternas respecto a un manejo no estandarizado (5). Ello, asociado al hecho de que una medición seriada del cociente sFlt-1/PIGF se ha demostrado capaz de aportar información sobre un pronóstico individualizado (15,16), hace que se plantee la inclusión de los biomarcadores angiogénicos como herramienta diagnóstica y pronóstica de la PE y el CIR (17).

Sin embargo, dado el coste económico de la determinación de factores angiogénicos, el principal reto para la implantación del cociente sFlt-1/PIGF en nuestro medio reside en la correcta identificación de gestantes sobre las cuales aplicar estos biomarcadores. Actualmente existen múltiples estrategias que combinan datos de la historia y exploración materna, estudio Doppler ecográfico de arterias uterinas (AUt) y bioquímicos (incluido el PIGF) para cribar de manera precoz la PE, con una sensibilidad y especificidad próximas al 90% (18). Algunas de estas estrategias han sido ya exploradas por nuestro grupo de investigación (19,20). Paralelamente, y de forma complementaria, se está trabajando en la elaboración de programas de detección precoz de la PE en la segunda mitad del embarazo, que incluyan la determinación (única o seriada) del cociente sFlt-1/PIGF, y resulten sencillos y económicos (21). Estos últimos están encaminados a mejorar la capacidad de reconocimiento y de optimización del seguimiento de la PE y CIR, y serán el objeto fundamental de estudio de la presente tesis.

## Objetivos

Los objetivos de las publicaciones que componen la presente tesis doctoral son:

- Primer artículo: definir una estrategia de implementación del cociente sFlt-1/PlGF en la semana 24 - 28 de gestación en pacientes con criterios de alto riesgo de desarrollar trastornos placentarios, y analizar si esta estrategia permite predecir con precisión el riesgo de desarrollar PE/CIR.
- Segundo artículo: estudiar si los puntos de corte establecidos para la plataforma más comúnmente empleada para la medición del cociente sFlt-1/PlGF (Elecsys®) son superponibles, intercambiables y por tanto generalizables para otra nueva plataforma (Kryptor), cuando se emplea para nuestra estrategia de implementación entre las 24 - 28 semanas.
- Tercer artículo: evaluar si la determinación del cociente sFlt-1/PlGF permite predecir, en el caso de la PE precoz, el riesgo de desarrollo de resultados adversos materno-fetales y el tiempo estimado hasta que aparece la necesidad de finalización de la gestación.

## Material y métodos

- Primer artículo: estudio observacional prospectivo de cohortes de todas las gestaciones únicas que acudieron a nuestro centro para la realización de la ecografía morfológica fetal (semana 19 + 0 a 22 + 0), con fecha probable de parto entre febrero de 2014 y marzo de 2016. De entre ellas se seleccionaron, en base a los criterios de alto riesgo *a priori* de PE existentes en su historia clínica y de su índice de pulsatilidad medio de las arterias uterinas (IPmAUt), aquellas candidatas a seguimiento intensivo en semana 24 + 0 a 28 + 6. Dicho seguimiento incluyó una ecografía de control de crecimiento fetal, toma de tensión arterial y analítica materna para la medición del cociente proteínas/creatinina en orina y del cociente sFlt-1/PlGF en sangre. El manejo clínico posterior se estableció en base al protocolo previamente publicado por nuestro grupo de trabajo, y respetando las guías clínicas de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) vigentes durante el estudio (22,23). Evaluamos la incidencia de PE/CIR, la edad gestacional (EG) al parto: < 32 + 0 (precoz), 32 + 0 – 35 + 6 (intermedio), ≥ 36 + 0 semanas

(tardío), y el rendimiento diagnóstico mediante el análisis del AUC de cada variable registrada para PE/CIR.

- Segundo artículo: estudio observacional de casos y controles entre 21 gestaciones complicadas con PE/CIR y 21 controles sin PE/CIR y con parto a término, emparejados por paridad e índice de masa corporal (IMC), todos ellos seleccionados a partir del estudio prospectivo de cohortes en que se basa el primer artículo. En la misma muestra sanguínea extraída en la evaluación de la semana 24 - 28 se analizó el cociente sFlt-1/PlGF con las plataformas Elecsys® y Kryptor. Se categorizó la variable PE/CIR en precoz ( $< 32 + 0$  semanas) y tardía ( $\geq 32 + 0$  semanas). El objetivo fue analizar la comparabilidad de ambos métodos de medición, así como la validez, para el nuevo método, de los puntos de corte previamente establecidos para la plataforma Elecsys®.
- Tercer artículo: estudio observacional prospectivo de cohortes en que se seleccionaron todos los casos de PE precoz de gestaciones únicas diagnosticados en nuestro centro entre enero de 2016 y diciembre de 2018. Se planteó un manejo expectante con monitorización intensiva y finalización de la gestación siguiendo las guías clínicas de la SEGO (22), y se analizaron los resultados en función del momento de finalización ( $< 48$  horas tras el diagnóstico vs  $\geq 48$  horas). Se evaluó la EG al parto, las complicaciones maternas y perinatales y el rendimiento diagnóstico de diferentes parámetros, tanto rutinarios (enzimas hepáticas, creatinina, proteinuria, plaquetas, tensión arterial) como del cociente sFlt-1/PlGF.

## Resultados

- Primer artículo: la incidencia global de PE/CIR precoz, intermedia y tardía fue de 0,3%, 0,7% y 3,2% respectivamente, siendo mayor en el 4,3% de mujeres seleccionadas para el seguimiento intensivo: 5,8%, 8,7% y 15,4% respectivamente (todas  $p < 0,001$ ). El AUC con su IC al 95% del cociente sFlt-1/PlGF para la detección de PE/CIR precoz fue de 0,98 (0,97 – 1,00), y el cociente sFlt-1/PlGF  $> p 95$  demostró una sensibilidad (%) de 100 (IC 95%: 78,5 – 100) y una especificidad (%) de 80,6 (IC 95%: 75,0 – 85,2). El AUC del cociente sFlt-1/PlGF para la detección de PE/CIR intermedio y tardío fue

de 0,87 (IC 95%: 0,77 – 0,97) y de 0,68 (IC 95%: 0,58 – 0,79) respectivamente.

- Segundo artículo: los casos de PE/CIR demostraron una mediana (IQR) significativamente mayor de los valores del cociente sFlt-1/PIGF que los controles en la semana 24 - 28 de gestación, tanto con la plataforma Elecsys® como Kryptor: 55 (13 – 254) y 97 (13 – 530) vs. 4,1 (2,0 – 6,5) y 3,9 (1,8 – 7,7) respectivamente. La correlación del cociente sFlt-1/PIGF entre ambos métodos de medición fue excelente ( $r^2 = 0,95$ ), pese a que con la plataforma Kryptor se observaron valores inferiores de PIGF y mayores de sFlt-1/PIGF. La mayor precisión diagnóstica para la PE/CIR precoz se obtuvo con el punto de corte  $\geq 85$  (95,2%, IC 95%: 83,8 – 99,4%) en ambas plataformas.
- Tercer artículo: se registraron resultados adversos maternos y perinatales en 25/76 (32,9%) de los casos y en 13/69 (18,8%) de los recién nacidos, respectivamente. Las AUC para el cociente sFlt-1/PIGF fueron de 0,59 (IC 95%: 0,42 – 0,75) y de 0,75 (IC 95%: 0,62 – 0,88) para las complicaciones maternas y perinatales respectivamente. Al realizar un manejo expectante de la PE precoz, se objetivó que las pacientes que precisaron finalizar la gestación en las primeras 48 horas presentaban valores significativamente mayores del cociente sFlt-1/PIGF (cociente  $> 655$  ng/mL en 47,4% vs 5,3%,  $p < 0,01$ ) y significativamente menores de PIGF ( $< 12$  pg/mL en 15,8% vs 0%,  $p = 0,01$ ). Además, se observó una correlación inversa entre el valor del cociente sFlt-1/PIGF y el tiempo hasta el parto: 4,4 días en casos de cociente  $> 655$  (vs 12,1 si cociente  $\leq 655$ ,  $p < 0,01$ ). El riesgo relativo de finalización de la gestación en las primeras 48 horas resultó de 5,3 para valores del cociente  $> 655$  (IC 95%: 2,7-10,6,  $p < 0,01$ ).

## Conclusiones

- Primer artículo: La implementación de una estrategia contingente de medición del cociente sFlt-1/PIGF en la semana 24-28 de gestación en pacientes previamente seleccionadas según factores clínicos y el Doppler de arterias uterinas permite realizar una predicción precisa del riesgo de PE/CIR. Esta capacidad es óptima para predecir la PE/CIR que requiere finalizar la gestación antes de la semana 32.

- Segundo artículo: La medición del cociente sFlt-1/PlGF presenta una buena correlación entre las plataformas Elecsys® y Kryptor, y los puntos de corte de  $> 38$  y  $\geq 85$  ofrecen una alta precisión diagnóstica en el asesoramiento de PE/CIR precoz en la semana 24-28 con ambos métodos.
- Tercer artículo: La obtención de un cociente  $> 655$  al diagnóstico se asocia con un riesgo 5 veces mayor de parto en menos de 48 horas. Ninguno de los parámetros resultó un buen predictor de resultados adversos maternos o perinatales.



## 2 SUMMARY

### Clinical implementation of sFlt-1/PlGF ratio as diagnostic and prognostic tool for preeclampsia and intrauterine growth restriction

#### Introduction

Preeclampsia (PE) is a gestational hypertensive disorder characterized by a systemic vascular maternal disease. It affects 2-8% of pregnancies, and is the second cause of obstetric mortality, being involved in 15% of maternal deaths, which means more than 50,000 cases per year (1, 2). Fetal growth restriction (FGR) refers to a situation where the fetus does not reach his full growth potential. It affects 3-5% of pregnancies and is related to an increased neonatal morbimortality and other comorbidities during infant and adulthood (3). Both PE and FGR are included in the same spectrum of pregnancy complications derived from placental dysfunction, and are associated to higher maternal and fetal morbimortality, especially when leading to a preterm delivery. Thus, they both share risk factors, and often appear simultaneously, this increasing adverse outcomes (4). Accurate and early diagnosis, as well as the optimization of perinatal care, are of capital importance for the reduction of their potential complications (5).

PE and FGR diagnosis have traditionally been based on relatively non-specific clinical, analytical and ultrasound criteria, since none of them are in fact based on the underlying etiopathology. PE has been defined as every pregnancy complicated with newly diagnosed hypertension (HT) and proteinuria below 20 weeks of pregnancy, admitting in the last years that, in the absence of proteinuria, the existence of any sign of other organ affection (hepatic, renal or neurological) also allows its diagnosis (6). FGR has been described as an estimated fetal weigh (EFW) under the 10<sup>th</sup> centile with hemodynamic imbalance (umbilical artery pulsatility, middle cerebral artery, venous ductus) or an EFW < 3<sup>rd</sup> centile (7, 8). However, all these findings do not always precede the occurrence of complications, and therefore its predictive capacity of placental related complications remains limited: severe complications such as HELLP syndrome (hemolysis, liver enzymes elevation and low platelets) and eclampsia, for example, debut without HT and/or proteinuria in 15% and 40% of cases, respectively (9). In fact, it has even been discussed that those criteria are really related to a worse maternal and/or fetal prognosis: the PIERS study (Preeclampsia Integrated Estimate of RiSk) has analyzed the relationship between risk factors and the overcoming of adverse events, concluding that some severity criteria such as headache, photopsia, epigastric pain, systolic blood

pressure (SBP)  $\geq$  160 mmHg or intense proteinuria are not significantly related to an increased risk of maternal and fetal morbimortality (5).

Since more than half a century (10) experts are speculating with the existence of a relationship between a deficient placentation and the induction of a maternal vascular injury *via* some “toxic factor” released by this damaged placenta. It is in the last two decades that it has been possible to attribute this link to an imbalance of angiogenic regulating factors: the hypoperfused placenta massively releases to the maternal circulation the anti-angiogenic factor “soluble fms-like tyrosin kinase-1” (sFlt-1). This sFlt-1 links to the proangiogenic factors “vascular endothelial growth factor (VEGF) and “placental growth factor” (PlGF), changing their configuration and therefore inducing a significant reduction of the amount of free VEGF and PlGF in the maternal serum. The imbalance between those factors seems to be the final responsible of the endothelial injury leading to PE (11). Several studies have already found increased concentrations of sFlt-1/PlGF ratio between five and eight weeks before the onset of clinical PE manifestations, in serum of mothers who later will develop PE (12). In a similar way, both the severity and the speed of progression of PE are positively correlated to circulating levels of sFlt-1/PlGF ratio. And finally, it has been observed that sFlt-1/PlGF levels normalize after delivery (11). The investigation published by Rana *et al.* in 2012 (13) brought a novel approach for the demonstration of the strong correlation between the increase of the sFlt-1/PlGF ratio in women with suspected PE and the development of adverse events leading to a preterm delivery: before 34 weeks of pregnancy, delivery took place in the following two weeks in 86% of patients showing a sFlt-1/PlGF ratio  $\geq$  85, vs. 16% when the sFlt-1/PlGF ratio was  $<$  85 (RR 15.2; 95% IC: 8.0 - 28.7). Furthermore, sFlt-1/PlGF ratio appeared to be the best indicator of adverse outcomes (area under the curve: 0.85, 95%IC: 0.79 – 0.91) when compared to other traditional diagnostic parameters of PE, such as systolic blood pressure (0.76), uric acid (0.79), creatinine (0.68) and ALT (0.62). And last, but not least, once PE has been diagnosed, it has also been demonstrated the tight inverse relationship between sFlt-1/PlGF values and time to delivery (14).

So far, prenatal care has demonstrated to be the only modifiable prognostic factor of PE, and therefore its optimization based on scientific evidenced clinical guidelines makes maternal complications significantly lower, compared to a non-standardized management (5). This, associated to the fact that serial measurement of sFlt-1/PlGF ratio has demonstrated its ability to arise an individualized prognosis (15, 16), leads to the

proposal of including angiogenic biomarkers as diagnostic and prognostic tools for PE and FGR (17).

However, due to the economic costs of angiogenic factors determination, the main challenge for the implementation of sFlt-1/PlGF ratio remains in the correct identification of patients in those to apply these biomarkers. There currently exist several strategies combining maternal history and examination data, ultrasound information (Doppler evaluation of uterine arteries) and biochemical parameters (including PlGF) for an early PE screening, with a sensibility and specificity close to 90% (18). Some of those strategies have already been explored by our investigation group (19, 20). Concurrently, and in a supplementary way, early detection programs of PE for the second half of pregnancy are also being elaborated including the determination (unique or recurrent) of sFlt-1/PlGF ratio, which are mend to be simple and economical (21). These aim to improve the recognition and to optimize the follow-up of PE and FGR and will be the main target of the current thesis.

## Objectives

The objectives of the publications composing the current doctoral thesis are:

- First article: defining a strategy of implementation of the sFlt-1/PlGF ratio at 24 – 28 weeks of pregnancy in patients with high risk factor for placental disease and analyzing if this strategy allows an accurate prediction of the development of PE/FGR.
- Second article: studying if the already established cutoff points validated for the most common platform for the determination of sFlt-1/PlGF ratio (Elecsys®) are equivalent, interchangeable, and therefore widely applicable for a new platform (Kryptor), when used for our implementation strategy at 24 – 28 weeks.
- Third article: evaluating if the determination of sFlt-1/PlGF ratio allows to predict, for early PE, the risk of developing adverse feto-maternal outcomes and the time leading to the need of terminating the pregnancy.

## Materials and methods

- First article: cohort observational prospective study of every singleton pregnancy attending our hospital for the second trimester scan (19 + 0 to 22

+ 0 weeks of pregnancy), with estimated date of delivery between February 2014 and March 2016. Based on the *a priori* high risk criteria of their medical history and on their mean uterine arteries pulsatility index (mUtAPI), we selected those candidates for intensive monitoring at 24 + 0 to 28 + 6 weeks of pregnancy. This follow-up included fetal growth ultrasound monitoring, blood pressure testing and mother blood testing for the determination of protein/creatinine and sFlt-1/PIGF ratios. Clinical management was established based on our previously published protocol, respecting current clinical guidelines of the Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) (22, 23). We evaluated the incidence of PE/FGR, the gestational age at delivery: < 32 + 0 (early), 32 + 0 – 35 + 6 (intermediate), ≥ 36 + 0 weeks (late), and the diagnostic performance of PE/FGR for each parameter by using the area under the curve (AUC).

- Second article: case-control observational study between 21 pregnancies complicated with PE/FGR and 21 controls without PE/FGR and with term delivery, matched by parity and body mass index (BMI). All of them were selected from our previous prospective cohort study in which is based the first article. In the same blood sample from 24 + 28 weeks check-up we analyzed sFlt-1/PIGF ratio with both Elecsys® and Kryptor platforms. PE/FGR outcome was categorized as early (< 32 + 0 weeks) and late (≥ 32 + 0 weeks). The goal was to analyze the comparability of both measurement tests, as well as the validity for the new platform of the already established cutoff points for the Elecsys® platform.
- Third article: observational prospective cohort study in which every early PE diagnosed in singleton pregnancies at our hospital between January 2016 and December 2018 was selected. An expectant management was settled out, with intensive monitoring and delivery decisions according to SEGO clinical guidelines (22), and results were analyzed according to the moment of delivery (48 hours after diagnosis vs. ≥ 48 hours). We evaluated the gestational age at delivery, maternal and perinatal complications and the diagnostic performance of different parameters, both routine ones (liver enzymes, creatinine, proteinuria, platelets, blood pressure) and sFlt-1/PIGF ratio.

## Results

- First article: global incidences of early, intermediate, and late PE/FGR were 0.3%, 0.7% and 3.2% respectively, being higher in the 4.3% of women selected for intensive monitoring: 5.8%, 8.7% and 15.4% respectively (all  $p < 0.001$ ). The AUC with 95% confidence interval (CI) of sFlt-1/PlGF ratio for detection of early PE/FGR was 0.98 (0.97 – 1.00), and a sFlt-1/PlGF ratio  $> 95^{\text{th}}$  percentile showed a sensitivity (%) of 100 (95% CI: 78.5 – 100) and a specificity (%) of 80.6 (95% CI: 75.0 – 85.2). The AUC of the sFlt-1/PlGF ratio for the detection of intermediate and late PE/FGR was 0.87 (95% CI: 0.77 – 0.97) and 0.68 (95% CI: 0.58 – 0.79) respectively.
- Second article: PE/FGR cases showed a significantly higher median (IQR) of the sFlt-1/PlGF ratio than controls at 24 – 28 weeks, both with Elecsys® and Kryptor platforms: 55 (13 – 254) and 97 (13 – 530) vs. 4.1 (2.0 – 6.5) y 3.9 (1.8 – 7.7) respectively. The correlation of the sFlt-1/PlGF ratio between the two platforms was excellent ( $r^2 = 0.95$ ), despite lower PlGF values and higher sFlt-1/PlGF were observed using Kryptor platform. The higher diagnostic accuracy was obtained for early PE/FGR at the cutoff value of  $\geq 85$  (95.2%, 95% IC: 83.8 – 99.4%), in both platforms.
- Third article: adverse maternal and perinatal outcomes were observed in 25/76 (32.9%) of cases and 13/69 (18.8%) of newborns, respectively. The AUC for sFlt-1/PlGF ratio for maternal and perinatal complications were 0.59 (95% IC: 0.42 – 0.75) and 0.75 (95% IC: 0.62 – 0.88), respectively. When carrying out an expectant management of early PE, patients in need of delivery during the first 48 hours showed significantly higher levels of sFlt-1/PlGF ratio (ratio  $> 655$  ng/mL in 47.4% vs 5.3%,  $p < 0.01$ ) as well as significantly lower values of PlGF ( $< 12$  pg/mL in 15.8% vs 0%,  $p = 0.01$ ). Besides, we observed an inverse correlation between sFlt-1/PlGF ratio and time to delivery: 4.4 days when ratio  $> 655$  (vs 12.1 days if ratio  $\leq 655$ ,  $p < 0.01$ ). The relative risk of need-to-deliver during the first 48 hours was of 5.3 for sFlt-1/PlGF ratio  $> 655$  (95% IC: 2.7-10.6,  $p < 0.01$ ).

## Conclusions

- First article: A contingent strategy of measuring the sFlt-1/PlGF ratio at 24–28 weeks in women previously selected by clinical factors and mUterAPI enables an accurate prediction of PE/FGR. This performance is optimal to predict PE/FGR requiring delivery before 32 weeks.
- Second article: sFlt-1/PlGF measurements correlates well between Elecsys® and Kryptor platforms, and the cutoffs of  $> 38$  and  $\geq 85$  exhibit high diagnostic accuracy for assessing early PE/FGR at 24–28 weeks with both methods.
- Third article: sFlt-1/PlGF ratio  $> 655$  at diagnosis was associated with a 5-fold increased risk of delivery in  $\leq 48$  h. None of the parameters were good predictors of adverse maternal or perinatal outcomes.

### **3 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Disfunción placentaria en la restricción del crecimiento intrauterino y la preeclampsia:**

##### **3.1.1 Conceptos**

El crecimiento intrauterino restringido (CIR) y la preeclampsia (PE) son dos patologías que se engloban en el espectro de complicaciones gestacionales derivadas de una disfunción placentaria (DP). El CIR afecta al 3-5% de gestaciones en los países desarrollados, y se asocia a morbilidad tanto neonatal como en la infancia y la edad adulta. Por su parte, la PE afecta al 2-8% de las gestaciones, y es la segunda causa de mortalidad materna, responsable del 15% de las muertes, es decir más de 50.000 casos anuales. Además, es la primera causa de prematuridad iatrogénica (4). Ambas patologías comparten factores de riesgo, y con frecuencia ocurren simultáneamente: la PE precoz (aquella que condiciona el parto antes de la semana 32-34 de gestación) se asocia en la mitad de los casos a CIR (24), siendo la forma donde más aumentan los resultados adversos maternos y fetales. Resulta por ello esencial conocer ambas entidades y optimizar su manejo, tanto en términos de capacidad diagnóstica como de actitud terapéutica. De hecho, a día de hoy, la optimización de la atención prenatal es el único factor pronóstico modificable capaz de reducir e incluso evitar las complicaciones maternas y perinatales derivadas de la PE (25).

##### **3.1.1.1 Crecimiento intrauterino restringido**

El CIR es aquella circunstancia en la cual el feto no alcanza su potencial intrínseco de crecimiento determinado genéticamente. Existen diversas etiologías fetales: cromosomopatías (5-20%), infecciones congénitas (5-10%), malformaciones (1-2%) (26,27), pero la mayoría (60-65%) son secundarios a una DP que implica un déficit de aporte placentario para cubrir las demandas nutricionales fetales, las cuales crecen de manera exponencial según avanza la gestación (Figura 1). De forma análoga a la PE, se distingue el CIR precoz del tardío, dado que presentan un comportamiento y características diferentes (Tabla 1). En este caso, se ha llegado al consenso de diferenciar

entre ambas formas en función de su aparición antes o después de la semana 32 de gestación (28).

Figura 1: Evolución de las demandas fetales en función de la edad gestacional.

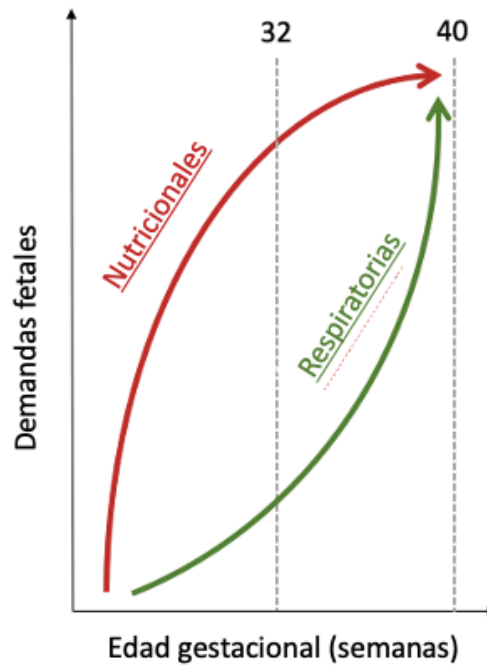


Tabla 1: Características de los diferentes tipos de CIR (precoz y tardío).

Tipo de CIR	CIR PRECOZ (<32 semanas)	CIR TARDÍO (≥ 32 semanas)
Prevalencia (%)	0,5	4
Disfunción placentaria	+++	+
- PE	50 %	15 %
- Elevación IP AUt	85 %	40 %
- Elevación cociente S/P	85 %	75 %
Adaptación cardiovascular	Sistémica (AU/DV reversos)	Central (ICP)
Tolerancia a la hipoxia	Alta	Baja
Mortalidad / Morbilidad	+++ (10 % / 20 %)	- (si llega a diagnosticarse)
Principal reto prenatal	Manejo	Diagnóstico

PE, preeclampsia; IP, índice de pulsatilidad; AUt, arterias uterinas; cociente S/P, cociente sFlt-1/PlGF); AU, arteria umbilical; DV, ductus venoso; ICP, índice cerebro-placentario.

Así, el feto enlentece de manera progresiva su velocidad de crecimiento en un intento de garantizar la madurez de sus órganos vitales, y puede alcanzar un momento en



el que precise establecer mecanismos compensatorios hemodinámicos para garantizar su bienestar. Estos parámetros hemodinámicos pueden analizarse mediante el estudio Doppler ecográfico. En particular, las principales y más estudiadas alteraciones se producen en (1) las arterias umbilicales, que se manifiestan como un incremento de su índice de pulsatilidad (IP), y en fases más avanzadas con una inversión de su onda de velocidad de flujo durante la fase final de la diástole, (2) la ACM, que se manifiestan como una disminución de su IP que favorece la redistribución de flujos al territorio cerebral fetal, (3) la relación entre ambas o índice cerebro-placentario (ICP) y (4) el DV, en forma de aumento de su IP y, en fases más avanzadas, alteración de la morfología de su onda con inversión del flujo durante la contracción auricular. También se ha estudiado la importancia de la valoración del flujo a través de las AUt: cuando se produce una alteración de la invasión trofoblástica en primer trimestre, éstas no se remodelan de manera adecuada con lo que disminuye su distensibilidad, persistiendo unas resistencias altas al flujo sanguíneo que dificultan el paso de oxígeno y nutrientes a la placenta (29), incrementando el riesgo de PE y CIR (30). No obstante, el estudio Doppler de las AUt, pese a tratarse del mejor predictor aislado del riesgo de PE precoz en primer trimestre, la tendencia a la estabilidad de sus valores no permite realizar un seguimiento del curso de la enfermedad (31). En la definición actual de CIR de origen placentario se consideran como criterios diagnósticos no solo el PFE, sino también el estudio Doppler de parámetros hemodinámicos materno-fetales y el estudio del bienestar fetal mediante cardiotocografía. En función de la combinación de estos parámetros, puede catalogarse al CIR en cuatro estadios evolutivos siguiendo la clasificación de Figueras & Gratacós (32), que es también la empleada en los estudios que componen esta tesis (Tabla 2).

Tabla 2: Estadios evolutivos del crecimiento intrauterino restringido (32).

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS		ESTADIO	
PFE	< p.3	I	
	< p.10 con alteración hemodinámica materna y/o fetal		
Doppler materno	AUt		IP medio > p.95
	ACM		IP < p.5
Doppler fetal	ICP		< p.5
	AU	IP > p.95	
		FTD ausente	II

		FTD revertido	III
	DV	IP > p.95	
		Onda “a” reversa	IV
RCTG	patológico		

PFE, peso fetal estimado; p., percentil; IP, índice de pulsatilidad; AUt; arterias uterinas; ACM, arteria cerebral media; ICP, índice cerebro placentario; AU, arteria umbilical; FTD, flujo telediastólico; DV, ductus venoso; RCTG, registro cardiotocográfico.

Así pues, el desarrollo del CIR es un proceso evolutivo, con una secuencia de aparición del deterioro hemodinámico cronológicamente establecida. No obstante, su velocidad de aparición no es constante: existen casos de deterioro lento, que incluso llegan a estabilizarse durante algunas semanas, y por el contrario otros de rápida evolución en la que los cambios son prácticamente diarios. Además, este cuadro puede o no desarrollarse de manera sincrónica a la existencia de una PE.

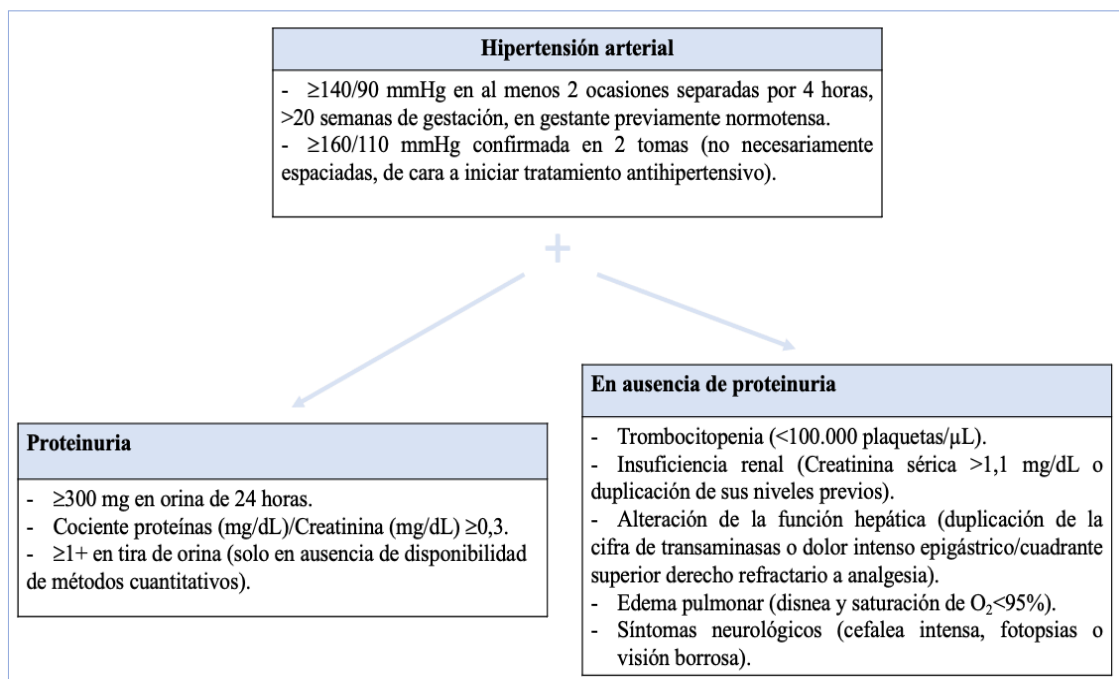
### 3.1.1.2 Preeclampsia

La PE se ha definido clásicamente por la existencia de hipertensión arterial (HTA) *de novo* (tensión arterial sistólica (TAS)  $\geq 140$  mmHg o tensión arterial diastólica (TAD)  $\geq 90$  mmHg) después de la semana 20 de gestación asociada a proteinuria ( $\geq 30$  mg en sedimento de orina o  $\geq 300$  mg en orina de 24 horas) (33). Ésta es la definición de PE que se ha empleado en esta tesis para catalogar a los casos, en la cual el binomio de HTA y proteinuria es una condición *sine qua non* para el diagnóstico. Con ello se disminuye la subjetividad en el diagnóstico y se facilita la comparabilidad con otros estudios. Sin embargo, tanto el *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) desde 2013 (34) como la SEGO desde 2020 (35), admiten el diagnóstico de PE en ausencia de proteinuria cuando existen signos o síntomas de severidad (Figura 2).

Además, se ha descrito en un porcentaje no desdeñable de casos el debut de PE mediante complicaciones severas, como pueden ser el síndrome HELLP o la eclampsia (convulsiones tónico-clónicas sin otra causa que las justifique), sin presentar previamente HTA o proteinuria: hasta el 10-15% de los casos de HELLP y hasta el 35-40% de casos de eclampsia no presentan elevación de las proteínas en orina al diagnóstico (36, 37). Por ello, aunque típicamente se ha entendido la PE como un trastorno hipertensivo gestacional, hoy se considera más bien un trastorno multiorgánico, un síndrome obstétrico

complejo y heterogéneo, con un amplio espectro de manifestaciones clínicas que van más allá del concepto clásico. Analizando la diversidad de signos y síntomas con los que puede manifestarse y debutar, se comprende que la HTA no es un paso intermedio en la cadena de acontecimientos, sino uno más de esos signos finales de alarma que parten de una misma patogénesis: una disfunción endotelial sistémica, capaz de producir un aumento de la permeabilidad capilar, pero también de alterar la hemostasia.

Figura 2. Criterios diagnósticos de preeclampsia según el *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG).



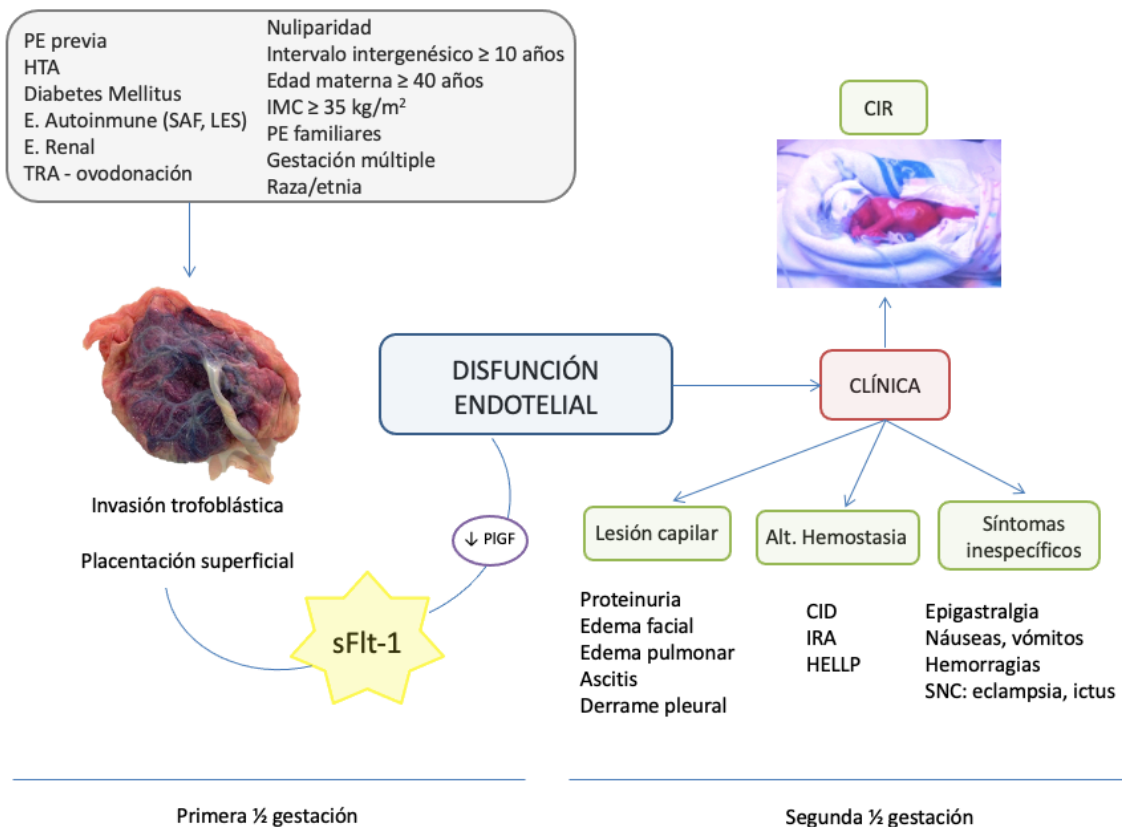
Así, la elevación de la tensión arterial materna resulta ser un mecanismo compensatorio para tratar de mejorar la perfusión placentaria, a través de una vasoconstricción periférica secundaria a ese daño endotelial. Uno de los principales problemas, sin embargo, es que este mecanismo, *a priori* protector, puede terminar desembocando en una PE (38, 39).

### 3.1.2 Etiopatogenia de la disfunción placentaria

Como hemos mencionado anteriormente, no es infrecuente que PE y CIR se asocien. Esto se debe principalmente a que comparten como sustrato etiopatológico

fundamental la DP. En condiciones de normalidad, durante el primer trimestre de gestación se produce, por la invasión trofoblástica de la decidua y el miometrio, una remodelación de las arterias espirales maternas. Éstas pierden su capa muscular y ello facilita la correcta irrigación placentaria con un flujo de bajas resistencias y alta capacitancia. Sin embargo, por una serie de insultos externos o factores de riesgo, puede ocurrir una alteración de dicha invasión por parte del trofoblasto, de modo que se produzca de una manera más superficial sin alcanzar a transformar adecuadamente las arterias espirales. En estos casos la placa basal de la placenta, tan necesaria para un adecuado intercambio feto-materno, tiene una menor superficie y profundidad de implantación. Esto condiciona ya durante la segunda mitad del embarazo, cuando aumentan las demandas nutricionales fetales, la manifestación clínica de la DP en forma de PE, CIR o incluso *abruptio placentae* (40). Es de esperar, por tanto, que entre la primera etapa “pre-clínica” de la DP (primera mitad del embarazo) y la etapa “clínica” (segunda mitad del embarazo) exista algún factor mediador responsable del daño sistémico materno y de la afectación fetal (Figura 3).

Figura 3. Etiopatogenia de la preeclampsia.



PE, preeclampsia; HTA, hipertensión arterial; SAF, síndrome antifosfolípido; Les, Lupus eritematoso sistémico; E, enfermedad; TRA, técnica de reproducción asistida; IMC, índice de masa corporal; CIR, crecimiento intrauterino restringido; Alt., alteración; CID, coagulación intravascular diseminada; IRA, insuficiencia renal aguda; HELLP (síndrome de), hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y trombopenia; SNC, sistema nervioso central.

Desde hace décadas se postula que este mediador procede de la placenta disfuncional formada durante esa primera etapa gestacional, que libera al torrente sanguíneo materno algún tipo de “factor tóxico” responsable del desequilibrio en la homeostasis endovascular materna y del daño vascular endotelial. En 2003 Maynard y colaboradores (41) describieron por primera vez ese “factor tóxico” como el sFlt-1 (*soluble fms-like tyrosine kinase receptor-1*), un antagonista del factor de crecimiento vascular endotelial (*vascular endothelial growth factor*, VEGF) y del factor de crecimiento placentario (*placental growth factor*, PlGF), a los cuales se une en el torrente sanguíneo materno disminuyendo su biodisponibilidad. Esta disminución de biodisponibilidad, y por tanto el desequilibrio que se genera en la homeostasis endovascular, constituye un factor predisponente para el daño endotelial. En este sentido, los endotelios que se ven más afectados son aquellos que están fenestrados, lo cual justifica la especial predisposición en los casos de PE por la afectación de órganos como el riñón, el hígado y el cerebro. Este desequilibrio provoca igualmente una vasoconstricción periférica, que pretende en un primer momento elevar la tensión arterial materna para mejorar la perfusión placentaria, pero puede fracasar como mecanismo protector y desembocar finalmente en una PE (39).

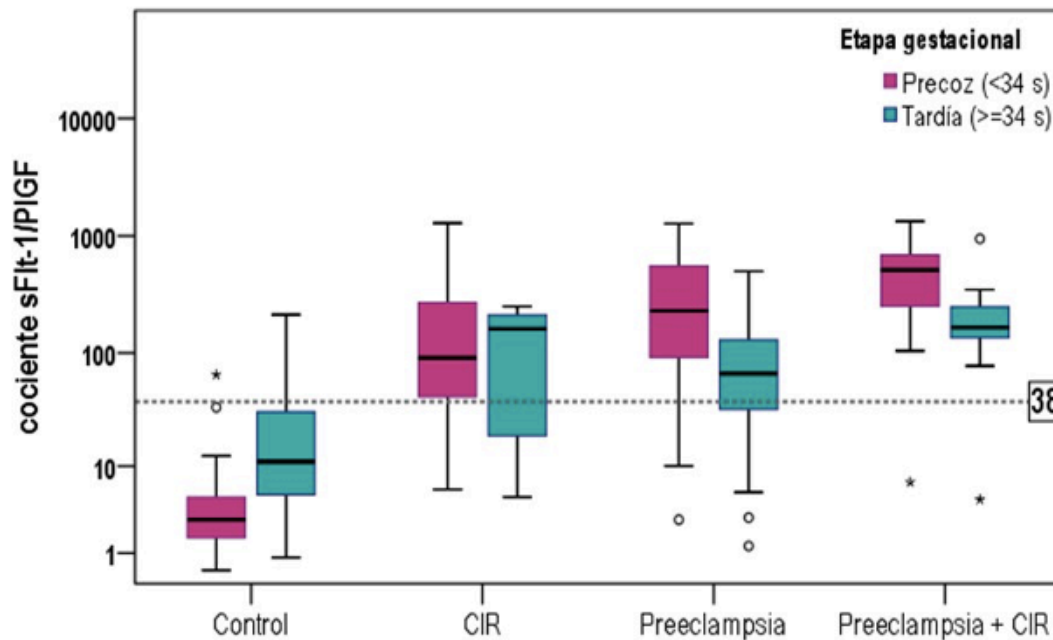
Desde entonces, numerosos estudios han ido confirmando esta teoría etiopatogénica, de forma que actualmente se entiende la DP como un desequilibrio de los factores angiogénicos en la circulación materna del siguiente modo:

- Elevación del factor sFlt-1, factor antiangiogénico.
- Disminución del PlGF, factor angiogénico, atrapado por el exceso de sFlt-1 circulante.
- Elevación del cociente sFlt-1/PlGF.

El sFlt-1 se libera al torrente sanguíneo materno en etapas iniciales de esta DP, por lo que se ha demostrado que su elevación en sangre materna, así como la consecuente disminución del PlGF y la elevación del cociente sFlt-1/PlGF, pueden preceder, incluso en semanas, a la aparición de sintomatología materna en los casos de PE (12). Es más, al

compartir el mismo sustrato de DP la PE y el CIR, se ha observado que en este último también se produce una alteración similar de estos factores angiogénicos. Tanto en la PE como en el CIR se objetiva por tanto una elevación del cociente sFlt-1/PlGF proporcional al grado de DP, y ésta es más acentuada en los casos más graves y precoces (74) (Figura 4).

Figura 4. Diagrama de caja que muestra la distribución logarítmica de los valores del cociente sFlt-1/PlGF en gestaciones normales (controles) y complicadas con crecimiento intrauterino restringido (CIR), preeclampsia y preeclampsia + CIR. Las cajas color fucsia representan los casos precoces (< 34 semanas) y las verdes los casos tardíos ( $\geq$  34 semanas). La línea discontinua muestra el punto de corte de 38 que ha sido descrito como útil para descartar preeclampsia. Basado en Herraiz *et al.* (74).



Este descubrimiento abre la puerta a un nuevo abordaje de la enfermedad. Hasta entonces, ante una sospecha de PE se sucedían numerosísimas pruebas, analíticas e ingresos prolongados, dadas las incertidumbres diagnósticas y la necesidad de finalizar la gestación en caso de que apareciesen criterios para ello. Aunque no existen por el momento tratamientos que modifiquen sustancialmente el curso natural de la enfermedad, el empleo de marcadores angiogénicos tiene el potencial de permitir sospechar y diagnosticar la PE con mayor seguridad, e incluso predecir su evolución. Por tanto, su uso en la práctica clínica podría ayudar a conseguir una optimización del manejo materno

en términos de seguimiento, y fetal en términos de adecuación de la finalización de la gestación.

### 3.1.3 Factores de riesgo

Los mecanismos etiopatogénicos de la DP son compartidos por otras enfermedades que tradicionalmente incrementan el estrés oxidativo, la disfunción endotelial, o condicionan una dislipemia o una resistencia a la insulina. Por ello, las gestantes que presenten estas patologías presentan un mayor riesgo de PE (Tabla 3).

Tabla 3. Factores de riesgo de desarrollo de PE y sus riesgos relativos (39, 42, 43, 44, 45, 46).

Factores de riesgo	RR de PE (Intervalo de confianza al 95%)
<b>Enfermedades predisponentes</b>	
PE previa	8,4 (7,1 – 9,9)
HTA pregestacional	5,4 (4,0 – 6,5)
Diabetes Mellitus pregestacional	3,7 (3,1 – 4,3)
Síndrome antifosfolípido	2,8 (1,8 – 4,3)
Lupus Eritematoso Sistémico	2,5 (1,0 – 6,3)
Enfermedad renal crónica	1,8 (1,5 – 2,1)
TRA	
- FIV	2,7 (1,7 – 4,4)
- Ovodonación	2,1* (1,4 – 3,2)
<b>Características maternas</b>	
Nuliparidad	2,1 (1,9 – 2,4)
Intervalo intergenésico (incremento por año adicional)	1,16 (1,15 – 1,18)
Edad materna:	
- >35 años	1,2 (1,1 – 1,3)
- >40 años	1,5 (1,2 – 2,0)
IMC:	
- >25 kg/m <sup>2</sup>	2,1 (2,0 – 2,2)
- >30 kg/m <sup>2</sup>	2,8 (2,6 – 3,1)

Historia familiar de PE	1,6 (1,1 – 2,5)
Gestación múltiple	2,9 (2,6 – 3,3)
Raza africana	1,9* (1,4 – 2,5)

PE, preeclampsia; HTA, hipertensión arterial; RR, riesgo relativo; TRA, técnica de reproducción asistida; IMC, índice de masa corporal.

\*Los datos señalados con un asterisco representan una Odds Ratio (OR) y no un riesgo relativo.

Muchos de estos factores de riesgo son compartidos por el CIR. Las enfermedades que han demostrado asociarse con un mayor riesgo de PE son las siguientes (42):

- PE previa: la existencia de una o más PE en gestaciones previas, y el hecho de que ésta haya ocurrido pretérmino, incrementan el riesgo de una nueva PE.
- HTA pregestacional: sobre todo aquellas pacientes con mal control tensional al comienzo de la gestación.
- Diabetes Mellitus pregestacional.
- Síndrome antifosfolípido: se considera uno de los factores de riesgo individuales que condiciona una mayor incidencia de PE, junto con el antecedente de PE precoz y la HTA pregestacional.
- Lupus eritematoso sistémico: su riesgo se incrementa aún más en los casos con afectación renal.
- Enfermedad renal crónica: la incidencia de PE puede alcanzar el 40% en casos de insuficiencia renal con creatinina sérica mayor de 2,5 mg/dL.
- Técnica de reproducción asistida (TRA) (43), y principalmente la donación ovocitaria (44), secundario al ambiente hiperestrogénico y a los cambios inmunológicos derivados de la mayor carga genómica extraña, que alteran la correcta decidualización.

Además, existe una serie de características maternas que se relacionan con un riesgo moderado de desarrollar PE:

- Nuliparidad: es el factor de riesgo que con mayor frecuencia está presente en los casos de PE.
- Intervalo intergenésico: el ideal para evitar una DP es el que se encuentra entre los 12 y los 23 meses. Gestaciones obtenidas fuera de ese rango incrementan ligeramente el riesgo, sobre todo gestaciones separadas por 10 años o más. Por encima de esos 10 años, el riesgo de desarrollar PE se asemeja al de las pacientes nulíparas (45).



- Edad materna: el riesgo se incrementa a partir de los 35 años, y exponencialmente más allá de los 40.
- Índice de masa corporal (IMC): la obesidad genera en el organismo un ambiente proinflamatorio crónico con respuestas inflamatorias maternas desproporcionadas y disfunción endotelial, todo ello mediador, ya comentado, del desarrollo de PE. El riesgo de PE en estas pacientes prácticamente se ve triplicado cuando el IMC se encuentra por encima de 30 kg/m<sup>2</sup>.
- Historia familiar de PE (madre o hermana): pese a que la mayoría de casos de PE es esporádico, se ha descrito cierta predisposición familiar.
- Gestación múltiple: a mayor número de fetos, mayor riesgo de PE.
- Raza/etnia: el riesgo de PE se incrementa en pacientes afroamericanas (46), y también, aunque en menor medida, en hispanas respecto a caucásicas.

Por último, existe una serie de factores genéticos, epigenéticos y ambientales, de más difícil identificación práctica, que también contribuirían a la predisposición a desarrollar una DP, como por ejemplo la exposición al tabaco, a metales pesados, a químicos de efecto endocrino o a contaminantes aéreos (47).

Estudios recientes han tratado de catalogar a las gestantes en función de todos estos parámetros, ya desde la primera visita gestacional, en pacientes con bajo o alto riesgo *a priori* de PE. Esta catalogación permite ajustar la frecuencia de seguimiento, la adición de otros parámetros predictores como el IPmAUt o incluso la posibilidad de instaurar de manera precoz tratamientos como la administración de ácido acetilsalicílico a dosis bajas, que ha demostrado, en pacientes seleccionadas, retrasar la aparición del cuadro de DP (48).

## **3.2 Diagnóstico y seguimiento de la disfunción placentaria**

### **3.2.1 Diagnóstico clásico y evolución de los conceptos**

El diagnóstico de PE se ha basado tradicionalmente, como ya hemos comentado anteriormente, en criterios puramente clínicos, principalmente la asociación de HTA y proteinuria. A estos hallazgos, imprescindibles para el diagnóstico, podían o no sobreañadirse otra serie de síntomas relacionados con los órganos diana como

insuficiencia renal, alteraciones hepáticas, dolor epigástrico y/o en hipocondrio derecho, cefalea, fotopsias, ceguera, obnubilación, síndrome HELLP (hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y trombopenia) o la eclampsia.

El hecho de presentar como condición imprescindible para el diagnóstico la existencia de HTA y proteinuria no hacía sino limitar la capacidad diagnóstica, ya que no es infrecuente que la PE debute sin proteinuria, o incluso directamente mediante complicaciones. Por todo ello, los criterios tradicionales de diagnóstico de PE se han quedado actualmente obsoletos, y numerosas organizaciones como el *National Institute for health and Care Excellence* (NICE), la ACOG y la SEGO han adaptado sus guías de actuación a los nuevos criterios establecidos. Estos amplían indudablemente la capacidad diagnóstica de PE, pero el diagnóstico continúa realizándose en una fase clínica de la enfermedad, cuando los mecanismos etiopatológicos están ya instaurados.

Además, en función del momento de aparición del cuadro clínico, la PE puede catalogarse como (49, 50):

- De aparición a término: aquella que debuta en o después de la semana 37.
- De aparición pretérmino: aquella que debuta antes de la semana 37.
- De aparición tardía: aquella que debuta en o después de la semana 34 (o 32, según autores).
- De aparición precoz: aquella que debuta antes de la semana 34 (o 32).

Por último, la PE también puede clasificarse por el momento en el que se produce la finalización del embarazo (51):

- Tardía: aquella que finaliza en o después de la semana 37 (o 32 si no se considera la forma intermedia).
- Intermedia: aquella que finaliza entre las semanas 32 y 36.
- Precoz: la que finaliza antes de la semana 32.

En investigación, son preferibles estas últimas definiciones, ya que el momento de finalización de la gestación es la forma más objetiva de determinar la repercusión de la PE sobre la prematuridad. Además, el momento del diagnóstico puede retrasarse en algunos casos respecto al momento en que teóricamente podría ser posible hacerlo, lo que puede alterar su comparabilidad.

Pese a no disponer en el momento actual de un tratamiento etiopatogénico de la DP, un diagnóstico precoz, en una fase preclínica de la enfermedad, podría permitir predecir no solo el riesgo de desarrollo de ésta sino también su evolución temporal, y por ello mejorar el manejo gestacional en términos de frecuencia de visitas, necesidad de

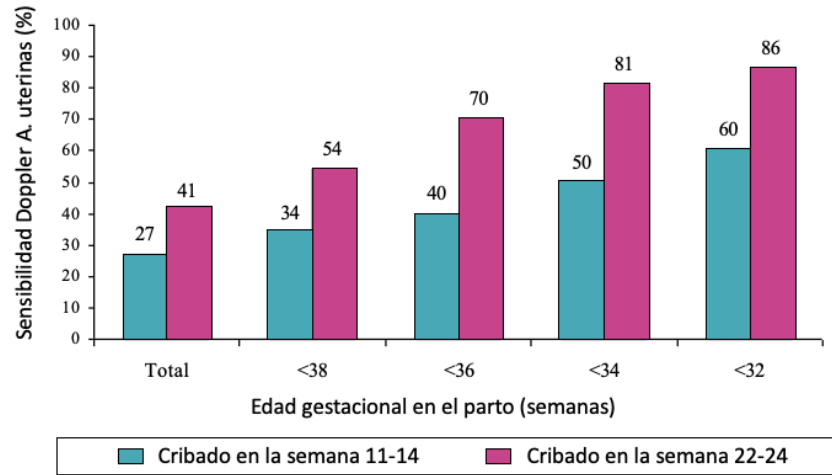
ingreso y optimización de la decisión de finalizar la gestación (52). Por ello, desde hace unos años el enfoque va dirigido a determinar el riesgo de desarrollar DP antes de que ésta ocurra, empleando el estudio de sus factores de riesgo, el estudio Doppler de las AUt por ecografía y, sobre todo, el análisis de los marcadores angiogénicos.

### 3.2.2 Marcadores de disfunción placentaria

#### 3.2.2.1 Arterias uterinas

El aporte sanguíneo al útero se establece a través de las AUt, y la resistencia al flujo a este nivel se correlaciona con los cambios histológicos placentarios, y también con la severidad de la PE. Por ello se ha incluido la valoración del IP de las AUt entre los parámetros de análisis del riesgo de DP, ya que permite realizar un estudio no invasivo de la circulación útero-placentaria. En condiciones normales, la invasión trofoblástica que tiene lugar en el primer trimestre hace que el IPmAUt disminuya de manera progresiva en la primera mitad del embarazo, y esta disminución continúa de manera más lenta hasta alcanzar sus niveles más bajos en torno a la semana 34, manteniéndose posteriormente estables hasta el final de la gestación. Su valoración puede llevarse a cabo por tanto en cualquier momento del embarazo, siempre y cuando se realice de manera comparativa con valores de referencia ajustados a cada EG. No obstante, lo más habitual es valorarlas coincidiendo con las ecografías de primer (11 – 14 semanas) o segundo (19 – 22 semanas) trimestre, siendo en este último donde presenta un mayor rendimiento diagnóstico. Se ha demostrado igualmente que la evaluación del IPmAUt presenta un mejor rendimiento diagnóstico para la predicción de PE precoz que para la tardía (53) (Figura 5). El estudio Doppler de las AUt es a día de hoy el mejor predictor aislado de PE precoz (54).

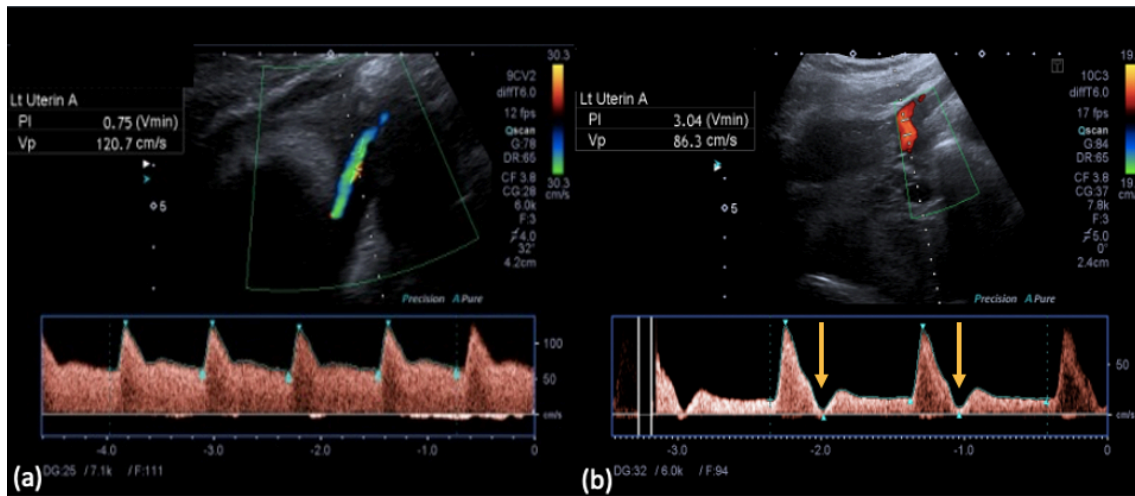
Figura 5. Rendimiento del estudio Doppler de las arterias uterinas (índice de pulsatilidad medio > percentil 95) para predecir la preeclampsia en función de la edad gestacional al parto (modificado de Martín *et al.* (53)).



Recientemente varios estudios han demostrado su utilidad a la hora de estimar el riesgo de desarrollo de PE cuando se emplea, en combinación con otros factores, en el primer trimestre del embarazo (55). No obstante, por el momento, este protocolo no ha sido incluido de manera sistemática en todas las guías clínicas (sí en las guías de la SEGO y la FIGO, entre otras, pero no así las guías NICE y ACOG). Su medición durante la ecografía del segundo trimestre también se emplea con frecuencia para detectar a aquellas gestantes en riesgo de DP precoz, y la *International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* (ISUOG) apoya su uso (56). Sin embargo, otras sociedades no lo apoyan debido a su elevada tasa de falsos positivos y al aumento en el uso de recursos que provoca el seguimiento de los casos con IPmAUt elevada, sin que se haya demostrado que este seguimiento, por sí mismo, mejore los resultados perinatales (57).

La vía de elección para su valoración es la vía abdominal. Durante el primer trimestre, el punto de medición ideal es la rama ascendente de la arteria uterina a nivel del orificio cervical interno. Por el contrario, en etapas más avanzadas de la gestación se prefiere realizar la medición a nivel del falso cruce de la arteria uterina con los vasos iliacos externos. En ambos casos se estima posteriormente el IPm-AUt. Tradicionalmente se asignaba un valor también a la morfología de la onda (a la existencia o no de una muesca o *notch* protodiastólico), ya que se consideraba capaz de traducir la profundidad de la invasión trofoblástica. No obstante, actualmente se prefiere la valoración mediante el IPm-AUt por tratarse de un valor objetivo y fácilmente reproducible (Figura 6).

Figura 6. Imagen de estudio Doppler de arterias uterinas en el segundo trimestre por vía abdominal: (a) resistencias normales y ausencia de *notch* protodiastólico; (b) resistencias aumentadas y presencia de *notch* protodiastólico (flechas amarillas).



Pese a la sencillez de su medición y a las numerosas ventajas que presenta la valoración del IPmAUt, este parámetro presenta ciertas limitaciones que no permiten convertirlo en el *gold standard* para la valoración de la DP una vez establecida. En particular cabe destacar que, pese a tratarse de una medición reproducible y objetiva, sus valores no se modifican de manera acorde al curso de la enfermedad. Así, el valor del IPmAUt puede permanecer persistentemente patológico hasta el final de la gestación y no presentar repercusión ni materna ni fetal, o por el contrario valores no excesivamente alterados o estables traducirse en manifestaciones feto-maternas severas. Un IPmAUt patológico es reflejo de una placentación anómala. Por ello, su valoración resulta útil para predecir las formas precoces de DP. No obstante, su alteración no es capaz de detectar el momento de aparición de las manifestaciones feto-maternas y, aunque presenta cierta utilidad para detectar el riesgo de complicaciones perinatales, su rendimiento no es lo suficientemente óptimo en nuestra propia experiencia (58).

### 3.2.2.2 Cociente sFlt-1/PIGF

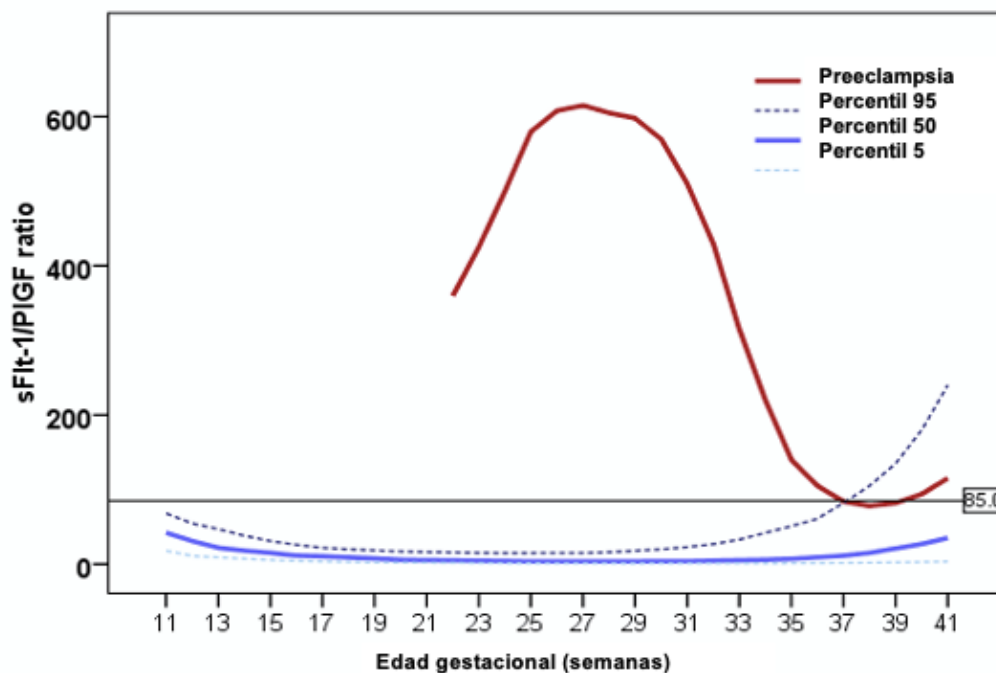
Hasta hace unos años, el manejo de la PE ha consistido en realizar un diagnóstico clínico y un manejo sintomático de la misma (antihipertensivos para el control de la tensión arterial y sulfato de magnesio para prevenir las complicaciones neurológicas), con la finalización de la gestación como único tratamiento definitivo. No existía ningún método diagnóstico preclínico ni predictor objetivo de la evolución de la enfermedad. En

este sentido, el descubrimiento de los marcadores angiogénicos ha supuesto una revolución. Desde hace casi dos décadas se conoce la existencia de un desequilibrio entre los factores reguladores de la angiogénesis en pacientes con DP.

En condiciones fisiológicas, los valores de estos marcadores varían a lo largo de la gestación (Figura 7):

- El sFlt-1 se mantiene estable hasta la semana 24-28 y posteriormente se incrementa progresivamente hasta el parto.
- El PIGF aumenta progresivamente, sobre todo en el segundo trimestre, hasta la semana 24-28 y posteriormente decrece progresivamente hasta el parto.
- El cociente sFlt-1/PIGF se comporta de manera especular al PIGF: sus valores decrecen hasta la semana 24-28 y posteriormente se incrementan hasta el parto.

Figura 7. Valores del cociente sFlt-1/PIGF en suero materno a lo largo de la gestación. Los valores normales de referencia están representados en azul (percentiles 5, 50 y 95) y los valores medios al diagnóstico de preeclampsia se muestran en rojo. Obsérvese que las máximas diferencias entre los casos y los embarazos normales ocurren entre las 24 – 28 semanas. A medida que el embarazo se acerca al término, los valores de las preeclampsias y los embarazos normales se acercan. Como referencia, el punto de corte de 85 definido como “ayuda al diagnóstico” de preeclampsia se muestra en forma de línea negra horizontal. Basado en Herraiz *et al.* (23).



Las variaciones en estos marcadores y el cociente entre ambos reflejan de manera directa la situación de perfusión placentaria en cada momento de la gestación: en condiciones normales, en el segundo trimestre, cuando más rápidamente aumentan las demandas nutricionales fetales, se evidencian los valores anti-angiogénicos más bajos. Por el contrario, en el tercer trimestre la placenta se va haciendo paulatinamente insuficiente provocando un incremento progresivo de los mismos.

En gestaciones con DP, sin embargo, esta evolución de los marcadores se ve alterada, y su desequilibrio será objetivable desde el momento en que la placenta comience a comportarse de manera defectuosa y a liberar al torrente sanguíneo materno cantidades anómalas de sFlt-1 (12). Así, el grado de elevación del cociente sFlt-1/PIGF es proporcional al grado de DP y a la precocidad en su aparición.

En un intento de establecer un protocolo de aplicación clínica del cociente sFlt-1/PIGF, un grupo de expertos ha consensado, para pacientes con alto riesgo o con sospecha clínica de PE, unos puntos de corte estandarizados sobre los cuales basar su manejo clínico, que se resumen en la Tabla 4 (59):

Tabla 4. Propuesta de expertos para la aplicación clínica del cociente sFlt-1/PIGF en pacientes con alto riesgo o sospecha clínica de PE.

Cociente sFlt-1/PIGF		Significado	Propuesta de manejo
Bajo <38	<38	Bajo riesgo de desarrollar PE en la siguiente semana: VPN del 99%, incluso en las siguientes cuatro semanas: VPN del 95%.	No precisa más determinaciones salvo que aparezcan nuevos signos de sospecha.
Intermedio	38-85 (< 34 s)	Alta probabilidad de desarrollar PE en las siguientes cuatro semanas (VPP del 40%).	Reevaluación del cociente sFlt-1/PIGF en 1-2 semanas y educación maternal en signos y síntomas de PE.
	38-110 (≥ 34 s)		
Elevado	>85 (< 34 s)	Diagnóstico altamente probable de PE o de algún tipo de DP.	Nuevo control clínico y nueva determinación de biomarcadores en < 1 s.
	>110 (≥ 34 s)		

			<p>&lt; 34 s: considerar traslado a un centro de referencia.</p> <p>≥ 34 s: considerar la opción de inducir el parto.</p>
Muy elevado	>655 (< 34 s)	Alto riesgo de desarrollar complicaciones en el corto plazo, y de precisar la finalización de la gestación en las siguientes 48 horas.	<p>Vigilancia estrecha (valorar hospitalización).</p> <p>&lt; 34 s: valorar corticoterapia para maduración fetal.</p>
	>201 (≥ 34 s)		

DP, disfunción placentaria; PE, preeclampsia; VPN, valor predictivo negativo; VPP, valor predictivo positivo; s, semanas.

De todos estos parámetros, el punto de corte que se ha validado en mayor número de pacientes es el de 38: en mujeres con sospecha de PE, la existencia de un cociente sFlt-1/PlGF  $\leq$  a 38 tiene un VPN del 99%, 98%, 96% y 94% para descartar PE en las siguientes 1, 2, 3 y 4 semanas, respectivamente, según los datos del estudio PROGNOSIS (*Prediction of short-term outcome in pregnant women*) (64). Otros estudios plantean la posibilidad de emplear únicamente la determinación de PlGF de manera aislada (sin sFlt-1) para predecir la evolución de pacientes con sospecha clínica de PE (60): entre las 20 y las 34 semanas de gestación, con un valor de PlGF < 100 pg/mL no fue preciso finalizar la gestación en las siguientes dos semanas con un VPN del 98% y un VPP del 44%.

Hasta el momento, la mayor evidencia científica se centra en la utilidad del cociente sFlt-1/PlGF para descartar la aparición de PE en el corto-medio plazo en situaciones de alta sospecha clínica que se produzcan entre la semana 24 y 34 de gestación (61). También existen estudios que revelan su utilidad para el diagnóstico diferencial de la PE respecto a otros tipos de trastornos hipertensivos gestacionales, que pueden presentarse con un cuadro clínico similar (elevación de la TA y proteinuria significativa) y sin embargo no suponer un riesgo incrementado de complicaciones para la gestación. Estos cuadros no presentan, antes de la semana 34, una elevación significativa de los marcadores angiogénicos (HTA gestacional, HTA crónica pregestacional). La discriminación entre estas patologías es fundamental para evitar acciones iatrogénicas que supongan desde ingresos innecesarios hasta una prematuridad no justificada (14).

Existe, por tanto, evidencia suficiente para poner de manifiesto la importancia de la determinación aislada del valor del cociente sFlt-1/PlGF en casos de sospecha clínica



de PE, pero hay menos para establecer qué importancia tiene su tendencia temporal. La determinación seriada de dicho cociente puede aportar información adicional sobre el pronóstico individualizado: las pacientes con diagnóstico de PE precoz presentan una elevación diaria del cociente significativamente mayor que las pacientes con PE tardía (23% vs. 8% al día,  $P < 0.05$ ) (15). Recientemente se han publicado datos del propio estudio PROGNOSIS respecto a la evolución del cociente sFlt-1/PlGF, observándose que aquellos casos que acaban desarrollando PE tienen mayores incrementos a las 2 semanas ( $\Delta$ , 31.22 vs 1.45;  $P < 0.001$ ) y a las 3 semanas ( $\Delta$ , 48.97 vs 2.39;  $P < 0.001$ ) de la visita inicial respecto a las gestaciones que finalmente no desarrollan PE (62).

En cuanto a su utilidad diagnóstica, ya en el año 2010 se publicó un estudio de casos y controles que contó con la participación de nuestro grupo en el que se propuso el punto de corte de 85 como compatible con PE en cualquier EG. Además, este estudio validó la determinación de estos marcadores mediante plataformas estandarizadas, con una técnica rápida, sencilla, segura, objetiva y fácilmente reproducible (63).

Posteriormente, este punto de corte se elevó a 110 para edades gestacionales superiores a 34 semanas. Se trata de puntos de corte muy específicos, del 99,5% y 95,5%, respectivamente, por lo que si se superan es muy probable que nos encontremos ante una PE antes o después (79). En este sentido, un estudio publicado en 2012 por Rana y colaboradores (13) llegó a demostrar, en gestantes con sospecha clínica de PE antes de la semana 34, la correlación existente entre la elevación del cociente sFlt-1/PlGF y la aparición de eventos adversos que obligan a adelantar la finalización de la gestación. El parto tuvo lugar en las siguientes dos semanas en el 86% de los casos con un cociente sFlt-1/PlGF  $\geq 85$  vs. 16% con cociente sFlt-1/PlGF  $< 85$  (RR 15.2; IC 95%: 8.0-28.7). Otros estudios también apoyan esta estrecha relación inversa entre los valores del cociente sFlt-1/PlGF y el tiempo restante hasta el parto, una vez diagnosticada la PE (14).

Cuando se compara la utilidad de los marcadores angiogénicos en su capacidad diagnóstica de PE respecto a los criterios tradicionales, el empleo de biomarcadores ha demostrado, en estas situaciones de sospecha clínica, ser superior a los mencionados criterios clínicos diagnósticos clásicos (HTA y proteinuria) (64). El cociente sFlt-1/PlGF resulta el mejor predictor de resultados adversos (AUC 0.85, IC 95%: 0.79–0.91) en comparación con otros parámetros tradicionalmente diagnósticos de PE como la TAS (0.76), el ácido úrico (0.79), la creatinina sérica (0.68) y la ALT (0.62) (13). Por todo ello, numerosos expertos coinciden en que resultaría de gran interés redefinir la PE basándose en su etiopatogenia, empleando para ello estos biomarcadores, dado que se ha observado

que gestantes con criterios diagnósticos de PE sin valores elevados del cociente sFlt-1/PlGF presentan mucho mejor pronóstico que aquellas con elevación de marcadores angiogénicos. No obstante, por el momento el cociente sFlt-1/PlGF no se incluye en ninguna guía clínica ni como criterio diagnóstico de PE ni como factor pronóstico de sus potenciales complicaciones (65).

Por todos estos motivos, la incorporación de los marcadores angiogénicos a la rutina clínica en el cribado de la PE puede suponer un avance sensacional en términos de precisión diagnóstica, pero también en cuanto al impacto emocional en las pacientes y familias, al pronóstico individualizado de la enfermedad, la frecuencia e intensidad de seguimiento, la optimización del manejo prenatal, la prematuridad, el número de ingresos y, en último término, al impacto económico de la enfermedad. Al realizarse un diagnóstico más preciso, se puede disminuir la tasa de falsos negativos y de falsos positivos, disminuyendo el número de hospitalizaciones y de finalizaciones pretérmino de gestaciones. Ello supondría un ahorro que se ha estimado, en diversos sistemas sanitarios, de entre 344 libras por paciente en el Reino Unido) (66) y de 1.215 dólares por paciente en los Estados Unidos (67).

### 3.2.3 Limitaciones actuales de los marcadores angiogénicos

La aplicación universal del cribado bioquímico mediante marcadores angiogénicos presenta varias limitaciones. No se ha demostrado aún que los valores obtenidos en la plataforma más comúnmente empleada y validada en la mayor parte de estudios publicados (Elecsys<sup>®</sup>, Roche Diagnostics) puedan ser intercambiables con los de otras plataformas, y por tanto los puntos de corte y protocolos propuestos hasta la fecha podrían no ser generalizables. Existen a día de hoy plataformas igualmente automatizadas, que presentan incluso determinadas ventajas en cuanto al tiempo de obtención de resultados o a la no necesidad de aparataje específico de laboratorio, que no se emplean de rutina por carecer de estudios validados.

Además, estos puntos de corte arriba mencionados se encuentran únicamente validados para gestaciones únicas y catalogadas como de alto riesgo *a priori* de desarrollar PE. Pese a su elevada sensibilidad y especificidad (80% y 92% respectivamente) y sus *likelihood ratio* positivo y negativo (10 y 0,2 respectivamente) (39), no son en la actualidad aplicables para poblaciones de bajo riesgo, ni por tanto para un cribado universal (68). Respecto a su validación en gestaciones múltiples, existen hasta

la fecha muy pocos estudios que analicen el comportamiento del cociente sFlt-1/PlGF y menos aún que contemplen la corionicidad. Se cree que en condiciones fisiológicas sus niveles son superponibles a los de gestaciones únicas salvo en el tercer trimestre, en que su incremento es mayor (69). En presencia de PE, el cociente se eleva de manera similar a las gestaciones únicas, de modo que es en el tercer trimestre cuando existen mayores problemas a la hora de diferenciar la normalidad de la patología en gestaciones gemelares (70,71).

Esta limitación a su generalización también se hace evidente para gestaciones con fetos diagnosticados de anomalías congénitas, ya que los estudios publicados hasta la fecha en relación con el valor predictivo y diagnóstico del cociente sFlt-1/PlGF excluyen sistemáticamente esta circunstancia. De hecho, si bien se desconoce el impacto real de determinadas anomalías morfológicas fetales sobre los niveles circulantes de estos parámetros, sí se han descrito alteraciones de los mismos en casos de cardiopatías congénitas (valores incrementados de sFlt-1 en el tejido cardíaco fetal, así como niveles reducidos de PlGF circulante en el suero materno), sugiriendo este hallazgo que la DP podría favorecer un desarrollo cardíaco anormal en el periodo embrionario (72). Anomalías cromosómicas fetales como la trisomía 13 también han demostrado una mayor tendencia al desarrollo de PE, hecho que podría explicarse por la ubicación del gen de sFlt-1 en el mencionado cromosoma 13, que vería su producción desregulada en estos pacientes (73).

Dado el patrón de variación fisiológica de los marcadores angiogénicos en gestaciones de curso normal, que se incrementan al final de la gestación, en estas etapas finales la barrera entre lo fisiológico y lo patológico se difumina incluso en gestaciones únicas, y por tanto resulta más difícil establecer puntos de corte para discriminar una PE también en estos casos. En las formas precoces existe mayor grado de alteración del cociente sFlt-1/PlGF. Sin embargo, en las PE tardías ( $\geq 34$  semanas de gestación) se produce un menor incremento de la misma, por lo que los criterios consensuados hasta la fecha resultan menos válidos en estas pacientes. Esta menor elevación en las PE tardías se cree debida a que determinadas formas de PE tardía están más relacionadas con factores maternos predisponentes al insulto antiangiogénico y por tanto al daño endotelial (trombosis placentaria, aterosclerosis, inflamación o microinfartos), como pueden ser la diabetes mellitus o la enfermedad renal crónica, y en menor medida a la existencia de una DP. Además, más allá de la semana 37 de gestación no existen beneficios significativos

probados de prolongar la gestación en casos de sospecha clínica de PE, y por tanto el empleo de los marcadores pierde en estos casos gran parte de su utilidad clínica.

Resulta igualmente importante ser conscientes de que la alteración patológica de los marcadores angiogénicos diagnóstica DP, pero en ningún caso es específica de PE, CIR, de ambas, o de complicaciones relacionadas como el síndrome de HELLP o el *abruptio placentae*. Al tratarse de patologías íntimamente relacionadas en su etiología, los valores absolutos del cociente no permiten distinguirlas. Es cierto que cuanto más severa sea la patología que presenta la gestación, o si se asocian varias de ellas (más comúnmente PE y CIR), más elevado resultará el cociente sFlt-1/PIGF (74). Pero los valores descritos hasta la fecha son solo aplicables ante la sospecha de PE, no habiéndose descrito aún límites específicos, por ejemplo, para la predicción y el diagnóstico de CIR.

### **3.3 Hacia la implementación clínica del cociente sFlt-1/PIGF**

Queda demostrado que la aparición de las tradicionales HTA y proteinuria “llega tarde” en ocasiones al diagnóstico de PE, lo suficiente como para dejar poco margen a optimizar su manejo y prolongar la gestación hasta disminuir la morbimortalidad asociada a esta patología y a la prematuridad, también iatrogénica, que lleva asociada. El cociente sFlt-1/PIGF se presenta en la actualidad como el parámetro analítico objetivo más preciso para la predicción, el despistaje, el diagnóstico y el seguimiento de la PE. Sin embargo, son numerosos los aspectos relacionados con estos biomarcadores que precisan aún ser dilucidados. Existen varios grupos de trabajo que han demostrado en diversas ocasiones la aplicabilidad y reproducibilidad de guías clínicas que incluyen el cociente sFlt-1/PIGF (75, 23, 41, 64, 89). No obstante, estos protocolos se encuentran validados predominantemente en casos de existencia previa de sospecha clínica de PE. Se hace necesario por tanto confirmar su utilidad como parte de una estrategia de seguimiento de gestantes de alto riesgo en las que todavía no existe una sospecha de PE. Además, los puntos de corte del cociente sFlt-1/PIGF únicamente se han validado empleando una determinada plataforma de diagnóstico, cuando existen otras plataformas disponibles que pueden ser superponibles o incluso mejores en términos económicos o de disponibilidad. Por último, existen pocos datos que permitan demostrar la validez no solo diagnóstica sino también pronóstica del cociente en contextos que suponen un reto obstétrico como en el caso de la PE precoz.

Es por todo ello que se plantea la siguiente Tesis Doctoral, en formato de publicaciones, con el fin de profundizar en una estrategia concreta para aplicar los biomarcadores angiogénicos en la práctica clínica, que esté basada en los conocimientos previos sobre las ventajas y limitaciones de los marcadores angiogénicos y que pueda resultar eficaz para detectar anticipadamente los casos de DP, especialmente los más precoces, y también para optimizar su seguimiento una vez diagnosticados.

## 4 HIPÓTESIS DE TRABAJO

Dado que los parámetros diagnósticos de PE/CIR validados hasta la fecha no son capaces de alcanzar el diagnóstico en una fase preclínica ni de predecir su evolución una vez desarrollado el trastorno, y dado el descubrimiento del desequilibrio angiogénico entre los factores sFlt-1 y PlGF como agente etiopatogénico predominante en PE/CIR, se plantea como hipótesis que:

“La determinación en suero materno del cociente sFlt-1/PlGF, en diferentes plataformas automatizadas disponibles, como parte de una estrategia de selección de gestantes de alto riesgo de desarrollar PE/CIR, es capaz de predecir su aparición en una fase preclínica, de aportar información sobre su evolución, e incluso de determinar el riesgo de finalización de la gestación en el corto plazo”.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Estudiar la utilidad de la implementación clínica del cociente sFlt-1/PlGF en diferentes plataformas automatizadas durante la segunda mitad del embarazo para el diagnóstico precoz y el asesoramiento pronóstico de la PE y el CIR.

### 5.2 Objetivos específicos

- a. Definir una estrategia de implementación del cociente sFlt-1/PlGF en la semana 24-28 de gestación y analizar su capacidad predictiva de PE/CIR en pacientes con alto riesgo *a priori* de desarrollar trastornos placentarios en base a sus antecedentes y al estudio Doppler de las AUt en el segundo trimestre.
- b. Estudiar si los puntos de corte establecidos para la plataforma más comúnmente empleada para la determinación del cociente sFlt-1/PlGF son superponibles, intercambiables y por tanto generalizables para otras plataformas.
- c. Evaluar si la determinación del cociente sFlt-1/PlGF permite predecir, en el caso de PE precoz (diagnosticada < 34 semanas de gestación), el riesgo de desarrollo de resultados adversos materno-fetales y el tiempo estimado hasta la necesidad de finalización de la gestación.

## 6 DEFINICIONES Y MÉTODOS PARA EL CONJUNTO DE LA INVESTIGACIÓN

Al tratarse de un proyecto de Tesis Doctoral presentado como compendio de publicaciones, tanto el diseño, como la población de estudio y la metodología particular empleada en cada una de ellas se detallan en el apartado de “Métodos” correspondiente para cada uno de los artículos. Asimismo, los resultados se describen en cada trabajo correspondiente. No obstante, los tres artículos comparten una metodología común que es la que se detalla a continuación.

- Diseño: estudio observacional, prospectivo de cohortes. En el caso del segundo artículo, se trata de casos y controles anidados sobre la cohorte original.
- Ámbito de estudio: el contexto de la investigación ha tenido lugar en el Hospital “12 de Octubre” de Madrid y ha sido puesto en práctica por el Servicio de Obstetricia y Ginecología, vinculado a la Universidad Complutense de Madrid, con la aprobación del Comité de Ética del hospital para este proyecto de investigación. Para llevar a cabo dicho proyecto se ha obtenido financiación por parte del Fondo de Investigación en Salud (FIS) Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) con número de referencia PI13/02405.
- Periodo de estudio: desde octubre de 2013 hasta diciembre de 2018.
- Sujetos de estudio:
  - *Criterios de inclusión*:
    - gestantes que realicen el seguimiento del embarazo en nuestro centro, al menos desde la ecografía de las 19-22 semanas (inclusive)
    - 16 o más años de edad
    - embarazos únicos
  - *Criterios de exclusión*:
    - gestaciones interrumpidas antes de la semana 20
    - gestaciones múltiples
    - gestaciones afectas de anomalías cromosómicas, malformaciones mayores y/o infecciones congénitas
    - ausencia de consentimiento informado



- parto fuera de nuestro centro e imposibilidad de obtener todos los datos fundamentales del parto (existencia o no de PE o CIR, fecha del parto, tipo de parto, peso neonatal, sexo neonatal, estado de la madre y del recién nacido tras el alta).

- Fase de selección:

Coincidiendo con la primera vista gestacional en la Unidad de Medicina Fetal de nuestro Servicio (generalmente en el primer trimestre, semana 11-14 de gestación), se llevó a cabo una evaluación de los factores maternos de riesgo de desarrollo de PE establecidos por las guías NICE (76), los cuales se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Criterios para la clasificación inicial del riesgo de preeclampsia

Factores de riesgo mayores	Factores de riesgo menores
<ul style="list-style-type: none"> <li>- PE en gestación previa</li> <li>- Enfermedad renal crónica</li> <li>- Enfermedad autoinmune (LES, SAF)</li> <li>- Diabetes Mellitus pregestacional</li> <li>- HTA crónica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Primera gestación o intervalo respecto a gestación previa <math>\geq 10</math> años</li> <li>- Edad materna <math>\geq 40</math> años</li> <li>- IMC <math>\geq 35</math> kg/m<sup>2</sup> al inicio de la gestación</li> <li>- Historia familiar de PE</li> <li>- Gestación múltiple</li> </ul>

LES, Lupus Eritematoso Sistémico; PE, preeclampsia; SAF, Síndrome Antifosfolípido; IMC, Índice de Masa Corporal.

Las gestantes fueron entonces catalogadas en bajo (sin factores de riesgo mayores o con  $\leq 1$  factor de riesgo menor) o alto (al menos 1 factor de riesgo mayor o 2 menores) riesgo *a priori* de desarrollar PE.

En la ecografía morfológica fetal de la semana 19-21 de gestación se llevó a cabo el estudio Doppler de las AUt y el cálculo del IPm-AUt. Todas las exploraciones ecográficas fueron realizadas por expertos en diagnóstico prenatal, por vía transabdominal, con sonda convex y equipos de alta calidad.

- Fase de seguimiento intensivo:

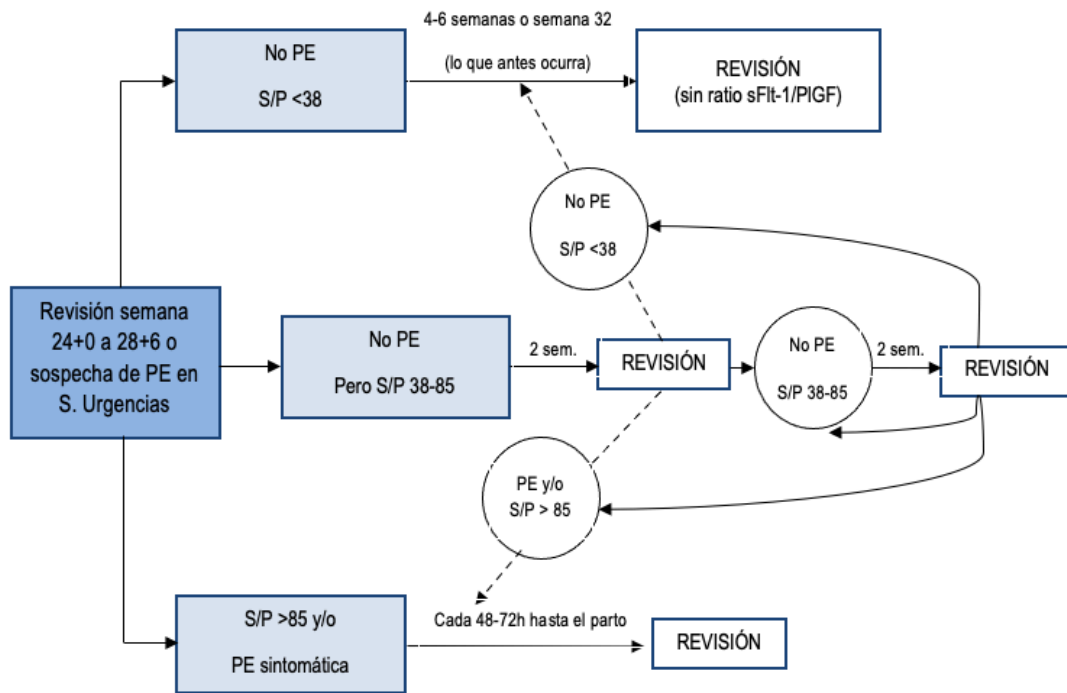
De entre todas las gestantes, fueron seleccionadas para seguimiento intensivo con una visita adicional entre las 24 + 0 y 28 + 6 semanas (24 – 28 semanas) tanto aquellas con alto riesgo *a priori* e IPm-AUt  $\geq p 75$  como aquellas con bajo riesgo *a priori* e IPm-

AUt  $\geq$  p 95. En estas últimas, además, se precisaba para ser consideradas para el seguimiento intensivo que este IPm-AUt persistiese  $\geq$  p 95 en el control de la semana 24-28. Se establecieron estos dos diferentes puntos de corte porque las pacientes con alto riesgo *a priori* son más propensas a desarrollar PE/CIR aun en ausencia de una marcada elevación de las resistencias en las AUt (77).

Tanto el desarrollo de PE como de CIR han sido considerados para este proyecto como una única variable, y esto obedece a que la alteración del cociente sFlt-1/PIGF se da en cualquier trastorno de la placentación, no siendo específica de ninguna de las dos por separado (23). Para la PE se empleó la definición clásica establecida según las guías de la NHBPEP (33), con el fin de disminuir la subjetividad en el diagnóstico y facilitar la comparabilidad con otros estudios: aparición de HTA *de novo* (TAS  $\geq$  140 mmHg o TAD  $\geq$  90 mmHg) después de las 20 semanas de gestación asociada a proteinuria (índice proteína/creatinina  $\geq$  0,3 o  $\geq$  300 mg en orina de 24 horas). Para el CIR, se emplearon los criterios establecidos por Figueras *et al.* (78): PFE  $<$  p 3 o PFE  $<$  p 10 con signos de redistribución hemodinámica materna y/o fetal: IPmAUt, IP-ACM, IP-AU, ICP, DV o RCTG patológico. Como grupo de comparación, se estableció aquel en que no se desarrolló PE ni CIR. Ambos parámetros (PE y CIR) se agruparon con un fin pronóstico y práctico en función de la EG a la finalización del embarazo en tres grupos: PE/CIR precoz (parto  $<$  32 semanas), PE/CIR intermedio (32 – 36 semanas) y PE/CIR tardío ( $>$  36 semanas).

En cada una de las pacientes seleccionadas, se llevó a cabo una visita de control en la semana 24-28, en la que se realizó una primera determinación del cociente sFlt-1/PIGF, además de una valoración de la tensión arterial, la proteinuria y una ecografía de la biometría fetal y el Doppler umbilical y uterino. En base a los puntos de corte preestablecidos para el cociente sFlt-1/PIGF (79, 64), se determinó la cadencia de visitas, considerando que el riesgo de complicaciones a corto plazo es mayor según se incrementa el cociente, así como que valores por debajo de 85 hacen que ese riesgo sea bajo en las siguientes 2 semanas (13, 59). El algoritmo de este protocolo se presenta en la Figura 9.

Figura 9. Algoritmo de la fase de seguimiento intensivo de las gestantes seleccionadas incorporando el empleo de biomarcadores de angiogénesis.



**REVISIÓN:**

1. Ecografía de control de crecimiento: biometría + valoración de LA + Doppler de A. Umbilical (+Doppler de A. Uterinas en semana 26-28) \*
2. Toma de TA
3. Valoración de proteinuria
4. Medición de la ratio sFit-1/PIGF.

\* Si en alguna revisión se diagnostica de CIR, se seguirá el protocolo específico de cada centro.

PE, preeclampsia; S/P, cociente sFit-1/PIGF; LA, líquido amniótico; A., arteria; TA, tensión arterial.

Las concentraciones de sFit-1 y PIGF se midieron empleando la plataforma automatizada Cobas® 6000 e701 (Roche Diagnostics, Penzberg), para la cual han sido validados los puntos de corte empleados. En el segundo de los estudios, no obstante, la medición se realizó simultáneamente y en la misma muestra materna con la plataforma BRAHMS (Kryptor, Thermofisher), con el fin de realizar un estudio comparativo de ambas plataformas.

No se realizó enmascaramiento del resultado del cociente sFit-1/PIGF a los clínicos, pero su conocimiento fue únicamente empleado para determinar la frecuencia

de las visitas y la necesidad de hospitalización. La indicación de finalización se realizó únicamente en base a los protocolos vigentes (35).

Además de las principales variables (PE, CIR, valores del cociente sFlt-1/PlGF) y las curvas ROC del cociente para la predicción de PE/CIR, se analizaron las características maternas, los factores de riesgo de desarrollo de trastornos de la placentación, el estudio Doppler, la tensión arterial materna, el estudio analítico materno (cociente proteínas/creatinina principalmente) y las complicaciones maternas (HELLP, muerte, eventos neurológicos, infarto miocárdico, hematoma subcapsular hepático, edema agudo de pulmón, fracaso renal agudo y *abruptio placentae*). Como variables perinatales se evaluaron el sexo fetal y peso al nacimiento, el Apgar a los 5 minutos, el pH arterial en cordón umbilical, el ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) y la duración del mismo, la muerte perinatal y la existencia de complicaciones (displasia broncopulmonar, hemorragia intraventricular severa, enterocolitis necrotizante y retinopatía de la prematuridad).

A continuación, se incluye cada uno de los tres artículos tal y como han sido publicados en las revistas científicas.

## 7 ARTÍCULOS

### 7.1 Primer artículo

Implementación clínica del cociente sFlt-1/PlGF para la identificación de preeclampsia y crecimiento intrauterino restringido: estudio prospectivo de cohortes.

Referencia: Herraiz I, Simón E, Gómez-Arriaga PI, Quezada MS, García-Burguillo A, López-Jiménez EA, Galindo A. Clinical implementation of the sFlt-1/PlGF ratio to identify preeclampsia and fetal growth restriction: a prospective cohort study. *Pregnancy Hypertens.* 2018 Jul; 13: 279-285.

DOI: 10.1016/j.preghy.2018.06.017.

ISSN: 2210-7789

Tipo de estudio: observacional, prospectivo, cohortes.

Estado: publicado.

Factor de impacto: 1,992 (Journal Citation Report)

Categoría: OBSTETRICS & GYNECOLOGY

Posición: 47/83, Q3 (Journal Citation Report)

## Resumen del primer artículo

Implementación clínica del cociente sFlt-1/PlGF para la identificación de preeclampsia y crecimiento intrauterino restringido: estudio prospectivo de cohortes.

### INTRODUCCIÓN

La PE y el CIR son dos complicaciones relacionadas con la DP, asociadas a un incremento en la morbimortalidad tanto materna como perinatal, especialmente cuando abocan a un parto pretérmino. Ambas condiciones comparten factores de riesgo y con frecuencia coexisten, incrementando el riesgo de resultados adversos (4). Su diagnóstico precoz y la derivación de las pacientes con PE/CIR precoz a centros especializados en el manejo perinatal resultan críticos para reducir las complicaciones. Sin embargo, el diagnóstico de la PE se basa aún hoy en síntomas clínicos inespecíficos y hallazgos de laboratorio, y la identificación del CIR tanto por ecografía como por altura uterina resulta subóptima, ambas cuestiones derivando en un retraso diagnóstico (23). La inclusión en el diagnóstico de marcadores de DP como el IPmAUt y el cociente sFlt-1/PlGF incrementan la tasa de detección de PE precoz y CIR (80, 81). El cribado universal mediante el IPmAUt durante la ecografía rutinaria de segundo trimestre presenta una sensibilidad del 60-80% para la detección de PE precoz y severa y para CIR, con una especificidad del 90-95%, pero a costa de un bajo valor predictivo positivo (VPP), del 10-20% (77, 57). El cociente sFlt-1/PlGF, empleado en población seleccionada, dispone de unos valores predictivos positivo y negativo óptimos (64, 41), y su uso ha sido recomendado en Reino Unido como ayuda para descartar una sospecha de PE entre las 20 y las 34+6 semanas de gestación (61). Sin embargo, aún queda por esclarecer cuándo solicitar la medición de dichos marcadores en gestaciones con un IPmAUt elevado.

En este estudio hemos diseñado y analizado una estrategia para la implementación contingente del cociente sFlt-1/PlGF en la práctica clínica para identificar la PE y CIR precoz, intermedio y tardío. Dicha estrategia consiste en primer lugar en la selección de pacientes con alto riesgo *a priori* en base a su historia clínica y a la medición del IPmAUt en segundo trimestre, y en segundo lugar en la determinación del cociente sFlt-1/PlGF en la semana 26 de gestación.

## MÉTODOS

### Diseño del estudio

Se trata de un estudio observacional prospectivo de cohortes, de todas las gestaciones únicas consecutivas que fueron evaluadas en semana 19+0 – 22+0 de gestación en nuestro centro, con una fecha probable de parto entre marzo de 2014 y febrero de 2016. De entre ellas, un subgrupo de gestantes con alto riesgo de PE y/o CIR en base a su historia clínica y al IPmAUt fue seleccionado para seguimiento intensivo en la semana 24+0 – 28+6 de gestación incluyendo la determinación del cociente sFlt-1/PIGF, como se detallará más adelante. Fueron considerados criterios de exclusión la gestación múltiple, las anomalías cromosómicas fetales, las malformaciones fetales mayores e infecciones congénitas, las gestaciones cuyo resultado fue desconocido y la ausencia de consentimiento informado. Todas las pacientes incluidas en el estudio recibieron información por escrito acerca del estudio coincidiendo con el primer control ecográfico, y aquellas que aceptaron participar en el seguimiento intensivo manifestaron por escrito su consentimiento. El estudio recibió la aprobación del Comité Ético Local.

### Metodología del estudio

Coincidiendo con la primera ecografía realizada en la gestación, se registraron los factores de riesgo para PE establecidos por las guías NICE (*National Institute for Health and Clinical Excellence*) (76). En base a ellos, las gestantes fueron catalogadas como de bajo (ausencia de factores de riesgo mayores o  $\leq$  un factor de riesgo menor) o alto ( $\geq$  un factor de riesgo mayor o dos menores) riesgo *a priori* de desarrollar PE/CIR. En aquellas pacientes con al menos un factor de riesgo mayor se recomendó la toma profiláctica de aspirina a bajas dosis (100 mg/día) desde antes de la semana 16 hasta la semana 36. La EG fue calculada siguiendo las recomendaciones del ACOG, respetando para su estimación la fecha de última regla (FUR) salvo que existiese una discordancia significativa entre la estimación por FUR y por la longitud cráneo-raquis (CRL) antes de la semana 14 o por el diámetro biparietal (DBP) de la semana 14+0 en adelante (82).

Se realizó el estudio del IPmAUt por vía abdominal durante la ecografía rutinaria de segundo trimestre según lo descrito previamente (83). Seleccionamos para seguimiento intensivo a aquellas gestantes con alto riesgo *a priori* de PE e IPmAUt  $\geq$  p 75, así como a aquellas con un bajo riesgo *a priori* de PE y un IPmAUt  $\geq$  p 95. En este último subgrupo, establecimos como requisito para continuar el seguimiento intensivo la

existencia de una elevación persistente del IPmAUt en la semana 24-28. Empleamos estos diferentes umbrales para el IPmAUt porque las pacientes con alto riesgo presentan una mayor tendencia a desarrollar PE/CIR aun en ausencia de una elevación importante de las resistencias en las AUt (77). En todas las pacientes seleccionadas llevamos a cabo una visita de seguimiento en la semana 24-28 de gestación en la que se realizaron una ecografía de control de crecimiento fetal, la medición de la tensión arterial media materna (TAM) y un estudio analítico incluyendo la medición del índice proteínas/creatinina en una muestra aleatoria de orina y del cociente sFlt-1/PIGF en suero materno. Para la interpretación de resultados se emplearon los puntos de corte previamente descritos en la literatura de 10 (p 95 para la EG) (79), 38 (alta sospecha de PE) (64) y 85 (ayuda en el diagnóstico de PE) (79). Así, en ausencia de enfermedad clínica, la cadencia de visitas sucesivas dependería del resultado previo: por debajo de 38 no se realizaron nuevas revisiones salvo si se sospechaba el desarrollo de PE/CIR, mientras que entre 38 y 85 y por encima de 85 se realizaron visitas de control en las dos semanas siguientes y cada 48-96 horas respectivamente. Este esquema de seguimiento fue diseñado siguiendo las recomendaciones de expertos, basadas en la observación de que el riesgo de complicaciones en el corto plazo es mayor según se incrementa el cociente, pero con valores < 85 esta probabilidad es aún baja en las siguientes dos semanas (13, 59). Este protocolo de seguimiento ha sido publicado con anterioridad en otro artículo científico (23), en el que se incluyen de manera detallada los argumentos para la selección de los puntos de corte de los valores del IPmAUt y del cociente sFlt-1/PIGF, así como el tiempo estimado entre revisiones. Aquellas pacientes que no cumplieron criterios para seguimiento intensivo, así como las que presentaron un cociente <38, pasaron a seguimiento convencional, que en nuestro país consiste en la realización de una ecografía de control de crecimiento fetal en la semana 34-36 de gestación. En caso de diagnóstico de PE/CIR, se siguieron los protocolos en vigor según lo descrito más adelante. El resultado del cociente sFlt-1/PIGF era conocido por los clínicos, si bien únicamente fue empleado como guía para determinar la frecuencia de los controles, la necesidad de pruebas adicionales y de hospitalización, en concurrencia con otros parámetros clínicos y analíticos. Por tanto, la indicación de finalización de la gestación fue guiada exclusivamente por los protocolos actuales, sin verse influenciada por los biomarcadores.

Las concentraciones de sFlt-1 y PIGF (picogramos por mililitro) en las muestras de suero materno se obtuvieron empleando una plataforma automatizada (Cobas® 6000 e701 module, Roche Diagnostics, Penzberg, Alemania), la misma mediante la cual fueron



validados los puntos de corte mencionados previamente. El cociente sFlt-1/PIGF fue calculado y expresado en valores absolutos.

El CIR se definió como un PFE por ecografía (84)  $< p 3$ , o un PFE  $< p 10$  con alteración del estudio Doppler fetal (IP  $> p 95$  en AU, IP  $< p 5$  en la ACM, o índice cerebroplacentario  $< p 5$ ) (85). Tanto el PFE como el peso al nacimiento fueron transformados en percentiles ajustados por la EG, el sexo fetal y customizados por las características maternas, empleando el software GROW (86). El seguimiento de los fetos diagnosticados de CIR se basó en un protocolo previamente establecido en base a los diferentes estadios, con el fin de monitorizar el bienestar fetal y de decidir el momento y la vía óptimos de finalización de la gestación (32). Se definió la PE en base al National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy (33). Antes de la semana 33+6 de gestación, la indicación para finalizar la gestación por interés materno fue la presencia de condiciones clínicas que contraindicasen un manejo expectante (34). También se indicó la finalización inmediata de la gestación en casos de PE severa en la semana 34+0 o en adelante, mientras que en formas no severas se recomendó un manejo expectante hasta la semana 37+0.

Los resultados obtenidos se registraron en bases de datos electrónicas: los controles ecográficos y las visitas de seguimiento durante la gestación se almacenaron en el programa Viewpoint® 5 (GR Healthcare), los resultados analíticos, del parto y del recién nacido se registraron en HP-HCIS (Hewlett-Packard Development Company, L.P.) y para la recopilación de datos de las gestantes seleccionadas para seguimiento intensivo se creó una base de datos específica en la plataforma Research Electronic Data Capture (REDCap) albergada en nuestro centro (87). Dos investigadores (I.H. y E.S.) llevaron a cabo una revisión sistemática y catalogación definitiva de los casos de PE y CIR.

Hemos presentado de manera unificada los resultados de PE y CIR ya que el cociente sFlt-1/PIGF es la manifestación analítica de una DP, y por tanto no es específico de ninguna de las dos entidades por separado (23). Por tanto, nuestros grupos de estudio fueron los siguientes: “PE/CIR precoz” (gestaciones con PE y/o CIR que requirieron finalizar la gestación  $< \text{semana } 32$ ), “PE/CIR intermedio” (parto entre las semanas 32+0 y 36) y “PE/CIR tardío” (parto  $\geq 36$  semanas). Se empleó para las comparaciones el grupo “no PE/CIR”.

#### Análisis estadístico

La publicación de este estudio se ajusta a la declaración STROBE (*The*

*Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology*). Las características basales fueron expresadas como media y desviación estándar (SD) o porcentaje (%). Los valores de sFlt-1 (pg/mL), PlGF (pg/mL) y del cociente sFlt1-/PlGF, que no siguen una distribución normal, fueron expresados como mediana y rango intercuartílico (IQR). Se generaron diagramas de caja para representar los valores de estos parámetros en los diferentes grupos de estudio. Las comparaciones entre las características de los grupos de PE/CIR y del grupo “no PE/CIR” se llevaron a cabo empleando los test de Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher para variables categóricas, y T-test o los test U de Mann-Whitnew ambos con correcciones de Bonferroni (significación estadística crítica  $p < 0,017$ ). Se utilizaron valores de p de dos colas en todos los test. La precisión de las variables para predecir PE/CIR precoz, intermedio y tardío fue analizada empleando las áreas bajo las curvas ROC (Receiver-operating characteristic), y la sensibilidad, especificidad, los valores predictivos positivo y negativo y las razones de probabilidad positivas derivadas de ellas fueron calculados con intervalos de confianza (IC) al 95%. Se generó una curva de Kaplan-Meier para representar la incidencia acumulada de parto con PE/CIR desde el momento de medición del cociente sFlt-1/PlGF (los partos sin PE/CIR fueron excluidos). Los datos fueron introducidos cuidadosamente y analizados tras su depuración mediante el programa estadístico IBM SPSS Statistics 20.

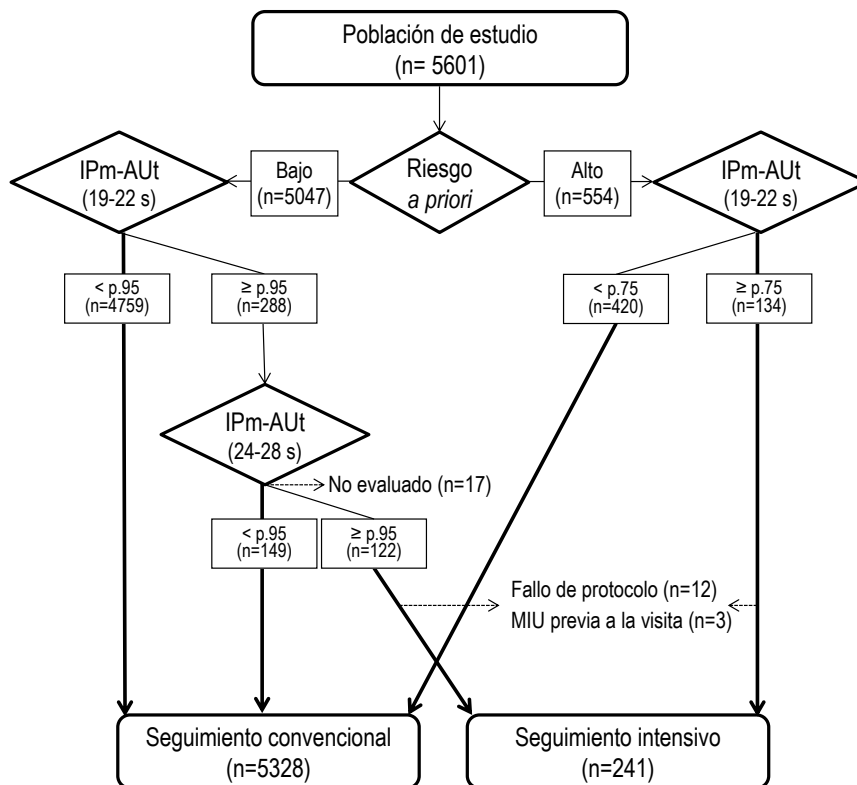
## RESULTADOS

Un total de 6983 mujeres con gestaciones únicas fueron evaluadas en nuestro centro durante el periodo de estudio. Se diagnosticó aborto tardío en 7 de ellas (0,1%), no se midió el IPmAUt en 17 (0,2%), se detectaron anomalías congénitas mayores en 65 (0,9%) y en 1.293 (18,5%) no pudo realizarse seguimiento completo dado que el parto tuvo lugar en otro centro. Las características basales, tanto de las pacientes incluidas en el estudio como de las pacientes con seguimiento incompleto se encuentran registradas en la tabla suplementaria S1 (Anexo 3), y muestran que las pacientes que optaron por finalizar la gestación en otro centro presentaban un perfil de menor riesgo de PE/CIR basado en factores tanto clínicos como ecográficos, respecto a las pacientes que dieron a luz en nuestro centro. Es más, entre las pacientes con seguimiento incompleto, únicamente 8 (0,6%) cumplían los criterios de este estudio para seguimiento intensivo.

Así pues, la población a estudio con la totalidad de datos disponibles resultó ser de 5.601 pacientes. De ellas, 554/5.601 (9,9%) presentaban alto riesgo *a priori* y 5.047

(90,1%) bajo riesgo *a priori* de PE. La figura 1 sintetiza el proceso de selección de las gestantes para seguimiento intensivo. Durante el proceso, 32 pacientes adicionales fueron excluidas: en 17 casos con bajo riesgo *a priori* de PE e IPmAUt elevado en semana 19-22, el IPmAUt no pudo ser reevaluado en semana 24-28 bien por un error de citación o bien por no acudir la paciente a la cita prevista, y 3 de ellas desarrollaron CIR tardío. Es más, 15 casos seleccionados inicialmente para seguimiento (7 con alto riesgo y 8 con bajo riesgo *a priori*) fueron igualmente excluidas por la no disponibilidad de los resultados del cociente sFlt-1/PIGF. Como se detalla en la figura 1, en 3 de ellas se detectó una muerte intrauterina previo a la medición del cociente, y una de ellas presentó una PE/CIR precoz.

Fig. 1. Diagrama de flujo de la población de estudio, que muestra los criterios de selección de las gestaciones para seguimiento convencional o intensivo. IPm-AUt, índice de pulsatilidad medio en arterias uterinas; MIU, muerte intrauterina; p., percentil; s, semanas.



La incidencia de PE/CIR en el total de la población fue de 236/5601 (4,2%, IC al 95% 3,7-4,8%), mientras que en aquellas pacientes seleccionadas para seguimiento intensivo fue de 72/241(29,9%, IC al 95% 24,4-35,9%). La mayoría de estos casos de

PE/CIR tenía un IPmAUt  $\geq$  p 95 en la semana 19-22 (62/72, 86%) y en 10 de ellas era de  $\geq$  p 75. La tabla 1 describe las incidencias y riesgos relativos de PE/CIR precoz, intermedia y tardía en las mujeres seleccionadas para seguimiento intensivo comparado con las pacientes en seguimiento convencional.

Tabla 1. Incidencia de preeclampsia y/o crecimiento intrauterino restringido (PE/CIR) precoz, intermedio y tardío en la población de estudio, y riesgos relativos de dichos resultados en función de la selección para seguimiento convencional o intensivo.

Grupo de estudio	Población de estudio (n = 5.601)		Tipo de seguimiento asignado tras el proceso de selección <sup>a</sup>					
	n	% Incidencia (IC 95%)	Convencional (n = 5.328)		Intensivo (n = 241)		RR (IC 95%)	Valor P
			n	% Incidencia (C 95%)	n	% Incidencia (IC 95%)		
PE/CIR precoz	17	0.3 (0.2–0.5)	2	0.04 (0.01–0.14)	14	5.8 (3.4–9.5)	146.3 (33.4–640.4)	< 0.001
PE/CIR intermedio	37	0.7 (0.5–0.9)	16	0.3 (0.2–0.5)	21	8.7 (5.8–13.0)	26.8 (14.1–50.7)	< 0.001
PE/CIR tardío	182	3.2 (2.8–3.7)	141	2.6 (2.2–3.1)	37	15.4 (11.3–20.4)	5.2 (3.7–7.3)	< 0.001
Total de PE/CIR	236	4.2 (3.7–4.8)	159	3.0 (2.6–3.5)	72	29.9 (24.4–35.9)	10.0 (7.8–12.8)	< 0.001

IC, intervalo de confianza. PE/CIR precoz: parto > 32 semanas; PE/CIR intermedio: parto 32 - < 36 semanas; PE/CIR tardío: parto ≥ 36 semanas.

<sup>a</sup> 32 casos no fueron asignados a ningún tipo de seguimiento, como se detalla en el texto.

Las principales características basales y las variables predictivas en la semana 24-28 de gestación en el grupo de pacientes seleccionadas para seguimiento intensivo se muestran en la tabla 2. Los resultados maternos y perinatales se muestran en la tabla S2 de material suplementario (Anexo 3). Las principales características y resultados de la población a estudio se muestran en las tablas S3 y S4 del material suplementario (Anexo 3). Ninguna de las características basales mostró diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes que no desarrollaron PE/CIR y aquellas que sí lo desarrollaron independientemente de si ocurrió de manera precoz, intermedia o tardía. Sin embargo, sí que se encontraron diferencias en todas las variables predictivas evaluadas en la semana 26,2 (0,8), excepto para el índice proteínas creatinina. La distribución de los valores del cociente sFlt-1/PlGF en los diferentes grupos de estudio se muestra en la Figura S1 del material suplementario (Anexo 3). En seis casos la PE/CIR se encontraba ya presente en la visita de la semana 24-28 y el parto tuvo lugar antes de la semana 32 en todos menos uno. En todos estos casos, el cociente sFlt-1/PlGF era  $> 85$ , con una mediana (IQR) de 208,1 (127,4-555,7).

Tabla 2. Descripción de las características maternas y las variables predictivas en la visita de la semana 24+0 – 28+6 en las pacientes seleccionadas para seguimiento intensivo que han desarrollado preeclampsia o crecimiento intrauterino restringido con necesidad de finalización de la gestación  $< 32$  semanas (PE/CIR precoz), en la semana 32 -  $< 36$  (PE/CIR intermedio) o  $\geq 36$  semanas (PE/CIR tardío), comparado con aquellas gestantes que no desarrollaron preeclampsia o crecimiento intrauterino restringido (No PE/CIR).

Los datos se muestran como mediana (desviación estándar) excepto que se mencione lo contrario para las variables continuas, y para las variables categóricas, expresadas como n (%). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo comparando cada grupo de PE/CIR con el grupo de No PE/CIR. Para diferencias significativas, los contrastes entre grupos se realizaron empleando los test de Chi-cuadrado o exacto de Fisher para variables categóricas, y el T-test o el test no paramétrico U de Mann-Whitney para variables continuas, todas con ajuste posterior de Bonferroni. \*Significación estadística crítica:  $p < 0,017$ .

Características	No PE/CIR (n = 169)	PE/CIR precoz (n = 14)	PE/CIR intermedio (n = 21)	PE/CIR tardío (n = 37)
Características maternas basales				
Edad (a)	32.8 (6.8)	34.6 (5.9)	32.4 (6.2)	33.3 (5.7)

Altura (cm)	161.8 (6.6)	160.0 (4.4)	157.3 (5.3)	161.4 (6.5)
Peso pregestacional (kg)	67.0 (15.0)	67.8 (13.2)	66.1 (16.0)	63.6 (15.1)
IMC pregestacional (kg/m <sup>2</sup> )	25.1 (5.1)	25.9 (5.2)	26.1 (6.1)	24.1 (5.8)
Hábito tabáquico activo	13 (7.7)	2 (14.3)	3 (14.3)	8 (21.6)
Raza o grupo étnico				
Blanca o caucásica	110 (65.1)	8 (57.1)	12 (57.1)	30 (81.1)
Hispana	43 (25.4)	4 (28.6)	5 (23.8)	5 (13.5)
Asiática	4 (2.4)	1 (7.1)	2 (9.5)	1 (2.7)
Norteafricana	8 (4.7)	0 (0.0)	1 (4.8)	0 (0.0)
Negra o afroamericana	4 (2.4)	1 (7.1)	1 (4.8)	1 (2.7)
Factores de riesgo de disfunción placentaria				
Alto				
PE previa	26 (15.4)	2 (14.3)	5 (23.8)	4 (10.8)
Hipertensión crónica	17 (10.1)	1 (7.1)	6 (28.6)	4 (10.8)
Diabetes pregestacional	7 (4.1)	1 (7.1)	1 (4.8)	1 (2.7)
Enfermedad renal crónica	8 (4.7)	0 (0.0)	1 (4.8)	0 (0.0)
Trombofilia	12 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.7)
LES	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Moderado				
Intervalo gestacional > 10 a	101 (59.8)	11 (78.6)	12 (57.1)	24 (64.9)
Edad ≥ 40 a	29 (17.2)	3 (21.4)	2 (9.5)	4 (10.8)
IMC pregestacional ≥ 35 kg/m <sup>2</sup>	10 (5.9)	1 (7.1)	2 (9.5)	3 (8.1)
Historia familiar de PE*	15 (8.9)	2 (14.3)	2 (9.5)	1 (2.7)
Al menos 1 factor de alto riesgo o 2 de riesgo moderado	96 (56.8)	6 (42.9)	10 (47.6)	14 (37.8)
Concepción				
Espontánea	163 (96.5)	14 (100.0)	21 (100.0)	36 (97.3)
TRA (ovocito propio)	2 (1.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
TRA (donación ovocitaria)	4 (2.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.7)
Toma de aspirina a bajas dosis (100 mg/día)				
No	126 (74.6)	12 (85.7)	13 (61.9)	29 (78.4)
Iniciada antes de la semana 16	42 (24.9)	2 (14.3)	7 (33.3)	8 (21.6)
Iniciada después de la semana 16	0 (0.00)	0 (0.0)	1 (4.8)	0 (0.00)
Profilaxis con heparina a bajas dosis				
No	159 (94.1)	14 (100.0)	21 (100.0)	35 (94.6)
Iniciada antes de la semana 16	7 (4.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (5.4)
Iniciada después de la semana 16	3 (1.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Variables predictivas en la visita de la semana 24+0 – 28+6				
Peso fetal estimado				
En gramos	949 (130)	735 (168)*	839 (133)*	865 (135)*
Percentil customizado, mediana (IQR)	70 (37)	8 (30)*	40 (27)*	48 (46)*
< percentil 10 customizado	3 (1.8)	8 (57.1)*	2 (9.5)	1 (2.7)
IP-AU	1.09 (0.15)	1.36 (0.25)*	1.17 (0.20)	1.11 (0.17)
IP-ACM	2.00 (0.31)	1.60 (0.29)*	1.90 (0.27)	1.98 (0.36)
ICP	1.88 (0.37)	1.23 (0.36)*	1.65 (0.24)*	1.82 (0.43)
IPm-AUt	1.22 (0.32)	1.87 (0.49)*	1.71 (0.74)*	1.48 (0.33)*
sFlt-1 (pg/mL), mediana (IQR)	1341 (880)	8627 (6262)*	2196 (1594)*	1832 (562)

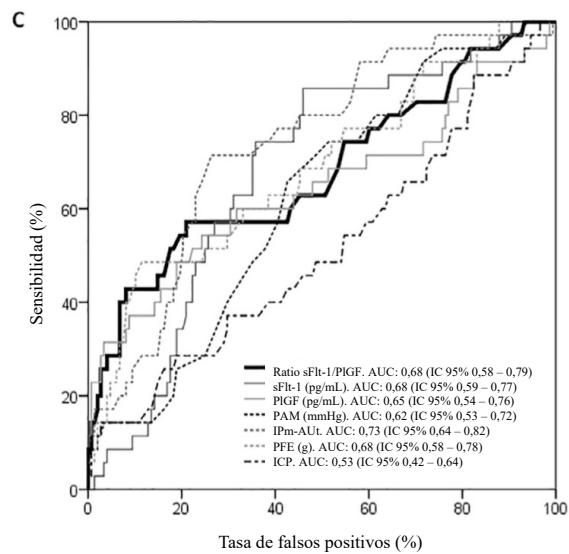
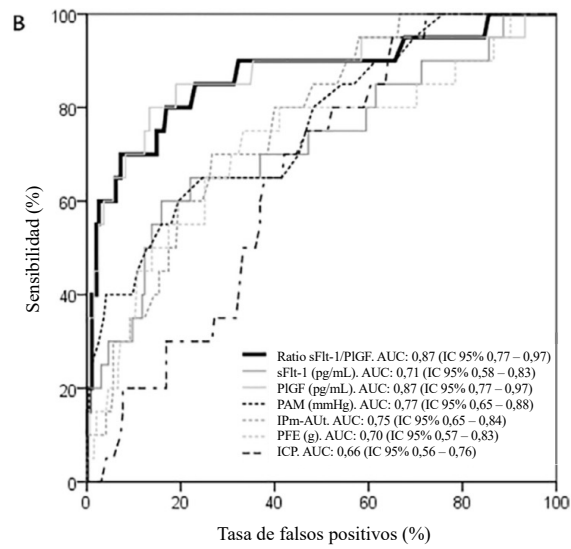
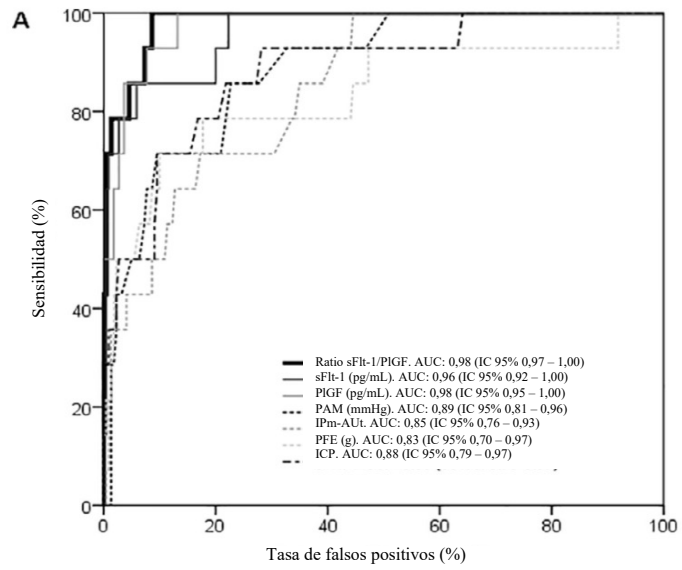
PIGF (pg/mL), mediana (IQR)	378.1 (264.5)	38.9 (41.2)*	96.2 (121.6)*	262.5 (357.2)
Cociente sFlt-1/PIGF, mediana (IQR)	3.7 (3)	239.8 (264.1)*	22.4 (30.2)*	6.1 (10.5)
Presión arterial media (mmHg)	84.8 (8.1)	103.5 (11.2)*	97.5 (14.1)*	88.4 (8.3)
Cociente proteínas/creatinina	0.18 (0.44)	0.24 (0.19)	0.14 (0.05)	0.13 (0.05)

ICP, índice cerebro-placentario; IMC, índice de masa corporal; IP-ACM, índice de pulsatilidad de la arteria cerebral media; IP-AU, índice de pulsatilidad de la arteria umbilical; IPm-AUt, índice de pulsatilidad medio en arterias uterinas; LES, lupus eritematoso sistémico; PIGF, placental growth factor; sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase-1; TRA, técnica de reproducción asistida.

El AUC de las variables predictivas en la semana 24-28 para la PCIR precoz, intermedia y tardía se muestran en la Figura 2. El cociente sFlt-1/PIGF y el PIGF aislado demostraron tener el mejor rendimiento para la detección de PE/CIR precoz e intermedia. El AUC (IC 95%) para la PE/CIR precoz fue de 0,98 (0,97-1,00) y 0,98 (0,95-1,00) respectivamente, y para PE/CIR intermedia fue de 0,87 (0,77-0,97) y 0,87 (0,77-0,97) respectivamente. El AUC para la detección de PE/CIR tardío presentaba un rendimiento más modesto, siempre menor de 0,70.

Fig. 2. Curvas “Receiver-operating characteristic” (ROC) para la predicción de (A) PE/CIR precoz, (B) PE/CIR intermedio\* y (C) PE/CIR tardío† con el cociente sFlt-1/PIGF, sFlt-1, PIGF, presión arterial media (PAM), IP medio en arterias uterinas (IPmAUt), peso fetal estimado (PFE) e índice cerebro-placentario (ICP). Todos los test se realizaron en la semana 24 – 28 de gestación en mujeres seleccionadas para seguimiento intensivo. El AUC con su intervalo de confianza al 95% se muestra para cada parámetro en la leyenda. \*Únicamente se consideraron para el análisis las gestaciones evolutivas (16 gestaciones con parto < 32 semanas fueron excluidas). † Únicamente se consideraron para el análisis las gestaciones evolutivas (49 gestaciones con parto < 36 semanas fueron excluidas).





La precisión diagnóstica de los puntos de corte establecidos para el cociente sFlt-1/PIGF ( $>p\ 95$ ,  $>38$  y  $>85$ ) se detallan en la Tabla 3. Finalmente, la Figura 3 muestra la incidencia acumulada de parto con PE/CIR en función del valor del cociente sFlt-1/PIGF en la semana 24-28. La incidencia de PE/CIR en las mujeres con un valor normal del cociente sFlt-1/PIGF fue menor que en las pacientes con valores entre el  $p\ >95$  y  $\leq 38$ , entre  $38$  y  $\leq 85$  y  $>85$ : 15,3% (IC95% 10,9% - 21,3%), 64,1% (IC95% 48,4-77,3%), 100% (IC95% 56,5-100%) y 93,3% (IC95% 70,2-98,8%) respectivamente (todos ellos con  $p<0,001$ ). Es más, la EG al parto en semanas fue significativamente mayor: 38,7 (1,9), 36,3 (2,9), 35,3 (2,6) y 29,9 (2,5) respectivamente (todos ellos con  $p<0,001$ ).

Tabla 3. Precisión diagnóstica de los puntos de corte del cociente sFlt-1/PIGF (medidos en la semana 24-28) para la detección de preeclampsia/crecimiento intrauterino (PE/CIR) precoz, intermedio y tardío en mujeres seleccionadas para seguimiento intensivo.

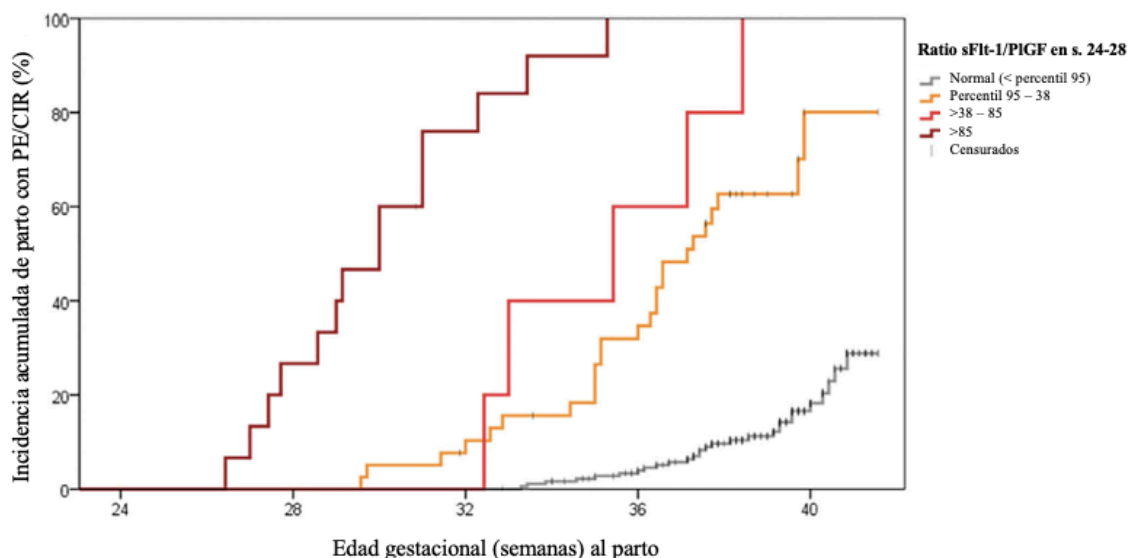
Grupo de estudio	Punto de corte de sFlt-1/PIGF en s. 24-28	n	Sn (%) (IC 95%)	Sp (%) (IC 95%)	VPP (%) (IC 95%)	VPN (%) (IC 95%)	LR (+) (IC 95%)
PE/CIR precoz (n= 14)	> percentil 95	14	100 (78.5 – 100)	80.6 (75.0 – 85.2)	24.1 (15.0 – 36.5)	100 (97.9 – 100)	5.2 (4.0 – 6.7)
	> 38	11	78.6 (52.4 – 92.4)	96.0 (92.6 – 97.9)	55.0 (34.2 – 74.2)	98.6 (96.1 – 99.5)	19.8 (9.9 – 39.8)
	> 85	11	78.6 (52.4 – 92.4)	98.2 (95.6 – 99.3)	73.3 (48.1 – 89.1)	98.6 (96.1 – 99.5)	44.6 (16.3 – 122.3)
PE/CIR intermedio <sup>a</sup> (n= 21)	> percentil 95	15	71.4 (50.0 – 86.2)	86.8 (81.4 – 90.7)	35.7 (23.0 – 50.8)	96.7 (93.0 – 98.5)	5.4 (3.5 – 8.4)
	> 38	6	28.6 (13.8 – 50.0)	99.0 (96.5 – 99.7)	75.0 (40.9 – 92.8)	93.1 (89.0 – 95.8)	29.1 (6.3 – 135.4)
	> 85	3	14.3 (5.0 – 34.6)	100 (98.2 – 100)	100 (43.8 – 100)	91.9 (87.6 – 94.8)	-
PE/CIR tardío <sup>b</sup> (n= 37)	> percentil 95	15	40.5 (26.3 – 56.5)	92.9 (87.7 – 96.0)	57.7 (38.9 – 74.5)	86.7 (80.7 – 91.1)	5.7 (2.9 – 11.4)
	> 38	2	5.4 (1.5 – 17.7)	100 (97.6 – 100)	100 (34.2 – 100)	81.6 (75.5 – 86.4)	-
	> 85	0	0 (0 – 9.4)	100 (97.6 – 100)	-	80.7 (74.6 – 85.7)	-

IC, intervalo de confianza; LR (+), razón de probabilidad positiva; s, semanas; Sn, sensibilidad; Sp, especificidad; VPN, valor predictivo negativo; VPP, valor predictivo positivo.

<sup>a</sup> Únicamente se consideraron para el análisis las gestaciones evolutivas (16 gestaciones con parto < 32 semanas fueron excluidas).

<sup>b</sup> Únicamente se consideraron para el análisis las gestaciones evolutivas (49 gestaciones con parto < 36 semanas fueron excluidas).

Fig. 3. Curvas de Kaplan-Meier de la incidencia acumulada de parto con preeclampsia/crecimiento intrauterino restringido (PE/CIR) de acuerdo con el cociente sFlt-1/PIGF en la semana 24 -28 de gestación (< percentil 95, percentil 95 – 38, > 38 – 85 y > 85). Los casos censurados son aquellos que parieron sin PE/CIR.



## DISCUSIÓN

### Hallazgos principales

Nuestro estudio ha demostrado la utilidad de la implementación clínica de la medición del cociente sFlt-1/PIGF en la semana 24-28 en gestantes previamente seleccionadas como de alto riesgo para complicaciones relacionadas con la DP (PE/CIR). En una estrategia de cribado basada en la historia materna, el IPmAUt en semana 19-22 y la determinación del cociente sFlt-1/PIGF en semana 24-28, el VPP del cociente sFlt-1/PIGF >38 y >85 fue de 55,0% y 73,3%, respectivamente, para PE/CIR con necesidad de finalización de la gestación antes de la semana 32. La precisión óptima para una sensibilidad/especificidad de 100%/80,6% fue alcanzada cuando se empleó como punto de corte el p 95 del cociente sFlt-1/PIGF. Por encima de la semana 32, la sensibilidad y la especificidad son mejores, pero en aquellos casos con un cociente sFlt-1/PIGF por encima del p 95 que permanecieron embarazadas presentaban aún una razón de probabilidad positiva >5 para el desarrollo de PE/CIR intermedio o tardío.

En general, este manejo permite una mejor estratificación del riesgo real de PE/CIR en este grupo seleccionado de gestantes, dibujando dos posibles vías: la primera

es que aquellos valores por encima del p 95 deberían realizar un seguimiento intensivo materno-fetal durante el resto de la gestación. Es más, a mayor cociente, mayor frecuencia de seguimiento, dada la relación inversa entre el valor del cociente y el tiempo hasta el parto. La segunda, que las gestaciones con un cociente  $sFlt-1/PlGF \leq p 95$  pueden ser tranquilizadas, evitando pruebas, controles ecográficos y revisiones innecesarias en las siguientes 4-6 semanas.

### Interpretación

La PE y el CIR son los principales trastornos relacionados con la DP, y ambos se asocian con valores similares y anormalmente elevados del cociente  $sFlt-1/PlGF$ , especialmente en sus formas precoces (23, 74). No existe consenso universal para definir la PE o el CIR precoz y tardío. Mientras que el punto de corte de las 34 semanas es más comúnmente empleado para la PE, este límite suele disminuirse a la semana 32 para el CIR (88). Recientemente, el grupo de Nicolaides ha propuesto el distinguir entre PE precoz (<32 semanas), intermedia (32-36 semanas) y tardía (>36 semanas). Esta diferencia pretende identificar los casos que ocurren antes de las edades gestacionales propuestas para la realización de los controles en las gestantes con riesgo de PE (30-33 semanas y 35-37 semanas) (89). Decidimos asumir esta propuesta dado que nuestra estrategia presentaba muchas similitudes.

Recientemente, el estudio “PROGNOSIS” ha establecido el valor del cociente  $sFlt-1/PlGF >38$  como el único punto de corte para el asesoramiento de la sospecha de PE entre la semana 24 y la 37 de gestación. En esta población de alto riesgo con un 19% de casos de PE, los valores predictivos negativo y positivo para descartar y sospechar PE en las siguientes 4 semanas fueron de 94,3% y 36,7% respectivamente (64, 90). Estas figuras se encuentran en concordancia con nuestros 98,6% y 55,0% para descartar y sospechar PE/CIR precoz respectivamente, empleando los mismos puntos de corte y pese a haber combinado las variables PE y/o CIR, cuyos resultados presentan mayor prevalencia de evento (29,9%). Es más, el hecho de disminuir el umbral límite a 10 en la semana 24-28 de gestación (p 95) hace que la sensibilidad se incremente del 79% al 100%, manteniendo una buena especificidad del 80,6%. Esto puede explicarse por la distribución de los valores normales del cociente  $sFlt-1/PlGF$  a lo largo de la gestación, que alcanzan su nadir en la semana 24-28 (79).

El empleo del cociente  $sFlt-1/PlGF$  en la segunda mitad de la gestación ha demostrado resultar coste eficiente cuando se aplica en pacientes con sospecha de PE

(61). Sin embargo, esta aplicación como único test como parte de un cribado universal podría no resultar tan eficiente (91, 92). Así, hemos aplicado una estrategia contingente donde hemos medido el cociente sFlt-1/PIGF en <5% de nuestra población, que presentaba un alto riesgo de desarrollar PE/CIR próximo al 30%. El grupo de Nicolaides ha propuesto recientemente el aplicar un cribado universal en las semanas 11-14 y 19-24, combinando el riesgo *a priori* en base a las características maternas con los valores ajustados de PAM, IPmAUt y PIGF (incorporando además el sFlt-1 en la semana 19-24). Estos tests de cribado seleccionaron al 10% y <1% del total de la población, respetivamente, y contenían a >95% de los casos de PE que parieron <32 semanas. Así pues, alcanzaron resultados incluso superiores a los obtenidos con nuestro proceso de selección, con la ventaja adicional de que el cribado en el primer trimestre permite la prevención eficaz mediante el empleo de aspirina a bajas dosis (89, 55). Podría asimismo argumentarse que nuestra estrategia implica la pérdida de las PE/CIR que ocurren antes de la semana 24 de gestación, pero estos casos son muy poco comunes y habitualmente muy evidentes clínicamente, por lo que resulta improbable que su detección precoz pudiese suponer beneficio alguno en términos de supervivencia neonatal (93). Por otro lado, nuestro enfoque presenta determinadas ventajas, como una mayor sencillez, un menor gasto en biomarcadores y una implementación clínica más sencilla.

Debemos reconocer ciertas limitaciones de nuestro estudio. En primer lugar, dadas las pérdidas ocurridas y el perfil de bajo riesgo de las mismas, la prevalencia de PE/CIR en nuestra población podría estar sobrerrepresentada, y por tanto alterar potencialmente de algún modo la capacidad predictiva de nuestra estrategia. Esta limitación es común en numerosos estudios de base poblacional, y en el nuestro se ve minimizada por el hecho de que la mayoría de gestantes elegible para seguimiento intensivo presenta una buena adherencia a nuestro centro. En segundo lugar, nuestro proceso de selección se centró en el segundo trimestre de gestación, mientras que en numerosas instituciones es el cribado de PE en el primer trimestre es lo que está implementándose actualmente (55). Sin embargo, creemos que ambos enfoques pueden ser complementarios, y nuestra estrategia tiene el potencial de reasignar mejor el verdadero riesgo de desarrollar PE/CIR precoz y de reducir la alta tasa de falsos positivos que presenta el cribado de PE de primer trimestre (94). En tercer lugar, somos conscientes de que el p 75 del IPmAUt es un punto de corte poco común, pero éste permite la detección de un 10% adicional de PE/CIR, confirmando de este modo que las mujeres catalogadas de alto riesgo, *a priori*, están más predispuestas a desarrollar estas

condiciones aun en ausencia de resistencias extremadamente elevadas en las AUt. En cuarto lugar, nuestros resultados no son extrapolables a las gestaciones múltiples, en las cuales los valores del IPmAUt y del cociente sFlt-1/PlGF son diferentes. Finalmente, nuestro estudio observacional no ha sido diseñado para demostrar si la implementación clínica del cociente sFlt-1/PlGF resulta útil para reducir los resultados adversos maternos o fetales. Resulta poco probable que la determinación de biomarcadores por si misma, permita mejorar estos resultados materno-fetales, lo que si creemos es que la adaptación o la adecuación de la atención médica en base a sus resultados, con una rápida detección de los casos de PE/CIR precoz y su remisión a centros especializados puede ayudar a mejorar la seguridad materna y fetal.

## CONCLUSIÓN

Hemos observado que la implementación de la determinación del cociente sFlt-1/PlGF en la semana 24-28 de gestación en mujeres seleccionadas en base a sus factores de riesgo y al estudio Doppler de las AUt permite una predicción precisa de PE/CIR, especialmente en sus formas precoces.



Contents lists available at ScienceDirect

Pregnancy Hypertension

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/preghy](http://www.elsevier.com/locate/preghy)



## Clinical implementation of the sFlt-1/PlGF ratio to identify preeclampsia and fetal growth restriction: A prospective cohort study



I. Herraiz<sup>a,c,\*</sup>, E. Simón<sup>a,c</sup>, P.I. Gómez-Arriaga<sup>a,c</sup>, M.S. Quezada<sup>a,c</sup>, A. García-Burguillo<sup>a,c</sup>, E.A. López-Jiménez<sup>b,c</sup>, A. Galindo<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> Fetal Medicine Unit-Maternal and Child Health and Development Network (SAMID), Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario 12 de Octubre and Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain

<sup>b</sup> Department of Clinical Biochemistry, Hospital Universitario 12 de Octubre, Hospital Universitario 12 de Octubre and Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain

<sup>c</sup> Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

### ARTICLE INFO

Keywords:  
sFlt-1  
PlGF  
Preeclampsia  
Fetal growth restriction

### ABSTRACT

**Objective:** To analyze the usefulness of a clinical protocol for early detection of preeclampsia and/or fetal growth restriction (PE/FGR) using, in previously selected pregnancies, the measurement of the sFlt-1/PlGF ratio at 24–28 weeks of gestation.

**Study design:** Prospective observational cohort study carried out in a single tertiary hospital in Spain. 5601 consecutive singleton pregnancies with complete follow-up were included. High-risk women for PE/FGR were selected by combining data from maternal history and second trimester uterine artery Doppler. Subsequently these patients underwent intensive monitoring, including the measurement of the sFlt-1/PlGF ratio at 24–28 weeks to predict PE/FGR.

**Main outcome measures:** Early, intermediate and late PE/FGR (delivery < 32 + 0, 32 + 0 – < 36 + 0 and ≥ 36 + 0 weeks, respectively).

**Results:** Overall incidence of early, intermediate and late PE/FGR was 0.3%, 0.7% and 3.2%, respectively, being higher in the 4.3% of women selected for intensive monitoring: 5.8%, 8.7% and 15.4%, respectively (all  $p < 0.001$ ). The area under the curve (AUC) with 95%CI of the sFlt-1/PlGF ratio for detecting early PE/FGR was 0.98 (0.97–1.00), and the sFlt-1/PlGF ratio > 95th centile showed a sensitivity (%) of 100 (95%CI, 78.5–100) and specificity (%) of 80.6 (95%CI, 75.0–85.2). The AUC of the sFlt-1/PlGF ratio for detecting intermediate and late PE/FGR was of 0.87 (95%CI, 0.77–0.97) and 0.68 (95%CI, 0.58–0.79), respectively.

**Conclusion:** A contingent strategy of measuring the sFlt-1/PlGF ratio at 24–28 weeks in women previously selected by clinical factors and uterine artery Doppler enables an accurate prediction of PE/FGR. This performance is optimal to predict PE/FGR requiring delivery before 32 weeks.

### 1. Introduction

Preeclampsia (PE) and fetal growth restriction (FGR) are placental dysfunction-related complications that are associated with increased maternal and perinatal morbidity and mortality, especially when early delivery is required. These conditions share risk factors and often co-exist, increasing the adverse outcomes [1]. Prompt identification and correct allocation of women with early PE or FGR in centers where perinatal care can be optimized are critical for reducing complications. However, diagnosis of PE is still based on nonspecific clinical symptoms and laboratory findings, and FGR identification by routine ultrasound or symphysis-fundal height is also suboptimal, leading to delayed

diagnosis [2]. The addition of markers based on the identification of placental dysfunction such as the mean uterine artery pulsatility index (mUta-PI) and the sFlt-1/PlGF ratio improves the detection of early PE and FGR [3,4]. Universal screening with mUta-PI at the second trimester scan has 60–80% sensitivity for the detection of early or severe PE and FGR with 90–95% specificity, but suffers from low positive predictive values of 10–20% [5,6]. The sFlt-1/PlGF ratio has the potential to provide optimal positive and negative predictive values in selected populations [7,8] and has been recommended in the UK to help rule-out PE in women with suspected PE between 20 and 34 + 6 weeks' gestation [9]. However, an issue to be elucidated is when to measure these markers in pregnancies with high mUta-PI.

\* Corresponding author at: Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario 12 de Octubre, Avda. Córdoba s/n, Madrid 28041, Spain.  
E-mail address: [ignacio.herraiz@salud.madrid.org](mailto:ignacio.herraiz@salud.madrid.org) (I. Herraiz).

<https://doi.org/10.1016/j.preghy.2018.06.017>

Received 28 March 2018; Received in revised form 1 June 2018; Accepted 28 June 2018

Available online 30 June 2018

2210-7789/ © 2018 International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.



In this study, we have designed and analyzed a strategy for the rational implementation of the sFlt-1/PlGF ratio in the clinical practice to identify early, intermediate and late PE or FGR, consisting firstly in the selection of high-risk women by maternal history and second trimester mUtA-PI and, secondly, in the determination of the sFlt-1/PlGF ratio at 26 weeks' gestation.

**2. Methods**

**2.1. Study design**

This is an observational prospective cohort study of consecutive women with a viable singleton pregnancy attending our hospital for the routine fetal anomaly scan at 19 + 0 – 22 + 0 weeks (19–22 weeks) of pregnancy and with an estimated date of delivery between March 2014 and February 2016. A subgroup of pregnant women at risk for PE and/or FGR (PE/FGR) according to maternal history and mUtA-PI were selected for intensive monitoring starting at 24 + 0 – 28 + 6 weeks (24–28 weeks), including the sFlt-1/PlGF ratio measurement, as detailed later. The exclusion criteria were multiple pregnancies, fetuses with chromosomal anomalies, major malformations or congenital infections, unknown pregnancy outcome and lack of informed consent. All women received written information about the study at the time of the first ultrasound scan, and those who agreed to participate in the intensive monitoring provided written informed consent. The local Ethics Committee approved the study.

**2.2. Study sampling and procedures**

Coinciding with the first ultrasound visit, maternal risk factors for PE established by the National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) guidelines [10] were recorded. Pregnant women were categorized as low (no high-risk factors or ≤ one moderate-risk factor) or high (at least one high-risk factor or two moderate-risk factors) *a priori* risk. Low-dose aspirin (100 mg/day) prophylaxis from < 16 weeks until 36 weeks was routinely recommended when one or more high-risk factors were present. Gestational age was calculated according to the recommendations of The American College of Obstetricians and Gynecologists, that is, accurate recall of the last menstrual period was respected unless there was a significant discrepancy with the first ultrasound estimation based on measurement of the crown-rump length before 14 + 0 weeks or biparietal diameter from 14 + 0 weeks onwards [11].

Transabdominal Doppler study of mUtA-PI was performed at the anomaly scan as previously described [12]. We selected for intensive monitoring those women with a *a priori* high risk for PE and mUtA-PI ≥ 75th percentile, as well as those with a *a priori* low risk for PE and mUtA-PI ≥ 95th percentile. In the latter, it was additionally required that the mUtA-PI persisted ≥ 95th percentile at 24–28 weeks. These different mUtA-PI thresholds were used because high-risk patients are more prone to develop PE/FGR even in absence of highly elevated uterine artery resistances [5]. In those selected women we carried out a check-up visit at 24–28 weeks consisting of a fetal growth scan, mean arterial pressure (MAP) measurement and analytical study including assessment of the protein/creatinine index in random urine sample and measurement of the sFlt-1/PlGF ratio in maternal serum. Previously described cut-off values of 10 (95th centile for gestational age) [13], 38 (high suspicion of PE) [7], and 85 (aid in diagnosis of PE) [13], were used for interpretation of results. Thus, in absence of clinical disease, the cadence of new check-up visits depended on the previous result: under the rule out cut-off point of 38 no additional visits were made unless a suspicion of PE/FGR further arose, while between 38 and 85, and above 85 the next check-up visit was planned within 2 weeks and every 48–96 h, respectively. This scheme of surveillance followed experts' recommendations that were based on the observation that the likelihood of complications in the short-term is higher as the ratio

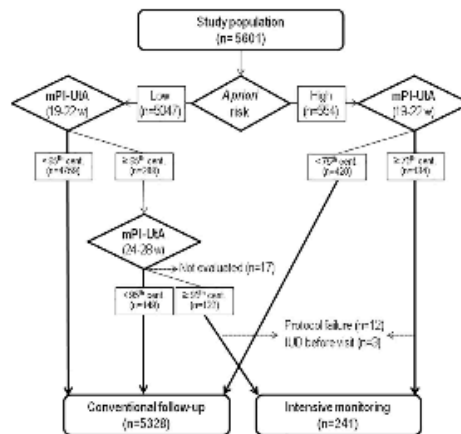


Fig. 1. Flow chart of study population showing the selection of pregnancies for conventional follow-up or intensive monitoring. Cent, centile; FGR, fetal growth restriction; IUO, intrauterine death; mPI-UtA, mean uterine artery pulsatility index; PE, preeclampsia; w, weeks of gestation.

increases, but when the values are < 85 this probability in the following two weeks is still low [14,15]. A full description of this protocol has been published elsewhere [2], including the rationale for selecting the cut-offs of the mUtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio, as well as the time intervals between visits. Women not selected for intensive monitoring as well as those with sFlt-1/PlGF ratio below 38 underwent conventional follow-up that in our country includes routinely growth scan at 34–36 weeks. Whenever PE/FGR was diagnosed, current protocols were followed as described below. Physicians were aware of the results of the sFlt-1/PlGF ratio but the test was only used to guide the frequency of visits, the need for additional test and of hospitalization, in concurrence with other clinical and analytical data. Therefore, indication of delivery was guided by current protocols, and it was not directly influenced by the biomarkers.

The sFlt-1 and PlGF concentrations (picograms per milliliter) in maternal serum samples were performed using an automated assay system (Cobas® 6000 e701 module, Roche Diagnostics, Penzberg, Germany). This is the same platform for which the aforementioned cutoffs have been validated. The sFlt-1/PlGF ratio was calculated and expressed in absolute values.

**2.3. Outcomes**

FGR was defined as an estimated fetal weight (EFW) by ultrasound [16] < 3rd centile, or EFW < 10th centile plus abnormal fetal Doppler (PI > 95th centile in the umbilical artery, PI < 5th centile in the middle cerebral artery, or cerebroplacental ratio < 5th centile) [17]. EFW and birth weight were converted into a percentile after correction for gestational age, fetal gender and customization by maternal characteristics, using the GROW software [18]. Fetal surveillance was based on a previously defined stage-based protocol to monitor fetal wellbeing and decide the timing and route of delivery in FGR [19]. PE was defined according to the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy [20]. Maternal indications for expeditious delivery at 33 + 6 weeks or less were the presence of clinical conditions that contraindicate expectant management [21]. Immediate delivery was also indicated in severe PE at 34 + 0 weeks or later, while in non-severe forms expectant management was recommended until 37 + 0 weeks.

**Table 1**  
Incidence of early, intermediate and late preeclampsia and/or fetal growth restriction (PE/FGR) in the study population and relative risks (RR) for these outcomes depending on being selected for conventional follow-up or intensive monitoring.

Outcome group	Study population (n = 5601)		Follow-up allocation after selection process <sup>a</sup>				RR (95%CI)	P value
	n	% Incidence (95% CI)	Conventional (n = 5328)		Intensive (n = 241)			
			n	% Incidence (95%CI)	n	% Incidence (95%CI)		
Early PE/FGR	17	0.3 (0.2–0.5)	2	0.04 (0.01–0.14)	14	5.8 (3.4–9.5)	146.3 (33.4–640.4)	< 0.001
Intermediate PE/FGR	37	0.7 (0.5–0.9)	16	0.3 (0.2–0.5)	21	8.7 (5.8–13.0)	26.8 (14.1–50.7)	< 0.001
Late PE/FGR	182	3.2 (2.8–3.7)	141	2.6 (2.2–3.1)	37	15.4 (11.3–20.4)	5.2 (3.7–7.3)	< 0.001
All PE/FGR	236	4.2 (3.7–4.8)	159	3.0 (2.6–3.5)	72	29.9 (24.4–35.9)	10.0 (7.8–12.8)	< 0.001

CI, confidence interval.

Early PE/FGR: delivery < 32 weeks; Intermediate PE/FGR: delivery 32 – < 36 weeks; Late PE/FGR: delivery ≥ 36 weeks.

<sup>a</sup> 32 cases were not allocated to any mode of follow-up, as detailed in the text.

Outcome data were recorded on clinical electronic databases: ultrasound scans and check-up visits during pregnancy were stored in Viewpoint® 5 (GE Healthcare), biochemical tests and data from delivery and neonatal care were recorded in HP-HCIS (Hewlett-Packard Development Company, L.P.) and a specific database for data collection of women selected for intensive monitoring was created on the Research Electronic Data Capture (REDCap) tool hosted at our institution [22]. Careful review and definitive classification of PE and FGR cases was assessed by two investigators (I.H. and E.S.).

We have presented PE and FGR as a single outcome since the sFlt-1/PIGF ratio is a surrogate of placental dysfunction, and is not specific to either of the two entities separately [2]. Thus, our outcome groups were “early PE/FGR” (those pregnancies with PE and/or FGR requiring delivery < 32 weeks), “intermediate PE/FGR” (delivery at 32– < 36 weeks), and “late PE/FGR” (delivery ≥ 36 weeks). The “no PE/FGR” group was used for comparisons.

#### 2.4. Statistical analysis

The reporting of this study conforms to the STROBE (The Strengthening of Reporting of Observational Studies in Epidemiology) statement. Baseline characteristics were expressed in mean and standard deviations (SD) or percentage (%). The non-normally distributed values of sFlt-1 (pg/mL), PIGF (pg/mL) and the sFlt-1/PIGF ratio were expressed in median and interquartile range (IQR). Box plots were generated to represent the values of these analytes in the different outcome groups. Comparisons between the characteristics of the PE/FGR outcome groups and the no PE/FGR group were performed using chi-square or Fisher’s exact testing for categorical variables and by T-test or Mann-Whitney U test both with post-hoc Bonferroni adjustment (critical statistical significance  $p < 0.017$ ). P-values for all tests were two-sided. The accuracy of the predictive variables to predict early, intermediate and late PE/FGR was assessed using the areas under the receiver-operating characteristic curves (AUC), and derived sensitivities, specificities, positive/negative predictive values (PPV/NPV) and positive likelihood ratios (LR+) were calculated with 95% confidence intervals (CI). Kaplan-Meier curve was produced to represent the cumulative incidence of delivery with PE/FGR from the time of sFlt-1/PIGF measurement (deliveries without PE/FGR were censored). Data were carefully entered and analyzed after data cleansing, using statistical package IBM SPSS Statistics 20.

### 3. Results

A total of 6983 women with singleton pregnancies attended our centre for routine anomaly scan during the study period. Late miscarriage was diagnosed in 7 (0.1%), mPI-UtA was not measured in 17 (0.2%), major congenital anomalies were detected in 65 (0.9%) cases, and 1293 (18.5%) were lost to follow up since they delivered elsewhere. Baselines characteristics of included and lost to follow up

patients are shown in the [Supplementary Table S1](#), showing that pregnant women who decided to deliver elsewhere had a lower risk profile for PE/FGR, based on clinical and sonographic factors, than those who remained with us. Moreover, among the losses, only 8 women (0.6%) fulfilled criteria for intensive monitoring.

The resultant is a study population of 5601 pregnancies with complete outcomes available. Of them, 554/5601 (9.9%) had a *priori* high risk and 5047 (90.1%) had a *priori* low risk for PE. [Fig. 1](#) summarizes the process for selecting women for intensive monitoring. During this process, 32 additional women were excluded: in 17 cases with a *priori* low risk for PE and high mPI-UtA at 19–22 weeks, the mPI-UtA at 24–28 weeks could not be measured due to a citation error or non-attendance and three of them developed late FGR. Moreover, 15 cases initially selected for intensive monitoring (7 with a *priori* high risk and 8 with a *priori* low risk) were excluded because the results of the sFlt-1/PIGF ratio were not available. As detailed in [Fig. 1](#), in 3 of them an intrauterine death was detected prior to the measurement of the ratio, having one an early PE/FGR.

The incidence of PE/FGR in the whole population was of 236/5601 (4.2%, 95%CI, 3.7%–4.8%), while in those selected for intensive monitoring was of 72/241 (29.9%, 95%CI, 24.4%–35.9%). The majority of these PE/FGR cases had mPI-UtA ≥ 95th centile at 19–22 weeks (62/72, 86%) and in 10 it was ≥ 75th centile. [Table 1](#) describes the incidences and relative risks of early, intermediate and late PE/FGR in women selected for intensive monitoring when compared to those with conventional follow-up.

The main baseline characteristics and predictive variables at 24–28 weeks in the group of selected women for intensive monitoring are shown in [table 2](#). Maternal and perinatal outcomes are shown in the [Supplementary Table S2](#). The main characteristics and outcomes of the study population are shown in the [Supplementary Tables S3 and S4](#). None of the baseline characteristics were significantly different between women who did not develop PE/FGR and those who did, whether early, intermediate or late. However, differences were found in all predictive variables that were assessed at 26.2 (0.8) weeks, except for the protein/creatinine index. Distribution of the values of the sFlt-1/PIGF at 24–28 weeks in the different outcome groups is shown in the [Supplementary Fig. S1](#). In six cases, PE/FGR was already present at the time of the 24–28 visit and delivery occurred before 32 weeks in all but one case. In them, the sFlt-1/PIGF ratio was > 85 in all, with a median (IQR) value of 208.1 (127.4–555.7).

The AUC of the predictive variables at 24–28 weeks for the prediction of early, intermediate and late PE/FGR are given in [Fig. 2](#). The best performance for detecting early and intermediate PE/FGR corresponded to the sFlt-1/PIGF ratio and PIGF alone. The AUC (95%CI) for early PE/FGR was of 0.98 (0.97–1.00) and 0.98 (0.95–1.00), respectively, and for intermediate PE/FGR of 0.87 (0.77–0.97) and 0.87 (0.77–0.97), respectively. AUC for detecting late PE/FGR performed modestly, all being below 0.70.

Diagnostic accuracies of the sFlt-1/PIGF ratio cutoffs of > 95th

**Table 2**

Description of maternal characteristics and predictive variables at 24 + 0 – 28 + 6 weeks visit of women selected for intensive monitoring that developed pre-eclampsia or fetal growth restriction requiring delivery < 32 weeks (early PE/FGR), at 32 – < 36 weeks (intermediate PE/FGR) or ≥ 36 weeks (late PE/FGR), compared with pregnant women who did not developed pre-eclampsia or fetal growth restriction (No PE/FGR).

Characteristics	No PE/FGR (n = 169)	Early PE/FGR (n = 14)	Intermediate PE/FGR (n = 21)	Late PE/FGR (n = 37)
<b>Maternal baseline variables</b>				
Age (y)	32.8 (6.8)	34.6 (5.9)	32.4 (6.2)	33.3 (5.7)
Height (cm)	161.8 (6.6)	160.0 (4.4)	157.3 (5.3)	161.4 (6.5)
Prepregnancy weight (kg)	67.0 (15.0)	67.8 (13.2)	66.1 (16.0)	63.6 (15.1)
Prepregnancy BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.1 (5.1)	25.9 (5.2)	26.1 (6.1)	24.1 (5.8)
Current Smoker	13 (7.7)	2 (14.3)	3 (14.3)	8 (21.6)
<b>Race or ethnic group</b>				
White or Caucasian	110 (65.1)	8 (57.1)	12 (57.1)	30 (81.1)
Hispanic	43 (25.4)	4 (28.6)	5 (23.8)	5 (13.5)
Asian	4 (2.4)	1 (7.1)	2 (9.5)	1 (2.7)
North African	8 (4.7)	0 (0.0)	1 (4.8)	0 (0.0)
Black or African American	4 (2.4)	1 (7.1)	1 (4.8)	1 (2.7)
<b>Risk factors for placental dysfunction</b>				
<b>High</b>				
Previous PE	26 (15.4)	2 (14.3)	5 (23.8)	4 (10.8)
Chronic hypertension	17 (10.1)	1 (7.1)	6 (28.6)	4 (10.8)
Prepregnancy diabetes	7 (4.1)	1 (7.1)	1 (4.8)	1 (2.7)
Chronic kidney disease	8 (4.7)	0 (0.0)	1 (4.8)	0 (0.0)
Thrombophilia	12 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.7)
SLE	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<b>Moderate</b>				
Pregnancy interval > 10 y	101 (59.8)	11 (78.6)	12 (57.1)	24 (64.9)
Age ≥ 40 y	29 (17.2)	3 (21.4)	2 (9.5)	4 (10.8)
Prepregnancy BMI ≥ 35 kg/m <sup>2</sup>	10 (5.9)	1 (7.1)	2 (9.5)	3 (8.1)
Family history of PE*	15 (8.9)	2 (14.3)	2 (9.5)	1 (2.7)
At least 1 high-risk or 2 moderate-risk factors	96 (56.8)	6 (42.9)	10 (47.6)	14 (37.8)
<b>Mode of conception</b>				
Spontaneous	163 (96.5)	14 (100.0)	21 (100.0)	36 (97.3)
ART (own oocyte)	2 (1.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
ART (oocyte donation)	4 (2.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.7)
<b>Low-dose aspirin intake (100 mg/day)</b>				
No	126 (74.6)	12 (85.7)	13 (61.9)	29 (78.4)
Starting at or before 16 weeks	42 (24.9)	2 (14.3)	7 (33.3)	8 (21.6)
Starting after 16 weeks	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.8)	0 (0.0)
<b>Low dose heparin prophylaxis</b>				
No	159 (94.1)	14 (100.0)	21 (100.0)	35 (94.6)
Starting at or before 16 weeks	7 (4.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (5.4)
Starting after 16 weeks	3 (1.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<b>Predictive variables at 24 + 0 – 28 + 6 weeks visit</b>				
<b>Estimated fetal weight</b>				
In grams	949 (130)	735 (168)*	839 (133)*	865 (135)*
Customized centile, median (IQR)	70 (37)	8 (30)*	40 (27)*	48 (46)*
< 10th customized centile	3 (1.8)	8 (57.1)*	2 (9.5)	1 (2.7)
UA-PI	1.09 (0.15)	1.36 (0.25)*	1.17 (0.20)	1.11 (0.17)
MCA-PI	2.00 (0.31)	1.60 (0.29)*	1.90 (0.27)	1.98 (0.36)
CPR	1.88 (0.37)	1.23 (0.36)*	1.65 (0.24)*	1.82 (0.43)
mUA-PI	1.22 (0.32)	1.87 (0.49)*	1.71 (0.74)*	1.48 (0.33)*
sFlt-1 (pg/mL), median (IQR)	1341 (88.0)	8627 (6262)*	2196 (1594)*	1832 (56.2)
PlGF (pg/mL), median (IQR)	378.1 (264.5)	38.9 (41.2)*	96.2 (121.6)*	262.5 (357.2)
sFlt-1/PlGF ratio, median (IQR)	3.7 (3)	239.8 (264.1)*	22.4 (30.2)*	6.1 (10.5)
Mean blood arterial pressure (mmHg)	84.8 (8.1)	103.5 (11.2)*	97.5 (14.1)*	88.4 (8.3)
Protein/Creatinine index	0.18 (0.44)	0.24 (0.19)	0.14 (0.05)	0.13 (0.05)

Data are given as mean (standard deviation) unless otherwise stated for continuous variables and n (%) for categorical variables. Statistical analysis was made comparing each PE/FGR group with no PE/FGR. For significant differences, contrasts between groups have been made using chi-square or Fisher's exact testing for categorical variables and T-test or non-parametric Mann-Whitney U testing for continuous variables, all with post-hoc Bonferroni's adjustment. \*Critical significance level  $p < 0.017$ .

ART, assisted reproductive technology; BMI, body mass index; CPR: cerebro-placental ratio; MCA-PI: medium cerebral artery pulsatility index; mUA-PI: mean uterine arteries pulsatility index; PlGF, placental growth factor; sFlt-1: soluble fms-like tyrosine kinase-1; SLE, systemic lupus erythematosus; UA-PI, umbilical artery pulsatility index.

centile, > 38 and > 85 for early, intermediate and late PE/FGR are detailed in Table 3. Finally, Fig. 3 shows the cumulative incidence of delivery with PE/FGR, according to the sFlt-1/PlGF value at 24–28 weeks. The incidence of PE/FGR in women with normal sFlt-1/PlGF ratio was lower than in those with values between > 95th centile – ≤ 38, > 38 – ≤ 85, and > 85, being of 15.3% (95%CI 10.9% – 21.3%), 64.1% (95%CI, 48.4–77.3%), 100% (95%CI, 56.5–100%) and 93.3% (95%CI, 70.2–98.8%), respectively (all  $p < 0.001$ ).

Furthermore, gestational age in weeks at delivery was higher, being of 38.7 (1.9), 36.3 (2.9), 35.3 (2.6) and 29.9 (2.5), respectively (all  $p < 0.001$ ).

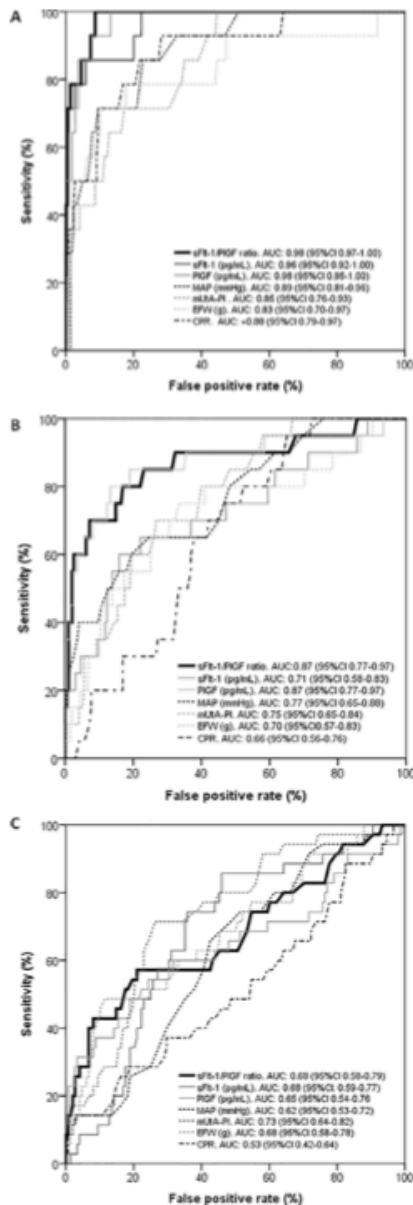


Fig. 2. Receiver-operating characteristic curves for the prediction of (a) early PE/FGR, (b) intermediate PE/FGR and (c) late PE/FGR with the sFlt-1/PlGF ratio, sFlt-1, PlGF, mean arterial pressure (MAP), mean uterine artery pulsatility index (mUtA-PI), estimated fetal weight (EFW) and cerebral-placental ratio (CPR). All tests were measured at 24–28 weeks in women selected for intensive monitoring. The area under the receiver operating characteristic curve (AUC) with 95% confidence interval is given for each test in the legend. <sup>0</sup>Only ongoing pregnancies were considered for analysis (16 pregnancies with delivery < 32 weeks were excluded). <sup>1</sup>Only ongoing pregnancies were considered for analysis (49 pregnancies with delivery < 36 weeks were excluded).

#### 4. Discussion

##### 4.1. Main findings

Our study has demonstrated the usefulness of the clinical implementation of the sFlt-1/PlGF ratio measurement at 24–28 weeks in previously selected high-risk women for placental dysfunction-related complications (PE/FGR). In a screening strategy based on the maternal history, the mPI-UtA at 19–22 weeks and the sFlt-1/PlGF ratio at 24–28 weeks, the PPV of the sFlt-1/PlGF ratio > 38 and > 85 was 55.0% and 73.3%, respectively, for PE/IUGR requiring delivery before 32 weeks. Optimal sensitivity/specificity accuracy of 100%/80.6% was reached when using the sFlt-1/PlGF ratio > 95th centile as the cut-off. Beyond 32 weeks, the sensitivity and specificity are poorer but those cases with sFlt-1/PlGF ratio > 95th centile that remain pregnant still retain a LR + > 5 for developing intermediate or late PE/FGR.

Overall, this approach allows a better stratification of the real risk of PE/FGR in this selected group of women, delineating two possible ways: first, those with values > 95th centile should undergo intensified fetomaternal care during the remaining pregnancy. Moreover, the higher the ratio the closer the surveillance, given the inverse relationship between the value of the ratio and the time to delivery. Second, pregnancies with sFlt-1/PlGF ratio ≤ 95th centile can be reassured avoiding unnecessary tests, scans and visits in the next 4–6 weeks.

##### 4.2. Interpretation

PE and FGR are the major obstetric concerns related to placental dysfunction, and both are associated with similar abnormally elevated values of the sFlt-1/PlGF ratio, especially in the early forms [2,23]. There is no universal consensus to define early and late PE or FGR. While the cutoff of 34 weeks is more commonly used for PE, this limit is usually lowered to 32 weeks for FGR [24]. Recently, the group of Nicolaides has proposed to distinguish between early PE (< 32 weeks), intermediate PE (32–36 weeks) and late PE (> 36 weeks). This differentiation is intended to identify the cases that occur before the gestational age windows (30–33 weeks and 35–37 weeks) in which they propose to perform controls on pregnant women at risk for PE [25]. We assumed this last proposal since our strategy has many similarities.

Recently, the “PROGNOSIS” study has established the sFlt-1/PlGF value of > 38 as a unique cutoff for assessing suspected PE between 24 and 37 weeks. In this high-risk population with 19% PE cases, the NPV and PPV for rule-out and rule-in PE in the next 4 weeks were of 94.3% and 36.7%, respectively [7,26]. These figures are in accordance with ours of 98.6% and 55.0% for rule-out and rule-in early PE/FGR, respectively, using the same cutoff and despite we have combined PE and/or FGR, which results in a higher prevalence of events (29.9%). Moreover, lowering the threshold limit to 10 at 24–28 weeks (95th centile) the sensitivity is improved from 79% to 100%, keeping a good specificity of 80.6%. This may be explained by the distribution of the normal values of the sFlt-1/PlGF ratio across gestation, which reaches a nadir at 24–28 weeks [13].

The use of the sFlt-1/PlGF ratio in the second half of pregnancy has proven to be cost efficient when applied in women with suspected PE [9]. However, its application as a single test in universal screening may

**Table 3**

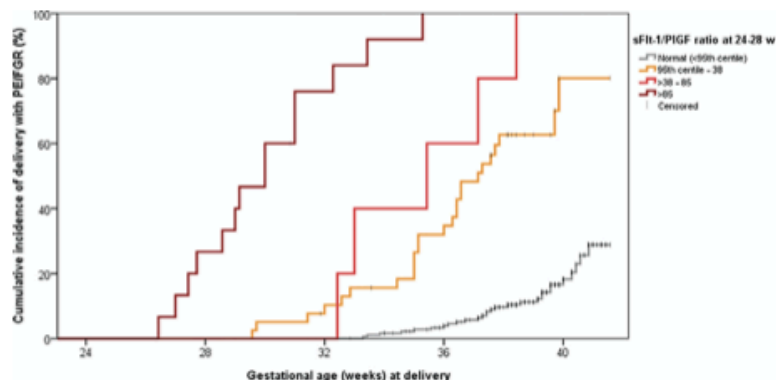
Diagnostic accuracy of established cutoff values of the sFlt-1/PlGF ratio (measured at 24–28 weeks) for the detection of early, intermediate and late preeclampsia/fetal growth restriction (PE/FGR) in women selected for intensive monitoring.

Outcome group	Cutoff of the sFlt-1/PlGF at 24–28 w	n	Sn (%) (95%CI)	Sp (%) (95%CI)	PPV (%) (95%CI)	NPV (%) (95%CI)	LR (+) (95%CI)
Early PE/FGR (n = 14)	> 95th centile	14	100 (78.5–100)	80.6 (75.0–85.2)	24.1 (15.0–36.5)	100 (97.9–100)	5.2 (4.0–6.7)
	> 38	11	78.6 (52.4–92.4)	96.0 (92.6–97.9)	55.0 (34.2–74.2)	98.6 (96.1–99.5)	19.8 (9.9–39.8)
	> 85	11	78.6 (52.4–92.4)	98.2 (95.6–99.3)	73.3 (48.1–89.1)	98.6 (96.1–99.5)	44.6 (16.3–122.3)
Intermediate PE/FGR <sup>a</sup> (n = 21)	> 95th centile	15	71.4 (50.0–86.2)	86.8 (81.4–90.7)	35.7 (23.0–50.8)	96.7 (93.0–98.5)	5.4 (3.5–8.4)
	> 38	6	28.6 (13.8–50.0)	99.0 (96.5–99.7)	75.0 (40.9–92.8)	93.1 (89.0–95.8)	29.1 (6.3–135.4)
	> 85	3	14.3 (5.0–34.6)	100 (98.2–100)	100 (43.8–100)	91.9 (87.6–94.8)	–
Late PE/FGR <sup>b</sup> (n = 37)	> 95th centile	15	40.5 (26.3–56.5)	92.9 (87.7–96.0)	57.7 (38.9–74.5)	86.7 (80.7–91.1)	5.7 (2.9–11.4)
	> 38	2	5.4 (1.5–17.7)	100 (97.6–100)	100 (34.2–100)	81.6 (75.5–86.4)	–
	> 85	0	0 (0–9.4)	100 (97.6–100)	–	80.7 (74.6–85.7)	–

CI, confidence interval; LR(+), positive likelihood ratio; NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value; Sn, sensitivity; Sp, specificity; w, weeks.

<sup>a</sup> Only ongoing pregnancies were considered for analysis (16 pregnancies with delivery < 32 weeks were excluded).

<sup>b</sup> Only ongoing pregnancies were considered for analysis (49 pregnancies with delivery < 36 weeks were excluded).



**Fig. 3.** Kaplan-Meier plot of cumulative incidence of delivery with preeclampsia/fetal growth restriction (PE/FGR) according to the sFlt-1/PlGF ratio at 24–28 weeks ( $\leq$  95th centile, 95th centile – 38, > 38 – 85 and > 85). Censored cases are those who delivered without PE/FGR.

not be as efficient [27,28]. Thus, we have applied a contingent strategy whereby we measured the sFlt-1/PlGF ratio to < 5% of our population, which had a high risk of developing PE/FGR of nearly 30%. The group of Nicolaides has recently proposed to apply a universal screening at 11–14 weeks and 19–24 weeks, combining the *a priori* risk from maternal characteristics with adjusted values of MAP, mPI-UtA and PlGF (also incorporating sFlt-1 at 19–24 weeks). These screening tests selected 10% and < 1% of the total population, respectively, containing > 95% cases of PE delivering < 32 weeks. Therefore, they achieved even superior results to our selection process, with the additional advantage that first-trimester screening allows effective prevention with low-dose aspirin [25,29]. It could also be argued that our strategy implies missing PE/FGR occurring before 24 weeks but these are very uncommon and usually clinically evident, being unlikely that their earlier detection could provide any benefit in terms of neonatal survival [30]. On the other hand, our approach presents also some advantages, such as its greater simplicity, the lower expenditure on biomarkers and an easier clinical implementation.

We acknowledge some limitations of our study. Firstly, given our losses and their low-risk profile, the prevalence of PE/FGR may be overrepresented, potentially altering in some degree the predictive performance of our strategy. This shortcoming is common in many population-based studies, and in our study it is minimized by the fact that the vast majority of pregnant women eligible for intensive monitoring had a good adherence to our center. Secondly, the selection process was centered in the second trimester of pregnancy, while the

first trimester screening for PE is now being implemented in many institutions [29]. However, we believe that both approaches can be complementary, and our proposal has the potential to better reassess the true risk of developing early PE/FGR and reduce the high rate of false positives that affects the first trimester PE screening [31]. Third, we are aware that the 75th centile of the mPI-UtA is an uncommon cut-off point but this allowed the detection of 10 additional PE/FGR cases, confirming thereby that *a priori* high-risk women are prone to develop these conditions even in absence of highly elevated uterine resistances. Fourth, we cannot extrapolate our data to multiple gestations, in which the values of mUtA-PI and sFlt-1/PlGF ratio differ. Finally, our observational study has not been designed to demonstrate if the clinical implementation of the sFlt-1/PlGF ratio is useful to reduce maternal or fetal adverse outcomes. It seems unlikely that the determination of biomarkers by itself will improve maternal-fetal outcomes, but we do believe that the adequacy of medical care, with a prompt selection and referral of early PE/FGR cases to experienced centers can help to improve maternal and fetal safety.

## 5. Conclusion

We have observed that the implementation of the sFlt-1/PlGF ratio measurement at 24–28 weeks of gestation in women selected by risk factors and uterine artery Doppler, provides an accurate prediction of PE/FGR, especially for the early forms.

## Acknowledgment

The authors greatly appreciate the statistical advice of David Lora.

## Disclosure of interests

IH and AG have received lecture fees and consultancy payments from Roche Diagnostics. The other authors did not report any potential conflicts of interest.

## Contribution to authorship

IH, AG-B, EAL-J and AG conceived the study concept and design. IH, ES, PG-A and MSQ collaborated in the data collection and completed the data analysis. EAL-J was responsible for the collection and quality control of the laboratory data. IH and ES drafted the manuscript under the supervision of AG-B and AG. All authors aided in the interpretation of the data and critical revision of the manuscript. All authors approved the final version and take full responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

## Details of ethics approval

The local clinical research ethics committee approved this study (reference number: 13/371, approved 26 November 2013).

## Funding

This work was funded by project P113/02405, from the Instituto de Salud Carlos III (Spanish Ministry of Economy, Industry and Competitiveness) and cofunded by the European Regional Development Fund.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2018.06.017>.

## References

- [1] S.E. Parker, M.M. Werler, Epidemiology of ischemic placental disease: a focus on preterm gestations, *Semin. Perinatol.* 38 (3) (2014) 133–138.
- [2] I. Herrais, E. Simón, P.I. Gómez-Arriaga, J.M. Martínez-Moratalla, A. García-Burguillo, E.A. Jiménez, et al., Angiogenesis-related biomarkers (sFlt-1/PlGF) in the prediction and diagnosis of placental dysfunction: an approach for clinical integration, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (8) (2015) 19009–19026.
- [3] H. Stepan, A. Unversucht, N. Wessel, R. Faber, Predictive value of maternal angiogenic factors in second trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion, *Hypertension* 49 (4) (2007) 818–824.
- [4] F. Crispi, E. Llorca, C. Domínguez, P. Martín-Gallán, L. Cabero, E. Gratacós, Predictive value of angiogenic factors and uterine artery Doppler for early- versus late-onset pre-eclampsia and intrauterine growth restriction, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 31 (3) (2008) 303–309.
- [5] J.S. Grossen, R.K. Morris, G. ter Riet, B.W. Mol, J.A. van der Post, A. Coomarasamy, et al., Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis, *CMAJ* 178 (6) (2008) 701–711.
- [6] B. García, E. Llorca, L. Valle, M.D. Gómez-Roig, M. Juan, C. Pérez-Matos, et al., Do knowledge of uterine artery resistance in the second trimester and targeted surveillance improve maternal and perinatal outcome? UTOPIA study: a randomized controlled trial, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 47 (6) (2016) 680–689.
- [7] H. Zeisler, E. Llorca, F. Chantraine, M. Vatish, A.C. Staff, M. Senström, et al., Predictive value of the sFlt-1/PlGF ratio in women with suspected preeclampsia, *N. Engl. J. Med.* 374 (1) (2016) 13–22.
- [8] S. Agrawal, A.S. Cerdeira, C. Redman, M. Vatish, Meta-analysis and systematic review to assess the role of soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placenta growth factor ratio in prediction of preeclampsia: the SaPPPhirE Study, *Hypertension* 71 (2) (2018) 306–316.
- [9] The National Institute for Health and Care Excellence (NICE) Diagnostics Assessment Panel. PlGF-based testing to help diagnose suspected pre-eclampsia (Triage PlGF test, Elecsys immunoassay sFlt-1/PlGF ratio, DELFIA Xpress PlGF 1-2-3 test, and BRAHMS sFlt-1 Kryptor/BRAHMS PlGF plus Kryptor PE ratio). Available at: <https://www.nice.org.uk/guidance/dg23>. 2016. [Accessed March 2018].
- [10] The National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. NICE Guidelines (CG107). Available at: <https://www.nice.org.uk/guidance/cg107>. 2011. [Accessed April 2017].
- [11] Method for estimating due date, Committee Opinion No. 611. American College of Obstetrics and Gynecology, *Obstet. Gynecol.* 124 (4) (2014) 863–866.
- [12] G. Albaiges, H. Missfelder-Lobos, C. Lees, M. Parra, K.H. Nicolaidis, One-stage screening for pregnancy complications by color Doppler assessment of the uterine arteries at 23 weeks gestation, *Obstet. Gynecol.* 96 (4) (2000) 559–564.
- [13] S. Verlohren, I. Herrais, O. Lapaire, D. Schlembach, H. Zeisler, P. Calda, et al., New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia, *Hypertension* 63 (2) (2014) 346–352.
- [14] S. Rama, C.E. Powe, S. Saibuddin, S. Verlohren, F.H. Perschel, R.J. Levine, et al., Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia, *Circulation* 125 (7) (2012) 911–919.
- [15] H. Stepan, I. Herrais, D. Schlembach, S. Verlohren, S. Brennecke, F. Chantraine, et al., Implementation of the sFlt-1/PlGF ratio for prediction and diagnosis of preeclampsia in singleton pregnancy: implications for clinical practice, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 45 (3) (2015) 241–246.
- [16] F.P. Hadlock, R.B. Harrist, R.S. Sharman, R.L. Deter, S.K. Park, Estimation of fetal weight with the use of head, body, and femur measurements: a prospective study, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 151 (3) (1985) 333–337.
- [17] A.A. Baschat, U. Gembruch, The cerebroplacental Doppler ratio revisited, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 21 (2) (2003) 124–127.
- [18] J. Gardosi, A. Francis, Customized Weight Centile Calculator, GROW version 6.7.8.6(ES), Gestation Network, 2016.
- [19] F. Figueras, E. Gratacós, Update on the diagnosis and classification of fetal growth restriction and proposal of a stage-based management protocol, *Fetal Diagn. Ther.* 36 (2014) 86–98.
- [20] Report of the national high blood pressure education program working group on high blood pressure in pregnancy, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 183 (1), 2000, pp. S1–S22.
- [21] American College of Obstetricians and Gynecologists. Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy, *Obstet. Gynecol.* 122 (5) (2013) 1122–1131.
- [22] P.A. Harris, R. Taylor, R. Thielke, J. Payne, N. Gonzalez, J.G. Conde, Research electronic data capture (REDCap) – a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support, *J. Biomed. Inform.* 42 (2) (2009) 377–381.
- [23] I. Herrais, L.A. Drège, E. Gómez-Montes, W. Henrich, A. Galindo, S. Verlohren, Characterization of the soluble fms-like tyrosine kinase-1 to placental growth factor ratio in pregnancies complicated by fetal growth restriction, *Obstet. Gynecol.* 124 (2014) 265–273.
- [24] S.J. Gordijn, I.M. Beune, B. Thilaganathan, A. Papageorgiou, A.A. Baschat, P.N. Baker, et al., Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 48 (3) (2016) 333–339.
- [25] M. Litwinka, D. Wright, T. Efturk, I. Ceccacci, K.H. Nicolaidis, Proposed clinical management of pregnancies after combined screening for pre-eclampsia at 19–24 weeks' gestation, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 50 (3) (2017) 367–372.
- [26] S. Verlohren, E. Llorca, F. Chantraine, M. Vatish, A. Staff, M. Senström, et al., The sFlt-1/PlGF ratio can rule out preeclampsia for up to four weeks in women with suspected preeclampsia (abstract), *Pregn. Hypertens.* 6 (2016) 140–141.
- [27] I. Dragan, T. Georgiou, N. Prodan, R. Akolekar, K.H. Nicolaidis, Screening for pre-eclampsia using sFlt-1/PlGF ratio cut-off of 38 at 30–37 weeks' gestation, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 49 (1) (2017) 73–77.
- [28] M. Vatish, H. Stepan, M. Hund, S. Verlohren, Re: screening for pre-eclampsia using sFlt-1/PlGF ratio cut-off of 38 at 30–37 weeks' gestation, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 49 (5) (2017) 665–666.
- [29] D.L. Rolnik, D. Wright, L.C. Poon, N. O'Gorman, A. Syngelaki, C. de Paco Matallana, et al., Aspirin versus placebo in pregnancies at high risk for preterm preeclampsia, *N. Engl. J. Med.* 377 (7) (2017) 613–622.
- [30] J. Belghiti, G. Kayem, V. Tsatsaris, F. Goffinet, B.M. Sibai, B. Haddad, Benefits and risks of expectant management of severe preeclampsia at less than 26 weeks gestation: the impact of gestational age and severe fetal growth restriction, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 205 (5) (2011) 465.e1–e 6.
- [31] Committee Opinion No 638, First-trimester risk assessment for early-onset preeclampsia, *Obstet. Gynecol.* 126 (3) (2015) e25–27.

## 7.2 Segundo artículo

Correlación entre los cocientes sFlt-1/PlGF obtenidos mediante las plataformas Kryptor y Elecsys® en el diagnóstico de preeclampsia precoz y crecimiento intrauterino restringido: estudio de casos y controles.

Referencia: Simón E, Herraiz I, Villalaín C, Gómez-Arriaga PI, Quezada MS, López-Jiménez EA, Galindo A. Correlation of Kryptor and Elecsys® immunoassay sFlt-1/PlGF ratio on early diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction: a case-control study. *Pregnancy Hypertens.* 2020 Apr; 20: 44-49.

DOI: 10.1016/j.preghy.2020.03.002.

ISSN: 2210-7789

Tipo de estudio: observacional, casos y controles.

Estado: publicado.

Factor de impacto: 2,899 (Journal Citation Report)

Categoría: OBSTETRICS & GYNECOLOGY

Posición: 37/83, Q2 (Journal Citation Report)

## Resumen del segundo artículo

Correlación entre los cocientes sFlt-1/PlGF obtenidos mediante las plataformas Kryptor y Elecsys® en el diagnóstico de preeclampsia precoz y crecimiento intrauterino restringido: estudio de casos y controles.

### INTRODUCCIÓN

La PE y el CIR se incluyen en el espectro de trastornos gestacionales derivados de una DP subyacente (23). Ambas condiciones comparten factores de riesgo similares y vías patogénicas comunes, y con frecuencia ocurren de manera simultánea. Esta confluencia ocurre de manera más frecuente en las formas precoces de PE/CIR, responsables de aproximadamente la mitad de los partos pretérmino finalizados por indicación médica (95). Además, la PE aislada se encuentra involucrada en el 10-15% de las muertes maternas directas (96). Afortunadamente, los estudios actuales muestran una mejora considerable de estos resultados cuando los casos son diagnosticados de manera precoz y manejados por expertos en unidades de tercer nivel (97, 98).

Recientemente, se han dado pasos decisivos en la predicción y prevención en los casos de PE/CIR precoz (55). El empleo en la práctica clínica del cociente sFlt-1/PlGF (en combinación con otros datos relevantes clínicos y ecográficos) ha demostrado mejorar su detección precoz (41), superando las limitaciones de los criterios diagnósticos clásicos para el diagnóstico y la predicción de los resultados adversos derivados de estas patologías (13). Así pues, el empleo racional de estos biomarcadores angiogénicos tiene el potencial de mejorar los resultados gestacionales al facilitar la detección temprana y la derivación a los centros apropiados de las gestantes con riesgo incrementado de PE/CIR (99, 17). En este sentido, nuestro grupo ha demostrado recientemente que una estrategia basada en la medición del cociente sFlt-1/PlGF en la semana 24-28 en gestantes previamente catalogadas de alto riesgo permite una predicción más precisa de PE/CIR, alcanzando una sensibilidad del 100% (IC 95%: 78,5-100%) y una especificidad del 80,6% (IC 95%: 75-85,2%) para las formas precoces de PE/CIR (96), resultado concordante con el de otros grupos (51, 100). Elecsys® ha sido la plataforma más empleada para la determinación del cociente sFlt-1/PlGF, disponiendo incluso de sus propios puntos de corte para considerar la sospecha de PE ( $> 38$ ) (64) y ayudar al diagnóstico ( $\geq 85$ ) (79). Sin embargo, otras compañías están desarrollando test



diagnósticos similares que deberían ser igualmente tenidos en consideración. La plataforma Kryptor, en particular, ofrece la posibilidad de medir los factores angiogénicos circulantes en un dispositivo de mesa, sin necesidad de un laboratorio central (101).

Nuestro objetivo es evaluar la comparabilidad de los resultados del cociente sFlt-1/PlGF y de los puntos de corte predeterminados de  $>38$  y  $\geq 85$  con dos plataformas (Elecsys® y Kryptor), empleando tanto casos de PE/CIR como controles seleccionados dentro del escenario clínico de gestaciones de alto riesgo en la semana 24-28 de embarazo.

## MÉTODOS

### Diseño del estudio

Se trata de un estudio observacional de casos y controles que incluye 21 casos consecutivos de gestaciones únicas complicadas con PE/CIR y 21 controles consistentes en gestaciones únicas no complicadas con PE/CIR y con parto a término. Tanto los casos como los controles fueron seleccionados de nuestro estudio previo prospectivo de cohortes sobre la implementación clínica del cociente sFlt-1/PlGF para identificar PE/CIR que se llevó a cabo en nuestro centro entre 2014 y 2016 (96). En resumen, las gestantes catalogadas de alto riesgo de PE/CIR en base a factores maternos y al estudio Doppler de las resistencias en las AUt en la semana 19+0 a 22+0 fueron seleccionadas para seguimiento intensivo desde la semana 24+0-28+6 en adelante. Esto incluía la medición del cociente sFlt-1/PlGF en el momento de inclusión. El resultado era abierto para los clínicos con el fin de permitir establecer la frecuencia de visitas, pero no fue empleado para la indicación de finalización de la gestación, viniendo determinada esta última por los protocolos locales en vigor (22). Se excluyeron gestaciones múltiples, fetos con anomalías congénitas y aquellas participantes con resultados gestacionales desconocidos. Se puede encontrar una descripción completa de este protocolo en otra publicación (23).

Para cada caso de PE/CIR, se seleccionó un control (parto a término sin PE/CIR) del estudio mencionado más arriba tras emparejarlos por las principales variables de confusión para la interpretación del cociente sFlt-1/PlGF: paridad e índice de masa corporal (IMC) (102). Se selecciona para el presente estudio la muestra sanguínea extraída tanto en los casos como en los controles en la semana 24-28 de gestación. Se determinaron de manera inmediata ( $< 6$  horas) en las muestras en fresco los valores de sFlt-1 y PlGF con la plataforma Elecsys® y posteriormente se congeló una selección de

cada muestra a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Las muestras de suero almacenadas durante  $\leq 3$  años (103) fueron testadas nuevamente para sFlt-1 y PlGF en la plataforma Kryptor.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético local, y todas las pacientes incluidas en él entregaron su consentimiento informado por escrito antes de su participación.

#### Plataformas de ensayo

Tanto la plataforma Elecsys<sup>®</sup> (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) como la plataforma BRAHMS sFlt-1 Kryptor/BRAHMS PlGF plus Kryptor PE ratio (Thermo Fisher Scientific, Hennigsdorf, Germany) se basan en ensayos automatizados de inmunofluorescencia tipo sándwich.

El método de determinación de sFlt-1 de la plataforma Elecsys<sup>®</sup> tiene un límite de detección de 10 picogramos/ml (rango de medición: 10-85.000 picogramos /ml) y un límite de cuantificación de 15 picogramos/ml. El método de determinación de PlGF de la plataforma Elecsys<sup>®</sup> tiene un límite de detección de 3 picogramos/ml (rango de medición: 3-10.000 picogramos /ml) y un límite de cuantificación de 10 picogramos/ml. El tiempo de obtención del resultado del cociente sFlt-1/PlGF con la plataforma Elecsys<sup>®</sup> es de unos 18 minutos.

El método de determinación de sFlt-1 de la plataforma Kryptor tiene un límite de detección de 22 picogramos/ml (rango de medición: 22-90.000 picogramos /ml) y un límite de cuantificación de 34 picogramos/ml. El método de determinación de PlGF plus de la plataforma Kryptor tiene un límite de detección de 3,6 picogramos/ml (rango de medición: 3,6-7.000 picogramos /ml) y un límite de cuantificación de 6,9 picogramos/ml. El tiempo de obtención del resultado del cociente sFlt-1/PlGF con la plataforma Kryptor es de unos 29 minutos.

#### VARIABLES DEL ESTUDIO

La PE se definió empleando los criterios de la *National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy* (33). Se catalogó de CIR aquel PFE por ecografía (84)  $< p 3$  o aquel PFE  $< p 10$  asociado a un estudio Doppler fetal alterado (IP de la AU  $> p 95$ , IP de la ACM  $< p 5$  o índice cerebro-placentario  $< p 5$ ) (32).

La PE y el CIR se agruparon como un único resultado (PE/CIR) dado que ambas condiciones se encuentran íntimamente relacionadas, compartiendo un mismo sustrato de DP, que es de hecho el que se detecta a través del cociente sFlt-1/PlGF (74).

Adicionalmente, se subdividió la PE/CIR en precoz (cuando el parto ocurrió antes de las 32 semanas de gestación) y tardía (parto a las o a partir de las 32 semanas de gestación) (23).

#### Análisis estadístico

La publicación de este estudio se ajusta a la declaración STROBE (*The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology*). Las características maternas basales se expresaron en media y desviación estándar (DE) para las variables continuas y en porcentaje (%) para las variables categóricas. Los valores de sFlt-1 (pg/mL), PlGF (pg/mL) y del cociente sFlt-1/PlGF presentan una distribución no normal y por tanto han sido expresadas como mediana y rango intercuartílico (IQR). Las comparaciones entre las características basales de los casos y de los controles se realizaron empleando test no paramétricos (test exacto de Fisher para variables categóricas y U de Mann-Whitney para variables continuas). La correlación entre las dos plataformas se evaluó con el índice de correlación de Pearson, los coeficientes de correlación intraclass y los métodos Bland-Altman. Las ecuaciones de regresión se estimaron mediante el método de Passing-Bablok. La precisión de ambas plataformas para la predicción de PE/CIR precoz y tardío se evaluó empleando las áreas bajo las curvas ROC, y se emplearon los puntos de corte del cociente sFlt-1/PlGF previamente validados de  $> 38$  (sospecha de PE) (64) y  $\geq 85$  (ayuda al diagnóstico de PE) (79) para derivar sensibilidades, especificidades, precisión diagnóstica y razones de probabilidad. Todas fueron calculadas con su intervalo de confianza al 95 %. Los datos fueron analizados empleando el software Stata/IC 13.0 (Stata Corp., College Station, Texas, USA).

## RESULTADOS

Se incluyó en el estudio un total de 42 mujeres con gestaciones únicas, 21 casos de PE/CIR y 21 controles apareados por paridad e IMC. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna característica materna basal. En los casos de PE/CIR las resistencias en las AUt fueron mayores en la semana 24-28 mientras que el peso neonatal y la EG al parto fueron significativamente menores que en los controles. Entre los casos, 9/21 (42,9%) dieron a luz antes de la semana 32 y 7/21 (33,3%) de los recién nacidos fueron ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (Tabla 1).

Tabla 1. Descripción de las características maternas basales y los resultados perinatales de la población de estudio, comparando los casos de gestantes que desarrollaron preeclampsia (PE) y/o crecimiento intrauterino restringido (CIR) con controles que no desarrollaron PE/CIR, emparejados por paridad e índice de masa corporal.

Los datos se muestran como mediana (desviación estándar) para variables continuas y n (%) para variables categóricas. El análisis estadístico se realizó comparando casos y controles. \*  $p < 0,05$ .

Características	Casos (n=21)	Controles (n=21)
<b>Maternas (basales)</b>		
Edad (a)	33.6 (5.6)	31.7 (6.1)
IMC pregestacional (kg/m <sup>2</sup> )	25.6 (3.9)	25.6 (4.9)
Nuliparidad	14 (66.7)	14 (66.7)
Hábito tabáquico activo	4 (19.1)	3 (14.3)
Raza o grupo étnico		
Blanca o caucásica	16 (76.2)	15 (71.4)
Hispana	3 (14.2)	4 (19.1)
Asiática	1 (4.8)	0 (0.0)
Norteafricana	1 (4.8)	0 (0.0)
Negra o afroamericana	0 (0.0)	2 (9.5)
<b>Factores de riesgo de disfunción placentaria</b>		
Alto		
PE previa	1 (4.8)	1 (4.8)
Hipertensión crónica	6 (28.6)	2 (9.5)
Diabetes pregestacional	0 (0.0)	0 (0.0)
Enfermedad renal crónica	1 (4.8)	0 (0.0)
Trombofilia	0 (0.0)	2 (9.5)
LES	0 (0.0)	0 (0.0)
Moderado		
Nuliparidad o intervalo gestacional > 10 a	15 (71.4)	17 (81.0)
Edad $\geq$ 40 a	2 (9.5)	2 (9.5)
IMC pregestacional $\geq$ 35 kg/m <sup>2</sup>	0 (0.0)	0 (0.0)
Historia familiar de PE <sup>a</sup>	2 (9.5)	2 (9.5)
Historia familiar de PE <sup>a</sup>	8 (38.1)	9 (42.9)
Al menos 1 factor de alto riesgo o 2 moderado		
<b>Concepción</b>		
Espontánea	21 (100.0)	21 (100.0)
TRA	0 (0.0)	0 (0.0)
<b>Doppler de arterias uterinas (índice de pulsatilidad medio)</b>		
En semana 19+0 – 22+0	1.88 (0.33)	1.75 (0.28)
En semana 24+0 – 28+6	1.68 (0.31)	1.22 (0.27)*

Toma de aspirina a bajas dosis (100 mg/día)		
No	15 (71.4)	18 (85.7)
Iniciada antes de la semana 16	4 (19.1)	3 (14.3)
Iniciada después de la semana 16	2 (9.5)	0 (0.0)
Profilaxis con heparina a bajas dosis		
No	21 (100.0)	19 (90.5)
Iniciada en la semana 16 o antes	0 (0.0)	2 (9.5)
<b>Resultados perinatales</b>		
Edad gestacional al parto (s)	33.7 (3.7)	39.1 (2.1)*
Preeclampsia o crecimiento intrauterino restringido		
Parto precoz (<32 s)	9 (42.9)	0 (0)*
Parto tardío (≥32 s)	12 (57.1)	0 (0)*
Peso neonatal (g)	1552 (735)	3035 (492)*
Sexo femenino	11 (52.4)	12 (57.1)
Test de Apgar a los 5 min < 7	0 (0)	0 (0)
pH arterial < 7.00	0 (0)	0 (0)
Cesárea	13 (61.9)	7 (33.3)
Mortalidad perinatal	1 (4.8)	0 (0)
Ingreso en UCIN	7 (33.3)	1 (4.8)*
Días de estancia en UCIN	25.4 (14.5)	4 (-)

a, años; IMC, índice de masa corporal; LES, lupus eritematoso sistémico; PE, preeclampsia; s, semanas; TRA, técnica de reproducción asistida; UCIN, unidad de cuidados intensivos neonatales.

Se observaron valores sistemáticamente inferiores de PIGF con Kryptor tanto en los casos de PE/CIR precoz y tardío como en los controles, mientras que se observaron valores inferiores de sFlt-1 únicamente en los casos de PE/CIR tardío y en los controles, de modo que se obtuvieron resultados significativamente mayores del cociente sFlt-1/PIGF en comparación con Elecsys® para los casos de PE/CIR precoz pero no así para los casos de PE/CIR tardío y los controles (Tabla 2).

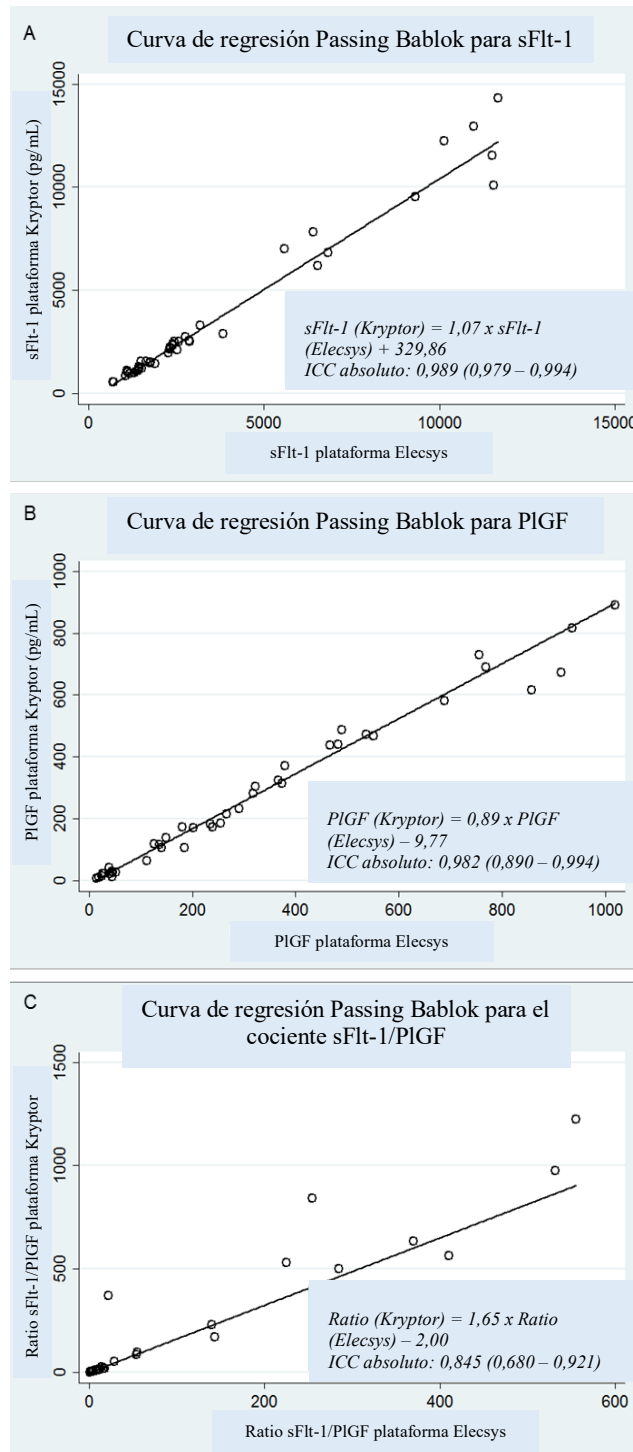
Tabla 2. Niveles de sFlt-1, PlGF y cociente sFlt-1/PlGF en la semana 24 + 0 – 28 + 6 en casos de PE/CIR precoz y tardío y en controles, comparando las plataformas Elecsys® (Roche) y Kryptor (ThermoFisher).

Los datos se muestran como mediana (rango intercuartílico). EL análisis estadístico se llevó a cabo comparando Elecsys® vs. Kryptor para casos y controles. \*p < 0,05.

	PE/CIR precoz (n=9)		PE/CIR tardío (n=12)		Controles (n=21)		Total (n=42)	
	Elecsys®	Kryptor	Elecsys®	Kryptor	Elecsys®	Kryptor	Elecsys®	Kryptor
sFlt-1 (pg/mL)	9314 (6468.5 – 11252.5)	9525 (6923 – 12605)	2366.5 (1995 – 2713.2)	2253 (1566 – 2699.3)*	1505 (1241.5 - 2375.5)	1233 (1047 – 2171.5)*	2332.5 (1439.3 – 4268.3)	2165 (1204.3 - 4007.5)
PlGF (pg/mL)	29 (21.7 – 46.0)	21 (11 – 27)*	182.6 (62.9 – 282.3)	145 (37.5 – 219.8)*	379 (251.2 – 722.4)	371 (199.5 – 627.5)*	237.8 (46.8 – 484.7)	178 (28.5 – 447.5)*
Cociente sFlt-1/PlGF	254.5 (141.7 – 470.8)	563.5 (300.5 – 908.3)*	13.9 (4.1 – 47.7)	14.6 (4.9 – 75.7)	4.1 (2.0 – 6.5)	3.9 (1.8 – 7.7)	7.9 (3.6 – 54.3)	9.9 (3.5 – 115.6)*

Las mediciones de sFlt-1 y PlGF con la plataforma Kryptor presentaron una correlación alta con aquellas tomadas con Elecsys<sup>®</sup>. La correlación fue  $r^2 = 0,98$  para sFlt-1 (0,98 para los casos, 0,97 para los controles),  $r^2 = 0,99$  para PlGF (0,99 para los casos, 0,99 para los controles),  $r^2 = 0,95$  para el cociente sFlt-1/PlGF (0,94 para los casos, 0,99 para los controles). Esta correlación óptima entre los dos métodos de detección también queda demostrada por una excelente concordancia reflejada en las correlaciones intraclase y el análisis Bland-Altman (Fig. S1 del material suplementario, Anexo 4). Estos muestran la mayoría de resultados dentro de los límites del acuerdo, a excepción de los valores más elevados del cociente sFlt-1/PlGF obtenidos con la plataforma Kryptor. El análisis de regresión Passing-Bablok genera las ecuaciones requeridas para transformar los resultados de Kryptor en los de Elecsys<sup>®</sup> (Fig.1). En particular, la ecuación de transformación del cociente es:  $\text{Cociente (Kryptor)} = 1,65 \times \text{Cociente (Elecsys } ^{\text{®}}) - 2,00$ .

Fig. 1. Gráficas Passing-Bablok para la comparación de las plataformas Elecsys® (Roche) y Kryptor (ThermoFisher). Se muestran las curvas de regresión para sFlt-1 (A), PIGF (B) y cociente sFlt-1/PIGF (C). Se especifican para cada dato la ecuación de transformación, el coeficiente de correlación intraclass (ICC) absoluto con su intervalo de confianza al 95% y el coeficiente de correlación de Pearson.





En la tabla 3 se detalla el rendimiento diagnóstico de los puntos de corte  $> 38$  y  $\geq 85$  al diagnóstico de PE/CIR precoz y tardío cuando se mide el cociente sFlt-1/PIGF en la semana 24-28. El mejor rendimiento fue alcanzado con el punto de corte  $\geq 85$  para la PE/CIR precoz, con una precisión diagnóstica del 95,24% (IC 95%: 83,84-99,42%). Para la PE/CIR tardío, los puntos de corte  $> 38$  y  $\geq 85$  mostraron una alta especificidad, del 100% (IC 95%: 83,89-100) pero una sensibilidad muy baja (entre el 8% y el 33%) con ambas plataformas. Las curvas ROC (Fig.S2 del material suplementario, Anexo 4) mostraron la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre el rendimiento diagnóstico de ambos métodos, tanto en la PE/CIR precoz como en la tardía.

Tabla 3. Rendimiento diagnóstico de los puntos de corte  $>38$  y  $\geq 85$  del cociente sFlt-1/PlGF para preeclampsia y crecimiento intrauterino restringido (PE/CIR) precoz ( $< 32$  semanas) y tardío ( $\geq 32$  semanas), medida en la semana 24 – 28 de gestación con las plataformas Elecsys® (Roche) y Kryptor (ThermoFisher).

Resultado	Punto de corte	Plataforma	Sensibilidad (%; IC95%)	Especificidad (%; IC 95%)	Precisión (%; IC 95%)	LR+ (IC 95%)	LR- (IC 95%)
PE/CIR precoz	$>38$	Elecsys®	88.89 (51.75– 99.72)	90.91 (75.67 – 98.08)	90.48 (77.38 – 97.34)	9.78 (3.24 – 29.47)	0.12 (0.02 – 0.78)
		Kryptor	100 (66.37 – 100)	87.88 (71.80- 96.60)	90.48 (77.38 – 97.34)	8.25 (3.29 – 20.67)	-
	$\geq 85$	Elecsys®	88.89 (51.75– 99.72)	96.97 (84.24 – 99.92)	95.24 (83.84 – 99.42)	29.33 (4.20 – 204.91)	0.11 (0.02 – 0.73)
		Kryptor	100 (66.37 – 100)	93.94 (79.77 – 99.26)	95.24 (83.84 – 99.42)	16.50 (4.31 – 63.22)	-
PE/CIR tardío*	$>38$	Elecsys®	25.00 (5.49 – 57.19)	100 (83.89 – 100)	72.73 (54.48 – 86.70)	-	0.75 (0.54 – 1.04)
		Kryptor	33.33 (9.92 – 65.11)	100 (83.89 – 100)	75.76 (57.74 – 88.91)	-	0.67 (0.45 – 0.99)
	$\geq 85$	Elecsys®	8.33 (0.21 – 38.48)	100 (83.89 – 100)	66.67 (48.17 – 82.04)	-	0.92 (0.77 – 1.09)
		Kryptor	16.67 (2.09 – 48.41)	100 (83.89 – 100)	69.70 (51.29 – 84.41)	-	0.83 (0.65 – 1.07)

\*Los casos de PE/CIR precoz fueron excluidos del análisis.

## DISCUSIÓN

### Hallazgos principales

Nuestro estudio de casos y controles demuestra que los puntos de corte del cociente sFlt-1/PIGF de  $> 38$  y  $\geq 85$  descritos para Elecsys® presentan un rendimiento diagnóstico similar con Kryptor cuando se realiza la medición en la semana 24-28 de gestación en mujeres con alto riesgo *a priori* de PE/CIR. Ambos métodos alcanzan una excelente precisión diagnóstica de  $> 95\%$  para PE/CIR precoz, pero resultados más pobres para PE/CIR tardío. Pese a que la correlación entre Elecsys® y Kryptor es también muy elevada para el PIGF aislado ( $r^2 = 0,95$ ), los valores de PIGF obtenidos con Kryptor son inferiores tanto en los casos como en los controles. Estos valores inferiores de PIGF no se reflejan en diferencias estadísticamente significativas en el cociente sFlt-1/PIGF ni en los controles ni en los casos tardíos. Sin embargo, en los casos de PE/CIR precoces en los cuales el sFlt-1 presenta un incremento mayor, los valores del cociente sFlt-1/PIGF son significativamente mayores con Kryptor, y estas diferencias son aún mayores según se incrementa el cociente.

### Interpretación de los resultados

Nuestro grupo ha demostrado con anterioridad la utilidad del cociente sFlt-1/PIGF en la semana 24-28 de gestación para descartar/confirmar la sospecha de PE/CIR precoz en gestaciones con alto riesgo *a priori*: en una estrategia de cribado basada en la historia materna, el IPmAUt en el segundo trimestre y la medición del cociente sFlt-1/PIGF en la semana 24-28, los valores predictivos positivo y negativo del cociente sFlt-1/PIGF  $> 38$  y  $\geq 85$  fueron 55,0%/98,6% y 73,3%/98,6%, respectivamente, para los casos de PE/CIR que requieran finalizar la gestación antes de las 32 semanas (96). La importancia de este diagnóstico precoz de PE/CIR radica en la oportunidad de llevar a cabo un seguimiento preciso, y de optimizar la atención prenatal. Nuestra investigación se desarrolló empleando la plataforma Elecsys®. En el presente estudio, comparamos los inmunoensayos Elecsys® y Kryptor en aquellas pacientes que cumplieron los criterios de inclusión de nuestro protocolo, con el fin de determinar si los puntos de corte mencionados anteriormente pudiesen ser aplicados indistintamente. Con ello, demostramos la comparabilidad y la validez de ambas plataformas, Elecsys® y Kryptor, para la detección de PE/CIR, especialmente aquellos que ocurren en un estadio precoz. Nuestros resultados muestran una alta correlación entre las plataformas Elecsys® y Kryptor ( $r^2 = 0,95$ ). Esta alta correlación (0,91 – 0,97) se ha observado previamente en

estudios anteriores (104, 105, 106). La principal diferencia entre Elecsys® y Kryptor radica en los valores de PIGF. Esto puede explicarse por los diferentes grados de reactividad cruzada entre la isoforma PIGF-1 y su isoforma alternativa PIGF-2. El método Kryptor presenta una reactividad cruzada inferior que la de Elecsys®, y por tanto niveles inferiores de valores absolutos de PIGF. Esto podría afectar, en teoría, a la sensibilidad de los tests, pero en la práctica el rendimiento diagnóstico de las diferentes plataformas para la determinación de PIGF se ha demostrado similar en la predicción de PE/CIR (107, 108).

Al comparar ambas plataformas empleando los puntos de corte preestablecidos para Elecsys®, esta plataforma presenta una sensibilidad ligeramente menor y una especificidad mayor que la plataforma Kryptor para PE/CIR precoz. Para los puntos de corte  $> 38$  y  $\geq 85$  para sFlt-1/PIGF, la sensibilidad / especificidad para Elecsys® vs. Kryptor fue 88,9% / 90,9% vs. 100,0% / 87,9% y 88,9% / 97,9% vs. 100,0% / 93,9%, respectivamente. Estas diferencias eran esperables, dado que los valores absolutos del cociente sFlt-1/PIGF en la semana 24-28 de gestación en PE/CIR precoces son significativamente menores con Elecsys® que con Kryptor. Recientemente se han publicado hallazgos concordantes por parte de Stepan y col., con una sensibilidad / especificidad para el punto de corte  $\geq 85$  para PE precoz de 88,1% / 100% vs. 90,5% / 96,2% con Elecsys® vs. Kryptor (109).

Los presentes resultados son igualmente similares a los descritos en estudios comparativos previos de ambas plataformas Elecsys® y Kryptor: con la plataforma Kryptor se obtienen de manera sistemática valores inferiores de PIGF y superiores de sFlt-1/PIGF, pero el impacto clínico de estas diferencias es limitado y el rendimiento de ambos métodos es equivalente en términos de precisión diagnóstica (104, 105, 106, 109). Sin embargo, esta falta de precisión derivada de la ausencia de puntos de corte preestablecidos para la plataforma Kryptor puede resolverse de manera sencilla aplicando la ecuación de transformación de los resultados del cociente sFlt-1/PIGF de Kryptor en los de Elecsys®.

#### Fortalezas y limitaciones

Una de las principales fortalezas de nuestro estudio es que el reclutamiento de las pacientes se ha llevado a cabo de entre las de nuestro estudio previo prospectivo de cohortes acerca de la implementación clínica del cociente sFlt-1/PIGF. Por lo tanto, nuestros resultados reflejan la aplicación de este cociente en un escenario clínico real en

el cual ya se ha demostrado de utilidad, como es la identificación de PE/CIR precoz. Más aún, el empleo de criterios diagnósticos uniformes para el diagnóstico de PE/CIR y para la selección de pacientes podría permitir facilitar la generalización de nuestras conclusiones. Al contrario que en estudios comparativos previos, nuestros casos y controles han sido emparejados por paridad e IMC, los cuales son las principales variables potencialmente confusoras que pueden influir en los valores de sFlt-1 y PIGF (102). Además, hemos diferenciado entre los casos de PE/CIR precoz y tardía al analizar los datos recopilados. Este hecho resulta importante para la validez de nuestros resultados, dado que esta clasificación es ampliamente aceptada en la actualidad.

No obstante, reconocemos también ciertas limitaciones de nuestro estudio. En primer lugar, se trata de una población de estudio de pequeño tamaño, y además el diseño del estudio es de baja evidencia, deficiencia también presente en otros estudios. Nos vimos particularmente limitados por la necesidad de localizar controles para el emparejamiento entre las muestras recopiladas en nuestro estudio previo, que en origen no fue diseñado para este análisis. Por lo tanto, serían necesarios estudios de evidencia superior con el fin de demostrar la aplicabilidad de la plataforma Kryptor en la práctica clínica diaria. En segundo lugar, no hemos validado nuestras fórmulas para la transformación de los resultados de Kryptor en los de Elecsys®, y por ello deberían ser aplicadas en la rutina clínica con precaución. En último lugar, sería deseable llevar a cabo estudios para establecer puntos de corte específicos para la plataforma Kryptor, así como para comparar el coste-efectividad de ambas plataformas.

## CONCLUSIÓN

Tanto la plataforma Roche como Kryptor para el estudio del cociente sFlt-1/PIGF han demostrado ser comparables para la detección de PE/CIR precoz en la semana 24-28 de gestación, empleando los puntos de corte preestablecidos de  $>38$  y  $\geq 85$ , presentando ambos una alta precisión diagnóstica.



Contents lists available at ScienceDirect

## Pregnancy Hypertension

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/preghy](http://www.elsevier.com/locate/preghy)



### Correlation of Kryptor and Elecsys® immunoassay sFlt-1/PlGF ratio on early diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction: A case-control study



Elisa Simón<sup>a</sup>, Ignacio Herraiz<sup>a,\*</sup>, Cecilia Villalafán<sup>a</sup>, Paula Isabel Gómez-Arriaga<sup>a</sup>,  
María Soledad Quezada<sup>a</sup>, Elena Ana López-Jiménez<sup>b</sup>, Alberto Galindo<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Fetal Medicine Unit-SAMID, Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Universitario 12 de Octubre, Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (imas12), Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

<sup>b</sup> Department of Clinical Biochemistry, Hospital Universitario "12 de Octubre", Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (imas12), Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

#### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
sFlt1  
PlGF  
Fetal growth restriction  
Preeclampsia  
Immunoassay

#### ABSTRACT

**Objectives:** The measurement of the soluble fms-like tyrosine kinase-1 to placental growth factor (sFlt-1/PlGF) ratio on automated platforms has improved the detection of preeclampsia and fetal growth restriction (PE/FGR). The cut-off points of  $> 38$  and  $\geq 85$  has been defined for "rule in" and "aid in diagnosis", respectively, using the Elecsys® platform. We aimed to compare the performance of these cut-offs between the Elecsys® and Kryptor platforms at 24–28 weeks.

**Study design:** Observational case-control study of singleton pregnancies at high risk for PE/FGR and sFlt-1/PlGF measurement at 24–28 weeks' gestation: 21 cases (9 early PE/FGR with delivery  $< 32$  weeks) were 1:1 matched for body mass index and parity with 21 controls. Correlations of the sFlt-1, PlGF and sFlt-1/PlGF values and diagnostic accuracy of the  $> 38$  and  $\geq 85$  cutoffs for early and late PE/FGR using Elecsys® and Kryptor assays were evaluated.

**Main outcome measures:** PE/FGR cases showed significantly higher median (IQR) sFlt-1/PlGF values at 24–28 weeks vs. controls, using both Elecsys® and Kryptor platforms: 55 (13–254) and 97 (13–530) vs. 4.1 (2.0–6.5) and 3.9 (1.8–7.7), respectively. The sFlt-1/PlGF correlation between both methods was excellent ( $r^2 = 0.95$ ) although lower PlGF and higher sFlt-1/PlGF values were observed with Kryptor. The higher diagnostic accuracy was obtained for early PE/FGR with the  $\geq 85$  cutoff (95.2%; 95%CI: 83.8–99.4%) in both platforms.

**Conclusion:** sFlt-1/PlGF measurements correlates well between Elecsys® and Kryptor platforms, and the cutoffs of  $> 38$  and  $\geq 85$  exhibit high diagnostic accuracy for assessing early PE/FGR at 24–28 weeks with both methods.

#### 1. Introduction

Preeclampsia (PE) and fetal growth restriction (FGR) are included in the spectrum of disorders of pregnancy in which there is underlying placental dysfunction [1]. Both conditions share similar risk factors and common pathogenic pathways and appear together frequently. This is especially true in the early PE/FGR forms, which are responsible for about half of all medically indicated preterm births [2]. In addition, PE alone is involved in 10–15% of direct maternal deaths [3]. Fortunately, contemporary outcomes show considerable improvement when these cases are diagnosed early and managed by experts in tertiary-level units

[4,5].

In recent times, decisive steps have been taken to predict and prevent early PE/FGR cases [6]. The clinical use of the sFlt-1/PlGF ratio (in combination with other relevant clinical and ultrasound data) has proven to enhance their prompt detection [7], overcoming the limitations for diagnosis and prediction of related adverse outcomes involving the classical diagnostic criteria [8]. Therefore, the rational use of these angiogenic-related biomarkers has the potential to improve pregnancy outcomes by facilitating the timely detection and allocation of pregnant women at greater risk to the appropriate care centres [9,10]. In this sense, our group has recently demonstrated that a strategy based on

**Abbreviations:** AUC, area under the receiver-operating characteristic curve; BMI, body mass index; CI, confidence interval; FGR, fetal growth restriction; IQR, interquartile range; PE, preeclampsia; SD, standard deviation

\* Corresponding author.

E-mail address: [ignacio.herraiz@salud.madrid.org](mailto:ignacio.herraiz@salud.madrid.org) (I. Herraiz).

<https://doi.org/10.1016/j.preghy.2020.03.002>

Received 24 September 2019; Accepted 1 March 2020

Available online 03 March 2020

2210-7789/ © 2020 International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

### 7.3 Tercer artículo

Empleo del cociente sFlt-1/PlGF para la predicción del parto en las siguientes 48 horas y de los resultados adversos en casos de preeclampsia precoz manejada de manera expectante.

Referencia: Simón E, Permuy C, Sacristán L, Zamoro-Lorenci MJ, Villalaín C, Galindo A, Herraiz I. sFlt-1/PlGF ratio for the prediction of delivery within 48 hours and adverse outcomes in expectantly managed early-onset preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2020 Jul 15; 22: 17-23.

DOI: 10.1016/j.preghy.2020.07.007

ISSN: 2210-7789

Tipo de estudio: observacional, prospectivo, de cohortes.

Estado: publicado.

Factor de impacto: 2,899 (Journal Citation Report)

Categoría: OBSTETRICS & GYNECOLOGY

Posición: 37/83, Q2 (Journal Citation Report)

## Resumen del tercer artículo

Empleo del cociente sFlt-1/PlGF para la predicción del parto en las siguientes 48 horas y de los resultados adversos en casos de preeclampsia precoz manejada de manera expectante.

### INTRODUCCIÓN

La preeclampsia (PE) es un trastorno hipertensivo gestacional de etiopatogenia compleja y repercusión sistémica. Su prevalencia a nivel mundial se sitúa en torno al 2 – 5%, y representando la principal causa de prematuridad iatrogénica y una de las principales causas de mortalidad materna y perinatal (110, 96).

La PE de instauración precoz (aquella diagnosticada antes de la semana 34 de gestación) es la forma de PE menos prevalente (0,3 – 0,5%), y sin embargo la forma más severa. Pese a que su etiología aún no se comprende de manera completa, se cree que subyace una placentación defectuosa al inicio de la gestación (40). Según progresa ésta, la placenta hipóxica libera a la circulación materna cantidades exageradas del factor antiangiogénico “*soluble fms-like tyrosine kinase-1*” (sFlt-1), en un intento de incrementar la presión arterial materna y mejorar así la perfusión placentaria. Como consecuencia, los niveles circulantes del factor pro-angiogénico “*placental growth factor*” (PlGF) descienden y se altera la homeostasis vascular, induciendo una disfunción endotelial responsable de la HTA, la proteinuria y otras manifestaciones multiorgánicas maternas de la PE.

No existe tratamiento intraútero de la PE, siendo la única opción terapéutica el parto y la consecuente expulsión de la placenta. Para la PE precoz, la mayoría de guías clínicas aboga por un manejo expectante al menos hasta la semana 34, siempre que la situación materna y fetal lo permitan. En esos casos, la indicación de finalización de la gestación debe realizarse de manera muy cautelosa, sopesando los beneficios neonatales de prolongar la gestación frente a los potenciales riesgos maternos y fetales si la enfermedad progresa y/o surgen complicaciones agudas (33). En centros especializados, el tiempo desde el diagnóstico hasta el parto puede extenderse un promedio de 7 días con pocas complicaciones maternas (111). Aun así, resulta extremadamente difícil determinar el curso de la PE y algunos profesionales pueden manifestar dudas respecto al manejo expectante en estos casos. Los marcadores tradicionales de PE severa como la presión



arterial media (PAM) y las pruebas de función hepática y renal resultan pobres predictores de los resultados maternos o perinatales (111, 112). Así pues, son necesarias nuevas herramientas pronósticas para una mejor selección de los casos en los que la prolongación de la gestación pueda llevarse a cabo de manera segura. Se ha propuesto que el uso de los biomarcadores angiogénicos, que presentan una fuerte correlación con la patogénesis de la PE, puede resultar de ayuda para los clínicos en la práctica diaria (59, 113). El incremento del cociente sFlt-1/PIGF (114) y el descenso del PIGF aislado (60) se han asociado con las manifestaciones clínicas de la PE, especialmente en sus formas más severas y precoces (115, 12). Sin embargo, su papel como predictores de complicaciones a corto plazo ha sido menos estudiado, pese a que se conoce que el cociente sFlt-1/PIGF se incrementa según progresa la PE y se acerca el momento del parto (116), y que valores extremadamente elevados ( $>655$ ) se han asociado con una alta tasa de resultados adversos (117).

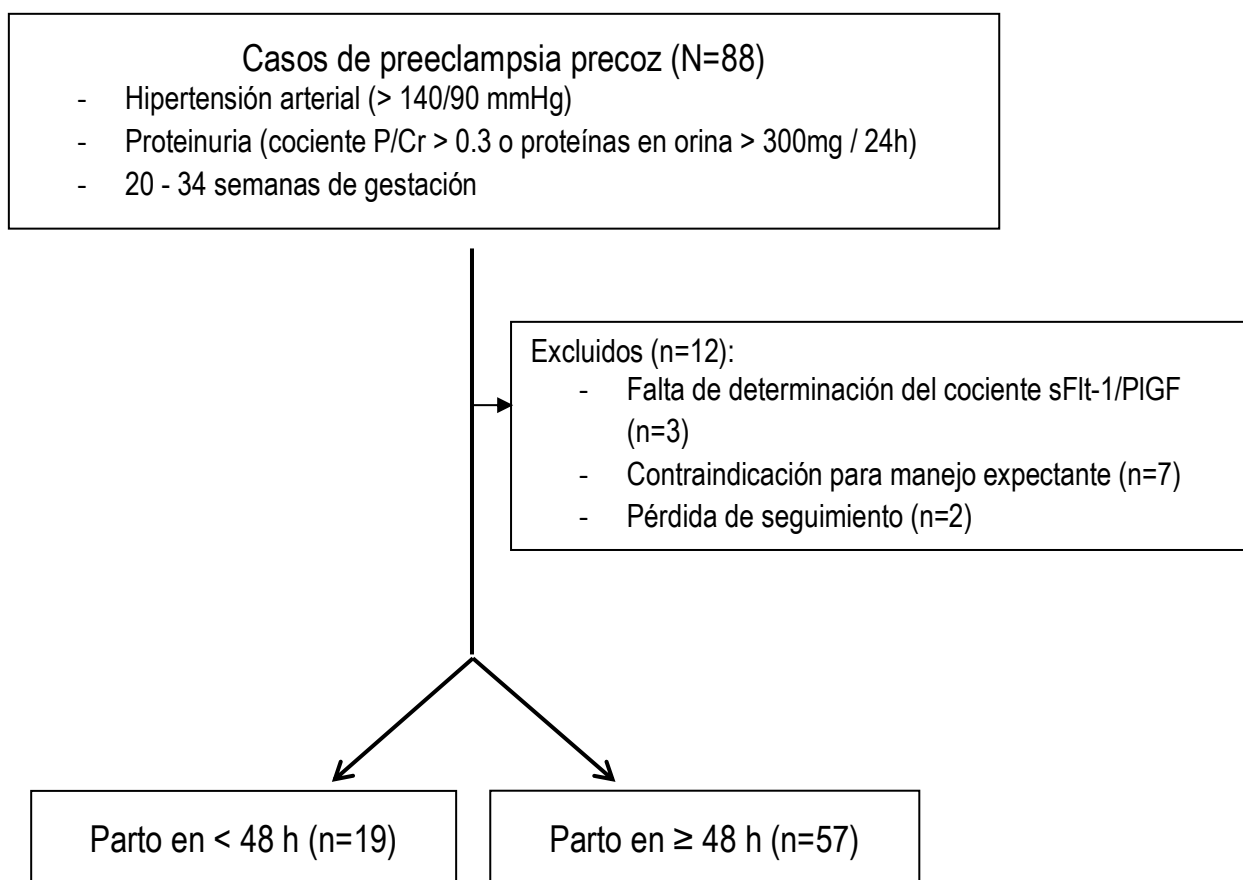
Nuestro objetivo es explorar si la determinación del cociente sFlt-1/PIGF en el momento de diagnóstico de PE es mejor que otros parámetros tradicionalmente empleados para predecir en primer lugar la necesidad de finalización de la gestación en las siguientes 48 horas tras el diagnóstico, y en segundo lugar la aparición de complicaciones maternas y perinatales.

## MÉTODOS

### Diseño y población de estudio

Presentamos un estudio observacional prospectivo de cohortes llevado a cabo en nuestro centro entre enero de 2016 y diciembre de 2018. Se incluyeron todas las gestaciones únicas consecutivas diagnosticadas de PE precoz. De las 88 pacientes inicialmente identificadas, 12 fueron excluidas, dejando una población de estudio de 76 casos. Las razones de exclusión se encuentran detalladas en la Fig. 1. El estudio recibió la aprobación del Comité Ético Local (PI13/02405), y se obtuvo consentimiento informado de las participantes.

Fig. 1. Diagrama de flujo que muestra los criterios de selección de los casos de preeclampsia precoz incluidos en el estudio.



h., horas; P/Cr, proteínas/creatinina.

#### Variables de estudio y recopilación de datos

Durante la primera visita ecográfica de la gestación, se registraron características maternas incluyendo la edad, la altura, el peso, el hábito tabáquico, la raza, el método de concepción, la toma de aspirina a bajas dosis, la profilaxis con heparina y factores de riesgo de PE y de otros trastornos relacionados con una placentación insuficiente, de acuerdo con las guías NICE (118). La EG se estimó de acuerdo al ACOG (la fecha de última regla se corrigió por la longitud craneocaudal antes de la semana 14 + 0 de gestación o por el diámetro biparietal entre la semana 14 + 0 y la 21 + 6 al objetivar una discordancia significativa de > 7 días o > 10 días, respectivamente) (82).

Se definió la PE de acuerdo al *National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy* (33). Como consta en nuestro protocolo de estudio para seguimiento intensivo de los casos de PE descrito en

publicaciones previas (119), se determinó el valor del cociente sFlt-1/PlGF en el momento del diagnóstico (+ / - 3 días) en una muestra sanguínea, conjuntamente con otros parámetros de laboratorio de rutina (hemograma, GOT/AST, GPT/ALT, plaquetas y creatinina). Las determinaciones se llevaron a cabo en nuestro laboratorio central, autorizado por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC). Las concentraciones de sFlt-1/PlGF (picogramos por mililitro) en las muestras de suero materno se obtuvieron empleando una plataforma automatizada (Cobas® 6000 e701 module, Roche Diagnostics, Penzberg, Alemania). El cociente sFlt-1/PlGF se calculó y expresó en valores absolutos. Para la interpretación de resultados se emplearon los puntos de corte previamente establecidos de 85 (ayuda al diagnóstico de PE) (79) y 655 (riesgo incrementado de parto inminente) (14). Del mismo modo exploramos el punto de corte de < 12 pg/mL para el PlGF, establecido previamente como "muy bajo" (60).

El manejo de las pacientes se basó en el protocolo estandarizado de la SEGO (22). Los obstetras eran conocedores de los resultados del cociente sFlt-1/PlGF obtenidos al diagnóstico, pero esta información no fue empleada para indicar una finalización iatrogénica de la gestación. El manejo estándar únicamente se modificó en función de los biomarcadores en cuanto a la decisión de ingreso hospitalario (indicado en cualquier caso con un cociente sFlt-1//PlGF > 655) (59, 119).

En resumen, se indicó la finalización de la gestación antes de la semana 24 únicamente por interés materno, entre las semanas 24 y 34 en caso de detección de signos de complicación inminente, y entre las semanas 34 y 37 ante la presencia de cualquier criterio de severidad, y en cualquier caso al alcanzar el término la gestación. Una vez diagnosticada la PE precoz, la necesidad de parto inmediato fue evaluada de acuerdo a los resultados de la evaluación inicial, incluyendo ésta la anamnesis y exploración materna, la toma de tensión arterial, la cuantificación de la proteinuria (índice proteínas/creatinina) y una analítica sanguínea materna con hemograma, enzimas hepáticas, creatinina y láctico-deshidrogenasa. Al diagnóstico se evaluó de igual manera el bienestar fetal mediante una ecografía de control de crecimiento y un registro cardiotocográfico no estresante. Se llevaron a cabo controles diarios en las primeras 48 horas tras el diagnóstico, pudiendo éstos ser espaciados posteriormente a cada 48 – 72 horas en caso de estabilidad. Se recomendó ingreso hospitalario en caso de identificarse criterios de PE severa. Durante el manejo expectante, se evaluó la existencia de complicaciones maternas en cada visita, y en caso de identificación de alguna de ellas, se indicó la finalización inmediata de la gestación. Los criterios para determinar una

finalización iatrogénica de la gestación sin considerar la EG fueron: HTA severa no controlable (pese a la combinación de dos fármacos antihipertensivos a dosis máximas), signos premonitorios de eclampsia refractarios al tratamiento profiláctico con sulfato de magnesio (hiperreflexia con clonus, cefalea intensa, alteraciones visuales, estupor), dolor epigástrico, dolor a nivel de hipocondrio derecho con náuseas o vómitos, pérdida del bienestar fetal o deterioro orgánico materno progresivo (oligo-anuria persistente, deterioro de la función renal, descenso progresivo de plaquetas o aparición de complicaciones maternas severas como hemorragia cerebral, edema pulmonar, rotura hepática) o *abruptio placentae* (definido como un desprendimiento de placenta previo a la expulsión fetal, incluyendo la identificación de un hematoma retroplacentario de al menos el 20% de su superficie).

#### Variables principales

Se recopilaron complicaciones maternas incluyendo la presencia de síndrome HELLP (hemólisis, elevación de transaminasas y trombocitopenia), eventos neurológicos (eclampsia, infarto cerebral, ceguera cortical, desprendimiento de retina, síndrome de encefalopatía posterior reversible), infarto agudo de miocardio, hematoma subcapsular hepático, edema de pulmón, fracaso renal agudo (creatinina sérica > 1,2 mg/dL o necesidad de diálisis), desprendimiento de placenta y muerte materna.

De igual modo se recopilaron datos perinatales, incluyendo el sexo y el peso del recién nacido, el Apgar a los 5 minutos, el pH arterial de cordón umbilical, el ingreso o no en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales y la duración del mismo (en días). La existencia de complicaciones perinatales se definió como la presencia de al menos uno de los siguientes criterios: muerte perinatal (intrauterina o neonatal), displasia broncopulmonar, hemorragia intraventricular grado III o IV, enterocolitis necrotizante y retinopatía de la prematuridad (grado III a V) (5). Todos los datos empleados para este estudio fueron recopilados en nuestro programa de manejo clínico de datos (ViewPoint, GE Healthcare, Milwaukee, Wisconsin, USA).

#### Cálculo del tamaño muestral y análisis estadístico

El tamaño muestral fue estimado para una significación estadística del 5% con una potencia del 90%, basando nuestros cálculos en la asunción de que las gestaciones diagnosticadas de PE precoz en que se lleva a cabo manejo expectante van a dar a luz en las siguientes 48 horas en aproximadamente el 10% de los casos (120, 121), y en 48% de

los casos cuando el cociente sFlt-1/PlGF supera 655 (118). De este modo, estimamos que era preciso recopilar 56 casos para identificar diferencias de acuerdo a los marcadores angiogénicos.

Para la recopilación de resultados se siguió la declaración *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology* (STROBE). Se llevó a cabo un análisis estadístico descriptivo de las características basales y de los parámetros obtenidos al diagnóstico de PE, diferenciando los casos en los cuales no era posible mantener un manejo expectante más allá de 48 horas (G1) de aquellos en que sí fue posible un manejo expectante (G2). Las variables continuas fueron expresadas como media (DS) o mediana (rango intercuartílico) en caso de no seguir una distribución normal.

Las comparaciones estadísticas de las variables independientes entre los dos grupos de estudio se realizaron empleando los test correspondientes para variables cualitativas (Chi-cuadrado o test exacto de Fisher) y cuantitativas (t de Student, U de Mann-Whitney). Los valores de significación estadística se estimaron empleando test bilaterales. El nivel de significación estadística se estableció para un valor p bilateral < 0,05.

El rendimiento diagnóstico de los parámetros predictivos de complicaciones se analizó mediante las áreas bajo las curvas Receiver-Operating Characteristic (ROC), a partir de las cuales se calcularon su sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo, y su razón de probabilidad positiva. Se llevó a cabo un análisis de supervivencia empleando curvas de Kaplan-Meier para representar la incidencia acumulada de parto a lo largo del tiempo tras el diagnóstico de PE.

El análisis de los datos se realizó empleando la versión 20.0 del paquete estadístico Statistical Packages for the Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## RESULTADOS

En 19 de los 76 casos (25%) no fue posible llevar a cabo un manejo expectante más allá de las 48 horas tras el diagnóstico debido a la progresión de la enfermedad. Las razones para finalizar la gestación en este grupo fueron: síndrome HELLP (n = 4), desprendimiento de placenta (n = 3), HTA refractaria (n = 3), progresión del CIR a estadio III o IV (n = 3), sintomatología neurológica prodrómica (n = 2), oligo-anuria (n = 3) y muerte intrauterina (n = 1).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las características basales maternas entre los grupos G1 y G2 (Tabla 1). Sin embargo, sí se observaron

diferencias estadísticamente significativas en los niveles de transaminasas, del cociente sFlt-1/PIGF y del PIGF aislado. Valores extremadamente elevados del cociente sFlt-1/PIGF ( $> 655$ ) fueron objetivados con más frecuencia en G1 que en G2 (47,4% vs. 5,3%,  $p < 0,01$ ), así como valores muy bajos de PIGF ( $< 12$  pg/mL; 15,8% vs. 0%,  $p = 0,01$ ).

Tabla 1. Características basales y al diagnóstico de los 76 casos de gestaciones únicas complicadas con preeclampsia de instauración precoz y planteamiento de manejo expectante, estratificadas por la necesidad de finalización de la gestación en las primeras 48 horas.

Las variables cuantitativas se expresan como mediana (desviación estándar) o como mediana (IQR) si así se especifica, y las variables cualitativas como n (%). G1, parto  $< 48$  horas tras el diagnóstico. G2, parto  $\geq 48$ h tras el diagnóstico.

	Tiempo hasta el parto		P
	G1 ( $< 48$ h) n=19	G2 ( $\geq 48$ h) n=57	
<i>Características maternas basales</i>			
Edad materna al diagnóstico (a)	33.4 (4.8)	33.9 (6.5)	0.78
Edad materna $> 40$ años	1 (5.3)	14 (24.6)	0.06
Altura (cm)	162.4 (5.0)	160.1 (6)	0.16
Peso pregestacional (kg)	72.3 (12.4)	69.9 (14.6)	0.54
IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )			
Media (SD)	27.4 (4.1)	27.4 (6.1)	0.99
$\geq 35$	0 (0)	7 (12.3)	0.11
Fumadora	2 (10.5)	1 (1.8)	0.09
Nulípara	11 (57.9)	43 (75.4)	0.14
Raza			
Blanca	16 (84.2)	35 (61.4)	0.16*
Hispana	2 (10.5)	18 (31.6)	
Magreb	1 (5.3)	1 (1.8)	
Negra	0 (0)	3 (5.3)	
Asiática	0 (0)	0 (0)	
Tipo de concepción			
Espontánea	17 (89.5)	45 (78.9)	0.28
FIV/ICSI	2 (10.5)	5 (8.8)	

Donación ovocitaria	0 (0)	7 (12.3)	
Hipertensión crónica	3 (15.8)	9 (15.8)	0.99
Nefropatía crónica	1 (5.3)	1 (1.8)	0.40
Diabetes mellitus pregestacional	2 (10.5)	1 (1.8)	0.09
Trombofilia	0 (0)	1 (1.8)	0.56
Preeclampsia previa	3 (15.8)	6 (10.5)	0.72
Historia familiar de preeclampsia <sup>†</sup>	0 (0)	4 (7.0)	0.50
Toma de aspirina a bajas dosis (100-150mg/d)			
Desde < 16 semanas	3 (15.8)	11 (19.3)	
Desde ≥ 16 semanas	0 (0)	5 (8.8)	0.32
No	16 (84.2)	38 (66.7)	
<i>Características al diagnóstico de preeclampsia</i>			
Edad gestacional (semanas)	28.5 (3.8)	30.1 (2.7)	0.05
CIR al diagnóstico	13 (68.4)	35 (61.4)	0.58
Presión arterial sistólica (mmHg)	149 (12.8)	148.3 (13.1)	0.83
Presión arterial diastólica (mmHg)	90.4 (10.2)	94.6 (8.9)	0.09
Presión arterial media (mmHg)	109.9 (8.3)	112.5 (8.4)	0.27
P/Cr (mg/mg)	1.5 (1.9)	1.7 (2.4)	0.79
AST (U/L)	64.1 (95.3)	24.8 (22.9)	<0.01
ALT (U/L)	55.9 (89.6)	22.8 (26.2)	0.02
Plaquetas (x1000/mcL)	237.3 (153.4)	226.9 (58.3)	0.67
Creatinina sérica (mg/dL)	0.62 (0.2)	0.64 (0.22)	0.70
sFlt-1 (ng/mL), mediana (IQR)	11887 (8199-17827)	10248 (8692-12948)	0.08
PlGF (ng/mL), mediana (IQR)	18 (13-45)	42 (32-63)	0.02
sFlt-1 /PlGF			
mediana (IQR)	609 (319-1243)	232 (139-420)	<0.01
> 85	17 (89.5)	53 (93.0)	0.63
> 655	9 (47.4)	3 (5.3)	<0.01

a, años; ALT, alanina amino transferasa (glutámico pirúvico transaminasa); AST, aspartato amino transferasa (glutámico oxalacético transaminasa); CIR, crecimiento intrauterino restringido; FIV, fecundación un vitro; ICSI, inyección intracitoplásmica de esperma; IMC, índice de masa corporal; IQR, rango intercuartílico; P/Cr, cociente proteínas/creatina; PlGF, placentar growth factor; sFlt -1, soluble fms-like tyrosine kinase-1.

\*Tras corrección de Bonferroni.

†Madre o hermana.

En G1, comparado con G2, tanto la EG al parto como el peso al nacimiento fueron menores (28,6 vs. 32,1,  $p < 0,01$ , y 967 vs. 1.514 g,  $p < 0,01$ , respectivamente). La supervivencia perinatal fue igualmente menor en G1 que en G2 (78,9% vs. 94,7%,  $P < 0,01$ ). La ocurrencia de complicaciones maternas (57,9% vs. 24,6%) y perinatales (40,0% vs. 13,0%) también fue mayor en G1 que en G2 ( $p < 0,05$ ), como muestra la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados del parto y complicaciones maternas y perinatales de los 76 casos de gestaciones únicas complicadas con PE de instauración precoz y con planteamiento de manejo expectante, estratificadas por la necesidad de finalización de la gestación en las primeras 48 horas.

<i>Resultados perinatales</i>	Tiempo hasta el parto		p
	G1 (< 48h) n=19	G2 ( $\geq$ 48h) n=57	
Edad gestacional al parto (semanas)	28.6 (3.7)	32.1 (3.0)	<0.01
Maduración fetal con corticoesteroides	16 (84.2)	49 (86.0)	0.58
CIR al parto	13 (68.4)	35 (61.4)	0.32
Cesárea	15 (78.9)	49 (86.0)	0.64
Género femenino	9 (47.4)	25 (43.9)	0.80
Peso neonatal (g)	966.8 (529.8)	1514.5 (710.7)	<0.01
Apgar 5 min < 7	4 (21.1)	6 (10.5)	0.17
Ingreso en UCIN	14 (73.7)	41 (71.9)	0.90
Días de estancia en UCIN	35.6 (31.8)	25 (16.22)	0.11
Enfermedad de membrana hialina	13 (86.7)	36 (64.3)	<0.01
Muerte perinatal			
IVE	2 (10.5)	0 (0)	0.06
Intrauterina	1 (5.3)	0 (0)	0.25



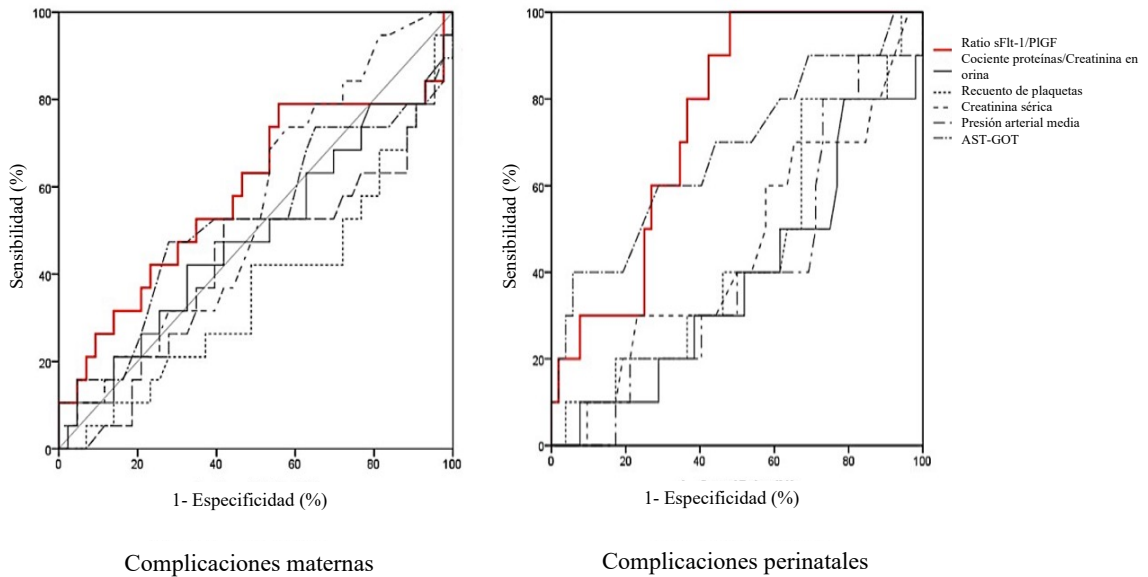
Neonatal	1 (5.3)	3 (5.3)	0.99
No	15 (78.9)	54 (94.7)	0.03
Complicaciones maternas			
Síndrome HELLP	5 (26.3)	4 (7.0)	0.03
<i>Abruptio placentae</i>	4 (21.1)	2 (3.5)	0.04
Hipertensión refractaria	4 (21.1)	11 (19.3)	0.92
Edema pulmonar	0 (0)	3 (5.3)	0.30
Hematoma subcapsular hepático	0 (0)	1 (1.8)	0.56
Fracaso renal (Cr>1,2 mg/dL)	0 (0)	2 (3.5)	0.40
Evento neurológico	0 (0)	0 (0)	NA
Infarto agudo de miocardio	0 (0)	0 (0)	NA
Muerte materna	0 (0)	0 (0)	NA
Cualquiera	11 (57.9)	14 (24.6)	<0.01
Complicaciones perinatales *			
Displasia broncopulmonar	6 (40.0)	2 (3.7)	<0.01
Leucomalacia periventricular	0 (0)	1 (1.9)	0.60
Hemorragia intraventricular $\geq$ III	0 (0)	0 (0)	NA
Enterocolitis necrotizante	0 (0)	1 (1.9)	0.60
Retinopatía de la prematuridad	0 (0)	3 (5.5)	0.35
Al menos una complicación	6 (40.0)	7 (13.0)	0.02

G1, parto < 48 horas tras el diagnóstico. G2, parto  $\geq$  48h tras el diagnóstico. CIR, crecimiento intrauterino restringido; Cr, creatinina sérica; g, gramos; IVE, interrupción voluntaria de la gestación; min, minutos; NA, no aplicable; UCIN, unidad de cuidados intensivos neonatales.

La Fig. 2 muestra las curvas ROC de los principales parámetros biofísicos y bioquímicos (incluyendo el cociente sFlt-1/PlGF) obtenidos al diagnóstico de PE en relación con la ocurrencia de eventos adversos maternos y perinatales. Ninguno de estos parámetros demostró una buena capacidad predictiva (material suplementario 1 y 2, Anexo 5).

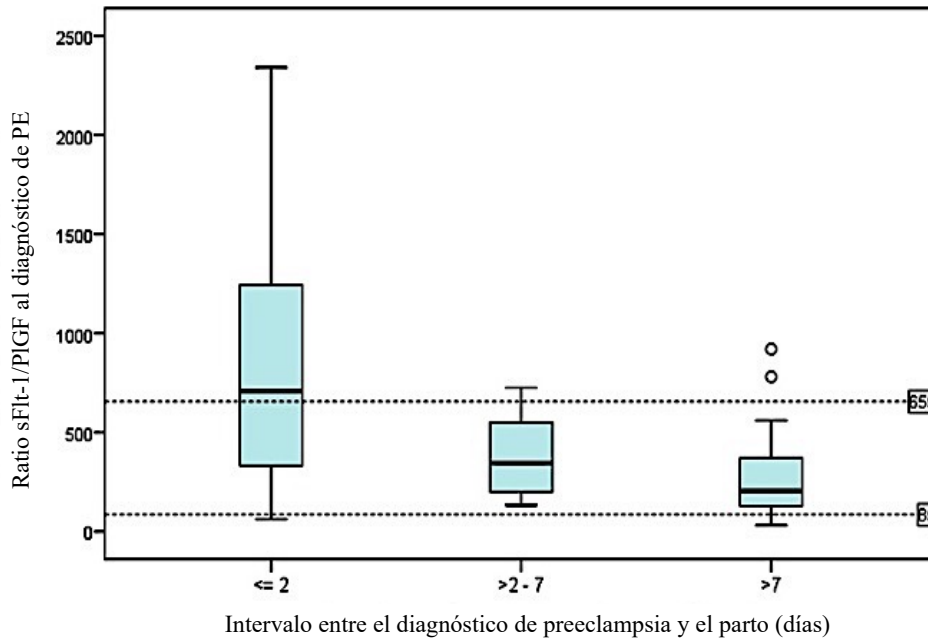
Fig. 2. Curvas “Receiver operating characteristic” (ROC) de los principales parámetros biofísicos y bioquímicos obtenidos al diagnóstico de preeclampsia para la predicción de resultados adversos maternos (síndrome HELLP, *abruptio placentae*, HTA refractaria edema pulmonar, hematoma subcapsular hepático, fracaso renal, eclampsia u

otros eventos neurológicos severos, infarto agudo de miocardio o muerte materna) y para la predicción de resultados adversos perinatales que sobrepasan el periodo perinatal (displasia broncopulmonar, leucomalacia periventricular, hemorragia intraventricular severa, enterocolitis necrotizante o retinopatía de la prematuridad).



Se observó una correlación inversa entre el cociente sFlt-1/PIGF y el tiempo hasta el parto, como muestra el diagrama de Box-plot de la Fig. 3. En casos con valores del cociente sFlt-1/PLGF al diagnóstico  $> 655$  e  $\leq 655$ , el tiempo medio (DS) hasta el parto fue de 4,4 (7,5) días vs. 12,1 (9,3) días respectivamente,  $p < 0,01$ . El riesgo relativo de parto en  $< 48$  horas con un valor  $> 655$  fue de 5,3 (IC 95%: 2,7 - 10,6),  $p < 0,01$  (Material suplementario 3, Anexo 5).

Fig. 3. Diagrama Box plot que representa la distribución de los valores del cociente sFlt-1/PlGF en casos de preeclampsia de instauración precoz en los que la gestación precisó ser finalizada en un periodo < 48 horas, 48 horas – 7 días y > 7 días.



## DISCUSIÓN

### Hallazgos principales

Los parámetros bioquímicos y biofísicos tradicionalmente empleados para el diagnóstico de PE y la determinación de su severidad, como la proteinuria, la presión arterial, las transaminasas, las plaquetas y la creatinina sérica, han demostrado tener un valor limitado para la predicción de aparición de resultados adversos maternos o perinatales en cualquier momento de una PE de instauración precoz. Los nuevos marcadores bioquímicos (cociente sFlt-1/PlGF) tampoco han sido capaces de predecirlos. Sin embargo, valores extremadamente elevados (> 655) del cociente sFlt-1/PlGF se relacionan íntimamente con la necesidad de finalización de la gestación en las siguientes 48 horas, debido a la aparición a corto plazo de resultados adversos maternos o signos de complicación inminente.

### Interpretación de resultados

La PE de instauración precoz representa una minoría de los casos de PE, pero plantea un gran reto dado que es el grupo de pacientes con el mayor riesgo de

complicaciones maternas según avanza la gestación. Asimismo, éstos son los casos en los que el recién nacido puede beneficiarse más del hecho de mantener un manejo expectante. En la práctica clínica, resulta difícil determinar cuánto es posible prolongar la gestación sin comprometer la seguridad de la madre, dado que no existen herramientas que permitan predecir la evolución de la PE. La finalización iatrogénica de la gestación suele estar con frecuencia indicada en base a datos clínicos subjetivos como la presencia de cefalea, fotopsias o epigastralgia, o en base a parámetros bioquímicos y biofísicos como la HTA y la proteinuria, que no han demostrado ser predictores fiables de los resultados adversos maternos (122).

Los biomarcadores angiogénicos sFlt-1 y PlGF están relacionados con el desarrollo de PE y han sido introducidos en la práctica clínica diaria, especialmente en situaciones de sospecha de PE, dado su alto valor predictivo negativo (VPN) (64). Valores normales del cociente sFlt-1/PlGF tienen el potencial de reducir el número de ingresos innecesarios y de disminuir el número de evaluaciones en pacientes con bajo riesgo, mientras que valores elevados permitirían evitar altas inadecuadas así como facilitar la derivación de pacientes de riesgo a centros especializados, lo cual resulta una medida coste-efectiva (123). Sin embargo, la capacidad predictiva de estos marcadores a la hora de guiar el manejo de la PE establecida ha sido menos explorada.

Pocos estudios han encontrado una asociación entre los niveles de sFlt-1 y PlGF y las subsiguientes complicaciones maternas y perinatales, con diversos resultados. Algunos autores no han conseguido demostrar una asociación entre los biomarcadores angiogénicos y la severidad de la PE o el grado de HTA y proteinuria al diagnóstico (124). Sin embargo, otros grupos sí han confirmado estas afirmaciones en una cohorte de pacientes con sospecha de PE (13). El estudio PELICAN demostró que la medición aislada de PlGF también presentaba un gran VPP para la necesidad de finalización de la gestación en los siguientes 14 días en mujeres con sospecha de PE entre las semanas 20 y 34 de gestación (60). No obstante, nosotros preferimos la utilización de la combinación de ambos biomarcadores (cociente sFlt-1/PlGF) dado que el sFlt-1 se incrementa de manera más dinámica en relación con el estado materno, mientras que descensos en los valores de PlGF no siguen a los cambios clínicos de manera tan cercana (117). Además, escogimos el intervalo de 48 horas tras el diagnóstico de PE precoz ya que es el periodo más crítico para implementar una de las principales acciones para mejorar la supervivencia perinatal como es la administración efectiva de corticoides para la maduración fetal (125). Más aún, esto nos permite realizar una comparación con otros

estudios que también han empleado este intervalo, como el estudio PIERS (Preeclampsia Integrated Estimate of RiSk), cuyo objetivo fue el predecir resultados adversos en PE a las 48 horas del ingreso mediante parámetros de fácil utilización (disnea, saturación de oxígeno, recuento de plaquetas, creatinina y GOT/AST).

Este estudio proporciona nueva evidencia sobre el uso del cociente sFlt-1/PIGF en caso de PE precoz ya diagnosticada. Nuestros resultados no apoyan el empleo del cociente sFlt-1/PIGF o de cualquier otro parámetro analítico de rutina de manera aislada para predecir la aparición de resultados adversos maternos, dado que el AUC para todos ellos fue pobre, con valores  $< 0,6$ . Al considerar su valor para la predicción de complicaciones perinatales, el cociente sFlt-1/PIGF fue el único parámetro que presentó una capacidad moderada con una AUC de 0,75 (0,62 – 0,88). Parece razonable creer que esta relación entre valores extremadamente elevados del cociente sFlt-1/PIGF y la obtención de malos resultados perinatales pudiera estar mediada, al menos en parte, por la relación inversa entre estos valores y el tiempo hasta el parto (117). Por ello, valores elevados del cociente sFlt-1/PIGF se encuentran expuestos a mayor prematuridad y por tanto a mayor riesgo de complicaciones perinatales. Estos pobres resultados de los biomarcadores angiogénicos pueden explicarse porque en este estudio únicamente se ha tenido en cuenta un valor aislado de los mismos al momento del diagnóstico. Esto ocurre así también en el modelo PIERS, que muestra un buen rendimiento en mujeres ingresadas con PE precoz para la detección de eventos adversos en 48 horas (AUC de 0,80, IC 95%: 0,75 – 0,86) pero sus resultados empeoran ligeramente al extender su capacidad de predicción de aparición de complicaciones a los 7 días (0,74, IC 95%: 0,70 – 0,79) (126). Dado que el cociente sFlt-1/PIGF incrementa a medida que la enfermedad progresa, es posible que su medición seriada fuese de mayor utilidad para guiar la evolución de la enfermedad y su manejo expectante. Por otro lado, hemos demostrado que existe un riesgo relativo 5 veces mayor de precisar finalizar la gestación en las primeras 48 horas tras el diagnóstico de PE precoz cuando se sobrepasa el valor de 655 al diagnóstico. Por ello, ante estos valores se hace especialmente recomendable la administración de corticoides para la maduración fetal así como la hospitalización en un centro especializado (59).

#### Fortalezas y limitaciones:

Una de las principales limitaciones de nuestro estudio es el pequeño tamaño muestral, y que nuestras conclusiones presentan menor potencia para la evaluación de

eventos raros. Además, dado que se trata de un estudio observacional, no permite demostrar el impacto real de la incorporación del cociente sFlt-1/PlGF a la práctica clínica. Sin embargo, aun considerando estas limitaciones, debemos recalcar que todos los casos fueron cuidadosamente diagnosticados y manejados bajo el mismo protocolo de actuación y por los mismos expertos en medicina fetal durante el periodo de estudio. Finalmente, no podemos estar seguros de la influencia que pudo tener el conocimiento del resultado de los biomarcadores sobre la interpretación del curso clínico de los casos estudiados.

## CONCLUSIONES

El cociente sFlt-1/PlGF > 655 resulta útil para predecir complicaciones a corto plazo, dado que se asocia con un riesgo 5 veces mayor de necesidad de finalizar la gestación en < 48 horas. Sin embargo, ninguno de los parámetros analíticos evaluados al diagnóstico de PE precoz ha resultado ser buen predictor de complicaciones maternas o perinatales en cualquier momento de la enfermedad. Continúa siendo necesario llevar a cabo ensayos clínicos que determinen en qué medida el empleo del cociente sFlt-1/PlGF presenta un impacto en el pronóstico materno y fetal en la práctica clínica diaria.



Contents lists available at ScienceDirect

Pregnancy Hypertension

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/preghy](http://www.elsevier.com/locate/preghy)



sFlt-1/PlGF ratio for the prediction of delivery within 48 hours and adverse outcomes in expectantly managed early-onset preeclampsia



Elisa Simón<sup>a,b</sup>, Celia Permuy<sup>a,b</sup>, Laura Sacristán<sup>a,b</sup>, María José Zamoro-Lorenci<sup>a,b</sup>, Cecilia Villalaín<sup>a,b</sup>, Alberto Galindo<sup>a,b</sup>, Ignacio Herraiz<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Fetal Medicine Unit, Maternal and Child Health and Development Network (Red SAMID-RD12/0026/0016), Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario 12 de Octubre, Instituto de Investigación Hospital, 12 de Octubre (imas12). Av. de Córdoba, s/n, 28041 Madrid, Spain  
<sup>b</sup> Universidad Complutense de Madrid, Av. Séneca, 2, 28040 Madrid, Spain

ARTICLE INFO

**Keywords:**  
 sFlt1  
 PlGF  
 Fetal growth restriction  
 Preeclampsia  
 Placental dysfunction

ABSTRACT

**Objective:** To analyze if sFlt-1/PlGF ratio is more useful than other parameters at diagnosis of early-onset (< 34 weeks) preeclampsia (PE) in the prediction of delivery within 48 h and adverse maternal and perinatal outcomes.  
**Method:** Observational retrospective study of a cohort of 76 singleton pregnancies with early-onset PE and expectant management. The predictive value of sFlt-1/PlGF ratio, blood pressure, proteinuria, creatinine, liver enzymes and platelets at diagnosis for delivery < 48 h and adverse outcomes was determined.  
**Results:** Maternal and perinatal adverse outcomes occurred in 25/76 (32.9%) cases and 13/69 (18.8%) livebirths, respectively. Areas under the curve (AUC) for sFlt-1/PlGF ratio were 0.59 (95%CI 0.42–0.75) and 0.75 (95%CI 0.62–0.88) for maternal and perinatal complications, respectively. Mean (standard deviation) time to delivery for a sFlt-1/PlGF ratio > 655 vs. ≤ 655 was of 4.4 (7.5) vs. 12.1 (9.3) days, *p* < 0.01. Relative risk for delivery within 48 h for a sFlt-1/PlGF ratio > 655 was 5.3 (95% confidence interval 2.7–10.6), *p* < 0.01.  
**Conclusions:** sFlt-1/PlGF ratio > 655 at diagnosis was associated with a 5-fold increased risk of delivery in ≤ 48 h. None of the parameters were good predictors of adverse maternal or perinatal outcomes.

1. Introduction

Preeclampsia (PE) is a hypertensive pregnancy disorder with complex etiopathogenesis and systemic repercussion. Its prevalence worldwide is around 2–5%, representing the leading cause of iatrogenic prematurity and one of the main reasons for maternal and perinatal mortality [1,2].  
 Early-onset PE (diagnosed before 34 weeks of gestation), is the least prevalent form (0.3–0.5%), but the most severe one. Although its etiology is not fully understood, it is thought to lie on an impaired placentation at the beginning of pregnancy [3]. As the gestation progresses, the hypoxic placenta releases exaggerated amounts of the anti-

angiogenic factor “soluble fms-like tyrosine kinase-1” (sFlt-1) into maternal circulation, in an attempt to raise maternal blood pressure and improve placental perfusion. As a consequence, the circulating levels of the pro-angiogenic factor “placental growth factor” (PlGF) decrease and the vascular homeostasis is altered, inducing an endothelial dysfunction that results in hypertension, proteinuria and other multiorgan maternal manifestations of PE.  
 There is no intrauterine treatment for PE, being timely delivery with placental expulsion the only therapeutic option. For early-onset PE, most guidelines advocate for an expectant management at least until 34 weeks, if both maternal and fetal status allow it. In these cases, the indication of delivery must be considered carefully, weighing the

**Abbreviations:** ALT/GPT, alanine amino transferase/glutamic pyruvic transaminase; AST/GOT, aspartate amino transferase/glutamic oxaloacetic transaminase; AUC, area under the curve; BMI, body mass index; Cr, serum creatinine; FGR, fetal growth restriction; g, grams; GA, gestational age; HELLP, hemolysis, elevated transaminases and thrombocytopenia; ICSI, intracytoplasmic sperm injection; IQR, interquartile range; IVF, in vitro fertilization; NA, not applicable; NICU, Neonatal Intensive Care Unit; P/Cr, protein creatinine ratio; PE, preeclampsia; PlGF, placental growth factor; ROC, Receiver-Operating Characteristic; SD, standard deviation; sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase-1; TOP, termination of pregnancy  
 \* Corresponding author at: Fetal Medicine Unit, Maternal and Child Health and Development Network (Red SAMID-RD12/0026/0016), Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario 12 de Octubre, Instituto de Investigación Hospital, 12 de Octubre (imas12). Av. de Córdoba, s/n, 28041 Madrid, Spain.  
 E-mail addresses: [cpermuy@ucm.es](mailto:cpermuy@ucm.es) (C. Permuy), [lsacri01@ucm.es](mailto:lsacri01@ucm.es) (L. Sacristán), [mzamor01@ucm.es](mailto:mzamor01@ucm.es) (M.J. Zamoro-Lorenci), [agalindo@salud.madrid.org](mailto:agalindo@salud.madrid.org) (A. Galindo), [ignacio.herraiz@salud.madrid.org](mailto:ignacio.herraiz@salud.madrid.org) (I. Herraiz).

<https://doi.org/10.1016/j.preghy.2020.07.007>  
 Received 19 May 2020; Received in revised form 15 June 2020; Accepted 10 July 2020  
 Available online 15 July 2020  
 2210-7789/ © 2020 International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

## 8 DISCUSIÓN

La PE y el CIR son dos entidades poco frecuentes, cuyos factores de riesgo y sustratos fisiopatológicos comunes hacen que con frecuencia coexistan. Ambas entidades se relacionan íntimamente con altas tasas de morbimortalidad tanto materna como fetal, así como de prematuridad iatrogénica. Hasta la fecha, el diagnóstico precoz, el manejo en centros especializados y la optimización de la decisión de finalizar el embarazo han sido las únicas medidas capaces de mejorar el pronóstico de estas enfermedades, disminuyendo el riesgo de complicaciones maternas y perinatales. La incorporación de los marcadores angiogénicos a la evaluación de las gestantes ha permitido que la posibilidad de un diagnóstico precoz sea una realidad: su desequilibrio, y la elevación secundaria del cociente sFlt-1/PlGF, pueden objetivarse semanas antes de que debute el cuadro clínico tradicional. Es cierto que dicha alteración en los biomarcadores refleja una DP que no es específica de PE o de CIR, y por tanto no es capaz de discriminar ambas entidades. No obstante, ambas se benefician de un diagnóstico precoz, y con frecuencia aparecen asociadas, por lo que desde la perspectiva de los marcadores angiogénicos pueden entenderse como distintas caras de un mismo síndrome (127). Pese a lo ventajoso de este nuevo descubrimiento, es aún necesario estandarizar su aplicación en la población general ya que su determinación sistemática en todas las gestantes no resultaría coste-eficiente, y generaría en ellas incertidumbres con frecuencia innecesarias. Es esencial por tanto esclarecer qué pacientes se ven más beneficiadas de su estudio, así como cuándo y cómo llevarlo a cabo.

Con el fin de esclarecer el primero de los aspectos planteamos una propuesta de implementación de la determinación del cociente sFlt-1/PlGF (artículo 1): en una población de gestantes previamente seleccionada en base a su historia clínica y al estudio Doppler de las AUt en el segundo trimestre, la determinación del cociente sFlt-1/PlGF en la semana 24 – 28 de gestación permite mejorar la estratificación del riesgo real de PE/CIR en base a puntos de corte preestablecidos. Con los resultados obtenidos se constata que la obtención de resultados normales del cociente sFlt-1/PlGF ( $\leq p95$  para la EG) permite descartar PE/CIR hasta la semana 32, lo que hace posible disminuir la frecuencia de visitas. Por el contrario, la obtención de resultados alterados se asocia en la mayoría de los casos a la futura aparición de PE/CIR, lo que se debe traducir en un incremento de la frecuencia de seguimiento y una adecuación de las actuaciones en función de la evolución. Esta estrategia integral se ha demostrado relativamente sencilla



de aplicar y útil en la práctica habitual, permitiendo diagnosticar la mayoría de los casos de PE/CIR en nuestra población general de gestantes. Además, el algoritmo planteado permite realizar una optimización del uso de biomarcadores, ya que únicamente se precisa su determinación en el 4-5% de la población.

En cuanto al momento de determinación de los marcadores angiogénicos, la semana 24-28 de gestación es una etapa crucial desde el punto de vista fisiopatológico y perinatal. Por una parte, se trata del momento en que la invasión trofoblástica y la remodelación de las arterias espirales se han completado, y por tanto la placenta muestra a partir de entonces su comportamiento definitivo. Por otra parte, es a partir de la semana 24 de gestación cuando la supervivencia perinatal se incrementa de manera significativa en centros especializados. A estas edades gestacionales, el feto, y más aún el CIR, se beneficia enormemente de prolongar la gestación tanto como sea posible. Y para poder llevar a cabo este manejo expectante de la gestación, se vuelve imprescindible ser capaces de determinar qué pacientes presentan un riesgo incrementado de complicaciones y cuáles no. La determinación del cociente sFlt-1/PIGF en estos casos permite cribar aquellas gestaciones con margen de seguridad para realizar dicho manejo expectante. Es más, ser capaces de catalogar a las pacientes en función de su riesgo de complicaciones permitiría seleccionar qué gestantes remitir a centros terciarios, y determinar el momento óptimo para su derivación de cara a un manejo lo más precoz posible.

En cuanto a los puntos de corte empleados para la valoración de los resultados, se han establecido valores de referencia en función de la EG, tanto para descartar como para confirmar una sospecha de PE/CIR, en base a la plataforma más comúnmente empleada (Elecys®). Sin embargo, nuestro estudio demuestra que la plataforma Kryptor presenta un rendimiento diagnóstico similar en pacientes catalogadas como de alto riesgo *a priori*, con una excelente precisión diagnóstica (artículo 2). Únicamente presentan diferencias significativas en los valores del cociente sFlt-1/PIGF en casos de PE/CIR precoz, que podrían salvarse con una sencilla ecuación de transformación. Una vez completados los estudios de validación de dicha ecuación de transformación, así como de coste-efectividad, esta comparabilidad de diferentes plataformas permitiría generalizar los protocolos de implementación del cociente independientemente de la disponibilidad de recursos y plataformas empleadas.

Pero el cociente sFlt-1/PIGF no solo ha demostrado su utilidad para el diagnóstico precoz de PE/CIR. Se trata de una herramienta que, además, permite orientar la actitud clínica en el seguimiento de una PE precoz ya establecida, principalmente en cuanto a la

inmediatez de la necesidad de finalizar la gestación (artículo 3). Valores extremadamente elevados de la misma ( $>655$ ) se relacionan con un riesgo 5 veces mayor de necesidad de finalización de la gestación en las siguientes 48 horas, dada la aparición a corto plazo de resultados adversos maternos o signos de complicación inminente. Este aspecto resulta prometedor, ya que abre la puerta a otras aplicaciones del cociente sFlt-1/PIGF, incluido su empleo para determinar la necesidad de finalizar la gestación anticipándose a las complicaciones maternas y perinatales.

En cualquier caso, el cociente sFlt-1/PIGF también presenta sus limitaciones. A día de hoy, sus resultados son muy útiles para detectar casos de PE/CIR, pero no permiten predecir cuáles de ellos presentarán complicaciones en algún momento de la gestación. Tampoco son capaces de dilucidar qué complicaciones aparecerán, ya que el cociente refleja un estado de DP que puede dar origen a múltiples tipos de complicaciones. Por otra parte, se ha observado que los valores del cociente sFlt-1/PIGF se incrementan a medida que la enfermedad progresa, por lo que sería interesante valorar si su medición seriada pudiese tener mayor utilidad que un valor aislado en la toma de decisiones respecto a la gestación. Por último, son necesarios estudios para determinar en qué medida la inclusión de la determinación del cociente en la práctica clínica diaria presenta *per se* un impacto real en el pronóstico materno y fetal, aunque durante la elaboración de esta tesis ya se han publicado al menos dos ensayos clínicos que indican que su uso es beneficioso para disminuir complicaciones maternas (128, 129). Por tanto, el uso del cociente sFlt-1/PIGF en la práctica clínica es ya una realidad y sus aplicaciones cada vez más amplias para mejorar el diagnóstico y el tratamiento de las complicaciones del embarazo relacionadas con la DP.

## 9 CONCLUSIONES

1. La implementación de la determinación del cociente sFlt-1/PlGF en la semana 24-28 de gestación en gestantes seleccionadas como de alto riesgo *a priori* de desarrollo de PE, en base a su historia clínica y al valor del IPmAUt en el segundo trimestre, permite detectar los casos de PE/CIR precoz (< 32 semanas) con alta sensibilidad (100%) y especificidad (80,6%). Estos resultados se consiguen usando como punto de corte el p. 95 del cociente sFlt-1/PlGF para la EG (correspondiente a un cociente sFlt-1/PlGF  $\geq 10$ ).
2. Las plataformas de validación del cociente sFlt-1/PlGF Elecsys® y Kryptor son superponibles en términos de precisión diagnóstica en los casos de PE/CIR precoces, con una alta correlación entre ambas ( $r^2 = 0,95$  para el cociente sFlt-1/PlGF). Por ello, los puntos de corte preestablecidos para la primera plataforma pueden ser aplicables para la segunda. No obstante, la plataforma Kryptor presenta unos niveles significativamente inferiores de PlGF, y por tanto unas cifras significativamente más elevadas del cociente sFlt-1/PlGF en casos de PE/CIR precoz. Este aspecto, sin embargo, no interfiere en su rendimiento diagnóstico y podría en cualquier caso subsanarse fácilmente aplicando las ecuaciones de transformación apropiadas de Kryptor a Elecsys®.
3. En casos de PE precoz, ni los parámetros biofísicos y bioquímicos clásicos de diagnóstico de PE ni el cociente sFlt-1/PlGF han demostrado su capacidad para predecir el riesgo de aparición de complicaciones maternas o perinatales. No obstante, niveles del cociente sFlt-1/PlGF > 655 se asocian de manera significativa a la necesidad de finalización de la gestación en las siguientes 48 horas (riesgo relativo de 5,3, IC al 95% [2,7-10,6],  $p < 0,01$ ).

## 10 ANEXOS

### 10.1 Certificado del comité de ética para la realización de la tesis doctoral.

 Hospital Universitario  
12 de Octubre  
Comunidad de Madrid

 i+12  
Instituto de Investigación  
Hospital 12 de Octubre

Nº CEIC: 13/371

**INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACION CLINICA**

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

**CERTIFICA:**

Que este Comité, en la reunión celebrada el día **26/11/2013**, ha evaluado los aspectos éticos del Proyecto de Investigación **PI13/02405** titulado:

**INCORPORACIÓN CLÍNICA DE LOS BIOMARCADORES DE ANGIOGÉNESIS (RATIO SFIT-1/PIGF) PARA LA DETECCIÓN PRECOZ Y EL SEGUIMIENTO DE LA PREECLAMPSIA**

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

Entendiendo que dicho estudio se ajusta a las normas éticas esenciales y criterios deontológicos que rigen en este Centro, cumpliendo los requisitos metodológicos necesarios, este Comité **INFORMA FAVORABLEMENTE** a la realización de dicho proyecto en este Centro.

Lo que firmo en Madrid, a 26 de noviembre de 2013,



 Hospital Universitario  
12 de Octubre  
Comunidad de Madrid  
COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLINICA

Firmado: **Dra. Maria Ugalde Diez**  
Secretaria CEIC Hospital 12 de Octubre.

---

Comité Ético Investigación Clínica Hospital 12 de Octubre • Av. de Córdoba s/n 28041 Madrid  
Centro Actividades Ambulatoria, Bloque D, Planta 6ª • Telf. 91 779 26 15 • e-mail: ceic@h12o.es

Nº CEIC: 13/371

TÍTULO: INCORPORACIÓN CLÍNICA DE LOS BIOMARCADORES DE ANGIOGÉNESIS (RATIO SFIT-1/PIGF) PARA LA DETECCIÓN PRECOZ Y EL SEGUIMIENTO DE LA PREECLAMPSIA

Investigador Principal: GALINDO IZQUIERDO, Alberto

Dª MARIA UGALDE DIEZ, SECRETARIA DEL COMITÉ ETICO DE INVESTIGACION CLINICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO 12 DE OCTUBRE DE MADRID

Hace constar que:

1. En la reunión ordinaria celebrada el día **26/11/2013**, se decidió emitir el informe correspondiente al proyecto de Investigación de referencia.
2. El CEIC del Hospital Universitario 12 de Octubre, tanto en su composición como en sus PNTs, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95)
3. La composición del Ceic del Hospital Universitario 12 de Octubre que evaluó el proyecto fue la siguiente:

PRESIDENTE	Dra. Mª del Puy Goyache Goñi	Farmacéutico Adjunto de Farmacia Hospitalaria
SECRETARIA	Dra. María Ugalde Diez	Dra. en Ciencias Biológicas
VOCALES:	Dª Mª Luisa Albelda de la Haza	Licenciada Derecho
	Dra. Cecilia Calvo Pita	Farmacéutico Servicio Farmacia-Dirección Asistencial Oeste
	Sra. Yolanda del Rey Granada	Diplomado Universitario en Enfermería
	Dra. Mª de las Mercedes Catalán Gómez	Médico Medicina Intensiva
	Dr. Alberto Galindo Izquierdo	Jefe de Sección Obstetricia y Ginecología
	Dr. Eduardo Gutiérrez Martínez	Médico Nefrología
	Dra. Carmen Jimenez López-Guarch	Médico Cardiología
	Dr. José Antonio López Martín	Médico Oncología Médica
	Dra. María del Pilar Martínez Sanchez	Médico Hematología
	Sr. Francisco Javier Mazuecos Gómez	Auxiliar Administrativo Endoscopia
	Dr. Cesar Minué Lorenzo	Médico de Familia de Atención Primaria
	Dr. Jose María Morales Cerdan	Médico Nefrología
	Dr. José Manuel Moreno Villares	Médico Pediatría
	Dra. Gloria Orejón de Luna	Pediatra de Atención Primaria
	Dª. Montserrat Pilas Pérez	Diplomado Universitario en Enfermería
	Dr. Guillermo Ponce Alfaro	Médico Psiquiatría
	Dr. Santiago Ponce Aix	Médico Oncología
	Dra. Yolanda Rodríguez Gil	Médico Anatomía Patológica
	Dra. Belén Ruiz Antoranz	Farmacóloga clínica (Clínica Puerta de Hierro)
	Dª Rosa Mª Vega Viaña	CAIBER
	Dr. Alberto Villarejo Galende	Médico Neurología

Que en el caso de que se evaluara algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, este se ausentara de la reunión durante la discusión del proyecto.

Para que conste donde proceda, y a petición del promotor,


## 10.2 Expediente de financiación de la investigación marco de esta tesis doctoral

La presente tesis doctoral se enmarca dentro del proyecto de investigación “Incorporación clínica de los biomarcadores de angiogénesis (ratio sFlt-1/PlGF) para la detección precoz y el seguimiento de la preeclampsia” llevado a cabo en el Hospital Universitario 12 de Octubre y financiado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), proyecto del cual la autora de esta tesis es miembro colaborador del equipo de investigación.

GOBIERNO DE ESPAÑA		MINISTERIO DE ECONOMÍA Y COMPETITIVIDAD		Instituto de Salud Carlos III		RESULTADO EXPEDIENTE - PI13/02405	
<b>Centro Solicitante:</b> FUNDACION INVESTIGACION BIOMEDICA HOSPITAL 12 DE OCTUBRE							
<b>Centro Realizador:</b> FUNDACION INVESTIGACION BIOMEDICA HOSPITAL 12 DE OCTUBRE							
<b>Título:</b> Incorporación clínica de los biomarcadores de angiogénesis (ratio sFlt-1/PlGF) para la detección precoz y el seguimiento de la preeclampsia							
<b>RESOLUCIÓN PROVISIONAL DE CONCESIÓN</b>							
<b>Ayuda susceptible de ser cofinanciada por el FEDER</b>							
<b>Estado de Resolución Provisional de Concesión :</b> CONCEDIDO							
<b>PRESUPUESTO CONCEDIDO PROVISIONAL</b>							
	<b>1ª ANUALIDAD</b>	<b>2ª ANUALIDAD</b>	<b>3ª ANUALIDAD</b>	<b>TOTAL</b>			
BIENES/SRV	17.850,00	14.450,00	0,00	<b>32.300,00</b>			
PERSONAL	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>			
VIAJES	0,00	0,00	1.500,00	<b>1.500,00</b>			
<b>SUBTOTALES</b>	<b>17.850,00</b>	<b>14.450,00</b>	<b>1.500,00</b>	<b>33.800,00</b>			
Costes ind. 21,00 %	3.748,50	3.034,50	315,00	7.098,00			
<b>TOTALES</b>	<b>21.598,50</b>	<b>17.484,50</b>	<b>1.815,00</b>	<b>40.898,00</b>			
<b>PERSONAL CONCEDIDO PROVISIONAL CON CARGO AL PROYECTO</b>							
<b>Personal con Cargo</b>				<b>Concedido Provisional</b>			
Titulado superior				0			
Titulado medio				0			
Técnico FP				0			
<b>EQUIPO DE INVESTIGACIÓN</b>							
<b>Nombre</b>	<b>Apellido 1</b>	<b>Apellido 2</b>	<b>Tipo</b>	<b>Ded.</b>			
ANTONIO	GARCIA	BURGUILLO	Colaborador	UNICA			
IGNACIO	HERRAIZ	GARCIA	Colaborador	UNICA			
ELENA ANA	LOPEZ	JIMENEZ	Colaborador	UNICA			
ALBERTO	GALINDO	IZQUIERDO	IP	UNICA			
PAULA ISABEL	GOMEZ	ARRIAGA	Colaborador	UNICA			
ELISA	SIMON	SAN JOSE	Colaborador	UNICA			
<b>RESOLUCIÓN PROVISIONAL DE CONCESIÓN</b>							
El Órgano instructor, visto el informe emitido por la Comisión de Selección (BOE Nº 140 de 12 de junio de 2013) en su reunión de 14 de octubre de 2013 y, de acuerdo con las disponibilidades presupuestarias, propone la financiación de la ayuda solicitada para la realización de su proyecto en los términos económicos indicados anteriormente. El presupuesto solicitado se ha modificado en el proceso de evaluación de acuerdo con la valoración económica de los objetivos propuestos. Su ajuste final ha tenido en cuenta este hecho, la prioridad de su proyecto respecto a otras propuestas y, las limitaciones presupuestarias de la presente convocatoria.							


## 10.3 Permisos para la publicación de los artículos originales en la tesis doctoral

### Permiso de la revista:

 **Permissions Helpdesk** 30 de marzo de 2021, 17:45

Re: Copyright obtention of 3 articles for publishing in a PhD thesis [210329-020389]  
Para: Elisa Simon

---

  
**ELSEVIER**

Dear Elisa Simón San José,

Thank you for your query.

Please note that, as one of the authors of this article, you retain the right to reuse it in your thesis/dissertation. You do not require formal permission to do so. You are permitted to post this Elsevier article online if it is embedded within your thesis. You are also permitted to post your Author Accepted Manuscript online.

However posting of the final published article is prohibited.

*"As per our [Sharing Policy](#), authors are permitted to post the Accepted version of their article on their institutional repository – as long as it is for **internal institutional use only**.*

*It can only be shared publicly on that site once the journal-specific embargo period has lapsed. For a list of embargo periods please see: [Embargo List](#).*

*You are not permitted to post the Published Journal Article (PJA) on the repository."*

Please feel free to contact me if you have any queries.

Regards,

Kaveri  
Permissions Helpdesk  
**ELSEVIER** |Operations

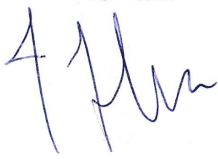
---

**From:** Administrator  
**Date:** Monday, March 29, 2021 04:41 PM GMT

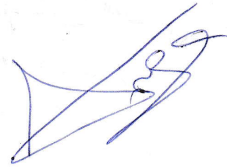
**Permiso de los coautores para la utilización del primer artículo:**

Autorización de los coautores para la utilización del artículo "*Clinical implementation of the sFlt-1/PIGF ratio to identify preeclampsia and fetal growth restriction: a prospective cohort study*" como parte integrante de la tesis doctoral

Por el presente documento, los abajo firmantes autorizan a Elisa Simón San José para la utilización y publicación del artículo "*Clinical implementation of the sFlt-1/PIGF ratio to identify preeclampsia and fetal growth restriction: a prospective cohort study*", del cual son coautores, en el marco de su tesis doctoral.



I Herraiz



PI Gómez-Arriaga



MS Quezada



A García-Burguillo



EA López-Jiménez



A Galindo



## Permiso de los coautores para la utilización del segundo artículo:

Autorización de los coautores para la utilización del artículo "*Correlation of Kryptor and Elecsys immunoassay sFlt-1/PlGF ratio on early diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction: a case-control study*" como parte integrante de la tesis doctoral

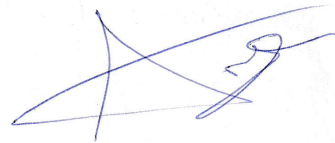
Por el presente documento, los abajo firmantes autorizan a Elisa Simón San José para la utilización y publicación del artículo "*Correlation of Kryptor and Elecsys immunoassay sFlt-1/PlGF ratio on early diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction: a case-control study*", del cual son coautores, en el marco de su tesis doctoral.



I Herraiz



C Villalaín



PI Gómez-Arriaga



MS Quezada



EA López-Jiménez



A Galindo

## Permiso de los coautores para la utilización del tercer artículo:

Autorización de los coautores para la utilización del artículo "*sFlt-1/PlGF ratio for the prediction of delivery within 48 hours and adverse outcomes in expectantly managed early-onset preeclampsia*" como parte integrante de la tesis doctoral

Por el presente documento, los abajo firmantes autorizan a Elisa Simón San José para la utilización y publicación del artículo "*sFlt-1/PlGF ratio for the prediction of delivery within 48 hours and adverse outcomes in expectantly managed early-onset preeclampsia*", del cual son coautores, en el marco de su tesis doctoral.



C Permy



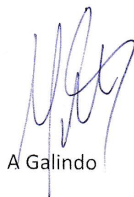
L Sacristán



MJ Zamoro-Lorenci



C Villalain



A Galindo



I Herraiz

## 10.4 Material suplementario del primer artículo.

**Tabla S1.** Descripción de las características maternas de la población de estudio, comparando las mujeres con resultados completos disponibles con aquellas en las que se perdió el seguimiento.

Características basales maternas	Población de estudio (n= 5601)	Casos con pérdida de seguimiento (n= 1293)
Edad (a)	31.2 (6.0)	30.9 (6.0)
Altura (cm)	161.9 (6.6)	162.4 (6.7)
Peso pregestacional (kg)	63.8 (12.8)	63.0 (12.1)
IMC pregestacional (kg/m <sup>2</sup> )	24.3 (4.6)	23.9 (4.3)
Hábito tabáquico activo	624 (11.1)	132 (10.2)
Raza o grupo étnico		
Blanca o caucásica	3741 (66.8)	897 (69.4)
Hispánica	1309 (23.4)	280 (21.7)
Asiática	211 (3.8)	44 (3.4)
Norteafricana	270 (4.8)	54 (4.2)
Negra o afroamericana	64 (1.1)	16 (1.2)
Otras / Desconocida	6 (0.1)	2 (0.1)
Factores de riesgo de disfunción placentaria		
Alto		
PE previa	88 (1.6)	6 (0.5) <sup>a</sup>
Hipertensión crónica	75 (1.3)	7 (0.5)
Diabetes pregestacional	42 (0.8)	4 (0.3)
Enfermedad renal crónica	27 (0.5)	2 (0.2)
Trombofilia	61 (1.1)	7 (0.5)
LES	14 (0.3)	3 (0.2)
Moderado		
Nuliparidad	2652 (47.3)	603 (46.6)
Edad ≥ 40 a	313 (5.6)	56 (4.3)
IMC pregestacional ≥ 35 kg/m <sup>2</sup>	179 (3.2)	30 (2.3)
Historia familiar de PE*	144 (2.6)	26 (2.0)
Al menos 1 factor de alto o 2 de moderado riesgo	554 (9.9)	70 (5.4) <sup>a</sup>
Concepción		
Espontánea	5322 (95.0)	1,117 (86.4)
Ovocito propio	163 (2.9)	47 (3.6)
Donación ovocitaria	52 (0.9)	5 (0.4)
Desconocido	64 (1.1)	124 (9.6)

Toma de aspirina a bajas dosis (100 mg/día)		
No	5390 (96.2)	1275 (98.6)
Iniciada en o antes de las 16 semanas	202 (3.6)	18 (1.4)
Iniciada después de las 16 semanas	9 (0.2)	0 (0.0)
Heparina profiláctica a bajas dosis		
No	5533 (98.8)	1293 (99.4)
Iniciada en o antes de las 16 semanas	63 (1.1)	7 (0.5)
Iniciada después de las 16 semanas	5 (0.1)	1 (0.1)
IPmAUt en la ecografía de la semana 19-22	1.01 (0.54)	0.96 (0.26)
Gestantes elegibles para seguimiento intensivo		
IPmAUt $\geq$ percentil 95 en la semana 19-22 y bajo riesgo <i>a priori</i>	288 (5.1)	19 (1.5) <sup>a</sup>
e IPmAUt $\geq$ percentil 95 en la semana 24-28	122 (2.2)	3 (0.2) <sup>a</sup>
e IPmAUt < percentil 95 en la semana 24-28	149 (2.6)	10 (0.8) <sup>a</sup>
e IPmAUt no evaluado en la semana 24-28	17(0.3)	6 (0.5)
IPmAUt $\geq$ percentil 75 en la semana 19-22 y alto riesgo <i>a priori</i>	134 (2.4)	5 (0.4) <sup>a</sup>

Los datos se muestran como media (desviación estándar) para variables continuas y n (%) para variables categóricas. El análisis estadístico se realizó comparando el grupo de la población de estudio con el grupo de pérdida de seguimiento. Para diferencias significativas, se realizaron contrastes entre grupos empleando el test de Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher para variables categóricas y el T-test o el test no paramétrico U de Mann-Whitney para variables continuas. <sup>a</sup> p < 0.05.

A, años; IMC, índice de masa corporal; PE, preeclampsia; LES, lupus eritematoso sistémico; IPmAUt, índice de pulsatilidad medio de las arterias uterinas.

**Tabla S2.** Resultados maternos y perinatales de las mujeres seleccionadas para seguimiento intensivo que desarrollaron PE o CIR que requirió finalización de la gestación <32 semanas (PE/CIR precoz), 32 -<36 semanas (PE/CIR intermedio) o ≥36 semanas (PE/CIR tardío), comparado con gestantes que no desarrollaron PE o CIR (No PE/CIR).

Características de las pacientes	No PE/CIR (n=169)	PE/CIR precoz (n=14)	PE/CIR intermedio (n=21)	PE/CIR tardío (n=37)
Edad gestacional al parto (s)	38.7 (1.9)	29.1 (1.6) <sup>a</sup>	34.0 (1.2) <sup>a</sup>	38.0 (1.5)
Peso al nacimiento				
En gramos	3050 (533)	874 (199) <sup>a</sup>	1738 (353) <sup>a</sup>	2486 (478) <sup>a</sup>
Percentil customizado, mediana (IQR)	35 (40)	1 (4) <sup>a</sup>	6 (10) <sup>a</sup>	7 (23) <sup>a</sup>
< percentil 10 customizado	20 (11.8)	14 (100.0) <sup>a</sup>	14 (66.7) <sup>a</sup>	22 (59.5) <sup>a</sup>
Sexo femenino	70 (41.4)	8 (57.1)	8 (38.1)	19 (51.4)
Test de Apgar a los 5 min. < 7	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.8)	0 (0.0)
pH arterial ≤ 7.00	6 (3.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Cesárea	59 (34.9)	14 (100.0) <sup>a</sup>	13 (61.9)	14 (37.8)
Muerte intrauterina	2 (1.2)	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
Mortalidad neonatal	0 (0.0)	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
Morbilidad materna				
Hipertensión refractaria	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (9.5) <sup>a</sup>	0 (0.0)
Síndrome HELLP (completo o incompleto)	0 (0.0)	1 (7.1)	1 (4.8)	1 (2.7)
Edema pulmonar	0 (0.0)	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
Oliguria	0 (0.0)	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>Abruptio placentae</i>	2 (1.2)	3 (21.4) <sup>a</sup>	0 (0.0)	0 (0.0)
Eclampsia	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Muerte	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Cualquier morbilidad materna	2 (1.2)	6 (42.9) <sup>a</sup>	3 (14.3) <sup>a</sup>	1 (2.7)
Morbilidad neonatal entre los supervivientes perinatales				
DBP	0 (0.0)	3 (21.4) <sup>a</sup>	0 (0.0)	0 (0.0)
HIV grado III o IV	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
LPV grado II o III	0 (0.0)	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
Enterocolitis necrotizante	0 (0.0)	2 (14.3) <sup>a</sup>	0 (0.0)	0 (0.0)
Retinopatía de la prematuridad	0 (0.0)	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
Cualquier morbilidad neonatal	0 (0.0)	6 (42.9) <sup>a</sup>	0 (0.0)	0 (0.0)
Días en UCIN	3.8 (1.5)	33.9 (18.9) <sup>a</sup>	13.1 (15.9)	0 (0.0)

Los datos se muestran como media (desviación estándar), excepto si se menciona en la tabla de otro modo, para variables continuas y como n (%) para variables categóricas. El análisis estadístico se realizó comparando cada grupo de PE/CIR con el grupo de No PE/CIR. Para las diferencias significativas, los contrastes entre grupos se realizaron empleando el test de Chi cuadrado o el test exacto de Fisher para variables categóricas y el T-test o el test no paramétrico U de Mann-Whitney para variables continuas, todas ellas con corrección post-hoc de Bonferroni. <sup>a</sup> Nivel crítico de significación estadística  $p < 0.017$ .

PE, preeclampsia; CIR, crecimiento intrauterino restringido; s, semanas; HELLP, hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y plaquetopenia (completo: 3 criterios; incompleto: 2 criterios); DBP, displasia broncopulmonar (definida como necesidad de oxígeno en la semana 36); HIV, hemorragia intraventricular (grado III: con dilatación de los ventrículos laterales; grado IV: hemorragia intraparenquimatosa); LPV, leucomalacia periventricular quística; UCIN, unidad de cuidados intensivos neonatales.

**Tabla S3.** Descripción de las características maternas de la población de estudio, comparando las gestantes que no desarrollaron PE o CIR (No PE/CIR) con aquellas que desarrollaron PE/CIR precisando finalización de la gestación <32 semanas (PE/CIR precoz), en la semana 32 - <36 (PE/CIR intermedio) o  $\geq$  36 semanas (PE/CIR tardío).

Características maternas basales	No PE/CIR (n=5365)	PE/CIR Precoz (n=17)	PE/CIR Intermedio (n=37)	PE/CIR tardío (n=182)
Edad (a)	31.2 (6.0)	34.3 (5.6)	33.0 (5.4)	32.5 (5.7) <sup>a</sup>
Altura (cm)	162.0 (6.6)	159.4 (5.1)	158.4 (6.4) <sup>a</sup>	161.4 (6.4)
Peso pregestacional (kg)	63.7 (12.7)	67.6 (11.9)	65.8 (15.5)	64.9 (15.0)
IMC pregestacional (kg/m <sup>2</sup> )	24.3 (4.5)	26.6 (4.8)	26.1 (5.4) <sup>a</sup>	24.9 (5.3)
Hábito tabáquico activo	580 (10.8)	2 (11.8)	8 (21.6)	34 (18.7) <sup>a</sup>
Raza o grupo étnico				
Blanca o Caucásica	3584 (66.9)	8 (47.1)	21 (56.8)	128 (70.3)
Hispana	1249 (23.3)	6 (35.3)	12 (32.4)	42 (23.1)
Asiática	202 (3.8)	1 (5.9)	2 (5.4)	6 (2.9)
Norteafricana	265 (4.9)	0 (0.0)	1 (2.7)	4 (2.2)
Negra o afroamericana	59 (1.1)	2 (11.8)	1 (2.7)	2 (1.1)
Otros / Desconocido	6 (0.1)	0 (0.00)	0 (0.0)	0 (0.0)
Factores de riesgo de disfunción placentaria				
Alto				
PE previa	68 (1.3)	2 (11.8) <sup>a</sup>	6 (16.2) <sup>a</sup>	12 (6.6) <sup>a</sup>
Hipertensión crónica	53 (1.0)	2 (11.8) <sup>a</sup>	7 (18.9) <sup>a</sup>	13 (7.1) <sup>a</sup>
Diabetes pregestacional	37 (0.7)	1 (5.9)	2 (5.4) <sup>a</sup>	2 (1.1)
Enfermedad renal crónica	25 (0.5)	0 (0.0)	2 (5.4) <sup>a</sup>	0 (0.0)
Trombofilia	60 (1.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)
LES	14 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Moderado				
Nuliparidad	2740 (51.1)	14 (82.4) <sup>a</sup>	22 (59.5)	129 (70.9) <sup>a</sup>
Edad $\geq$ 40 a	293 (5.5)	3 (17.6)	4 (10.8)	13 (7.1)
IMC pregestacional $\geq$ 35 kg/m <sup>2</sup>	164 (3.1)	1 (5.9)	3 (8.1)	11 (6.0)
Historia familiar de PE <sup>a</sup>	490 (9.1)	7 (41.2) <sup>a</sup>	14 (37.8) <sup>a</sup>	43 (23.6) <sup>a</sup>
Al menos 1 factor de alto 2 de moderado riesgo				
Concepción				
Espontánea	5108 (95.2)	14 (82.3)	33 (89.2)	167 (91.8)
TRA (ovocito propio)	149 (2.8)	1 (5.9)	4 (10.8)	9 (5.0)
TRA (donación ovocitaria)	48 (0.9)	1 (5.9)	0 (0.0)	3 (1.6)

Desconocida	60 (1.1)	1 (5.9)	0 (0.0)	3 (1.6)
Toma de aspirina a bajas dosis (100 mg/día)				
No	5185 (96.6)	14 (82.35)	28 (75.7)	163 (89.6)
Iniciada en o antes de 16 semanas	173 (3.2)	3 (17.6)	8 (21.6) <sup>a</sup>	18 (9.9) <sup>a</sup>
Iniciada después de 16 semanas	7 (0.1)	0 (0.00)	1 (2.7)	1 (0.5)
Profilaxis con heparina a bajas dosis	5299 (98.8)	17 (100.0)	37 (100.0)	180 (98.9)
No	61 (1.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.1)
Iniciada en o antes de 16 semanas	5 (0.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Iniciada después de 16 semanas				

Los datos se muestran como media (desviación estándar) para variables continuas y como n (%) para variables categóricas. El análisis estadístico se realizó comparando cada grupo de PE/CIR con el grupo de No PE/CIR. Para las diferencias significativas, los contrastes entre grupos se realizaron empleando el test de Chi cuadrado o el test exacto de Fisher para variables categóricas y el T-test o el test no paramétrico U de Mann-Whitney para variables continuas, todas ellas con corrección de Bonferroni post-hoc. <sup>a</sup> Nivel crítico de significación estadística  $p < 0.017$ .

PE, preeclampsia; CIR, crecimiento intrauterino restringido; a, años; IMC, índice de masa corporal; LES, lupus eritematoso sistémico; TRA, técnica de reproducción asistida.



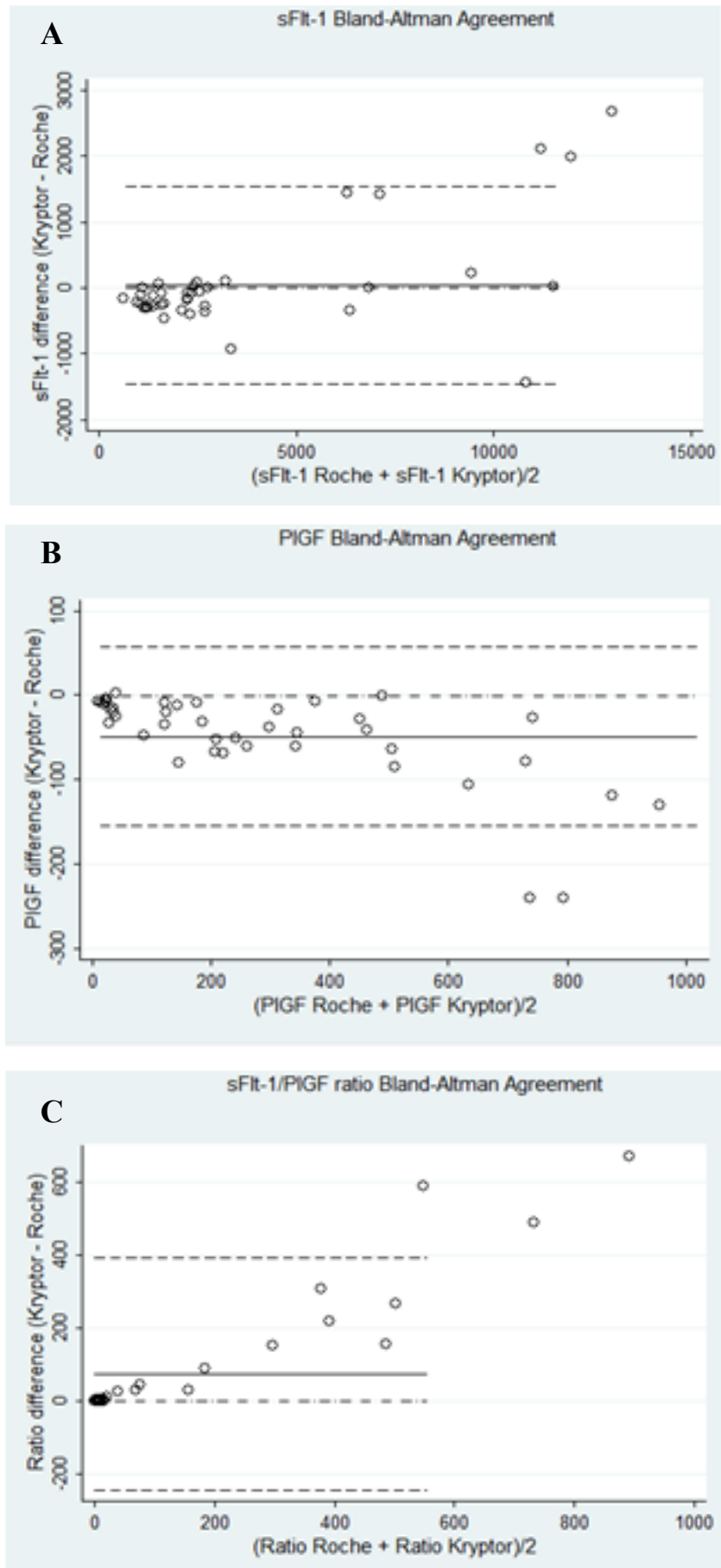
**Tabla S4.** Resultados maternos y perinatales de nuestra población de estudio, comparando las gestantes que no desarrollaron PE o CIR (No PE/CIR) con aquellas que desarrollaron PE/CIR precisando finalización de la gestación <32 semanas (PE/CIR precoz), en la semana 32 - <36 (PE/CIR intermedio) o  $\geq$  36 semanas (PE/CIR tardío).

Características de las pacientes	No PE/CIR (n=5365)	PE/CIR precoz (n=17)	PE/CIR intermedio (n=37)	PE/CIR tardío (n=182)
Edad gestacional al parto (s)	39.5 (1.8)	28.5 (2.4) <sup>a</sup>	34.4 (1.2) <sup>a</sup>	38.1 (1.2) <sup>a</sup>
Peso al nacimiento				
En gramos	3280 (483)	817 (264) <sup>a</sup>	1904 (439) <sup>a</sup>	2657 (514) <sup>a</sup>
Percentil customizado, mediana (IQR)	48 (43)	1 (3) <sup>a</sup>	7 (19) <sup>a</sup>	13 (36) <sup>a</sup>
< percentil 10 customizado	295 (5.5)	17 (100) <sup>a</sup>	21 (56.8) <sup>a</sup>	77 (42.3) <sup>a</sup>
Sexo femenino	2694 (50.2)	10 (58.8)	15 (40.5)	99 (54.4)
Test de Apgar a los 5 min. < 7	52 (1.0)	1 (5.9)	2 (5.4)	2 (1.1)
pH arterial $\leq$ 7.00	46 (0.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.6)
Cesárea	1170 (21.8)	16 (94.1) <sup>a</sup>	23 (62.2) <sup>a</sup>	60 (33.0) <sup>a</sup>
Muerte intrauterina	22 (0.4)	2 (11.8) <sup>a</sup>	0 (0.0)	1 (0.5)
Mortalidad neonatal	6 (0.1)	2 (11.8) <sup>a</sup>	0 (0.0)	1 (0.5)
Morbilidad materna				
Síndrome HELLP (completo o incompleto)	0 (0.0)	3 (17.6) <sup>a</sup>	4 (10.8) <sup>a</sup>	3 (1.6) <sup>a</sup>
<i>Abruptio placentae</i>	14 (0.3)	3 (17.6) <sup>a</sup>	0 (0.0)	2 (1.1)
Eclampsia	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)

Los datos se muestran como media (desviación estándar), excepto si se menciona en la tabla de otro modo, para variables continuas y como n (%) para variables categóricas. El análisis estadístico se realizó comparando cada grupo de PE/CIR con el grupo de No PE/CIR. Para las diferencias significativas, los contrastes entre grupos se realizaron empleando el test de Chi cuadrado o el test exacto de Fisher para variables categóricas y el T-test o el test no paramétrico U de Mann-Whitney para variables continuas, todas ellas con corrección de Bonferroni post-hoc. <sup>a</sup> Nivel crítico de significación estadística  $p < 0.017$ . PE, preeclampsia; CIR, crecimiento intrauterino restringido; s, semanas; HELLP, hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y plaquetopenia (completo: 3 criterios; incompleto: 2 criterios).

## 10.5 Material suplementario del segundo artículo.

**Fig S1.** Estudio de concordancia Bland-Altman entre Roche (Elecsys®) y Kryptor para (A) sFlt-1, (B) PIGF y (C) ratio sFlt-1/PIGF.



**Fig S2.** Curvas Receiver–operating characteristics (ROC) de sFlt-1, PIGF y cociente sFlt-1/PIGF con Roche (Elecsys®) y Kryptor para la detección de PE/CIR precoz (<32 semanas) y tardío (≥32 semanas).

Biomarcador	Resultado	Curva ROC	AUC (IC 95%)	P
sFlt-1	PE/CIR precoz		<p><b>Elecsys®</b> 0.976 (0.929 - 1.000)</p> <p><b>Kryptor</b> 0.979 (0.939 - 1.000)</p>	0.916
	PE/CIR tardío		<p><b>Elecsys®</b> 0.519 (0.334 - 0.705)</p> <p><b>Kryptor</b> 0.5278 (0.345 - 0.710)</p>	0.950
PIGF	PE/CIR precoz		<p><b>Elecsys®</b> 0.976 (0.939 - 1.000)</p> <p><b>Kryptor</b> 0.975 (0.937 - 1.000)</p>	0.950

	PE/CIR tardío	<p>ROC curves for PIGF for Roche and Kryptor on Late PE/FGR (delivery &gt;= 32w)</p> <p>Sensitivity</p> <p>1-Specificity</p> <p>Roche ROC area: 0.5667 Kryptor ROC area: 0.5819</p> <p>Reference</p>	<p><b>Elecsys®</b> 0.567 (0.384 - 0.749)</p> <p><b>Kryptor</b> 0.582 (0.405-0.759)</p>	0.906
Cociente sFlt-1/PIGF	PE/CIR precoz	<p>ROC curves for Ratio for Roche and Kryptor on Early PE/FGR (delivery &lt; 32w)</p> <p>Sensitivity</p> <p>1-Specificity</p> <p>Roche ROC area: 0.9832 Kryptor ROC area: 0.9899</p> <p>Reference</p>	<p><b>Elecsys®</b> 0.983 (0.949 - 1.000)</p> <p><b>Kryptor</b> 0.990 (0.968-1.000)</p>	0.748
	PE/CIR tardío	<p>ROC curves for Ratio for Roche and Kryptor on Late PE/FGR (delivery &gt;= 32w)</p> <p>Sensitivity</p> <p>1-Specificity</p> <p>Roche ROC area: 0.5611 Kryptor ROC area: 0.5556</p> <p>Reference</p>	<p><b>Elecsys®</b> 0.561 (0.375 - 0.747)</p> <p><b>Kryptor</b> 0.556 (0.376 - 0.735)</p>	0.966

AUC, área bajo la curva ROC; IC intervalo de confianza; PE, preeclampsia; CIR, crecimiento intrauterino restringido; ROC, Receiver–operating characteristics.

## 10.6 Material suplementario del tercer artículo.

**Material suplementario 1.** Precisión diagnóstica, con una especificidad fijada del 90%, para el cociente sFlt-1/PlGF y para otros parámetros bioquímicos y biofísicos obtenidos al diagnóstico de PE precoz para la predicción de resultados adversos maternos.

Parámetro	Punto de corte	AUC (IC 95%)	Sn (%) (IC 95%)	VPP (%) (IC 95%)	VPN (%) (IC 95%)	LR (+) (IC 95%)
Presión arterial media (mmHg)	122.6 7	0.42 (0.26-0.59)	53.0 (31.3-72.2)	72.2 (51.1-86.6)	79.3 (71.6-85.3)	5.3 (2.1-13.2)
P/Cr en orina (mg/mg)	4.79	0.49 (0.32-0.65)	11 (2.6-31.2)	37.5 (13.5-70.0)	67.7 (63.8-71.3)	1.2 (0.3-4.7)
Creatinina sérica (mg/dL)	0.81	0.55 (0.40-0.70)	11 (2.6-31.2)	37.5 (13.5-70.0)	67.7 (63.8-71.3)	1.2 (0.3-4.7)
Recuento plaquetario (plaquetas/ $\mu$ L)	308.5	0.37 (0.21-0.52)	5.3 (0.1-20.4)	16.7 (2.4-61.9)	65.7 (62.9-68.4)	0.41 (0.1-3.3)
AST (U/L)	32.5	0.53 (0.36-0.70)	16 (4.5-36.1)	44.4 (19.0-73.1)	68.7 (64.4-72.7)	1.63 (0.5-5.6)
Cociente sFlt-1/PlGF	794	0.59 (0.42-0.75)	26.3 (12.1-49.4)	58.3 (33.0-79.9)	71.9 (66.3-76.8)	2.9 (1.0-8.1)

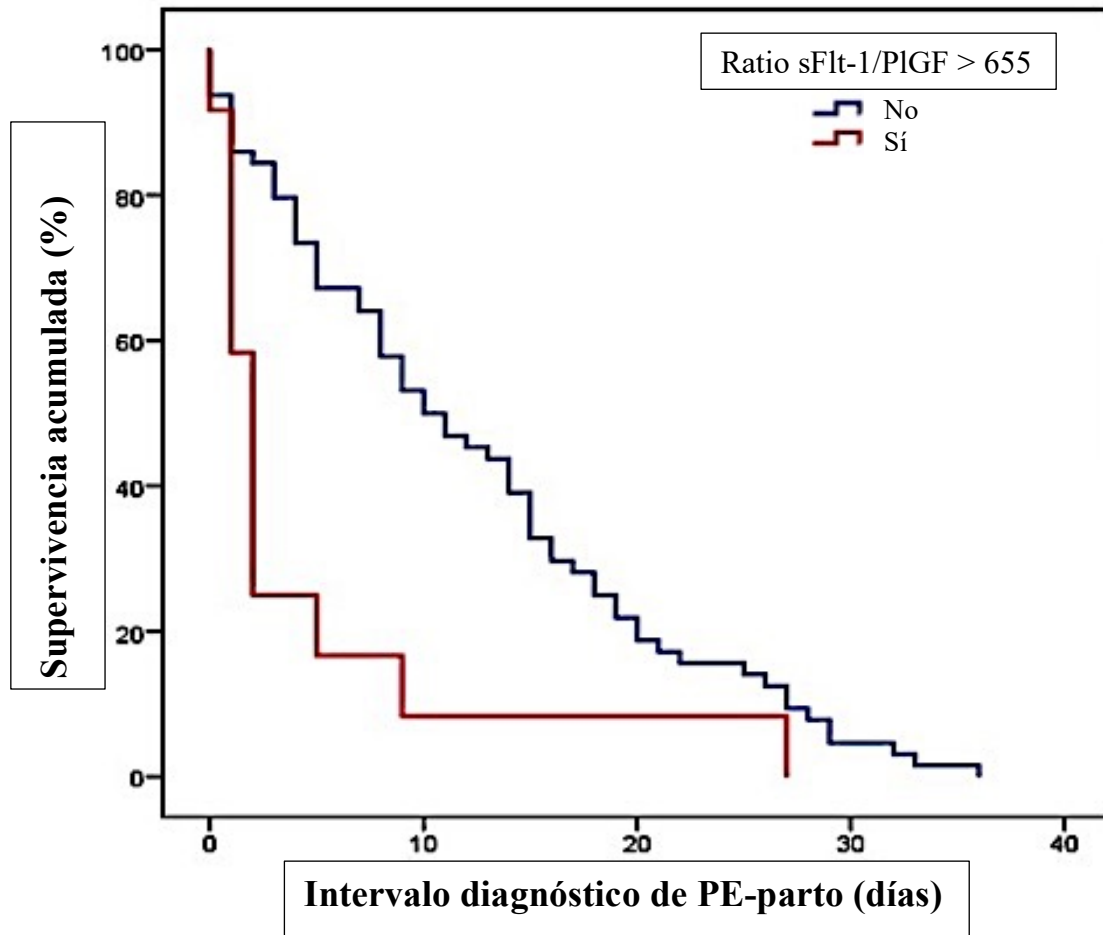
AUC, área bajo la curva; LR (+), razón de probabilidad positiva; VPN, valor predictivo negativo; P/Cr, índice proteínas/creatinina; Sn, sensibilidad; VPP, valor predictivo positivo; IC 95%, intervalo de confianza al 95%.

**Material suplementario 2.** Precisión diagnóstica, con una especificidad fijada del 90%, para el cociente sFlt-1/PlGF y para otros parámetros bioquímicos y biofísicos obtenidos al diagnóstico de PE precoz para la predicción de resultados adversos perinatales.

Parámetro	Punto de corte	AUC (IC 95%)	Sn (%) (IC 95%)	VPP (%) (IC 95%)	VPN (%) (IC 95%)	LR (+) (IC 95%)
Presión arterial media (mmHg)	122.7	0.40 (0.22-0.58)	0 (0.0-13.7)	0 (-)	64.8 (62.7-66.8)	0 (-)
P/Cr en orina (mg/mg)	4.8	0.38 (0.19-0.58)	10 (2.5-31.2)	37.5 (13.5-69.8)	67.7 (63.8-71.3)	1.2 (0.3-4.7)
Creatinina sérica (mg/dL)	0.8	0.46 (0.26-0.65)	10 (2.5-31.2)	37.5 (13.5-69.8)	67.7 (63.8-71.3)	1.2 (0.3-4.7)
Recuento plaquetario (plaquetas/ $\mu$ L)	304.5	0.45 (0.25-0.64)	10 (2.5-31.2)	37.5 (13.5-69.8)	67.7 (63.8-71.3)	1.2 (0.3-4.7)
AST (U/L)	30.5	0.68 (0.49-0.88)	40 (21.1-61.3)	66.7 (43.3-83.9)	75.4 (68.7-81.1)	4.1 (1.6-10.7)
Cociente sFlt-1/PlGF	841.4	0.75 (0.62-0.88)	30 (14.9-53.5)	61.5 (36.8-81.5)	73.0 (67.1-78.2)	3.3 (1.2-8.9)

AUC, área bajo la curva; LR (+), razón de probabilidad positiva; VPN, valor predictivo negativo; P/Cr, índice proteínas/creatinina; Sn, sensibilidad; VPP, valor predictivo positivo; IC 95%, intervalo de confianza al 95%.

**Material suplementario 3.** Curvas Kaplan-Meier de supervivencia hasta el parto en casos de PE precoz con valores del cociente sFlt-1/PlGF por encima del punto de corte de 655.



## 11 BIBLIOGRAFÍA

---

- <sup>1</sup> Steegers EAP, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet* 2010; 376: 633-44.
- <sup>2</sup> Zhang J, Meikle S, Trumble A. Severe maternal morbidity associated with hypertensive disorders in pregnancy in the United States. *Hypertens Pregnancy* 2003; 22: 203-12.
- <sup>3</sup> Barker DJ. Adult consequences of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 2006; 49: 270-283.
- <sup>4</sup> Parker SE, Werler MM. Epidemiology of ischemic placental disease: a focus on preterm gestations. *Semin Perinatol.* 2014; 38: 133-8.
- <sup>5</sup> Menzies J, Magee LA, Macnab YC, Ansermino JM, Li J, Douglas MJ *et al.* Current CHS and NHBPEP criteria for severe preeclampsia do not uniformly predict adverse maternal or perinatal outcomes. *Hypertens Pregnancy* 2007; 26: 447-62
- <sup>6</sup> Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstet Gynecol.* 2020; 135: e237-e260.
- <sup>7</sup> Unterscheider J, Daly S, Geary MP, Kennelly MM, McAuliffe FM, O'Donoghue K *et al.* Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: The multicenter prospective PORTO Study. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 208: 290. e1-6.
- <sup>8</sup> Ghosh GS, Gudmundsson S: Uterine and umbilical artery Doppler are comparable in predicting perinatal outcome of growth-restricted fetuses. *Br J Obstet Gynaecol* 2009; 116: 424-430.
- <sup>9</sup> Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005; 365: 785-99.
- <sup>10</sup> Bell MJ. A historical overview of preeclampsia-eclampsia. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.* 2010; 39: 510-8.
- <sup>11</sup> Levine RJ, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol* 2005; 48: 372-86.
- <sup>12</sup> Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF *et al.* Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *NEJM* 2004; 350: 672-83.
- <sup>13</sup> Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ *et al.* Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation* 2012; 125: 911-9.
- <sup>14</sup> Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H *et al.* The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 206: 58.e1-8.



- 
- <sup>15</sup> Schaarschmidt W, Rana S, Stepan H. The course of angiogenic factors in early- vs. late-onset preeclampsia and HELLP syndrome. *J Perinat Med* 2013; 41: 511-6.
- <sup>16</sup> Peguero A, Fernandez-Blanco L, Mazarico E, Benitez L, Gonzalez A, Youssef L *et al.* Added prognostic value of longitudinal changes of angiogenic factors in early-onset severe pre-eclampsia: a prospective cohort study. *BJOG* 2021; 128: 158-65.
- <sup>17</sup> Duhig KE, Myers J, Sparkes J, Lowe J, Hunter RM *et al.*: PARROT trial group. Placental growth factor testing to assess women with suspected pre-eclampsia: a multicentre, pragmatic, stepped-wedge cluster-randomised controlled trial. *Lancet* 2019; 393: 1807-18.
- <sup>18</sup> Akelokar R, Syngelaki A, Sarquis R, Zvanca M, Nicolaides KH. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11 - 13 weeks. *Prenat Diagn* 2011; 31: 66-74.
- <sup>19</sup> Herraiz I, Gómez-Arriaga PI, Gómez-Montes E, Gavilán C, López-Jiménez A, Arbues J *et al.* Uterine arteries resistances above the 95th centile in the second trimester scan: time to look back at the first-trimester PAPP-A value? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 38 (Suppl. 1): 81-2.
- <sup>20</sup> Herraiz I. Cribado combinado del primer trimestre para la predicción de la preeclampsia en gestantes con factores de alto riesgo. Tesis doctoral. 2010. Disponible en: <http://eprints.ucm.es>.
- <sup>21</sup> Poon LC, Galindo A, Surbek D, Chantraine F, Stepan H, Hyett J *et al.* From first-trimester screening to risk stratification of evolving pre-eclampsia in second and third trimesters of pregnancy: comprehensive approach. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2020; 55: 5-12.
- <sup>22</sup> Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO). Protocolos Asistenciales en Obstetricia. Trastornos hipertensivos del embarazo, (2006).
- <sup>23</sup> Herraiz I, Simón E, Gómez-Arriaga PI, Martínez-Moratalla JM, García- Burguillo A, Jiménez EA *et al.* Angiogenesis-related biomarkers (sFlt-1/PLGF) in the prediction and diagnosis of placental dysfunction: an approach for clinical integration, *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16: 19009–26.
- <sup>24</sup> Weiler J, Tong S, Palmer KR. Is fetal growth restriction associated with a more severe maternal phenotype in the setting of early onset pre-eclampsia? A retrospective study. *PloS ONE*. 2011; 6: e26937.
- <sup>25</sup> von Dadelszen P, Magee LA. Preventing deaths due to the hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2016; 36: 83-102.

- 
- <sup>26</sup> Bernstein PS, Divon MY. Etiologies of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol*. 1997; 40: 723-9.
- <sup>27</sup> Hendrix N, Berghella V. Non-placental causes of intrauterine growth restriction. *Semin Perinatol*. 2008; 32: 161-5.
- <sup>28</sup> Savchev S, Figueras F, Sanz-Cortes M, Cruz Lemini M, Triunfo S, Botet F *et al*. Evaluation of an optimal gestational age cut-off for the definition of early- and late-onset fetal growth restriction. *Fetal Diagn Ther*. 2014; 36: 99-105.
- <sup>29</sup> Lin S, Shimizu I, Suehara N, Nakayama M, Aono T. Uterine artery Doppler velocimetry in relation to trophoblast migration into the myometrium of the placental bed. *Obstet Gynecol*. 1995; 85: 760-5.
- <sup>30</sup> Arrue M, García M, Rodríguez-Bengoá MT, Landa JM, Urbietta L, Maiztegui M *et al*. Do low-risk nulliparous women with abnormal uterine artery Doppler in the third trimester have poorer perinatal outcomes? A longitudinal prospective study on uterine artery Doppler in low-risk nulliparous women and correlation with pregnancy outcomes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017; 30: 877-80.
- <sup>31</sup> Oros D, Figueras F, Cruz-Martinez R, Meler E, Munmany M, Gratacos E. Longitudinal changes in uterine, umbilical and fetal cerebral Doppler indices in late-onset small-for-gestational age fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011; 37: 191-5.
- <sup>32</sup> Figueras F, Gratacós E. Update on the diagnosis and classification of fetal growth restriction and proposal of a stage-based management protocol. *Fetal Diagn Ther* 2014; 36: 86–98.
- <sup>33</sup> Report of the National High Blood Pressure Education Program. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: S1-S22.
- <sup>34</sup> Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2013; 122:1122-1131.
- <sup>35</sup> Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO). Trastornos hipertensivos en la gestación, guía de asistencia práctica actualizada en febrero de 2020.
- <sup>36</sup> Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 981–91.
- <sup>37</sup> Douglas KA, Redman CW. Eclampsia in the United Kingdom. *BMJ* 1994; 309: 1395–1400.
- <sup>38</sup> Roberts JM: Pathophysiology of ischemic placental disease. *Semin Perinatol* 2014; 38: 139-45.

- 
- <sup>39</sup> Hagmann H, Thadhani R, Benzing T, Karumanchi SA, Stepan H: The promise of angiogenic markers for the early diagnosis and prediction of preeclampsia. *Clin Chem* 2012; 58: 837-45.
- <sup>40</sup> Burton GJ, Woods AW, Jauniaux E, Kingdom JC: Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta* 2009; 30: 473-82.
- <sup>41</sup> Agrawal S, Cerdeira AS, Redman C, Vatish M. Meta-analysis and systematic review to assess the role of soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placenta growth factor ratio in prediction of preeclampsia: the SaPPPhirE Study. *Hypertension* 2018; 71: 306-16.
- <sup>42</sup> Poon LC, Shennan A, Hyett JA, Kapur A, Hadar E, Divakar H *et al.* The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) Initiative on Preeclampsia (PE): A Pragmatic Guide for First Trimester Screening and Prevention. *Int J Gynaecol Obstet.* 2019; 145 Suppl 1(Suppl 1): 1–33.
- <sup>43</sup> Shevell T, Malone FD, Vidaver J, Porter TF, Luthy DA, Comstock CH *et al.* Assisted reproductive technology and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol.* 2005; 106: 1039-45.
- <sup>44</sup> Storgaard M, Loft A, Bergh C, Wennerholm UB, Söderström-Anttila V, Romundstad LB *et al.* Obstetric and neonatal complications in pregnancies conceived after oocyte donation: a systematic review and meta-analysis. *BJOG.* 2017; 124: 561-72.
- <sup>45</sup> Skjaerven R, Wilcox AJ, Lie RT. The interval between pregnancies and the risk of preeclampsia *N Engl J Med.* 2002; 346: 33-8.
- <sup>46</sup> Paré E, Parry S, McElrath TF, Pucci D, Newton A, Lim KH. Clinical risk factors for preeclampsia in the 21st century. *Obstet Gynecol.* 2014; 124: 763-70.
- <sup>47</sup> Gómez-Roig MD, Pascal R, Cahuana MJ, García-Algar O, Sebastiani G, Andreu-Fernández V *et al.* Environmental Exposure during Pregnancy: Influence on Prenatal Development and Early Life: A Comprehensive Review. *Fetal Diagn Ther* 2021; 48: 245-57.
- <sup>48</sup> Rolnik DL, Wright D, Poon LC, Syngelaki A, O’Gorman N, de Paco Matallana C *et al.* ASPRE trial: performance of screening for preterm pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017; 50: 492-5.
- <sup>49</sup> Roberts JM, Catov JM. Preeclampsia more than 1 disease or is it? *Hypertension* 2008; 51: 989-90.
- <sup>50</sup> Raymond D, Peterson E. A critical review of early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv* 2011; 66:497-506.

- 
- <sup>51</sup> Litwinska M, Syngelaki A, Wright A, Wright D, Nicolaides KH. Management of pregnancies after combined screening for pre-eclampsia at 19-24 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018; 52: 365-72.
- <sup>52</sup> Cerdeira AS, Agrawal S, Staff AC, Redman CW, Vatish M. Angiogenic factors: potential to change clinical practice in pre-eclampsia? *BJOG* 2018; 125: 1389-95.
- <sup>53</sup> Martin AM, Bindra R, Curcio P, Cicero S, Nicolaides KH. Screening for preeclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 18: 583–6.
- <sup>54</sup> Cnossen JS, ter Riet G, Mol BW, van der Post JA, Leeftang MM, Meads CA *et al.* Are tests for predicting pre-eclampsia good enough to make screening viable? A review of reviews and critical appraisal. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2009; 88: 758-65.
- <sup>55</sup> Rolnik DL, Wright D, Poon LC, O'Gorman N, Syngelaki A, de Paco Matallana C *et al.* Aspirin versus Placebo in Pregnancies at High Risk for Preterm Preeclampsia. *N Engl J Med.* 2017; 377: 613-22.
- <sup>56</sup> Sotiriadis A, Hernandez-Andrade E, da Silva Costa F, Ghi T, Glanc P, Khalil A *et al.* ISUOG CSC Pre-eclampsia Task Force. ISUOG Practice Guidelines: role of ultrasound in screening for and follow-up of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2019; 53: 7-22.
- <sup>57</sup> García B, Llurba E, Valle L, Gómez-Roig MD, Juan M, Pérez-Matos C *et al.* Do knowledge of uterine artery resistance in the second trimester and targeted surveillance improve maternal and perinatal outcome? UTOPIA study: a randomized controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 680-9.
- <sup>58</sup> Gómez-Arriaga PI, Herraiz I, López-Jiménez EA, Escribano D, Denk B, Galindo A. Uterine artery Doppler and sFlt-1/PIGF ratio: prognostic value in early-onset pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 43: 525-32.
- <sup>59</sup> Stepan H, Herraiz I, Schlembach D, Verlohren S, Brennecke S, Chantraine F *et al.* Implementation of the sFlt-1/PIGF ratio for prediction and diagnosis of pre-eclampsia in singleton pregnancy: implications for clinical practice. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015; 45: 241-6.
- <sup>60</sup> Chappell LC, Duckworth S, Seed PT, Griffin M, Myers J, Mackillop L *et al.* Diagnostic accuracy of placental growth factor in women with suspected preeclampsia: a prospective multicenter study. *Circulation* 2013; 128: 2121-31.
- <sup>61</sup> The National Institute for Health and Care Excellence (NICE) Diagnostics Assessment Panel. PIGF-based testing to help diagnose suspected pre-eclampsia (Triage PIGF test,

---

Elecsys immunoassay sFlt-1/PlGF ratio, DELFIA Xpress PlGF 1-2-3 test, and BRAHMS sFlt-1 Kryptor/BRAHMS PlGF plus Kryptor PE ratio). Available at: <https://www.nice.org.uk/guidance/dg23>. 2016. [Accessed March 2018].

<sup>62</sup> Zeisler H, Llurba E, Chantraine FJ, Vatish M, Staff AC, Sennström M *et al*. Soluble fms-like tyrosine kinase-1 to placental growth factor ratio: ruling out pre-eclampsia for up to 4 weeks and value of retesting. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019; 53: 367-75.

<sup>63</sup> Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG *et al*. An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2010 ;202: 161.e1-11.

<sup>64</sup> Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M *et al*. Predictive value of the sFlt-1:PlGF ratio in women with suspected preeclampsia. *N Engl J Med* 2016; 374: 13-22.

<sup>65</sup> Rana S, Schnettler WT, Powe C, Wenger J, Salahuddin S, Cerdeira AS *et al*. Clinical characterization and outcomes of preeclampsia with normal angiogenic profile. *Hypertens Pregnancy*. 2013; 32: 189-201.

<sup>66</sup> Vatish M, Strunz-McKendry T, Hund M, Allegranza D, Wolf C, Smare C. sFlt-1/PlGF ratio test for pre-eclampsia: an economic assessment for the UK. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 48: 765-71.

<sup>67</sup> Schnettler W, Dukhovny D, Wenger J, Salahuddin S, Ralston RJ, Rana S. Cost and resource implications with serum angiogenic factor estimation in the triage of pre-eclampsia. *BJOG* 2013; 120: 1224–32.

<sup>68</sup> Sovio U, Gaccioli F, Cook E, Hund M, Charnock-Jones DS, Smith GC. Prediction of Preeclampsia Using the Soluble fms-Like Tyrosine Kinase 1 to Placental Growth Factor Ratio: A Prospective Cohort Study of Unselected Nulliparous Women. *Hypertension*. 2017; 69: 731-8.

<sup>69</sup> De La Calle M, Delgado JL, Verlohren S, Escudero AI, Bartha JL, Campillos JM *et al*. Gestational Age-Specific Reference Ranges for the sFlt-1/PlGF Immunoassay Ratio in Twin Pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 2021; 48: 288-96. .

<sup>70</sup> Dröge L, Herraiz I, Zeisler H, Schlembach D, Stepan H, Küssel L *et al*. Maternal serum sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies with and without pre-eclampsia in comparison with singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 286-93.

<sup>71</sup> Faupel-Badger JM, McElrath TF, Lauria M, Houghton LC, Lim KH, Parry S *et al*. Maternal circulating angiogenic factors in twin and singleton pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 212: 636.e1-e8.

- 
- <sup>72</sup> Llurba E, Sánchez O, Ferrer Q, Nicolaides KH, Ruiz A, Domínguez C *et al.* Maternal and foetal angiogenic imbalance in congenital heart defects. *Eur Heart J* 2014; 35: 701-7.
- <sup>73</sup> Agarwal I, Karumanchi SA. Preeclampsia and the Anti-Angiogenic State. *Pregnancy Hypertens* 2011; 1: 17-21.
- <sup>74</sup> Herraiz I, Dröge LA, Gómez-Montes E, Henrich W, Galindo A, Verlohren S. Characterization of the soluble fms-like tyrosine kinase-1 to placental growth factor ratio in pregnancies complicated by Fetal Growth Restriction. *Obstet Gynecol* 2014; 124: 265-73.
- <sup>75</sup> Stubert J, Ullmann S, Bolz M, Külz T, Dieterich M, Richter DU *et al.* Prediction of preeclampsia and induced delivery at <34 weeks gestation by sFLT-1 and PlGF in patients with abnormal midtrimester uterine Doppler velocimetry: A prospective cohort analysis. *BMC Pregnancy Childbirth* 2014; 14: 292.
- <sup>76</sup> The National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. NICE Guidelines (CG107). 2011. Sustituida por NICE guideline NG133, disponible en: <https://www.nice.org.uk/guidance/cg107>. [Accedido en octubre 2021].
- <sup>77</sup> Cnossen JS, Morris RK, ter Riet G, Mol BW, vanderPost JA, Coomarasamy A *et al.* Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis. *CMAJ* 2008; 178: 701-11.
- <sup>78</sup> Figueras F, Meler E, Iraola A, Eixarch E, Coll O, Figueras J *et al.* Customized birthweight standards for a Spanish population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008; 136: 20-4.
- <sup>79</sup> Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Zeisler H, Calda P *et al.* New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia, Hypertension. 2014; 63: 346-52.
- <sup>80</sup> Stepan H, Unversucht A, Wessel N, Faber R. Predictive value of maternal angiogenic factors in second trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion. *Hypertension* 2007; 49: 818-24.
- <sup>81</sup> Crispi F, Llurba E, Domínguez C, Martín-Gallán P, Cabero L, Gratacós E. Predictive value of angiogenic factors and uterine artery Doppler for early- versus late-onset

---

preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 31: 303–9.

<sup>82</sup> American College of Obstetrics and Gynecology. Method for estimating due date. Committee Opinion No. 611. *Obstet Gynecol*. 2014; 124: 863–6.

<sup>83</sup> Albaiges G, Missfelder-Lobos H, Lees C, Parra M, Nicolaides KH. One-stage screening for pregnancy complications by color Doppler assessment of the uterine arteries at 23 weeks' gestation. *Obstet Gynecol* 2000; 96: 559–64.

<sup>84</sup> Hadlock FP, Harrist RB, Sharman RS, Deter RL, Park SK. Estimation of fetal weight with the use of head, body, and femur measurements: a prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151: 333–7.

<sup>85</sup> Baschat AA, Gembruch U. The cerebroplacental Doppler ratio revisited. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 21: 124–7.

<sup>86</sup> Gardosi J, Francis A. Customized Weight Centile Calculator, GROW version 6.7.8.6 (ES), Gestation Network, 2016.

<sup>87</sup> Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap) – a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform* 2009; 42: 377–81.

<sup>88</sup> Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, Papageorghiou A, Baschat AA, Baker PN *et al*. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 48: 333–9.

<sup>89</sup> Litwinska M, Wright D, Efeturk T, Ceccacci I, Nicolaides KH. Proposed clinical management of pregnancies after combined screening for pre-eclampsia at 19–24 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 50: 367–72.

<sup>90</sup> Verlohren S, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff A, Sennström M *et al*. The sFlt-1/PIGF ratio can rule out preeclampsia for up to four weeks in women with suspected preeclampsia (abstract). *Pregn Hypertens* 2016; 6: 140–1.

<sup>91</sup> Dragan I, Georgiou T, Prodan N, Akolekar R, Nicolaides KH. Screening for preeclampsia using sFlt-1/PIGF ratio cut-off of 38 at 30–37 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49: 73–7.

<sup>92</sup> Vatish M, Stepan H, Hund M, Verlohren S. Re: screening for preeclampsia using sFlt-1/PIGF ratio cut-off of 38 at 30–37 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49: 665–6.

<sup>93</sup> Belghiti J, Kayem G, Tsatsaris V, Goffinet F, Sibai BM, Haddad B. Benefits and risks of expectant management of severe preeclampsia at less than 26 weeks gestation: the

---

impact of gestational age and severe fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 205: 465.e1–e 6.

<sup>94</sup> Committee Opinion No 638. First-trimester risk assessment for early-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2015; 126: e25–27.

<sup>95</sup> Ananth CV, Smulian JC, Vintzileos AM. Ischemic placental disease: maternal versus fetal clinical presentations by gestational age. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010; 23: 887–93.

<sup>96</sup> Duley L. The global impact of preeclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol* 2009; 33: 130–7.

<sup>97</sup> Lees C, Marlow N, Arabin B, Bilardo CM, Brezinka C, Derks JB *et al.* Perinatal morbidity and mortality in early-onset fetal growth restriction: cohort outcomes of the trial of randomized umbilical and fetal flow in Europe (TRUFFLE). *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 42: 400–8.

<sup>98</sup> Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. *Semin Perinatol* 2012; 36: 56–9.

<sup>99</sup> Ukah UV, Mbofana F, Rocha BM, Loquiha O, Mudenyanga C, Usta M *et al.* Diagnostic performance of placental growth factor in women with suspected preeclampsia attending antenatal facilities in Maputo, Mozambique. *Hypertension* 2017; 69: 469–74.

<sup>100</sup> Perales A, Delgado JL, de la Calle M, García-Hernández JA, Escudero AI, Campillos JM *et al.* sFlt-1/PlGF for prediction of early-onset preeclampsia: STEPS (Study of Early Pre-eclampsia in Spain). *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 50: 373–82.

<sup>101</sup> Salahuddin S, Wenger JB, Zhang D, Thadhani R, Karumanchi SA, Rana S. KRYPTOR-automated angiogenic factor assays and risk of preeclampsia-related adverse outcomes. *Hypertens Pregnancy* 2016; 35: 330–45.

<sup>102</sup> Palomaki GE, Haddow JE, Haddow HR, Salahuddin S, Geahchan C, Cerdeira AS *et al.* Modeling risk for severe adverse outcomes using angiogenic factor measurements in women with suspected preterm preeclampsia. *Prenat Diagn* 2015; 35: 386–93.

<sup>103</sup> Law LW, Sahota DS, Chan LW, Chen M, Lau TK, Leung TY. Effect of long-term storage on placental growth factor and fms-like tyrosine kinase 1 measurements in samples from pregnant women *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010; 23: 1475–80.

<sup>104</sup> van Helden J, Weiskirchen R. Analytical evaluation of the novel soluble fms-like tyrosine kinase 1 and placental growth factor assays for the diagnosis of preeclampsia. *Clin Biochem* 2015; 48: 1113–9.



- 
- <sup>105</sup> Andersen LB, Frederiksen-Møller B, Work Havelund K, Dechend R, Jørgensen JS, Jensen BL *et al.* Diagnosis of preeclampsia with soluble Fms-like tyrosine kinase 1/placental growth factor ratio: an inter-assay comparison. *J Am Soc Hypertens* 2015; 9: 86–96.
- <sup>106</sup> Chan SL, Rana S, Chinthala S, Salahuddin S, Yeo KJ. Analytical validation of soluble fms-like tyrosine and placental growth factor assays on B·R·A·H·M·S KRYPTOR Compact Plus automated immunoassay platform. *Pregnan Hypertens* 2018; 11: 66–70.
- <sup>107</sup> Nucci M, Poon LC, Demirdjian G, Darbouret B, Nicolaides KH. Maternal serum placental growth factor (PlGF) isoforms 1 and 2 at 11–13 weeks' gestation in normal and pathological pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 2014; 36: 106–16.
- <sup>108</sup> McCarthy FP, Gill C, Seed PT, Bramham K, Chappell LC, Shennan AH. Comparison of three commercially available placental growth factor-based tests in women with suspected preterm pre-eclampsia: the COMPARE study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2019; 53: 62–7.
- <sup>109</sup> Stepan H, Hund M, Dilba P, Sillman J, Schlembach D. Elecsys®, Kryptor immunoassays for the measurement of sFlt-1 and PlGF to aid preeclampsia diagnosis: are they comparable? *Clin Chem Lab Med* 2019; 57: 1339–48.
- <sup>110</sup> Mol BWJ, Roberts CT, Thangaratinam S, Magee LA, de Groot CJM, Hofmeyr GJ. Preeclampsia. *The Lancet* 2016; 387: 999–1011.
- <sup>111</sup> Haddad B, Sibai BM. Expectant management in pregnancies with severe preeclampsia. *Semin Perinatol* 2009; 33: 143–51.
- <sup>112</sup> von Dadelszen P, Menzies JM, Payne B, Magee LA. Predicting adverse outcomes in women with severe preeclampsia. *Semin Perinatol* 2009; 33: 152–7.
- <sup>113</sup> Langenveld J, Broekhuijsen K, van Baaren GJ, van Pampus MG, van Kaam AH, Groen H *et al.* Induction of labour versus expectant monitoring for gestational hypertension or mild pre-eclampsia between 34 and 37 weeks' gestation (HYPITAT-II): a multi- centre, open-label randomised controlled trial. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2011; 7; 11:50.
- <sup>114</sup> Romero R, Nien JK, Espinoza J, Todem D, Fu W, Chung H *et al.* A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 2008; 21: 9–23.

- 
- <sup>115</sup> Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S *et al.* Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003; 111: 649–58.
- <sup>116</sup> Herraiz I, Llurba E, Verlohren S, Galindo A. Update on the diagnosis and prognosis of preeclampsia with the aid of the sFlt-1/ PIGF ratio in singleton pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 2018; 43: 81–9.
- <sup>117</sup> Villalaín C, Herraiz I, Valle L, Mendoza M, Delgado JL, Vázquez-Fernández M *et al.* Maternal and perinatal outcomes associated with extremely high values for the sFlt- 1 (soluble fms-like tyrosine kinase 1)/PIGF (placental growth factor) ratio. *J Am Heart Assoc* 2020;9: e015548.
- <sup>118</sup> The National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. NICE Guidelines (NG133). Disponible: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng133>. 2019. [Último acceso: octubre 2021].
- <sup>119</sup> Herraiz I, Simón E, Gómez-Arriaga PI, Quezada MS, García-Burguillo A, E.A. López-Jiménez EA *et al.* Clinical implementation of the sFlt-1/PIGF ratio to identify preeclampsia and fetal growth restriction: A prospective cohort study. *Pregnancy Hypertension* 2018; 13: 279–85.
- <sup>120</sup> Sibai BM, Mercer BM, Schiff E, Friedman SA. Aggressive versus expectant management of severe preeclampsia at 28 to 32 weeks' gestation: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 818–22.
- <sup>121</sup> Vigil-De Gracia P, Reyes Tejada O, Calle Miñaca A, Tellez G, Chon VY, Herrarte E *et al.* Expectant management of severe preeclampsia remote from term: the MEXPRE Latin Study, a randomized, multicenter clinical trial. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 209: 425.e1–8.
- <sup>122</sup> Zhang J, Klebanoff MA, Roberts JM. Prediction of adverse outcomes by common definitions of hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2001; 97: 261–7.
- <sup>123</sup> Duhig KE, Seed PT, Myers JE, Bahl R, Bambridge G, Barnfield S *et al.* Placental growth factor testing for suspected preeclampsia: a cost-effectiveness analysis. *BJOG* 2019; 126: 1390–8.
- <sup>124</sup> Kim YN, Lee DS, Jeong DH, Sung MS, Kim KT. The relationship of the level of circulating antiangiogenic factors to the clinical manifestations of preeclampsia. *Prenat Diagn* 2009; 29: 464–70.

- 
- <sup>125</sup> Dehaene I, Page AS, Page GH. Association between antenatal corticosteroid administration-to-birth interval and outcomes of preterm neonates. *Obstet Gynecol* 2015; 126: 896.
- <sup>126</sup> Ukah UV, Payne B, Hutcheon JA, Ansermino JM, Ganzevoort W, Thangaratinam S *et al.* Assessment of the fullPIERS Risk Prediction Model in Women With Early-Onset Preeclampsia. *Hypertension* 2018; 71: 659–65.
- <sup>127</sup> Stepan H, Hund M, Andrzejek T. Combining Biomarkers to Predict Pregnancy Complications and Redefine Preeclampsia: The Angiogenic-Placental Syndrome. *Hypertension*. 2020; 75: 918-26.
- <sup>128</sup> Duhig KE, Myers J, Seed PT, Sparkes J, Lowe J, Hunter RM *et al.* Placental growth factor testing to assess women with suspected pre-eclampsia: a multicentre, pragmatic, stepped-wedge cluster-randomised controlled trial. *Lancet* 2019; 393: 1807-18.
- <sup>129</sup> Peguero A, Herraiz I, Perales A, Melchor JC, Melchor I, Marcos B, *et al.* Placental growth factor testing in the management of late preterm preeclampsia without severe features: a multicenter, randomized, controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*. 2021; 225: 308.e1-14.