

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

**UAB**

Universitat Autònoma  
de Barcelona

Programa de Doctorado en Medicina

Departamento de Medicina

**TESIS DOCTORAL**

**IMPLICACIÓN DE LOS FACTORES ANGIOGÉNICOS  
EN EL RIESGO CARDIOVASCULAR DE  
LAS MUJERES CON PREECLAMPSIA**

Carmen Garrido Giménez

**Directores**

Elisa Llurba Olivé

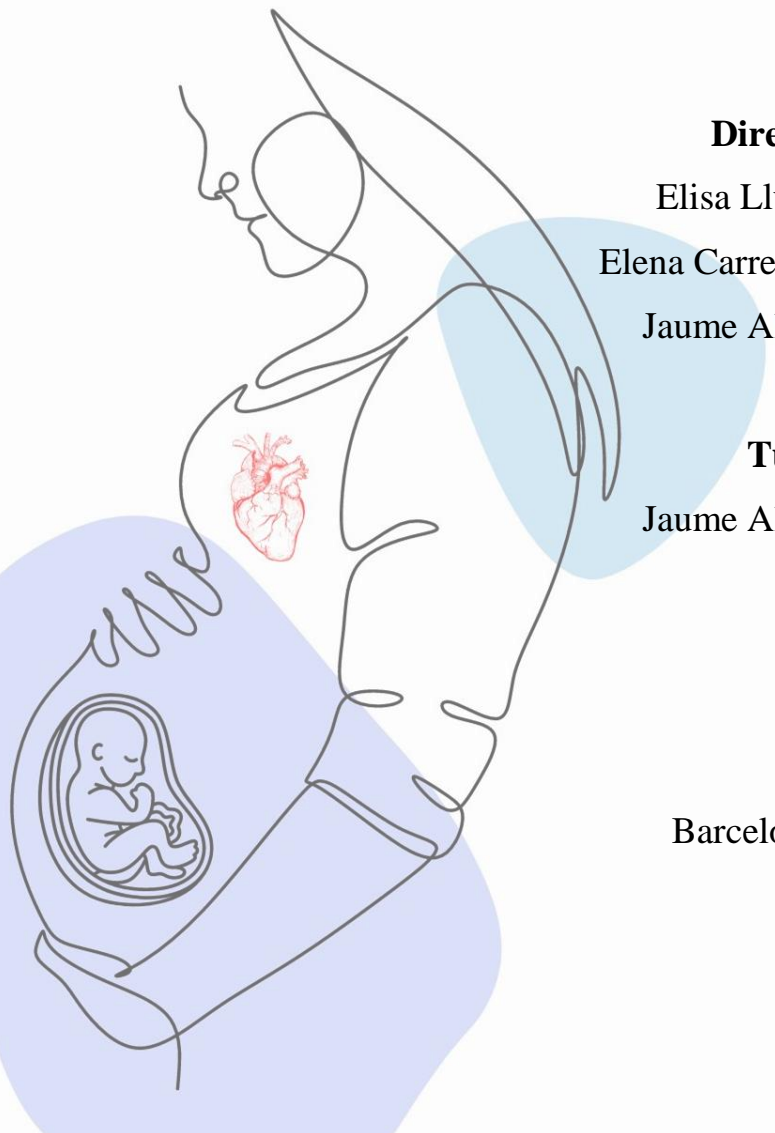
Elena Carreras Moratonas

Jaume Alijotas Reig

**Tutor**

Jaume Alijotas Reig

Barcelona, 2023





**Programa de Doctorado en Medicina**

**Departamento de Medicina**

**TESIS DOCTORAL**

**IMPLICACIÓN DE LOS FACTORES ANGIOGÉNICOS  
EN EL RIESGO CARDIOVASCULAR DE  
LAS MUJERES CON PREECLAMPSIA**

**Carmen Garrido Giménez**

**Directores**

Elisa Llurba Olivé

Elena Carreras Moratona

Jaume Alijotas Reig

**Tutor**

Jaume Alijotas Reig

Barcelona, 2023



# AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a todas las mujeres que han participado voluntariamente en los estudios, ya que su colaboración altruista nos permite seguir investigando para mejorar la salud femenina.

A todas las compañeras y compañeros del Hospital Vall Hebron y del Hospital Sant Pau que, a pesar de la sobrecarga asistencial, colaboran con ilusión en múltiples proyectos de investigación. Agradezco a los coautores de los artículos publicados por su gran ayuda, profesionalidad y por el valioso tiempo que han invertido en el proyecto. En especial me gustaría mencionar a dos compañeros que han sido piezas clave para sacar adelante esta tesis: Manel Mendoza, gracias por tu paciencia y por sacarme una sonrisa en momentos difíciles; Mónica Cruz, gracias por mostrarme luz en momentos de oscuridad y por tu gran compañerismo. También agradecer a Paco Álvarez y Fran Carretero su disponibilidad a pesar de la distancia, y a los compañeros de otros hospitales por su trabajo para reclutar el mayor número de participantes.

A mis directores por su cercanía y accesibilidad durante estos años. A Jaume Alijotas, que desde R1 fomentó mi espíritu investigador, y siempre me ha dado buenos consejos. A Elena Carreras por guiarme durante la residencia y primeros años de profesión. A Elisa Llurba, impulsora principal de este proyecto, y con quien llevo 6 años compartiendo algunas de las vivencias más importantes de mi vida personal y profesional. Gracias Elisa por tu confianza, cariño y por darme la oportunidad de seguir creciendo profesionalmente a tu lado.

Finalmente quiero agradecer a mi familia y amigos por todo el apoyo, cariño y por hacer mi día a día más divertido, sobre todo con los cafelitos mañaneros (Medina, Ramos, Carla, Joana, Irra, muchas gracias). A mi madre, por quererme incondicionalmente y estar

siempre dispuesta a echarme una mano. A Javi, por ser el mejor compañero de vida y mi pilar en momentos difíciles. A mi hijo David porque, a pesar de ponérmelo un poquito difícil por las noches, durante los últimos 3 años me ha dado muchas alegrías y ha llenado mi vida de amor y felicidad.

A todos, gracias, sin vosotros no lo habría logrado.

# ABREVIATURAS

AAF:	anticuerpos antifosfolípidos
ADAMTS-13:	disintegrin-like metalloprotease with repeat-13 thrombospondine type 1
AHA:	American Heart Association
ASA:	American Stroke Association
Apo-A1:	apolipoproteína A1
ASM:	esfingomielinasa ácida
AT <sub>1</sub> -AAs:	receptor de angiotensina II tipo 1
BNP:	péptido natriurético de tipo B
CIR:	crecimiento intrauterino restringido
CV:	cardiovascular
ECV:	enfermedad cardiovascular
ESC:	European Society of Cardiology
FEVI:	fracción de eyección del ventrículo izquierdo
GIMc:	grosor íntima-media carotídea
HbA1c:	hemoglobina glicosilada
HDL:	lipoproteínas de alta densidad
HELLP:	Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet
HTA:	hipertensión arterial
ICAM-1:	molécula de adhesión intracelular-1
IFN- $\gamma$ :	interferón-gamma
IL:	interleuquina
IMC:	índice de masa corporal



IP:	índice de pulsatilidad
ISSHP:	International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy
KIR:	killer cell immunoglobulin-like receptors
LDL:	lipoproteínas de baja densidad
MCPD:	miocardiopatía periparto
MML:	modelo machine learning
NICE:	National Institute for Health and Care Excellence
NK:	Natural Killer
NT-proBNP:	porción N-terminal del pro-péptido natriurético cerebral tipo B
ON:	óxido nítrico
p:	percentil
PAI-1:	inhibidor del activador de plasminógeno-1
PAM:	presión arterial media
PAPP-A:	proteína plasmática asociada al embarazo
PAPs:	presión arterial pulmonar sistólica
PCR:	proteína C reactiva
PE:	preeclampsia
PFE:	peso fetal estimado
PIGF:	factor de crecimiento placentario
PN:	péptidos natriuréticos
sFlt-1:	forma soluble del receptor tirosina quinasa-1
sEng:	endoglina soluble
SLG:	<i>strain</i> longitudinal global
TNF- $\alpha$ :	factor de necrosis tumoral alfa

TA:	tensión arterial
TAD:	tensión arterial diastólica
TAPSE:	excursión sistólica del plano anular del anillo tricuspídeo
TAS:	tensión arterial sistólica
TGF- $\beta$ :	factor transformador de crecimiento beta
TVP:	trombosis venosa profunda
TXA2:	tromboxano A2
UCI:	unidad de curas intensivas
VCAM-1:	molécula de adhesión de células vasculares-1
VEGF:	factor de crecimiento endotelial vascular
VPN:	valor predictivo negativo
VPP:	valor predictivo positivo
2D-STE:	ecocardiografía bidimensional <i>speckle-tracking</i>



# ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN .....	11
SUMMARY .....	13
1. INTRODUCCIÓN.....	17
1.1 Definición y clasificación de la preeclampsia .....	17
1.2 Epidemiología y factores de riesgo.....	20
1.3 Fisiopatología de la preeclampsia.....	21
1.3.1 Invasión trofoblástica deficiente .....	23
1.3.2 Factores inmunológicos y genéticos .....	23
1.3.3 Respuesta inflamatoria y estrés oxidativo.....	25
1.3.4 Desequilibrio angiogénico .....	26
1.3.5 Disfunción endotelial .....	29
1.4 Aportación del ratio sFlt-1/PlGF en el diagnóstico y manejo de la preeclampsia	30
1.5 Relación entre preeclampsia y enfermedad cardiovascular.....	32
1.6 Factores angiogénicos y riesgo cardiovascular.....	35
1.7 Otros biomarcadores de la preeclampsia .....	37
1.7.1 Ácido úrico.....	37
1.7.2 Péptidos natriuréticos .....	37
2. HIPÓTESIS .....	43
3. OBJETIVOS.....	47
3.1 Objetivo principal .....	47
3.2 Objetivos secundarios .....	47
4. COMPENDIO DE PUBLICACIONES .....	51
4.1 Primer artículo .....	51
4.2 Segundo artículo .....	65
5. RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS.....	85
5.1 Primer trabajo .....	85

5.2 Segundo trabajo .....	97
6. RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN .....	109
6.1 Fortalezas y limitaciones del proyecto.....	124
6.2 Implicaciones clínicas .....	126
7. CONCLUSIONES.....	133
8. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN .....	137
10. ANEXOS .....	165
10.1 Financiación.....	165
10.2 Informe del Comité Ético de Investigación Clínica (1r estudio) .....	166
10.3 Informe del Comité Ético de Investigación Clínica (2º estudio) .....	170
10.4 Hoja de información y consentimiento informado (1r estudio).....	172
10.5 Hoja de información y consentimiento informado (2º estudio).....	176
10.6 Perceived Stress Scale (PSS) .....	181

## RESUMEN

La preeclampsia (PE) es la complicación médica más frecuente del embarazo. Representa una de las principales causas de morbi-mortalidad materna y perinatal a nivel mundial, especialmente aquellos casos graves y de aparición precoz. En la PE existe una mala adaptación cardiovascular que, junto con la disfunción endotelial, conllevan un escenario de daño cardiovascular. No se conoce exactamente cuál es el mecanismo subyacente ni porqué las PE más graves y precoces son las que asocian peor función cardíaca. Estas alteraciones pueden persistir postparto, y la PE se reconoce como un factor de riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular en el futuro.

El desequilibrio entre los factores angiogénicos y antiangiogénicos juega un papel importante en la fisiopatología de la PE: aumenta el factor antiangiogénico de la forma soluble del receptor tipo tirosina quinasa-1 (sFlt-1) y disminuye el factor proangiogénico factor de crecimiento placentario (PlGF). El ratio sFlt-1/PlGF se emplea como herramienta clínica en el manejo de las gestantes con sospecha clínica de PE, con una elevada sensibilidad y especificidad para la detección de PE y de sus complicaciones graves.

La hipótesis de esta tesis es que el desequilibrio entre los factores angiogénicos y antiangiogénicos determina el daño cardiovascular y el pronóstico de la PE; y que, por otro lado, las gestantes con peor perfil angiogénico durante el embarazo tienen mayor riesgo de desarrollar complicaciones cardiovasculares en el futuro. Para tal fin, se ha evaluado la combinación del ratio sFlt-1/PlGF con un marcador de daño cardíaco (la porción N-terminal del pro-péptido natriurético cerebral tipo B, NT-proBNP) y el ácido úrico para la predicción de PE pretérmino. En segundo lugar, se han asociado los factores

angiogénicos durante la gestación con parámetros de evaluación del riesgo cardiovascular ~12 años después.

Con los resultados obtenidos podemos concluir que la combinación del ratio sFlt-1/PlGF, el NT-proBNP y el ácido úrico mejora la capacidad predictiva de PE pretérmino del ratio sFlt-1/PlGF, aumentando potencialmente la precisión clínica. Además, se ha constatado que las mujeres con niveles disminuidos de PlGF durante el embarazo asocian cifras tensionales más altas, peor perfil lipídico y mayor remodelado cardíaco ~12 años después. Las mujeres con PE y peor perfil angiogénico durante la gestación también presentan mayor grosor de la capa media-intima de la carótida a largo plazo, aumentando su predisposición a la aterosclerosis. Por lo tanto, los factores angiogénicos pueden ayudar a identificar las mujeres con mayor riesgo cardiovascular en el futuro, con el objetivo de poder optimizar las medidas preventivas después del parto.

## SUMMARY

Preeclampsia (PE) is the most common pregnancy complication that represents one of the main causes of maternal and perinatal morbidity and mortality worldwide, especially severe and early-onset forms. In PE there exists a poor cardiovascular adaptation and, together with endothelial dysfunction, this leads to a scenario of cardiovascular damage. The underlying mechanism is not well known, nor why the more severe and early-onset PE presents, the more cardiac dysfunction. These alterations persist postpartum, and are recognized as risk factors for future cardiovascular disease.

The imbalance between angiogenic and antiangiogenic factors plays an important role in the pathophysiology of PE: antiangiogenic factor soluble form of receptor tyrosine kinase-1 (sFlt-1) is increased, and proangiogenic factor placental growth factor (PlGF), is decreased. Therefore, the sFlt-1/PlGF ratio is used as a clinical tool in management of pregnant women with clinical suspicion of PE, with high sensitivity and specificity for detection of PE and its serious complications.

The hypothesis of this thesis is that the imbalance of angiogenic factors determines cardiovascular damage and prognosis of PE and, on the other hand, that women with a greater antiangiogenic pattern during pregnancy have greater risk of developing cardiovascular complications in the future. For this purpose, a combination of sFlt-1/PlGF ratio with biomarker of cardiac damage (N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP) and uric acid for the prediction of preterm PE have been evaluated. Secondly, levels of angiogenic and antiangiogenic factors during pregnancy and cardiovascular risk parameters have been correlated ~ 12 years after pregnancy.



Our results allow to conclude that combination of sFlt-1/PlGF ratio, NT-proBNP and uric acid improves predictive capacity of the sFlt-1/PlGF ratio for preterm PE, increasing clinical precision. In addition, we have verified that women with increased levels of PlGF are associated with higher blood pressure, worse lipid profile and worse myocardial deformation parameters ~12 years later. Women with PE and higher levels of sFlt-1 and decreased levels of PlGF also had a greater carotid intima-media thickness, so higher predisposition to atherosclerosis. Therefore, knowing angiogenic factors could help clinicians identify women with greater future cardiovascular risk and could optimize preventive measures after delivery.



# INTRODUCCIÓN



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Definición y clasificación de la preeclampsia

Los trastornos hipertensivos durante la gestación se clasifican en cuatro categorías:<sup>1,2</sup>

1) preeclampsia-eclampsia, 2) hipertensión crónica, 3) hipertensión con preeclampsia sobreañadida, 4) hipertensión gestacional.

La **preeclampsia** (PE) es una enfermedad multisistémica que se caracteriza por la aparición de tensión arterial (TA)  $\geq 140/90$  mmHg en al menos dos ocasiones separadas cuatro horas en una mujer previamente normotensa a partir de las 20 semanas de gestación. Se ha dejado de utilizar la proteinuria como criterio diagnóstico,<sup>1</sup> aunque está presente en el 70% de los casos ( $\geq 300$  mg/24 h o cociente proteína / creatinina  $\geq 30$  mg/mmol o  $\geq 2+$  en dipstick). Una vez se ha establecido no es necesaria la monitorización de la proteinuria dado que aporta poco valor a la estratificación de la severidad del trastorno. En ausencia de proteinuria la PE se debe considerar cuando, además de la hipertensión arterial (HTA), aparecen signos clínicos y/o analíticos de disfunción orgánica materna (presencia de al menos uno de los criterios de la **Tabla 1**); o bien si aparece disfunción útero-placentaria con crecimiento intrauterino restringido (CIR) u óbito fetal.<sup>3</sup>

El CIR se define como un peso fetal estimado (PFE)  $<$  percentil (p) 3 para la edad gestacional independientemente del doppler feto-materno o PFE entre el p3 y el p10 con alteración Doppler [índice de pulsatilidad (IP) medio en las arterias uterinas  $>$  p95 o índice cerebroplacentario  $<$  p5, o IP de la arteria cerebral media  $<$  p5, o IP de la arteria umbilical  $>$  p95].<sup>4</sup>

**Tabla 1.** Signos y síntomas de la disfunción orgánica materna<sup>5</sup>

Clínicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alteraciones neurológicas (alteraciones visuales o cefalea persistente, estupor o <i>clonus</i>).</li> <li>- Epigastralgia o dolor en hipocondrio derecho.</li> <li>- Oliguria (&lt; 30-35 ml/h o &lt; 500 ml/24h).</li> </ul>
Analíticos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Insuficiencia renal (Creatinina <math>\geq 90 \mu\text{mol/L}</math> o <math>1.1 \text{ mg/dL}</math>).</li> <li>- Elevación de transaminasas (valores el doble del límite normal).</li> <li>- Trombocitopenia (&lt; 100.000/<math>\mu\text{L}</math>).</li> <li>- Hemólisis (esquistocitosis, elevación lactato deshidrogenasa &gt;600 UI/L, aumento bilirrubina o disminución haptoglobina).</li> <li>- Coagulación intravascular diseminada (aumento del tiempo protombina o del dímero D, disminución del fibrinógeno)</li> </ul>

La **hipertensión crónica** se considera cuando la HTA aparece previamente al embarazo, o bien antes de la semana 20, o si la HTA persiste más allá de doce semanas postparto. Puede ser primaria (esencial) o secundaria a otros procesos.

La **hipertensión gestacional** se considera cuando la HTA aparece en una gestante previamente normotensa a partir de las 20 semanas de gestación y no se asocia a proteinuria, ni a signos/síntomas de disfunción orgánica materna o disfunción útero-placentaria.

Es importante hacer un seguimiento estricto de las gestantes con hipertensión crónica e hipertensión gestacional, ya que el 25% desarrollaran una PE durante la gestación y/o el puerperio (**PE sobreañadida**).<sup>6</sup> La PE sobreañadida se considera cuando hay un empeoramiento brusco (aumento del 20%) de las cifras de TA o aparición/empeoramiento de la proteinuria o aparición de signos/síntomas de afectación multiorgánica.

También existen otros trastornos hipertensivos en la gestación, como sería la hipertensión de bata blanca (HTA en la consulta con cifras tensionales normales de forma

ambulatoria), la hipertensión transitoria (detección únicamente de una cifra de HTA con valores normales posteriormente, probablemente debido a fenómenos ambientales) o la hipertensión “enmascarada” (HTA en domicilio con cifras tensionales normales en la consulta).

La expresión clínica de la PE es muy variable, pudiendo llegar a formas muy graves que amenazan la vida de la mujer, como el síndrome HELLP (*Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet*; caracterizado por hemólisis, trombocitopenia y elevación de las transaminasas) o la eclampsia (convulsiones).

La mayoría de las guías han dejado de recomendar la distinción entre PE leve y grave a nivel clínico, ya que toda paciente con PE puede agravarse de forma súbita, sin previo aviso.<sup>1</sup> Hay que considerar a la gestante con PE si en ese momento presenta o no criterios de gravedad, los cuales se describen a continuación:<sup>2</sup>

- TA  $\geq$  160/110 mmHg en dos determinaciones separadas cuatro horas mientras la paciente está en reposo. Si antes de las cuatro horas se requiere iniciar tratamiento antihipertensivo, se admite que la confirmación se realice en menos tiempo.
- Trombocitopenia ( $<100\ 000/\mu\text{l}$ ).
- Alteración de la función hepática: transaminitis (AST y ALT por encima del doble de su valor plasmático) o dolor abdominal en cuadrante superior derecho o epigástrico que no responde a analgesia y sin otra causa que lo justifique.
- Insuficiencia renal: creatinina sérica  $> 1.1$  mg/dL o duplicación de los niveles previos de creatinina en ausencia de otra enfermedad renal.
- Edema agudo de pulmón: disnea y saturación de O<sub>2</sub>  $< 95$  %; o bien confirmación radiológica.
- Síntomas neurológicos: cefalea intensa (se excluye hiperreflexia).
- Síntomas visuales: fotopsias, visión borrosa.

Según la edad gestacional en la presentación de la PE se establece la distinción entre precoz y tardía. A pesar de que se han propuesto otros puntos de corte (como 32 y 36 semanas),<sup>7</sup> el que la International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP)<sup>8</sup> definió en 2014 y el que ha sido más utilizado es el situado en las 34 semanas de gestación, ya que la tasa de morbilidad neonatal se reduce de forma significativa alcanzada esta edad gestacional. Por lo tanto, la PE pretérmino es la que aparece antes de la semana 37, siendo la PE precoz la que aparece antes de la semana 34 de gestación; y la PE a término aquella que aparece después de la semana 37.

El 80-90% de los casos de PE se presenta en gestaciones pretérmino tardías ( $\geq 34-36^{+6}$  semanas), a término ( $\geq 37^{+0}$  semanas) o en el postparto, y cursan habitualmente como formas leves sin repercusión en el pronóstico materno y/o fetal. El 10-20% restante son PE precoces, siendo las de peor pronóstico porque se asocian más frecuentemente a complicaciones maternas, como insuficiencia renal, fallo hepático, trastornos de la coagulación, hemorragia hepática, edema agudo de pulmón, ictus y eclampsia; así como complicaciones fetales: CIR, desprendimiento de placenta y prematuridad asociada. No obstante, hay que tener en cuenta que las PE tardías, aunque suelen tener un curso más benigno, también pueden progresar a formas graves.

## 1.2 Epidemiología y factores de riesgo

Los trastornos hipertensivos del embarazo afectan hasta un 10% de las gestaciones.<sup>2</sup> A nivel mundial, se estima que la PE afecta alrededor de un 3% de los embarazos, aunque algunos autores estiman una incidencia de hasta el 8%.<sup>9</sup> Estimar la incidencia global de la PE es difícil debido a la ausencia de registro de muchos países, por las diferencias en los criterios diagnósticos y porque varía en función de la población estudiada, ya que se ve influenciada por factores ambientales, étnicos y geográficos.<sup>10</sup>

A pesar de los avances en este campo, la PE sigue constituyendo una de las principales causas de mortalidad y morbilidad grave,<sup>11</sup> tanto materna como neonatal,<sup>12</sup> teniendo además una carga económica significativa para los sistemas de salud. En los países desarrollados la PE es la segunda causa de mortalidad materna.<sup>11</sup> En los países en vías de desarrollo la prevalencia es 1.2 veces superior a la de los países desarrollados y la mortalidad es mayor.<sup>13</sup> Cuando se investigan las causas de dicha mortalidad se considera que es debido al retraso/ausencia del diagnóstico y, por otro lado, a la falta de previsión de acontecimientos adversos. La PE precoz tiene menor incidencia que la tardía (10% del total), debido también en parte a las mejoras en el cribado del primer trimestre de gestación,<sup>14</sup> pero es la que conlleva mayor morbi-mortalidad tanto a corto como a largo plazo.<sup>15,16</sup>

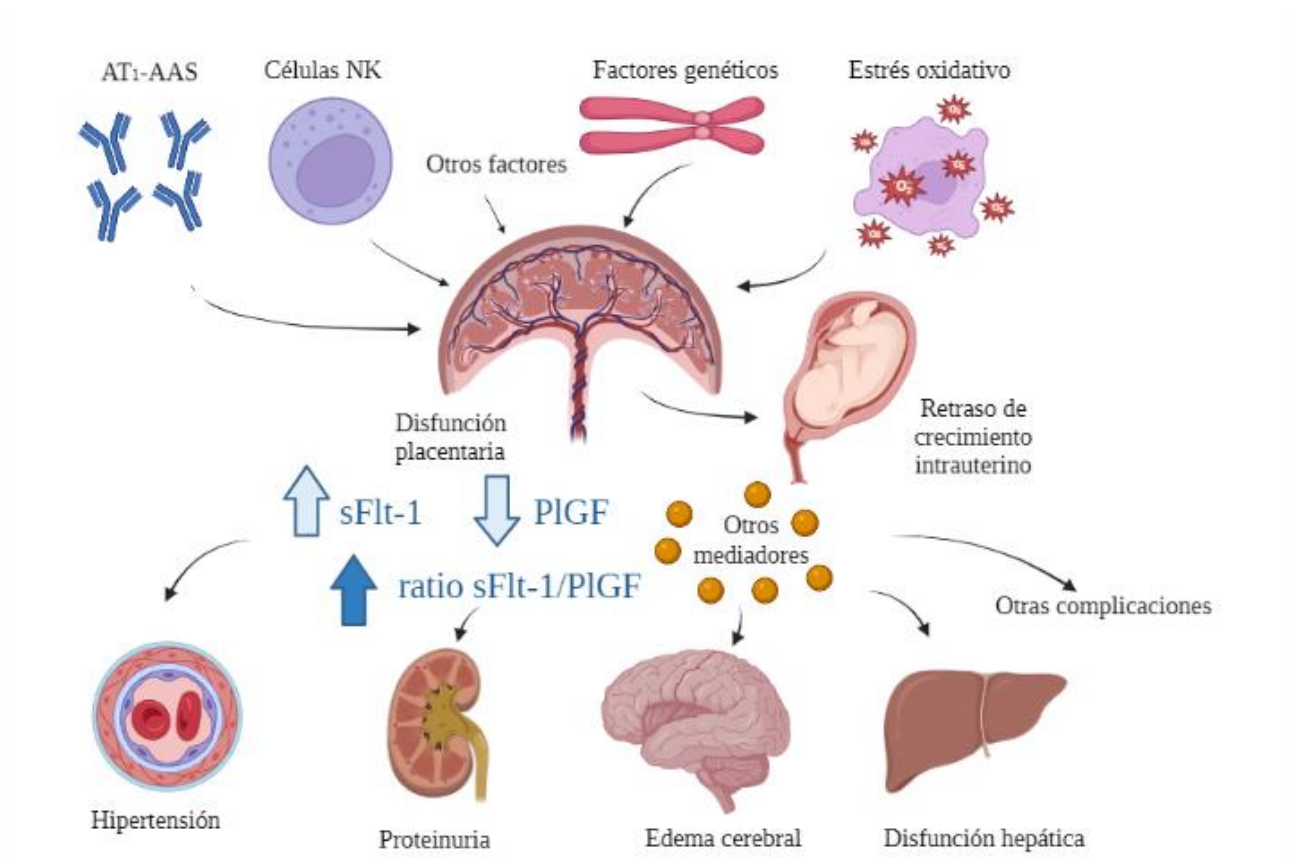
Existen diversos factores de riesgo y patologías que predisponen o contribuyen a desarrollar este síndrome:<sup>17</sup> edad materna ( $< 20$  años o  $\geq 35$  o  $40$  años), nuliparidad, historia familiar de PE (riesgo x5 en familiar de primer grado), antecedente previo de PE, etnia afroamericana, embarazo por técnicas de reproducción asistida, embarazo múltiple, obesidad, y enfermedades como la HTA, la enfermedad renal, la diabetes, y las enfermedades autoinmunes sistémicas (principalmente el lupus eritematoso sistémico, la esclerosis sistémica y el síndrome antifosfolípido). Estos factores de riesgo son independientes pero pueden solaparse. La etnia afroamericana y la HTA crónica se asocian más a la PE precoz,<sup>18</sup> mientras que la edad materna  $< 20$  años, la nuliparidad y la diabetes se asocian a la PE tardía.<sup>19</sup>

### **1.3 Fisiopatología de la preeclampsia**

La fisiopatología de la PE es multifactorial y todavía no está totalmente esclarecida, ya que aún no se ha llegado a una teoría unificadora que explique cómo y por qué se produce



la enfermedad en mujeres sin factores de riesgo aparentes. La mayoría de teorías aceptan que hay una primera fase de placentación anómala, influenciada por factores genéticos, inmunológicos, y otros factores predisponentes; seguida de una fase de liberación de factores angiogénicos y otros mediadores que favorecen la disfunción endotelial, el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria que provocan los signos y síntomas de la enfermedad,<sup>20</sup> con especial impacto a nivel renal, hepático, neurológico y hematológico.



**Figura 1.** Resumen de la fisiopatología de la preeclampsia

AT<sub>1</sub>-AAs: receptor de angiotensina II tipo 1; NK, Natural Killer; sFlt-1, forma soluble del receptor tirosina quinasa-1; PlGF, factor de crecimiento placentario. Adaptado de Powe y cols.<sup>21</sup>

### 1.3.1 Invasión trofoblástica deficiente

La invasión trofoblástica requiere un proceso de vascularización para establecer una adecuada red vascular feto-materna y, finalmente, completar la remodelación de las arterias espirales para formar la circulación útero-placentaria. El origen de la PE parece estar en una invasión anómala de las arterias espirales por el tejido trofoblástico. En el desarrollo placentario normal los citotrofblastos de origen fetal invaden las arterias espirales maternas, transformándolas en vasos de más calibre y alta capacitancia para facilitar la perfusión al feto. Durante el proceso de la invasión vascular normal los citotrofblastos se diferencian en un fenotipo epitelial a uno endotelial (pseudovasculogénesis). En la PE esta transformación no se llega a completar, permaneciendo vasos de alta resistencia y pequeño calibre, que contribuyen a la hipoperfusión útero-placentaria e isquemia.<sup>21</sup>

El déficit de perfusión y la isquemia placentaria conlleva una implantación placentaria insuficiente, la cual también se ha descrito en pacientes que desarrollaran CIR, con y sin PE asociada.<sup>22</sup> Una vez se produce la isquemia placentaria, se desencadenan una serie de procesos patológicos como la producción de radicales libres, y procesos inflamatorios de isquemia-reperfusión con la formación de trombos que empeoran la situación de la placenta.

### 1.3.2 Factores inmunológicos y genéticos

Las células Natural Killer (NK) y los macrófagos participan en el proceso de remodelación de las arterias espirales: migran a la decidua donde producen factores de crecimiento y citoquinas como el interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), la interleuquina (IL) 1 $\beta$  y la IL-6.<sup>23</sup> En gestantes con PE existe un predominio de células NK uterinas con fenotipo aberrante que contribuyen a

una placentación deficiente al producir cantidades inusuales de citoquinas, creando el estado proinflamatorio típico de la PE, e impedir las interacciones adecuadas con los citotrofoblastos.<sup>24,25</sup> Por otro lado, durante la gestación normal, el sistema inmunológico propicia un estado privilegiado para el feto para evitar la reacción materna frente a los tejidos fetales, favoreciendo la proliferación de linfocitos Th2 y la acción de los linfocitos T reguladores. Por el contrario, en la PE hay un descenso en número y actividad de estas poblaciones linfocitarias, a expensas de mayor producción de linfocitos Th1 y Th17, implicados en la producción de citoquinas, como la IL-2, el IFN- $\gamma$  o TGF- $\beta$ 1, que limitan la inmunotolerancia e inducen un estado proinflamatorio.<sup>26</sup>

En la gestación normal los trofoblastos expresan ligandos HLA-C que interaccionan con los receptores KIR (killer cell immunoglobulin-like receptors) de las células NK uterinas. En la PE se expresan más frecuentemente algunos subtipos de moléculas HLA-C y de haplotipos de KIR. La dominancia HLA-C2 con el fenotipo KIR AA (genotipo 1) materno parece que incrementa el riesgo de invasión trofoblástica inadecuada y posterior riesgo de PE.<sup>27</sup>

El desarrollo de PE puede verse potenciado por la producción de autoanticuerpos capaces de activar el receptor de angiotensina II tipo 1 (AT<sub>1</sub>-AAs). Esta unión provoca HTA y mayor producción de citoquinas proinflamatorias, especies reactivas del oxígeno y factores antiangiogénicos, como la forma soluble del receptor tirosina quinasa-1 (sFlt-1) o de la endoglina soluble (sEng), hallazgos descritos en la PE.<sup>28</sup>

Existe una fuerte asociación entre la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (AAF) y la PE precoz y grave.<sup>29</sup> Los AAF interfieren en las vías de coagulación y fibrinólisis (aumento del factor VIIa y trombina, disfunción del factor XIIa, disminución del activador de plasminógeno urocinasa, etc.), activan las células endoteliales aumentando la expresión de moléculas de adhesión celular, como la molécula de adhesión de células

vasculares-1 (VCAM-1), aumentan la concentración de tromboxano, promueven la síntesis de citoquinas inflamatorias y aumentan la agregación/activación plaquetaria. Además producen una activación de la vía del complemento que amplificará los efectos de trombosis, hipoxia tisular e inflamación de la placenta.<sup>30</sup>

Algunos estudios de segregación familiar aseguran que los genes condicionan más del 50% de la susceptibilidad individual para desarrollar la enfermedad.<sup>31</sup> Cabe destacar el gen STOX1, que actúa como un factor de transcripción clave en la disfunción de los trofoblastos.<sup>32</sup> También el polimorfismo de la apolipoproteína E podría predisponer genéticamente a la PE, ya que algunos alelos están asociados con la dislipemia, que puede contribuir a la disfunción endotelial.<sup>33,34</sup>

### **1.3.3 Respuesta inflamatoria y estrés oxidativo**

La isquemia útero-placentaria induce la elevación de citoquinas proinflamatorias, predominantemente la IL-6 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), activación del sistema de complemento y elevación de reactantes de fase aguda, como la proteína C reactiva (PCR) y la proteína amiloide A sérica.<sup>35</sup> En la placenta con PE se ha descrito un aumento de especies reactivas de oxígeno y una disminución de antioxidantes, que acaban disminuyendo la biodisponibilidad del óxido nítrico (ON), reduciendo así la vasodilatación.<sup>36</sup> En la PE el estrés oxidativo de la placenta contribuye a esta respuesta inflamatoria excesiva. Análogamente a lo que ocurre en la aterosclerosis de las arterias coronarias, la combinación de inflamación, estrés oxidativo y un estado de hiperlipidemia, contribuye al desarrollo de aterosclerosis en las arterias espirales no transformadas, favoreciendo la infiltración leucocitaria, el depósito de pequeñas y oxidadas lipoproteínas de baja densidad (LDL) y la acumulación de células espumosas, favoreciendo finalmente la aparición de necrosis fibrinoide.<sup>37</sup>

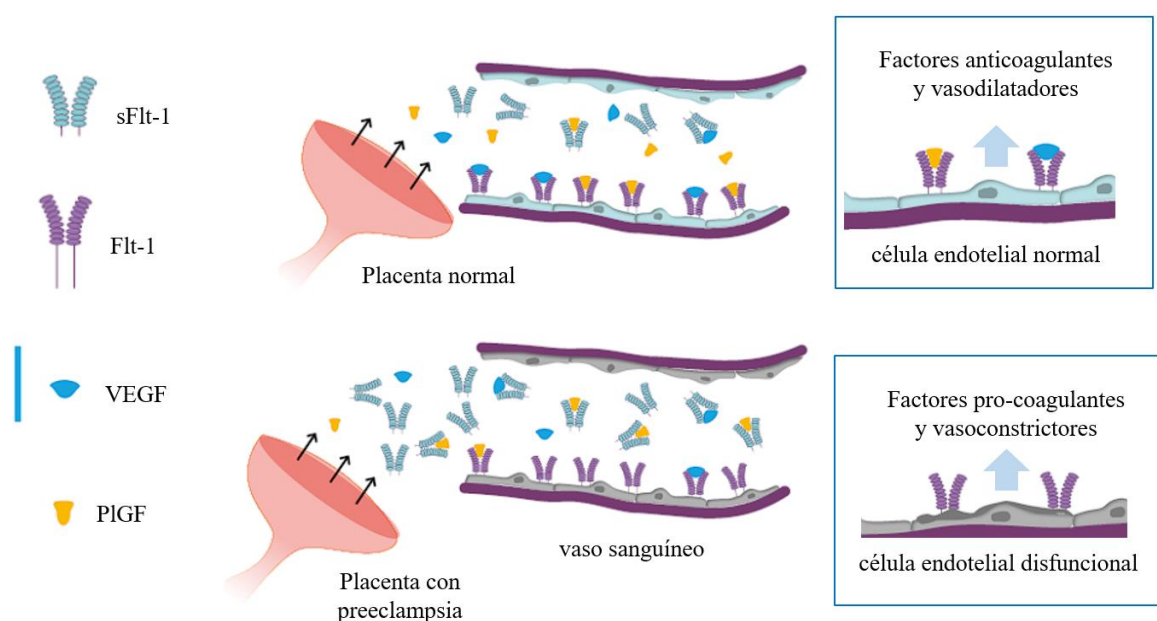
### 1.3.4 Desequilibrio angiogénico

En los últimos años se ha producido un gran avance en la comprensión de la fisiopatología de la PE con el descubrimiento del papel que desempeñan en este trastorno varios factores reguladores de la angiogénesis. El **VEGF** es una familia de glicoproteínas implicadas en la vasculogénesis (formación de vasos sanguíneos *de novo*) y en la angiogénesis (formación de vasos nuevos a partir de los existentes). La unión del VEGF a su receptor biológicamente activo estimula el crecimiento celular, reduce la apoptosis, incrementa la permeabilidad vascular y favorece la vasodilatación mediada por ON.<sup>21</sup> El factor de crecimiento placentario (**PIGF**) es una proteína que pertenece a la familia VEGF y que se expresa sobre todo en la placenta, aunque también se encuentra en el corazón y en el pulmón. Estimula la angiogénesis de manera directa por unión al receptor Flt-1 de las células endoteliales, y de forma indirecta induciendo la secreción de VEGF por los monocitos.

En las pacientes con PE existe una alteración tanto a nivel de expresión del VEGF y PIGF como de sus receptores.<sup>38</sup> El VEGF y el PIGF se unen al receptor VEGF-R1 que, mediante un splicing alternativo del gen que codifica para este receptor, genera una proteína soluble sin dominio citoplasmático, la **sFlt-1**. El sFlt-1 circulante, secretado por células del sincitiotrofoblasto y por los monocitos, es un potente antagonista del VEGF y del PIGF ya que cuando se une a estas proteínas evita su interacción con los receptores.<sup>38</sup> En la PE, el exceso de secreción placentaria de sFlt-1 y sEng (otra proteína antiangiogénica circulante que inhibe la unión del VEGF y TGF- $\beta$ 1 a sus receptores) provocará la disfunción de las células endoteliales, incluyendo la disminución de prostaciclina, la disfunción de ON y la liberación de sustancias procoagulantes, como el factor von Willebrand, la endotelina, la fibronectina y la trombomodulina. El principal estímulo para el aumento de sFlt-1 y sEng en la PE parece ser la hipoxia placentaria, aunque no queda

del todo claro si es la causa o la consecuencia de la alteración de la invasión del citotrofoblasto en las arterias espirales maternas. El mecanismo a través del cual el sFlt-1 provoca el daño endotelial parece ser el secuestro del PlGF y VEGF circulantes. Por lo tanto, en la PE se da una situación de desequilibrio en la homeostasis endovascular que favorece el daño endotelial y la vasoconstricción periférica en un intento de elevar la TA materna y perfundir mejor la placenta.

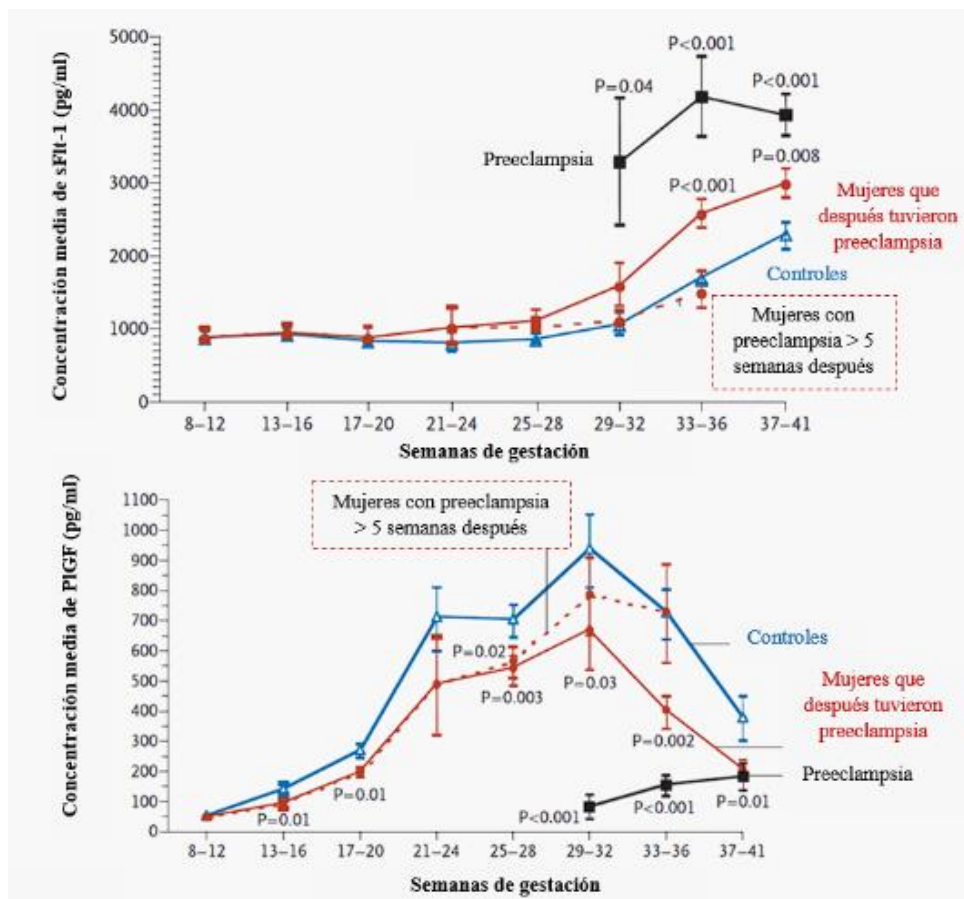
En modelos animales se ha constatado esta hipótesis fisiopatológica, ya que la exposición a sFlt-1 es condición suficiente para desarrollar PE y lesión del endotelio glomerular con proteinuria,<sup>38</sup> y sus efectos se amplifican con la administración conjunta de sEng. Además se ha demostrado que el deterioro renal y la HTA pueden revertirse mediante aporte exógeno de VEGF.<sup>39</sup>



**Figura 2.** Esquema del equilibrio entre factores angiogénicos circulantes en situación normal (arriba) y en la preeclampsia (abajo).

sFlt-1, forma soluble del receptor tirosina quinasa-1; Flt-1, receptor tirosina quinasa-1; VEGF, factor de crecimiento endotelial vascular; PlGF, factor de crecimiento placentario. Adaptado de Karumanchi y cols.<sup>40</sup>

Los niveles circulantes de factores angiogénicos y antiangiogénicos varían con la edad gestacional (**Figura 3**). Niveles elevados de sFlt-1 y disminuidos de PlGF ya desde el principio del embarazo se relacionan con el desarrollo de PE en el segundo y tercer trimestre.<sup>41</sup> Las gestantes con PE tienen mayor sFlt-1 y sEng, así como menor PlGF y VEGF que las gestantes sin PE.<sup>42</sup> Estas alteraciones también se evidencian en otras formas de disfunción placentaria, como el CIR.<sup>7</sup> Este desequilibrio angiogénico se correlaciona con la gravedad del proceso, y se puede observar entre 5-6 semanas antes de la aparición de los síntomas clínicos.<sup>43</sup> Por lo tanto, el diagnóstico clínico de PE representa la etapa final de la enfermedad, ya que la causa subyacente del mecanismo fisiopatológico se inicia mucho antes.



**Figura 3.** Niveles de sFlt-1 (arriba) y PlGF (abajo) durante la gestación normal y la gestación complicada con preeclampsia. Adaptado de Levine y cols.<sup>42</sup>

En la PE tardía la disfunción placentaria es menor, y sobreviene por fenómenos vasculares placentarios (trombos, aterosclerosis, inflamación o infarto) habitualmente asociados a enfermedades maternas preexistentes como la HTA, la diabetes, enfermedad renal, trombofilias, obesidad y dislipemia. Se cree que puede tratarse en gran parte de un trastorno de origen materno y no tanto placentario, en mujeres con alto riesgo cardiovascular (CV) más susceptibles al factor antiangiogénico, puesto que habitualmente se asocia con placentas de tamaño normal, fetos con buen crecimiento, recién nacidos de peso normal y, en general, un mejor pronóstico tanto materno como fetal.

### **1.3.5 Disfunción endotelial**

En una gestación normal las células endoteliales sanas mantienen la integridad vascular manteniendo el tono vascular y evitando la adhesión plaquetaria. La PE conlleva una pérdida de morfología y función de las células endoteliales, produciendo una microangiopatía generalizada. La alteración del endotelio produce un estado de marcada vasoconstricción e incrementa la liberación de factores procoagulantes, provocando un aumento de la permeabilidad capilar, del tono vascular, y de la activación/agregación plaquetaria, con la ulterior adaptación de fenómenos tromboticos tisulares. Como consecuencia, se desencadenan los signos y síntomas clínicos de la PE;<sup>17</sup> por ejemplo, la HTA por alteración del control endotelial del tono vascular, la proteinuria por el aumento de permeabilidad glomerular, la coagulopatía como resultados de la expresión anormal de los factores procoagulantes, y la disfunción hepática secundaria a la isquemia.

Muchos factores locales parecen estar implicados en este proceso de disfunción endotelial. El desequilibrio entre el tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) (vasoconstrictor y proagregante placentario) con el PIGF (vasodilatador y antiagregante), favorece la destrucción mecánica selectiva de las plaquetas con posible hemólisis (microangiopatía)



que contribuye a la trombosis de las arterias espirales e infarto placentario.<sup>20</sup> Además, en la PE también se han descrito menores niveles de ON, que es un factor que inhibe la agregación placentaria.<sup>44</sup>

En la gestación normal se observa un aumento de actividad del sistema de coagulación y una reducción de la fibrinólisis. Este proceso parece exagerarse en la PE por la reacción inflamatoria intravascular, observándose un descenso de la actividad de la antitrombina III, aumento del inhibidor del activador de plasminógeno-1 (PAI-1), del cociente PAI-1/PAI-2, y elevación del factor VIII, factor von Willebrand, fibronectina total y celular y trombomodulina.<sup>17</sup> En algunas gestantes con PE grave se observa una exageración de este proceso que se manifiesta en forma de coagulación intravascular diseminada. Es interesante recordar la capacidad que tiene el macrófago activado por el C5a de sintetizar y liberar sFlt-1 y factor tisular. Además, todos ellos tienen también la capacidad de aumentar el estrés oxidativo, cerrándose en bucle entre la vía inflamatoria y la coagulación.

#### **1.4 Aportación del ratio sFlt-1/PlGF en el diagnóstico y manejo de la preeclampsia**

El manejo de la gestante con HTA en la segunda mitad del embarazo puede ser extremadamente difícil, ya que puede reflejar una etapa temprana de la PE o bien alguno de los trastornos hipertensivos del embarazo comentados en el apartado 1.1. Las mujeres con hipertensión crónica o hipertensión gestacional generalmente tienen buenos resultados obstétricos; sin embargo, dada la incertidumbre y los potenciales riesgos maternos y fetales asociados a la PE, las gestantes con sospecha clínica de PE suelen ser hospitalizadas para su evaluación y seguimiento intensivo. La clínica de PE es muy inespecífica, y tanto la HTA como la proteinuria tienen un bajo valor predictivo positivo (VPP) para el desarrollo de PE y complicaciones asociadas (alrededor de un 20%).<sup>45</sup>

Además, formas graves de la enfermedad, como la eclampsia o el síndrome HELLP, pueden aparecer en mujeres sin HTA o sin proteinuria. Las características anteriores sugieren que los estándares clásicos para el diagnóstico no son suficientes para abarcar toda la complejidad del síndrome.

En los últimos años, la introducción de la determinación de factores angiogénicos ha mejorado el diagnóstico de PE, su manejo y, como consecuencia, el pronóstico de la enfermedad. La relación entre el incremento en los niveles de suero de sFlt-1 y la reducción en los niveles de PlGF se evalúa mediante **el ratio sFlt-1/PlGF**. Un aumento del ratio sFlt-1/PlGF se ha reportado tanto en mujeres con PE establecida como antes de la aparición de los síntomas clínicos de la enfermedad.<sup>42</sup> Así pues, el ratio sFlt-1/PlGF es actualmente el marcador más útil para el despistaje de PE,<sup>46</sup> ya que permite hacer el diagnóstico diferencial con los otros desórdenes hipertensivos del embarazo, así como con entidades que pueden parecerse (nefropatías, lupus eritematoso sistémico, trombocitopenia, cefalea, etc.).

Actualmente la principal indicación que tiene el uso del ratio sFlt-1/PlGF es para descartar PE (rule out) en corto-medio plazo en gestantes con sospecha clínica, entre las 24 y 34 semanas de gestación, debido a su alto valor predictivo negativo (VPN).<sup>5,47</sup> Además, su uso parece resultar coste-efectivo,<sup>48</sup> ya que un valor normal evita ingresos y pruebas complementarias innecesarias a un porcentaje elevado de pacientes que no desarrollaran la enfermedad. Sin embargo, es una herramienta que presenta una alta tasa de falsos positivos y no distingue adecuadamente entre las diferentes formas de insuficiencia placentaria (ya que también se eleva en casos de CIR, desprendimiento de placenta normalmente inserta o muerte fetal), por lo que su utilidad en el diagnóstico de PE (rule in) no está bien establecido.<sup>49,50</sup>

Una vez se ha establecido el diagnóstico de PE, la monitorización del ratio sFlt-1/PlGF también puede ayudar en el manejo clínico, ya que es capaz de detectar las gestantes con mayor riesgo de complicaciones maternas y fetales.<sup>7</sup> También existen algunas calculadoras de acceso libre, como por ejemplo la PIERS (Preeclampsia Integrated Estimate of Risk)<sup>51</sup> que pueden ser de ayuda para predecir resultados adversos en la PE; sin embargo, esta calculadora solo proporciona información para las 48h posteriores al ingreso, no diferencia entre PE precoz y tardía, ni aporta información de las complicaciones fetales. Por lo tanto, hacen falta nuevas herramientas para identificar mejor los casos en que es seguro prolongar el embarazo.

En los últimos años el esfuerzo se ha centrado en tratar de encontrar la combinación de parámetros que permita realizar un buen cribado de PE en primer trimestre. Además de la historia clínica, la combinación de marcadores biofísicos (TA, Doppler de las arterias uterinas) y marcadores bioquímicos, como la proteína plasmática asociada al embarazo (PAPP-A) y el PlGF, aumentan la tasa de detección.<sup>52,53</sup> Se están desarrollando modelos de predicción multivariable basados en inteligencia artificial que, mediante técnicas de machine learning (aprendizaje automático), combinan factores de riesgo, parámetros biofísicos y parámetros bioquímicos para predecir el riesgo individualizado de desarrollar una PE.<sup>54</sup> Estos algoritmos reconocen patrones en los datos para combinar variables que permitan una predicción de comportamiento futuro, creando un sistema capaz de aprender automáticamente.<sup>55,56</sup>

### **1.5 Relación entre preeclampsia y enfermedad cardiovascular**

El embarazo es una prueba fisiológica de estrés para el sistema CV, debido al aumento del volumen intravascular (casi del 50%) y del gasto cardíaco. Las gestantes con PE hacen una peor adaptación CV, y asocian alteraciones cardíacas subclínicas tanto estructurales como funcionales,<sup>57</sup> sin saber exactamente cuál es el mecanismo subyacente ni porqué las

PE más graves y precoces son las que tienen peores resultados. En general, la PE precoz se caracteriza por un aumento de la resistencia vascular periférica,<sup>58</sup> pero con gasto cardíaco bajo; mientras que en la PE tardía ocurre lo contrario, se observa un alto gasto cardíaco y una resistencia periférica baja, similar a lo ocurrido en un embarazo sano.<sup>59</sup> Por esto algunos autores sugieren que las gestantes con PE podrían clasificarse según si predomina un gasto cardíaco alto o bajo,<sup>60</sup> y la reducción del volumen sistólico sería el indicador de mal pronóstico.<sup>58</sup> La PE es un factor de riesgo para desarrollar miocardiopatía, tanto en el periodo periparto como años después de la gestación.<sup>61</sup> Además, las lesiones CV no se limitan al periodo gestacional, sino que evolucionan después del parto.<sup>62</sup>

Estas alteraciones preceden a la enfermedad cardiovascular (ECV), incluso en pacientes normotensas y asintomáticas, por lo que la ecocardiografía juega un papel importante en el diagnóstico y seguimiento de esta población de riesgo.<sup>63</sup> La fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) es el parámetro más utilizado para la evaluación de la función cardíaca sistólica, pero es poco sensible para detectar disfunción miocárdica temprana. La ecocardiografía bidimensional speckle-tracking (2D-STE) permite hacer una evaluación cuantitativa de la deformación miocárdica, que se desplaza en tres direcciones simultáneas: longitudinal (sentido ápex-base), radial (las fibras tienden a converger hacia un punto en el centro del ventrículo) y circunferencial (las fibras se acortan en el sentido de la circunferencia de la cavidad). La captura y rastreo de puntos del ecocardiograma bidimensional a lo largo del ciclo cardíaco generando curvas de deformación se denomina *strain*.<sup>64,65</sup> Actualmente el *strain* longitudinal global (SLG) se considera el parámetro más eficaz para la cuantificación de la función ventricular izquierda, aportando información en fases iniciales de disfunción miocárdica.<sup>66</sup> La placa de aterosclerosis empieza a formarse en la capa íntima de la pared arterial, y el método más aceptado para la detección

de la aterosclerosis temprana es la medición del grosor de la íntima-media carotídea (GIMc). Por lo tanto, el SLG y la GIMc son parámetros ecográficos no invasivos muy útiles en la práctica clínica para la identificación precoz de alteraciones CV en fase preclínica.<sup>67-69</sup>

La principal causa de muerte en mujeres en el mundo occidental actualmente es la ECV.<sup>70</sup> En 2015 la American Heart Association (AHA) estableció que moría una mujer cada minuto y 16 segundos por ECV.<sup>71</sup> La incidencia de infarto de miocardio en mujeres, aunque es menor que en hombres, aumenta considerablemente con la edad, sobre todo tras la menopausia.<sup>72</sup> Muchos estudios epidemiológicos han asociado la PE con el desarrollo de ECV. La mayor revisión sistemática publicada, que incluyó 22 estudios y más de 6.4 millones de mujeres (> 258.000 mujeres con PE previa),<sup>73</sup> concluyó que las mujeres con antecedente de PE tenían mayor riesgo de fallo cardíaco (RR 4.19, 95% CI 2.09-8.38), enfermedad coronaria (RR 2.50, 95% CI 1.43-4.37), muerte por ECV (RR 2.21, 95% CI 1.83-2.66) y accidente cerebrovascular (RR 1.81, 95% CI 1.29-2.55) que las mujeres sin PE durante la gestación. Los estudios muestran de 2 a 4 veces más riesgo de presentar ECV entre los 5 y 15 años posteriores.<sup>74,75</sup> Además, el futuro riesgo de morbimortalidad CV parece estar relacionado con la gravedad de la PE,<sup>76</sup> la edad gestacional al parto (a menor edad gestacional, mayor riesgo CV),<sup>77,78</sup> y el número de recurrencias en gestaciones posteriores.<sup>79,80</sup> Cuando la PE se asocia a CIR también se ve aumentado su riesgo CV futuro (RR 2.99, 95% CI 2.51-3.58).<sup>76</sup> Además se ha descrito un aumento del riesgo CV de los hijos de madres que han padecido PE,<sup>81</sup> con mayores cifras de TA en la infancia y adolescencia.<sup>82</sup>

Es un hecho que la PE se asocia a la EVC, pero no se sabe exactamente si la PE es un factor de riesgo independiente para un resultado CV adverso (ya que muchas veces ocurre en pacientes que *a priori* tienen bajo riesgo CV), o bien desenmascara un riesgo CV

preexistente en estas mujeres.<sup>83,84</sup> Algunos estudios sugieren que el embarazo es una prueba de esfuerzo CV, de la misma forma que es una prueba de esfuerzo metabólico para el desarrollo de diabetes en el futuro, por lo que el aumento de riesgo CV se puede atribuir a factores genéticos subyacentes y factores de riesgo comunes entre las dos patologías, como la obesidad o la edad materna avanzada (factores cada vez más prevalentes en las gestantes de nuestro entorno debido al retraso de la maternidad y a la tendencia al sobrepeso de la población en España).<sup>84</sup> También es posible que la PE induzca cambios fisiológicos y metabólicos asociados con la ECV, como la disfunción endotelial (que se ha relacionado con la aterosclerosis,<sup>85</sup> la resistencia a la insulina, la actividad proinflamatoria y el perfil lipídico anormal que persisten después del parto, lo que lleva a ECV tardía.

## **1.6 Factores angiogénicos y riesgo cardiovascular**

Las células mononucleares de sangre periférica en no gestantes pueden producir sFlt-1, y un aumento de su concentración se ha asociado con disfunción vascular endotelial, lesión miocárdica y enfermedad coronaria.<sup>86</sup> Durante la fase aguda del infarto agudo de miocardio se ha descrito que aumentan los niveles de sFlt-1, siendo un factor predictor independiente para el desarrollo de insuficiencia cardíaca aguda posterior<sup>87</sup> y eventos CV adversos.<sup>88</sup> También se han visto niveles aumentados de sFlt-1 en pacientes con síndrome coronario agudo.<sup>89</sup>

La administración de sFlt-1 a animales gestantes produce una disfunción cardíaca similar a la que presentan las mujeres con PE.<sup>41</sup> Además, la disminución de los niveles de PlGF como resultado de la isquemia placentaria, contribuye a la HTA<sup>90</sup> y se asocia con una remodelación CV anómala en ratones embarazados (TA elevada y mayor masa del ventrículo izquierdo).<sup>91</sup> Seis meses después del parto de estos animales con PE, se ha

descrito un aumento de expresión de 117 proteínas relacionadas con la ECV y el síndrome metabólico, llevando a estados de hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia y disminución de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL). Así pues, se sugiere que el aumento de riesgo CV podría ser consecuencia de la exposición al sFlt-1 y la reducción del PlGF durante la gestación.<sup>92</sup>

El riesgo de miocardiopatía periparto (MCPP) está aumentado en mujeres con PE y criterios de gravedad, que son las que manifiestan un ratio sFlt-1/PlGF más elevado.<sup>41</sup> La MCPP es una entidad infrecuente, aun así el 33% de las gestantes con PE grave pueden desarrollarla, y los niveles séricos de sFlt-1 en estas pacientes permanecen 5-10 veces por encima de los niveles esperados.<sup>93</sup>

En poblaciones no gestantes, en condiciones patológicas el PlGF tiene un papel importante en la angiogenesis y en el remodelado vascular de muchos tejidos. Tiene una función cardioprotectora, ya que se produce por las células endoteliales durante la fase aguda del infarto de miocardio para compensar el daño isquémico agudo promoviendo la angiogenesis.<sup>94</sup> Los niveles de PlGF también se asocian a la enfermedad coronaria y a los eventos cardiovasculares adversos.<sup>95</sup>

La alteración de los factores angiogénicos también se ha asociado con alteración de la función CV fetal, pudiendo condicionar su futura salud CV. En tejidos cardíacos y cerebrales de los fetos con cardiopatías congénitas existe un aumento de sFlt-1 y una disminución de PlGF.<sup>96</sup> También se ha descrito esta alteración en el suero de las madres portadoras de fetos con cardiopatías congénitas,<sup>96</sup> las cuales, además, tienen mayor riesgo de padecer una PE.<sup>97</sup>

Finalmente comentar que la sEng tiene un papel importante en el control homeostático cardiaco, y regula la remodelación cardiaca en la insuficiencia cardiaca y el infarto del miocardio.<sup>98</sup>

## **1.7 Otros biomarcadores de la preeclampsia**

Existen otros parámetros bioquímicos que pueden tener un papel en la identificación de las mujeres con un componente CV más importante y, por tanto, que pueden ayudar a comprender mejor la relación entre PE y daño CV.

### **1.7.1 Ácido úrico**

El ácido úrico es el producto final del catabolismo de purinas, sintetizado en el hígado por la xantina oxidasa. Su concentración sérica refleja el equilibrio entre producción y eliminación, que tiene lugar en el tracto gastrointestinal (1/3) y el resto en el riñón. En gestaciones normales la concentración de ácido úrico disminuye por la hemodilución fisiológica, estabilizándose y aumentando a partir de la semana 20 hasta el final del embarazo, donde alcanza concentraciones similares a las de las mujeres no gestantes.<sup>99,100</sup>

En la PE existe un aumento de concentración de ácido úrico, ya que el estrés oxidativo y las citoquinas liberadas por la placenta isquémica inducen la actividad de la xantina oxidasa y, además, hay una reducción de la secreción renal.<sup>101</sup>

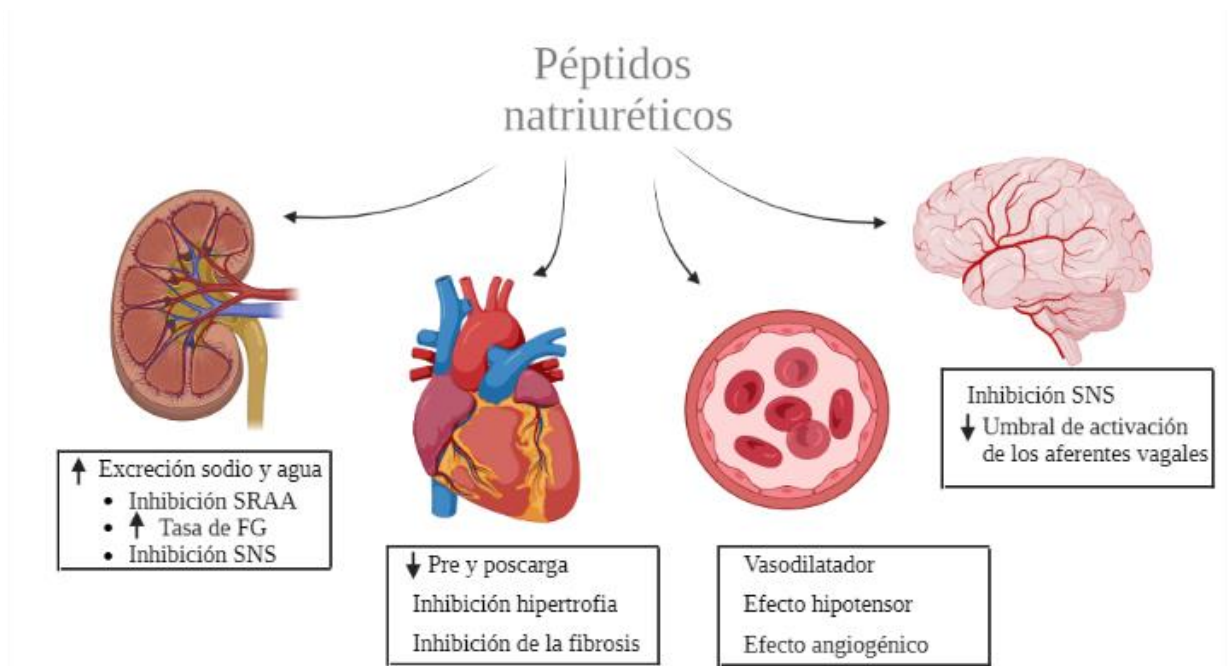
### **1.7.2 Péptidos natriuréticos**

Los péptidos natriuréticos (PNs) son un grupo de hormonas que juegan un papel importante en la homeostasis CV, ya que regulan la TA y el volumen de fluido extracelular. El péptido natriurético cerebral o de tipo B (BNP) es una hormona natriurética liberada por el miocito, sobre todo a nivel ventricular, en respuesta al estiramiento del miocardio inducido por la sobrecarga de volumen o la isquemia. El gen



responsable está localizado en el cromosoma 1. La molécula se sintetiza como una pre-hormona (pre-proBNP) que experimenta la escisión de un péptido señal para convertirse en la prohormona (proBNP). Posteriormente la mayor parte del proBNP es escindido intracelularmente o durante su secreción a la circulación dando lugar al BNP, y a una porción biológicamente inerte con una vida media más larga, que es la N-terminal del pro-péptido natriurético cerebral tipo B (NT-proBNP).<sup>102</sup>

La función fisiológica de los PNs es aliviar la sobrecarga cardíaca, aumentando la natriuresis, la diuresis, la permeabilidad capilar y actuando como vasodilatador y antagonista del sistema renina-angiotensina-aldosterona.<sup>103</sup> También se han identificado efectos antifibróticos y antihipertróficos en el miocardio.<sup>104</sup>



**Figura 4.** Efectos fisiológicos de los péptidos natriuréticos

RRA, sistema renina-angiotensina-aldosterona; FG, filtrado glomerular; SNS, sistema nervioso simpático. Adaptado de Gondek y cols.<sup>103</sup>

El Dallas Heart Study<sup>105</sup> estudió los niveles de biomarcadores cardíacos en 3439 personas sin enfermedad CV (el 56% eran mujeres), y concluyó que los niveles de normalidad del NT-proBNP eran superiores en mujeres que en hombres (39 pg/mL vs. 17 pg/mL). La concentración plasmática de los PN aumenta en pacientes con cardiopatías, tanto clínicas como subclínicas (cardiopatía isquémica, HTA, cardiopatía valvular, hipertensión arterial pulmonar, etc.).

El uso clínico del NT-proBNP no ha sido demasiado estudiado durante el embarazo. En población no gestante, el NT-proBNP se considera un buen marcador para descartar insuficiencia cardíaca debido a su alta sensibilidad.<sup>106</sup> También ha demostrado utilidad para monitorizar la progresión de la enfermedad, y como herramienta de cribado para pacientes de alto riesgo.<sup>107-109</sup>

Durante la gestación, las mujeres sanas tienen niveles de NT-proBNP discretamente superiores a las no gestantes,<sup>110</sup> y estos niveles se mantienen estables durante los tres trimestres de embarazo y el puerperio, ya que compensan correctamente los cambios hemodinámicos.<sup>110</sup> Esto hace que el NT-proBNP no dependa de la edad gestacional. Tampoco se ha descrito paso transplacentario del NT-proBNP.<sup>111</sup> Los trastornos hipertensivos del embarazo aumentan los niveles de NT-proBNP, sobre todo en las gestantes con PE.<sup>112,113</sup> Un aumento significativo de BNP o NT-proBNP durante el tercer trimestre o el postparto se ha asociado a MCPP.<sup>114</sup> Así pues, el NT-proBNP podría ser una herramienta útil para diagnosticar de forma precoz la PE y poder determinar la disfunción cardíaca subclínica asociada.





## **HIPÓTESIS**



## 2. HIPÓTESIS

1. El desequilibrio de los factores angiogénicos durante el embarazo condiciona el futuro riesgo CV de las mujeres con antecedente de PE durante la gestación.
2. La combinación de los factores angiogénicos, un marcador de daño cardíaco (NT-proBNP) y el ácido úrico mejora la predicción de PE en gestantes con sospecha clínica de la enfermedad.





# **OBJETIVOS**





## 3. OBJETIVOS

### 3.1 Objetivo principal

Profundizar en la relación entre PE y ECV evaluando, en primer lugar, si el desequilibrio de factores angiogénicos y antiangiogénicos durante la PE determina el grado de afectación CV en el futuro y, en segundo lugar, si añadir un marcador de lesión cardíaca a los factores angiogénicos mejora la predicción de PE en gestantes con sospecha clínica.

### 3.2 Objetivos secundarios

1. Describir la afectación CV a largo plazo de las mujeres que desarrollaron PE durante la gestación.
2. Estudiar la asociación entre los factores angiogénicos y antiangiogénicos del embarazo y los parámetros de evaluación del riesgo CV a largo plazo.
3. Evaluar el rendimiento de la combinación de marcadores bioquímicos (ratio sFlt-1/PlGF, NT-proBNP y ácido úrico) para la detección de PE pretérmino en gestantes con sospecha clínica de la enfermedad.
4. Comparar la capacidad predictiva de la combinación de marcadores bioquímicos (ratio sFlt-1/PlGF, NT-proBNP y ácido úrico) con la del ratio sFlt-1/PlGF solo para la detección PE pretérmino en gestantes con sospecha clínica.





# **COMPENDIO DE PUBLICACIONES**



## 4. COMPENDIO DE PUBLICACIONES

### 4.1 Primer artículo

# Angiogenic Factors and Long-Term Cardiovascular Risk in Women That Developed Preeclampsia During Pregnancy

Autores: Carmen Garrido-Giménez, Manel Mendoza, Mónica Cruz-Lemini, Laura Galian-Gay, Olga Sanchez-García, Chiara Granato, Víctor Rodríguez-Sureda, José Rodríguez-Palomares, Elena Carreras-Moratonas, Luís Cabero-Roura, Elisa Llurba\*, Jaume Alijotas-Reig\*.

\*Equal contribution

*Hypertension*. 2020;76(6):1808-1816.

doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15830

Factor de impacto: 10.190

Cuartil: 1r

Estado: publicado

Premios: Comunicación oral ganadora del Young Investigator Award en el ISUOG Virtual World Congress (18 octubre 2020)



## Angiogenic Factors and Long-Term Cardiovascular Risk in Women That Developed Preeclampsia During Pregnancy

Carmen Garrido-Gimenez, Manel Mendoza, Monica Cruz-Lemini, Laura Galian-Gay, Olga Sanchez-Garcia, Chiara Granato, Victor Rodriguez-Sureda, Jose Rodriguez-Palomares, Elena Carreras-Moratonas, Lluís Cabero-Roura, Elisa Llurba,\* Jaume Alijotas-Reig\*

**Abstract**—Preeclampsia is caused by placental impairment with increased expression of sFlt-1 (soluble fms-like tyrosine kinase 1) and decreased PlGF (placental growth factor); it has been associated with cardiovascular morbidity and mortality later in life, but the underlying mechanism remains unknown. The aim of this study was to determine whether sFlt-1 and PlGF levels during preeclampsia are associated to long-term cardiovascular risk. We prospectively recruited 43 women with previous preeclampsia and 21 controls with uncomplicated pregnancies. Cardiovascular risk assessment ≈12 years later included maternal hemodynamic, cardiac function and structure, biomarker analysis, and carotid-intima thickness evaluation. Women with previous preeclampsia had higher prevalence of hypertensive disorders and dyslipidemia than controls. In addition, they had worse global longitudinal strain, thicker left ventricular septal and posterior walls, more myocardial mass and increased carotid intima-media thickness compared with controls. PlGF during pregnancy correlated positively with high-density lipoprotein ( $r=0.341$ ;  $P=0.006$ ), and negatively with global longitudinal strain ( $r=-0.581$ ;  $P<0.001$ ), carotid intima-media thickness ( $r=-0.251$ ;  $P=0.045$ ), and mean arterial blood pressure ( $r=-0.252$ ;  $P=0.045$ ), when adjusted by study group. sFlt-1 correlated negatively with high-density lipoprotein ( $r=-0.372$ ;  $P=0.002$ ) and apolipoprotein A-1 ( $r=-0.257$ ;  $P=0.040$ ), and positively with carotid intima-media thickness ( $r=0.269$ ;  $P=0.032$ ) and left ventricular posterior wall thickness ( $r=0.368$ ;  $P=0.003$ ). The antiangiogenic state present in preeclampsia is related to greater prevalence of cardiovascular risk factors ≈12 years after delivery. The knowledge of altered angiogenic factors may help detect women with a higher risk for premature cardiovascular disease, who will require earlier follow-up after delivery. (*Hypertension*. 2020;76:00-00. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15830.) • [Data Supplement](#)

**Key Words:** cardiovascular disease ■ hypertension ■ placental growth factor ■ preeclampsia ■ pregnancy

Preeclampsia is a pregnancy-related hypertensive disorder driven by an antiangiogenic environment that affects 2% to 5% of pregnancies. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and inflammatory response underlie the signs and symptoms of the disease.<sup>1</sup> Endothelial dysfunction in preeclampsia is driven by an imbalance between circulating antiangiogenic factors sFlt-1 (soluble fms-like tyrosine kinase 1) and sEng (soluble endoglin), and proangiogenic factor PlGF (placental growth factor). Diminished levels of PlGF are likely due to a combination of decreased expression of PlGF because of poor placentation, and reduced free PlGF due to binding with sFlt-1, which is elevated in affected women,<sup>2</sup> leading to an increase of sFlt-1/PlGF ratio. sFlt-1/PlGF ratio is a better predictor of disease severity than either marker alone.<sup>3</sup>

Premature subclinical maternal cardiac dysfunction and endothelial dysfunction have been described in pregnancies complicated by preeclampsia and some may persist after pregnancy.<sup>4</sup> Large retrospective epidemiological studies have consistently demonstrated that women with preeclampsia had 2- to 4- fold risk of developing cardiovascular disease in the first 15 years after pregnancy,<sup>5,6</sup> especially if associated with fetal compromise.<sup>7</sup> It is not known exactly whether having preeclampsia is cause or consequence of a basal increased cardiovascular risk. The majority of cases occur in patients with a priori lower risk. Moreover, the association with cardiovascular disease is greater in preterm/severe preeclampsia than in term preeclampsia; the first being the one more frequently associated with metabolic risk and cardiovascular risk factors.<sup>8</sup>

Received June 25, 2020; first decision July 21, 2020; revision accepted September 11, 2020.

From the Maternal-Fetal Medicine Unit, Sant Pau University Hospital (C.G.-G., M.C.-L., E.L.) and Maternal-Fetal Medicine Unit Vall d'Hebron University Hospital (M.M., E.C.-M.), Cardiology Department (L.G.-G., C.G., J.R.-P.) Vall d'Hebron University Hospital, and Systemic Autoimmune Disease Unit, Internal Medicine Department, and Vall d'Hebron Research Institute (J.A.-R.), Universitat Autònoma de Barcelona, Spain; Maternal and Child Health and Development Network (SAMID), RD16/0022/0015, Instituto de Salud Carlos III, Spain (C.G.-G., O.S.-G., E.L.); Women and Perinatal Health Research Group, Sant Pau Biomedical Research Institute (IIB-Sant Pau), Sant Pau University Hospital, Barcelona, Spain (C.G.-G., M.C.-L., O.S.-G., V.R.-S., E.L.); Centro de Investigación Biomédica en Enfermedades Cardiovasculares (CIBER-CV), Instituto de Salud Carlos III, Spain (L.G.-G., J.R.-P.); Centre for Biomedical Research on Rare Diseases (CIBER-ER), Instituto de Salud Carlos III, Spain (V.R.-S.); Biochemistry and Molecular Biology Research Centre for Nanomedicine, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Spain (V.R.-S.); and Chairman Obstetrics and Gynecology, Universitat Autònoma de Barcelona, Department of Obstetrics and Gynecology, Quirónsalud Hospital Barcelona (L.C.-R.).

\*These authors contributed equally to this work.

The Data Supplement is available with this article at <https://www.ahajournals.org/doi/suppl/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15830>.

Correspondence to Elisa Llurba, Head of Obstetrics and Gynecology Department, Santa Creu and Sant Pau University Hospital, C/ Sant Quint, 89, 08041, Barcelona, Spain. Email [ellurba@santpau.cat](mailto:ellurba@santpau.cat)

© 2020 American Heart Association, Inc.

*Hypertension* is available at <https://www.ahajournals.org/journal/hyp>

DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15830



Increased circulating levels of sFlt-1 in nonpregnant patients with abnormal cardiovascular states have been associated with development of endothelial vascular dysfunction, myocardial injury, and adverse cardiovascular outcomes.<sup>9</sup> PlGF stimulates angiogenesis, participates in recovery from cardiac pathologies, and acts as an independent risk factor for mortality after myocardial infarction.<sup>10</sup> Although angiogenic factors are critical players in preeclampsia's endothelial dysfunction, there is no evidence supporting their role as maternal cardiotoxic factors and cardiovascular risk later in life.

The aim of our study was to investigate whether antiangiogenic environment in pregnancies complicated with preeclampsia is related to signs of cardiovascular impairment long-term after pregnancy. For this purpose, we have recruited women approximately a decade after a preeclamptic pregnancy and evaluated if a relationship exists between sFlt-1 and PlGF levels at index pregnancy and long-term cardiovascular risk assessment.

### Methods

Data that supports the findings of this study is available upon reasonable request. The study protocol was approved by the institutional Ethics Committee, and patients provided written informed consent. Pregnant women, who participated in a previous study<sup>11</sup> performed between 2003 and 2005, were reinvited to participate for a cardiovascular risk assessment from January 2017 to June 2018. We enrolled singleton pregnancies with clinical diagnosis of preeclampsia (term and preterm) and controls with uncomplicated pregnancies. In the first study, at the time of inclusion, clinical data, uterine artery pulsatility index, and perinatal data (gestational age at delivery, mode of delivery, birth weight, and centile) were recorded. Blood samples were obtained at the time of development of preeclampsia, and sFlt-1, PlGF, and soluble form of VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule) circulating levels were analyzed. Control patients were recruited from the same study. We excluded women with reported known comorbidities before pregnancy (diabetes mellitus, dyslipidemia, autoimmune disease, and preexisting hypertension).

The criteria for the diagnosis of preeclampsia were those of the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy.<sup>12</sup> Preeclampsia defined as a previously normotensive woman who presented with systolic or diastolic blood pressure (BP) >140/90 mmHg measured twice (4 hours apart) and proteinuria >300 mg in a 24-hour urine specimen or 2+ protein on dipsticks in urine, after 20 weeks' gestation. An uncomplicated pregnancy history was defined as delivery between 37- and 42-weeks' gestation, after a normotensive pregnancy and with absence of intrauterine growth restriction (normal birth weight/birth weight centile) or other perinatal complications.

### Cardiovascular Risk Assessment

At time of cardiovascular risk assessment, no women were pregnant or using oral contraceptives. Maternal height and weight were recorded, and body mass index was calculated. Waist circumference was measured using inelastic tape at the narrowest point of the waist. BP (systolic, diastolic, and mean arterial) was measured sitting down after a minimum rest of 5 minutes. A validated semi-automatic device (Microlife corp, Widnau, Switzerland) and an appropriate-sized adult cuff were used for the right upper arm in a semi-recumbent position; mean value of 2 BP readings over a 60-second interval was documented. The participants filled out a validated questionnaire consisting of current medical conditions, use of medications and baseline characteristics from selected lifestyle factors: smoking status, physical activity, and perceived stress measured by the Perceived Stress Scale which has demonstrated good validity and reliability in previous studies.<sup>13</sup>

### Blood Samples and Biomarkers Determination

Venous blood samples for cardiovascular risk study were obtained at current evaluation. The following parameters were measured

in maternal serum: glucose, urea, creatinine, HbA1c (glycated hemoglobin), total cholesterol, HDL (high-density lipoprotein), LDL (low-density lipoprotein), triglycerides, ApoA-1 (apolipoprotein A-1), ApoB (apolipoprotein B), lipoprotein(a), homocysteine, sEng, C-reactive protein, VCAM-1, secreted acid sphingomyelinase,<sup>14</sup> N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, B-type Natriuretic Peptide, and troponin T. sFlt-1 and PlGF were measured using the fully automated Elecsys platform (Roche, Penzberg, Germany). Levels of PlGF, sFlt-1, and VCAM-1 in pregnancy were measured as previously described in the literature.<sup>11</sup> Specific assays and kits for biomarker analyses are detailed as Methods in the [Data Supplement](#).

### Echocardiographic Evaluation

Transthoracic echocardiography was performed in all patients by 2 experienced cardiologists (L. Galian-Gay, C. Granato) using a Vivid 7 (General Electric Healthcare, Horten, Norway) high-resolution ultrasound system. Standard 2-dimensional views were obtained, and color, continuous, and pulsed Doppler were used to assess cardiac function according to European Association of Cardiovascular Imaging Standards.<sup>15</sup> Echocardiographic studies were analyzed using dedicated software (EchoPAC, GE Healthcare, Little Chalfont, United Kingdom). Speckle tracking was employed to assess global longitudinal strain (GLS) of the left ventricle (LV). LV ejection fraction was evaluated using Biplane Simpson method. LV dimensions, wall thicknesses, and myocardial mass using M-mode and 2-dimensional echocardiography were also evaluated. Diastolic dysfunction was evaluated using Mitral E/E' ratio and left atria dimensions. Left stroke volume and cardiac outputs were obtained using conventional formulas. Right ventricular function was evaluated using tricuspid annular plane systolic excursion, S<sub>1</sub> peak systolic velocity of the tricuspid annulus obtained by tissue Doppler imaging. Pulmonary artery systolic pressure was also obtained. Carotid intima-media thickness (cIMT) measurement was performed with a 9 L-RS linear probe (3–10 MHz).<sup>16</sup>

### Statistical Analysis

Data were analyzed using the IBM SPSS Statistics 26 statistical package. Variables studied were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test. Comparisons between study groups were done with Mann-Whitney test,  $\chi^2$  or Fisher exact test where appropriate and are presented as median (interquartile range) or n (percentage). Correlation analyses were investigated using the Pearson method and confirmed by Spearman. Linear regression analyses were conducted to adjust for study group. *P* values below 0.05 were considered statistically significant for all tests performed.

### Results

We identified 153 women with entry criteria a decade after pregnancy: 78 with previous preeclampsia and 75 controls with uncomplicated pregnancies. Forty-seven declined study participation, 30 women were impossible to contact, and 12 women were excluded because of an incomplete clinical file. Thus, the final cohort analyzed included 64 patients: 43 with previous preeclampsia and 21 controls.

Table 1 shows baseline characteristics of participants at index pregnancy. No differences except for parity (*P*=0.020) and ethnicity (*P*=0.014) were found between women who had preeclampsia and uncomplicated pregnancies. Women who developed preeclampsia referred more often first relatives diagnosed of hypertensive disorders (*P*=0.035). As expected, the preeclampsia group had higher BPs (systolic, diastolic, and mean arterial pressure, *P*<0.001 for all) at enrolment; 30 women (69.8%) developed early-onset preeclampsia <34 weeks. During pregnancy, women with preeclampsia showed signs of placental dysfunction, with significantly higher levels of sFlt-1, sFlt1/PlGF ratio and

Table 1. Baseline Characteristics of the Study Population at Index Pregnancy (n=64)

Variables	Preeclampsia, n=43	Uncomplicated Pregnancies, n=21	P Value
<b>Maternal characteristics</b>			
Age, y	30 (26–33.5)	31 (27–33)	0.443
BMI, kg/m <sup>2</sup>	28.4 (25.2–30.8)	27.8 (26.2–29.9)	0.731
Smoking, n (%)	11 (25.6)	8 (28.6)	1.000
Nulliparous, n (%)	34 (79.1)	10 (47.6)	0.020
Obesity, n (%)	15 (34.9)	6 (28.6)	0.778
Caucasian, n (%)	29 (67.4)	20 (95.2)	0.014
<b>Family history</b>			
Hypertensive disorders	27 (62.8)	7 (33.3)	0.036
Dyslipidemia	12 (27.9)	3 (14.3)	0.348
<b>Maternal blood pressure*</b>			
Systolic, mm Hg	170 (160.3–181.5)	114.5 (102–121.5)	<0.001
Diastolic, mm Hg	100 (97–110)	82.5 (80–89)	<0.001
Mean, mmHg	125.8 (119–133.2)	79.8 (76.3–88)	<0.001
<b>Placental biomarkers</b>			
GA at evaluation	30.8 (28.6–35.5)	37.0 (25.6–39.3)	0.586
sFlt-1, pg/mL	2908 (2156–3981)	537.8 (347.2–1411)	<0.001
PlGF, pg/mL	56 (38.9–123.3)	225.3 (168.4–344.1)	<0.001
sFlt-1/PlGF ratio	55.9 (17.3–100.2)	1.7 (1.4–6.1)	<0.001
VCAM-1, pg/mL	861.4 (738.7–1026.5)	582.6 (471.2–641.7)	<0.001
UtA-PI	1.78 (1.65–2.15)	0.88 (0.76–1.17)	<0.001
<b>Pregnancy outcomes</b>			
GA at delivery, wk	33.5 (29.6–38.5)	40.0 (39.0–41.0)	<0.001
Caesarean section, n (%)	31 (72.1)	5 (23.8)	<0.001
Birth weight, grams	1415 (975–2185)	3150 (3100–3520)	<0.001
Birth weight, centile	1 (1–8)	43 (26–67)	<0.001

Data shown as median (interquartile range) or n (%). BMI indicates body mass index; GA, gestational age; PlGF, placental growth factor; sFlt-1, soluble form of tyrosine Kinase 1; UtA-PI, mean uterine artery pulsatility index; and VCAM-1, vascular cell adhesion molecule 1.

\*Highest value obtained in pregnancy.

uterine artery pulsatility index, and lower levels of PlGF; higher levels of VCAM-1 were also found ( $P<0.001$ ). A total of 22 (51%) out of 43 women in the preeclampsia group had a subsequent pregnancy, 10 of which (23.3%) had recurring preeclampsia. The preeclamptic group, as expected, delivered at earlier gestational ages, with a higher incidence of caesarean section ( $P<0.001$ ), smaller babies with lower birth weight centiles ( $P<0.001$  for all).

#### Cardiovascular Assessment a Decade After Index Pregnancy

The median time interval from pregnancy to study was 12.7 (12.3–13.0) years, with no differences in follow-up between study groups ( $P=0.137$ ). Clinical data at cardiovascular risk assessment are in Table 2. No significant differences were observed in age, smoking prevalence, body mass index, or waist circumference between the groups. Regarding medical

comorbidities, women with previous preeclampsia had higher prevalence of hypertensive disorders (32.6 versus 4.8%,  $P=0.014$ ) and dyslipidemia (27.9 versus 4.8%,  $P=0.045$ ). No differences were observed between groups regarding lifestyle, considering perceived stress test results or referred physical activity. Overall, BPs were significantly higher in women with previous preeclampsia (systolic BP,  $P=0.011$ ; diastolic BP,  $P=0.008$ ; mean arterial pressure,  $P=0.007$ ).

#### Laboratory Parameters at Cardiovascular Assessment

Table 3 shows laboratory and echocardiographic parameters assessed for cardiovascular risk. Laboratory data showed significantly lower levels of HDL and ApoA-1 in women with previous preeclampsia ( $P<0.001$  and  $P=0.036$ , respectively). No differences were observed in other metabolic, inflammatory, renal, or cardiac biomarkers.

**Table 2.** Clinical Data at Cardiovascular Risk Assessment ~12 y After Index Pregnancy (n=64)

Variables	Preeclampsia, n=43	Uncomplicated Pregnancies, n=21	P Value
<b>Basal characteristics</b>			
Time post index pregnancy, y	12.5 (12.2–12.9)	12.8 (12.5–13.1)	0.137
Age, y	42 (38–46)	43 (41–48)	0.368
BMI, kg/m <sup>2</sup>	24.9 (22.5–29.1)	24.4 (21.3–26.7)	0.230
Waist circumference, cm	89 (77–98)	83.5 (74.5–85.5)	0.059
Smoking	16 (37.2)	10 (47.6)	0.588
<b>Current maternal medical conditions</b>			
Deep venous thrombosis	...	...	...
Myocardial infarction	...	...	...
Stroke	2 (4.7)	...	1.000
Hypertensive disorders	14 (32.6)	1 (4.8)	0.014
Dyslipidemia	12 (27.9)	1 (4.8)	0.045
Diabetes mellitus	2 (4.7)	...	1.000
Metabolic syndrome	10 (23.3)	2 (9.5)	0.308
Perceived stress scale	18 (13–26)	17 (11–20)	0.178
<b>Physical activity</b>			
None or light	25 (58.1)	10 (47.6)	0.576
Moderate (2–4 h per week)	12 (27.9)	8 (38.1)	
Hard (≥4 h per week)	6 (14)	3 (14.3)	
<b>Maternal blood pressure</b>			
Systolic, mm Hg	123 (113–137)	111(104–125)	0.011
Diastolic, mm Hg	78 (71–88)	71 (64.5–78)	0.008
Mean, mm Hg	82.7 (83–104.3)	85 (77.3–90.8)	0.007

Data shown as median (interquartile range) or n (%). BMI indicates body mass index.

#### Echocardiographic Evaluation at Cardiovascular Assessment

Cardiac ultrasound evaluation showed significantly lower GLS values in women with previous preeclampsia compared with uncomplicated pregnancies ( $P=0.038$ ). Thicker LV ( $P=0.027$ ) and posterior walls ( $P=0.020$ ) and higher myocardial mass ( $P=0.032$ ) were observed in preeclamptic patients. Higher values of cIMT were recorded in women with previous preeclampsia ( $P=0.015$ ). All other echocardiographic parameters showed no differences between groups.

#### Correlation Between Angiogenic Factors at Index Pregnancy and Long-Term Cardiovascular Risk Factors

Correlation coefficients between angiogenic factors and significant cardiovascular parameters are shown in Table 4.

PlGF correlated positively with HDL ( $P=0.006$ ), and negatively with GLS ( $P<0.001$ ), cIMT ( $P=0.045$ ), diastolic BP ( $P=0.021$ ) and mean arterial pressure ( $P=0.045$ ), when adjusted by study group (Figure). sFlt1 correlated negatively with HDL ( $P=0.002$ ) and ApoA-1 ( $P=0.040$ ) and positively with cIMT ( $P=0.032$ ) and LV posterior wall thickness ( $P=0.003$ ). Finally, the sFlt1/PlGF ratio correlated negatively with HDL ( $P=0.012$ ). These associations were independent of mean BP and the presence of hypertension. All parameters evaluated and correlations are displayed in Tables in the Data Supplement.

#### Discussion

This is the first study that describes the association between angiogenic markers at pregnancy and cardiovascular risk factors ~12 years after, defined by maternal BP, echocardiographic evaluation, cIMT examination, and biochemical parameters. We observed that in women with previous preeclampsia, decreased serum levels of PlGF were associated with higher BP, lower HDL, abnormal myocardial response, and increased cIMT. Second, increased levels of sFlt-1 were associated with long-term worse lipid profile (lower HDL and apoA-1) and increased cIMT in the preeclampsia group.



#### Interpretation of Results and Comparison With Existing Literature

Previous studies have consistently demonstrated maternal cardiac dysfunction, characterized by cardiac remodeling, decreased myocardial relaxation and global LV diastolic function, in pregnancies complicated by preeclampsia,<sup>17</sup> and that these alterations persist at least 4 years after pregnancy.<sup>11</sup> Our observations are in line with previous data where women with previous preeclampsia had significantly higher BP and worse myocardial deformation. Higher BP is a leading risk factor for death from ischemic heart disease and stroke without any evidence of a threshold down to at least 115/75 mm Hg.<sup>19</sup> Worse myocardial deformation, defined by changes in GLS, has been described in previous studies in pregnant women as a good indicator of subclinical systolic myocardial dysfunction.<sup>20</sup> In our study, albeit the magnitude of GLS is modest, it has been described that subtle changes with preserved LV ejection fraction were detected in conditions predisposing to heart failure.<sup>21</sup> In agreement with previous studies, we observed increased myocardial hypertrophy in women with previous preeclampsia, adding to the increased cardiovascular risk<sup>22</sup>; the Framingham Heart Study reported a 1.57-fold increased risk of cardiovascular disease for every 50 g increase in LV mass.<sup>23</sup> Preeclampsia also exerts long-term effects on kidney health; long-term risk of chronic and end stage renal disease after preeclampsia is well reported,<sup>24</sup> although in our cohort renal parameters were within normal ranges and no correlations were observed with angiogenic factors during pregnancy.

Cardiac dysfunction similar to what is present in patients with preeclampsia was observed after sFlt-1 administration in pregnant animals.<sup>25</sup> Recent human studies observed an association between serum sFlt-1 and sEng

Table 3. Laboratory and Echocardiographic Parameters at Cardiovascular Risk Assessment ~12 y After Index Pregnancy (n=64)

Variables	Preeclampsia, n=43	Uncomplicated Pregnancies, n=21	P Value
<b>Angiogenic and antiangiogenic factors</b>			
sFlt-1, pg/mL	85.7 (78.6 to 91.0)	82.9 (80.6 to 94.2)	0.808
PlGF, pg/mL	10.3 (9.6 to 12.9)	10.4 (9.5 to 12.3)	0.715
sFlt1/PlGF ratio	7.9 (6.3 to 11.4)	7.8 (6.7 to 9.1)	0.882
sEng, ng/ml	6.1 (5.4 to 6.9)	6.3 (5.8 to 6.9)	0.574
<b>Biochemistry and inflammatory markers</b>			
Glucose, mg/dL	84 (78 to 82)	84 (77.5 to 88)	0.784
Total cholesterol, mg/dL	182 (155 to 222)	196 (171.5 to 216.5)	0.247
High-density lipoprotein, mg/dL	54 (49 to 80)	61 (57 to 73.5)	0.001
Low-density lipoprotein, mg/dL	112 (91 to 138)	118 (96.5 to 137)	0.926
Triglycerides, mg/dL	70 (59 to 111)	70 (46 to 103)	0.488
Apolipoprotein A-1, mg/dL	152 (141 to 170)	166 (151 to 197.5)	0.036
Apolipoprotein B, mg/dL	82 (68.8 to 103)	78.7 (69.9 to 98.35)	0.705
VCAM-1, pg/mL	573 (498.8 to 714.1)	577.4 (471.2 to 631.4)	0.371
S-ASM, nmol/mL	4.2 (3.4 to 6.5)	3.8 (2.6 to 4.8)	0.066
<b>Cardiac biomarkers</b>			
NT-proBNP, pg/mL	1 (0.9 to 1.2)	1.01 (0.9 to 1.3)	0.678
BNP, pg/mL	21.1 (9.2 to 32.7)	15.2 (11.6 to 31.8)	0.960
Troponin T, pg/mL	11.2 (9.2 to 13.5)	11.3 (9.4 to 13.6)	1.000
<b>Echocardiographic measurements</b>			
Global longitudinal strain, %	-20 (-22 to -19)	-21 (-24 to -20)	0.038
LV ejection fraction, %	62 (60 to 65)	64 (60.5 to 66)	0.281
LV septal wall thickness, mm	9 (8 to 11)	8 (8 to 9.5)	0.027
LV posterior wall thickness, mm	8 (8 to 9)	7 (7 to 8.5)	0.020
LV myocardial mass, grams	107 (95 to 125)	93 (80 to 111)	0.032
Mitral E/E' ratio	7.8 (5.67 to 9)	7 (6 to 8)	0.968
Left atrium diameter, mm	35 (32 to 38)	35 (32.5 to 38)	0.405
LV cardiac output, lt/min	4.45 (3.94 to 5.29)	4.20 (3.61 to 5.27)	0.346
TAPSE, mm	22.5 (20 to 23)	23 (21 to 25)	0.070
Tricuspid annulus S' peak velocity, cm/s	13 (12 to 14)	13 (12 to 24)	0.609
PASP, mm Hg	23 (19.5 to 31.5)	24 (24 to 24)	0.800
cIMT, mm	0.52 (0.49 to 0.63)	0.50 (0.40 to 0.50)	0.013

Data shown as median (interquartile range) or n (%). BNP indicates B-type natriuretic peptide; cIMT, carotid intima-media thickness; LV, left ventricle; NT-proBNP, N-terminal pro-B-type natriuretic peptide; PASP, pulmonary artery systolic pressure; PlGF, placental growth factor; S-ASM, secreted acid sphingomyelinase; sEng, soluble endoglin; sFlt-1, soluble form of tyrosine kinase 1; TAPSE, tricuspid annular plane systolic excursion; and VCAM-1, vascular cell adhesion molecule 1.

Downloaded from <https://ahajournals.org/> by on October 5, 2020

with worse GLS in women with preeclampsia during pregnancy,<sup>26</sup> and the increase of sFlt-1 had been associated with peripartum cardiomyopathy among susceptible woman.<sup>27</sup> Increased sFlt-1 and decreased PlGF were previously described in heart and brain tissue of congenital heart defects fetuses, and in maternal serum in these pregnancies<sup>28</sup>; in addition, carrying a fetus with congenital heart disease has an increased risk of developing preeclampsia.<sup>29</sup> For the first time, we describe that decreased pregnancy

PlGF levels correlate with cardiovascular risk factors 12 years later, and this association persists after adjusting for study groups. Low HDL cholesterol is a powerful risk factor for cardiovascular disease and remains a risk factor even in patients with low LDL cholesterol.<sup>30</sup> PlGF has previously been associated with systemic cardiovascular adaptation to pregnancy. Findings from animals studies indicate that decreased PlGF levels resulting from placental ischemia contribute to maternal hypertension<sup>31</sup> and

**Table 4. Correlation Coefficients Between Angiogenic Markers at Index Pregnancy and Cardiovascular Risk Parameters 12 y Later**

Angiogenic Factors	Correlation Coefficient	Correlation P Value	Group-Adjusted P Value
<b>PlGF</b>			
Mean arterial blood pressure	-0.252	0.022	0.045
HDL, mg/dL	0.341	0.003	0.006
Global longitudinal strain, %	-0.581	<0.001	<0.001
cIMT, mm	-0.251	0.023	0.045
<b>sFlt-1</b>			
HDL, mg/dL	-0.372	0.001	0.002
Apolipoprotein A-1, mg/dL	-0.257	0.020	0.040
LV posterior wall thickness, mm	0.268	0.001	0.003
cIMT, mm	0.268	0.018	0.032

P values obtained by Spearman rank correlation coefficient, adjusted by study group (preeclampsia vs control). cIMT indicates carotid intima-media thickness; HDL, high-density lipoprotein; LV, left ventricle; PlGF, placental growth factor; and sFlt-1, soluble form of tyrosine kinase 1.

are associated with abnormal cardiovascular remodeling in pregnant mice (high BP and excessive increase in LV mass).<sup>32</sup> A recent retrospective study associated low PlGF concentrations in early and mid-pregnancy with increased left atrial diameter and LV mass index 6 years later, and also found PlGF levels had an inverse association with systolic BP 9 years later.<sup>33</sup> However, this study evaluated a mixed pregnant population that included women with preeclampsia, small for gestational age and preterm birth, and did not analyze angiogenic biomarkers upon diagnosis of preeclampsia. PlGF seems to have a cardioprotective function; it is produced by endothelial cells during the acute phase of myocardial infarction, probably to compensate the acute ischemic damage.<sup>34</sup>

We found no differences in sFlt-1, PlGF, and VCAM-1 12 years after the index pregnancy, which is also in line with previous reports.<sup>25</sup> The association of elevated cIMT in preeclamptic pregnancies is well documented<sup>36</sup>; however, a cause-effect relationship has not been established, and it is also unclear for how long endothelial dysfunction persist after pregnancy. A recent meta-analysis including a total of 813 women with history of preeclampsia 10 or more years before, reported greater cIMT in the preeclampsia group compared with controls (0.18 mm [95% CI, 0.05–0.30 mm];  $P=0.004$ ),<sup>37</sup> which is in line with our results. Our study is the first to associate angiogenic imbalance in pregnancy and long-term increases in cIMT; our findings suggest that impairment of vascular endothelial function during pregnancy might be the initial step in developing atherosclerosis later in life.

Elevated levels of VCAM-1 have been described in pregnancies complicated by preeclampsia as a sign of endothelial damage.<sup>21</sup> VCAM-1 was also associated significantly with cardiovascular risk in our study; higher levels in pregnancy were associated with long-term higher BP, lower HDL, and

worse GLS when adjusted by study group. This would reinforce the concept that severity of endothelial damage during pregnancy could determine the degree of long-term susceptibility to cardiovascular disease.

### Clinical and Research Implications

Women with previous preeclampsia had more cardiovascular risk factors and comorbidities compared with uncomplicated pregnancies. Two women from the preeclampsia group had a stroke before 40 years of age, 32% were hypertensive, 28% had dyslipidemia, and 23% had metabolic syndrome; no differences were observed in modifiable risk factors such as cigarette smoking, obesity, physical activity, or stress level. Our study presented follow-up to 12 years in a relatively young population (42 years), so it is likely that in the long-term, magnitude of our findings will increase.<sup>38</sup> There is no current consensus on how these women should be followed years after an affected pregnancy, but recent data supports cardiovascular follow-up starting within the fourth decade of life.<sup>40</sup> Our data suggests that follow-up could be decided upon by the severity of the preeclampsia and the angiogenic factors during pregnancy, which would allow detecting those patients that have a higher risk to develop cardiovascular-associated complications.

Our results also suggest that in pregnancies complicated by preeclampsia a more extensive cardiovascular assessment during follow-up should be performed, which could include lipid profile, cIMT, and echocardiography. Multifactorial risk reduction strategy for women after preeclampsia, especially in those with more altered angiogenic factors during pregnancy, should be offered, emphasizing lifestyle changes and routine doctor check-ups after delivery.

### Strengths and Limitations

Our study is a well-defined population of preeclamptic patients from a previous prospective study.<sup>11</sup> Thus, all pregnancy parameters (biochemical markers, pregnancy data, Doppler) were obtained prospectively and with standardized procedures. This allowed for long-term recruitment and prospective follow-up of these patients. Furthermore, women with underlying prepregnancy risk factors for preeclampsia or cardiovascular disease (ie, preexisting diabetes mellitus) were excluded, avoiding selection bias. All echocardiographic parameters were measured and recorded specifically for this study by cardiologists who were blinded to the study group. It is also important to highlight that most women with preeclampsia had a severe condition, with the majority delivering preterm, and associated to intrauterine growth restriction, therefore, we considered the population was well selected. We acknowledge that this investigation has some limitations. First, sample size is small due to the time-lapse since pregnancy, which limited the number of patients we could contact. Second, only 41.8% of women with entry criteria were finally included, with those with previous severe preeclampsia more eager to participate in our study, which might induce some selection bias.

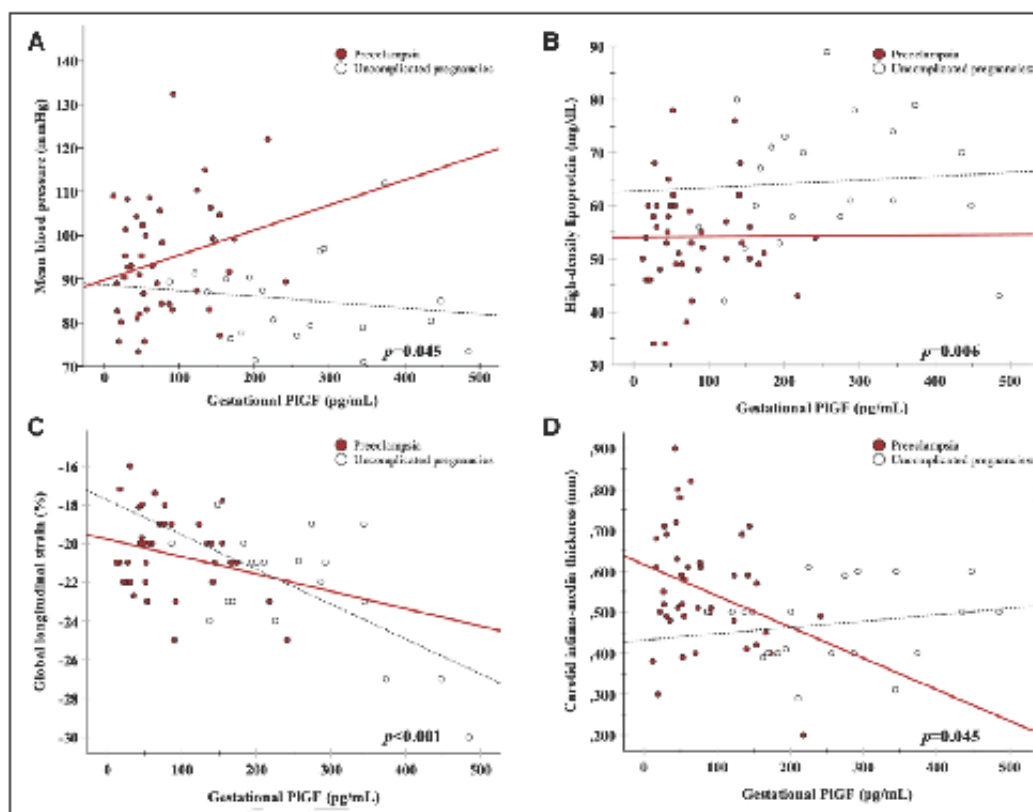


Figure 4. Correlations between PlGF (placental growth factor) levels at index pregnancy and cardiovascular risk parameters 12 years later. A, Mean arterial blood pressure. B, High-density lipoprotein. C, Global longitudinal strain, and D, carotid intima-media thickness. *P* value obtained by Pearson correlation coefficient. Fit line shown for each group.

### Perspectives

Our study shows an association between angiogenic imbalance in pregnancies complicated by preeclampsia and signs of cardiovascular impairment long-term after pregnancy. To what degree the antiangiogenic state may determine cardiac function and become a clinical prognostic value, as well as the relationship between cardiac disease and placental dysfunction, remains to be determined. This newly described relationship between angiogenesis and CV disease may allow in the future, development of new predictive strategies and open a window of research opportunities into novel preventive therapeutics for these patients.

### Acknowledgments

We thank Ignasi Gich from Sant Pau University Hospital for assisting with data analysis of the study.

### Sources of Funding

This study was supported by Theme-based Networks for Cooperative Research in Health, Maternal and Child Health and Development Network (SAMID Network) RD16/0022/0015, funded by the Fondo de Investigación Sanitaria grant P116/019, from the Instituto de Salud

Carlos III, Spain. The funding body had no role in the study design, collection or analysis of the data, nor on article writing.

### Disclosures

E. Llorca received fees from Sanofi, and as a consultant on the Spanish advisory board of Roche diagnostics. The other authors report no conflicts.

### References

1. Redman CWG, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180:499–506. doi: 10.1016/S0002-9378(99)70230-5
2. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004;350:672–683. doi: 10.1056/NEJMoa031884
3. Zeisler H, Llorca E, Chantraine F, Valish M, Staff AC, Semström M, Olovsson M, Brennecke SP, Stepan H, Allegranza D, et al. Predictive value of the sFlt-1/PlGF ratio in women with suspected preeclampsia. *N Engl J Med*. 2016;374:13–22. doi: 10.1056/NEJMoa1414838
4. Sandvik MK, Leirgul E, Nygård O, Ueland PM, Berg A, Svanstad E, Vikse BE. Preeclampsia in healthy women and endothelial dysfunction 10 years later. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;209:569.e1–569.e10. doi: 10.1016/j.ajog.2013.07.024
5. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams DJ. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2007;335:974. doi: 10.1136/bmj.39335.385301.BE

6. Leon LJ, McCarthy FP, Direk K, Gonzalez-Inquierdo A, Prieto-Merino D, Casas JP, Chappell L. Preeclampsia and cardiovascular disease in a large UK pregnancy cohort of linked electronic health records: a CALIBER study. *Circulation*. 2019;140:1050–1060. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038080
7. Cain MA, Salemi JL, Tanner JP, Kirby RS, Salihu HM, Louis JM. Pregnancy as a window to future health: maternal placental syndromes and short-term cardiovascular outcomes. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215:484.e1–484.e14. doi: 10.1016/j.ajog.2016.05.047
8. Melchiorre K, Sutherland G, Sharma R, Nanni M, Thilaganathan B. Mid-gestational maternal cardiovascular profile in preterm and term preeclampsia: a prospective study. *BJOG*. 2013;120:496–504. doi: 10.1111/1471-0528.12068
9. Hammadah M, Georgiopoulos VV, Kalogeropoulos AP, Weber M, Wang X, Samara MA, Wu Y, Butler J, Tang WH. Elevated soluble Fms-like tyrosine kinase-1 and placental-like growth factor levels are associated with development and mortality risk in heart failure. *Circ Heart Fail*. 2016;9:e002115. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002115
10. Drake N, Tooy DS, Tooy RJ. Placenta growth factor and sFlt-1 as biomarkers in ischemic heart disease and heart failure: a review. *Biomark Med*. 2019;13:785–799. doi: 10.2217/bmm-2018-0492
11. Crispi F, Dominguez C, Llorca E, Martín-Gallán F, Cabero L, Gratacós E. Placental angiogenic growth factors and uterine artery Doppler findings for characterization of different subsets in preeclampsia and in isolated intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;195:201–207. doi: 10.1016/j.ajog.2006.01.014
12. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy*. 2001;20:IX–XIV. doi: 10.1081/PRG-100104165
13. Graff S, Prior A, Fenger-Gron M, Christensen B, Gillmer C, Larsen FB, Vestegaard M. Does perceived stress increase the risk of atrial fibrillation? A population-based cohort study in Denmark. *Am Heart J*. 2017;188:26–34. doi: 10.1016/j.ahj.2017.03.002
14. Rodríguez-Sureda V, Crovetto F, Triunfo S, Sánchez O, Crispi F, Llorca E, Gratacós E, Figueras F, Domínguez C. Increased secretory sphingomyelinase activity in the first trimester of pregnancy in women later developing preeclampsia: a nested case-control study. *Biol Chem*. 2016;397:269–279. doi: 10.1515/bch-2015-0266
15. Nagath SF, Smiesz OA, Appleton CP, Byrd BF 3rd, Dokainish H, Edwards T, Flachskampf FA, Gillebert TC, Klein AL, Lancellotti P, et al. Houston, Texas; Oslo, Norway; Phoenix, Arizona; Nashville, Tennessee; Hamilton, Ontario, Canada; Uppsala, Sweden; Ghent and Liège, Belgium; Cleveland, Ohio; Novara, Italy; Rochester, Minnesota; Bucharest, Romania; and St. Louis, Missouri. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2016;17:1321–1360. doi: 10.1093/ehjcvj/eww082
16. Selzer RH, Hodis HN, Kwong-Pu H, Mack WJ, Lee PL, Liu CR, Liu CH. Evaluation of computerized edge tracking for quantifying intima-media thickness of the common carotid artery from B-mode ultrasound images. *Atherosclerosis*. 1994;111:1–11. doi: 10.1016/0021-9150(94)90186-4
17. Melchiorre K, Sutherland GR, Balkabaeva A, Liberati M, Thilaganathan B. Maternal cardiac dysfunction and remodeling in women with preeclampsia at term. *Hypertension*. 2011;57:85–93. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.162321
18. Crabona R, Vizardi E, Sclati E, Bonadei I, Vakamionko A, Metra M, Frusca T. Insights into cardiac alterations after pre-eclampsia: an echocardiographic study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017;49:124–133. doi: 10.1002/ugb.15983
19. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R; Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002;360:1903–1913. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11911-3
20. Shahul S, Rhee J, Hacker MR, Gulati G, Mitchell JD, Hess P, Mahmood F, Arany Z, Rana S, Talmor D. Subclinical left ventricular dysfunction in preeclamptic women with preserved left ventricular ejection fraction: a 2D speckle-tracking imaging study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012;5:734–739. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.112.973818
21. Narayanan A, Anrigemma GF, Chinn M, Hill JC, Meyer TE, Tighe DA. Cardiac mechanics in mild hypertensive heart disease: a speckle-strain imaging study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2009;2:382–390. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.108.811620
22. Verdecchia P, Porcellati C, Reboldi G, Gaitobigio R, Borgioni C, Pearson TA, Ambrosio G. Left ventricular hypertrophy as an independent predictor of acute cerebrovascular events in essential hypertension. *Circulation*. 2001;104:2039–2044. doi: 10.1161/hc4201.097944
23. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med*. 1990;322:1561–1566. doi: 10.1056/NEJM199005132222003
24. Covella B, Vinturache AE, Cabiddu G, Altini R, Gesualdo L, Versino E, Piccoli GB. A systematic review and meta-analysis indicates long-term risk of chronic and end-stage kidney disease after preeclampsia. *Kidney Int*. 2019;96:711–727. doi: 10.1016/j.kint.2019.03.033
25. Patten IS, Rana S, Shahul S, Rowe GC, Jang C, Liu L, Hacker MR, Rhee JS, Mitchell J, Mahmood F, et al. Cardiac angiogenic imbalance leads to peripartum cardiomyopathy. *Nature*. 2012;485:333–338. doi: 10.1038/nature11040
26. Shahul S, Medvedofsky D, Wenger JB, Nizamuddin J, Brown SM, Bajracharya S, Salahuddin S, Thadhani R, Mueller A, Tung A, et al. Circulating antiangiogenic factors and myocardial dysfunction in hypertensive disorders of pregnancy. *Hypertension*. 2016;67:1273–1280. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07252
27. Bello N, Rendon ISH, Arany Z. The relationship between pre-eclampsia and peripartum cardiomyopathy: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:1715–1723. doi: 10.1016/j.jacc.2013.08.717
28. Llorca E, Sánchez O, Ferrer Q, Nicolaidis KH, Ruiz A, Domínguez C, Sánchez-de-Toledo J, García-García B, Soró G, Arévalo S, et al. Maternal and foetal angiogenic imbalance in congenital heart defects. *Eur Heart J*. 2014;35:701–707. doi: 10.1093/eurheartj/ehh389
29. Ruiz A, Ferrer Q, Sánchez O, Ribera T, Arévalo S, Alomar O, Mendoza M, Cabero L, Careras E, Llorca E. Placenta-related complications in women carrying a foetus with congenital heart disease. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016;29:3271–3275. doi: 10.3109/14767058.2015.1121480
30. Liu X, Yang Y, Kang F, Li J, Zhou M, Ma X, Yu T, Zhang T, Xue F. Cardiovascular disease risk across a spectrum of adverse plasma lipid combinations by gender and glycemic status. *Am J Cardiol*. 2019;124:702–706. doi: 10.1016/j.amjcard.2019.05.058
31. Spradley FT, Tan AY, Joo WS, Daniels G, Kusie P, Karumanchi SA, Geanger JP. Placental growth factor administration abolishes placental ischemia-induced hypertension. *Hypertension*. 2016;67:740–747. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06783
32. Aasa KL, Zavan B, Luna RL, Wong PG, Ventura NM, Tse MY, Carmeliet P, Adams MA, Ping SC, Croy BA. Placental growth factor influences maternal cardiovascular adaptation to pregnancy in mice. *Biol Reprod*. 2015;92:44. doi: 10.1095/biolreprod.114.124677
33. Benschop L, Schalekamp-Timmermans S, Broeze-Brown ZA, Roelers van Lennep JE, Jaddoe VVW, Roos-Hesselink JW, Ikrum MK, Steegers EAP, Roberts JM, Gandy RE. Placental growth factor as an indicator of maternal cardiovascular risk after pregnancy. *Circulation*. 2019;139:1698–1709. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036632
34. Iwama H, Uemura S, Naya N, Imagawa K, Takemoto Y, Asai O, Onoue K, Okayama S, Somekawa S, Kida Y, et al. Cardiac expression of placental growth factor predicts the improvement of chronic phase left ventricular function in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:1559–1567. doi: 10.1016/j.jacc.2005.11.064
35. Gaugler-Senden IP, Tamsa JT, van der Bent C, Kuusters R, Steegers EA, de Groot CJ. Angiogenic factors in women ten years after severe very early onset preeclampsia. *PLoS One*. 2012;7:e43637. doi: 10.1371/journal.pone.0043637
36. Stergiotou I, Crispi F, Valenzuela-Akcariz B, Bijnens B, Gratacós E. Patterns of maternal vascular remodeling and responsiveness in early-versus late-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;209:558.e1–558.e14. doi: 10.1016/j.ajog.2013.07.030
37. Garovic VD, Milic NM, Weissgerber TL, Mielke MM, Bailey KR, Lahr B, Jayachandran M, White WM, Hodis HN, Miller VM. Carotid artery intima-media thickness and subclinical atherosclerosis in women with remote histories of preeclampsia: results from a Rochester epidemiology project-based study and meta-analysis. *Mayo Clin Proc*. 2017;92:1328–1340. doi: 10.1016/j.mayocp.2017.05.030
38. Rios DRA, Alpoim PN, Godoi LC, Perucci LO, de Sousa LP, Gomes KB, Dussé LMS. Increased levels of sENG and sVCAM-1 and decreased levels of VEGF in severe preeclampsia. *Am J Hypertens*. 2016;29:1307–1310. doi: 10.1093/ajh/hpv170

39. Bokslag A, Teunissen PW, Franssen C, van Kesteren F, Kamp O, Ganzevoort W, Paulus WJ, de Groot CJM. Effect of early-onset preeclampsia on cardiovascular risk in the fifth decade of life. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;216:523.e1-523.e7. doi: 10.1016/j.ajog.2017.02.015
40. Groenhouf TKJ, Zoet GA, Fraax A, Ganzevoort RT, Bots ML, Groen H, Lely AT; PREVENDE Group. Trajectory of cardiovascular risk factors after hypertensive disorders of pregnancy. *Hypertension*. 2019;73:171-178. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11726

**Novelty and Significance**

**What is New?**

- This is the first study that describes the association between angiogenic markers at pregnancy and cardiovascular risk factors ≈12 years later.

**What is Relevant?**

- Angiogenic factors during preeclampsia could identify women at higher risk for future cardiovascular disease in whom early preventive measures could be implemented.

**Summary**

Placental growth factor levels at pregnancy in women with preeclampsia were associated with higher blood pressure, worse lipid profile, worse myocardial deformation parameters and increased carotid intima-media thickness ≈ 12 years later.



# Hypertension





## Resumen del primer artículo

El objetivo principal de este estudio fue determinar si los niveles de sFlt-1 y PlGF durante el embarazo complicado con PE se asociaban a marcadores de riesgo CV a largo plazo. Para este propósito, entre enero de 2017 y junio de 2018 se contactó con mujeres cuyos embarazos habían sido controlados en la Unidad de Alto Riesgo Obstétrico del Hospital Vall d'Hebron entre el año 2003 y 2005. De estas mujeres se disponía del control gestacional, los datos del parto, así como los niveles de sFlt-1 y PlGF durante el tercer trimestre. A las participantes se les ofreció realizar un asesoramiento CV completo, incluyendo una visita médica para realizar una exploración física (determinación de TA, peso, talla, circunferencia abdominal) e investigar sobre su estilo de vida: tabaquismo, actividad física y nivel de estrés (cuestionario *Perceived Stress Scale*). Además se les realizó una analítica sanguínea en ayunas, incluyendo la determinación de los factores angiogénicos, así como marcadores inflamatorios, cardíacos y del metabolismo lipídico; una ecocardiografía bidimensional speckle-tracking (2D-STE) y un Doppler carotideo para medir el grosor de la capa media-íntima carotídea (GIMc).

Se identificaron 153 mujeres que cumplían los criterios de inclusión (gestaciones únicas de las que disponíamos de todos los datos gestacionales, excluyendo gestantes con comorbilidades previas a la gestación como diabetes, dislipemia, enfermedades autoinmunes o hipertensión crónica). Finalmente, en el estudio se incluyeron 64 mujeres ~ 12 años después del parto: 43 tuvieron gestaciones complicadas con PE y 21 tuvieron embarazos de transcurso normal (grupo control).

Se realizaron comparaciones entre los grupos de estudio mediante la prueba Mann-Whitney,  $\chi^2$  o el test exacto de Fisher, utilizando la más apropiada en cada caso, presentando los valores como medianas (rango intercuartílico) y n (porcentaje). Se realizaron correlaciones de Pearson entre los factores angiogénicos y el resto de variables,

confirmando las asociaciones mediante la correlación de Spearman. Finalmente se realizó un análisis de regresión lineal para ajustar por el grupo de estudio.

Como resultados principales destacar que hubo mayor proporción de hipertensas y dislipídicas a los ~12 años después del embarazo en el grupo con antecedente de PE. En cuanto al perfil analítico, tuvieron menor concentración de colesterol HDL y apolipoproteína A1 (Apo-A1), sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en los otros marcadores metabólicos, inflamatorios, renales, cardíacos, así como tampoco en el sFlt-1, el PIGF ni la sEng. Las mujeres con PE previa presentaron mayor disfunción cardíaca: peor SLG, mayor masa miocárdica, aumento de grosor del septo interventricular y de la pared posterior del ventrículo izquierdo; así como un aumento del GIMc. En cuanto a los factores angiogénicos durante el embarazo el PIGF se correlacionó positivamente con el colesterol HDL y negativamente con el SLG, el GIMc, la tensión arterial diastólica (TAD) y la presión arterial media (PAM); el sFlt-1 se correlacionó negativamente con el HDL y la Apo-A1, y positivamente con el grosor de la pared posterior del ventrículo izquierdo y el GIMc (el resto de correlaciones no resultaron estadísticamente significativas, ajustando por grupo de estudio).

Este estudio describió por primera vez una relación entre el sFlt-1 y el PIGF durante el tercer trimestre de gestación y el riesgo CV a largo plazo, ya que el ambiente antiangiogénico durante la PE se relacionó con factores de riesgo CV ~12 años después de la gestación. Conocer la magnitud de la alteración de los factores angiogénicos en las gestantes con insuficiencia placentaria podría ayudar a detectar aquellas mujeres con mayor riesgo de ECV prematura, con el objetivo de poder optimizar el seguimiento y las medidas preventivas después del parto.

## 4.2 Segundo artículo

# **Predictive Model for Preeclampsia Combining sFlt-1, PIGF, NT-proBNP, and Uric Acid as Biomarkers**

Autores: Carmen Garrido-Giménez\*; Mónica Cruz-Lemini\*; Francisco V. Álvarez; Madalina Nicoleta Nan; Francisco Carretero; Antonio Fernández-Oliva; Josefina Mora; Olga Sánchez-García; Álvaro García-Osuna; Jaume Alijotas-Reig; Elisa Llurba; on behalf of the EuroPE Working Group.

\*equal contribution

J Clin Med 2023;12(2):431.

doi: 10.3390/jcm12020431

Factor de impacto: 4.964

Cuartil: 2nd

Estado: publicado



Article

## Predictive Model for Preeclampsia Combining sFlt-1, PlGF, NT-proBNP, and Uric Acid as Biomarkers

Carmen Garrido-Giménez <sup>1,2,3,†</sup>, Mónica Cruz-Lemini <sup>1,2,3,†</sup>, Francisco V. Álvarez <sup>4</sup>, Madalina Nicoleta Nan <sup>5</sup>, Francisco Carretero <sup>4,6</sup>, Antonio Fernández-Oliva <sup>1,2</sup>, Josefina Mora <sup>5</sup>, Olga Sánchez-García <sup>2,3</sup>, Álvaro García-Osuna <sup>5</sup>, Jaime Alijotas-Reig <sup>7,8,\*</sup>, Elisa Llurba <sup>1,2,3</sup> and on behalf of the EuroPE Working Group

- <sup>1</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Maternal-Fetal Medicine Unit (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Sant Antoni Maria Claret, 167), Universitat Autònoma de Barcelona, 08025 Barcelona, Spain
  - <sup>2</sup> Women and Perinatal Health Research Group, Institut d'Investigació Biomèdica Sant Pau (IIB SANT PAU), Sant Quintí 77-79, 08041 Barcelona, Spain
  - <sup>3</sup> Primary Care Interventions to Prevent Maternal and Child Chronic Diseases of Perinatal and Developmental Network (SAMID-RICORS, RD21/0012) and Maternal and Child Health Development Network (SAMID, RD16/0022), Instituto de Salud Carlos III, 28040 Madrid, Spain
  - <sup>4</sup> Clinical Biochemistry, Laboratory Medicine, Hospital Universitario Central de Asturias and Department of Biochemistry and Molecular Biology, Universidad de Oviedo, 33011 Oviedo, Spain
  - <sup>5</sup> Clinical Biochemistry, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, 08025 Barcelona, Spain
  - <sup>6</sup> Cátedra de Inteligencia Analítica, Universidad de Oviedo, 33011 Oviedo, Spain
  - <sup>7</sup> Systemic Autoimmune Disease Unit, Internal Medicine Department, Vall d'Hebron University Hospital, Departament de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, 08025 Barcelona, Spain
  - <sup>8</sup> Systemic Autoimmune Diseases Research Group, Vall d'Hebron Research Institute/Vall d'Hebron Hospital, 08025 Barcelona, Spain
- \* Correspondence: jaume.alijotas@vallhebron.cat  
† These authors contributed equally to this work.



Citation: Garrido-Giménez, C.; Cruz-Lemini, M.; Álvarez, F.V.; Nan, M.N.; Carretero, F.; Fernández-Oliva, A.; Mora, J.; Sánchez-García, O.; García-Osuna, Á.; Alijotas-Reig, J.; et al. Predictive Model for Preeclampsia Combining sFlt-1, PlGF, NT-proBNP, and Uric Acid as Biomarkers. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 431. <https://doi.org/10.3390/jcm12020431>

Academic Editor: Silvia Lobmaier

Received: 30 November 2022

Revised: 27 December 2022

Accepted: 28 December 2022

Published: 5 January 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) and uric acid are elevated in pregnancies with preeclampsia (PE). Short-term prediction of PE using angiogenic factors has many false-positive results. Our objective was to validate a machine-learning model (MLM) to predict PE in patients with clinical suspicion, and evaluate if the model performed better than the sFlt-1/PlGF ratio alone. A multicentric cohort study of pregnancies with suspected PE between 24<sup>+</sup>0 and 36<sup>-</sup>6 weeks was used. The MLM included six predictors: gestational age, chronic hypertension, sFlt-1, PlGF, NT-proBNP, and uric acid. A total of 936 serum samples from 597 women were included. The PPV of the MLM for PE following 6 weeks was 83.1% (95% CI 78.5–88.2) compared to 72.8% (95% CI 67.4–78.4) for the sFlt-1/PlGF ratio. The specificity of the model was better, 94.9% vs. 91%, respectively. The AUC was significantly improved compared to the ratio alone [0.941 (95% CI 0.926–0.956) vs. 0.901 (95% CI 0.880–0.921),  $p < 0.05$ ]. For prediction of preterm PE within 1 week, the AUC of the MLM was 0.954 (95% CI 0.937–0.968); significantly greater than the ratio alone [0.914 (95% CI 0.890–0.934),  $p < 0.01$ ]. To conclude, an MLM combining the sFlt-1/PlGF ratio, NT-proBNP, and uric acid performs better to predict preterm PE compared to the sFlt-1/PlGF ratio alone, potentially increasing clinical precision.

**Keywords:** angiogenic factors; machine-learning; N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP); placental growth factor (PlGF); prediction; preeclampsia; soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1); uric acid

### 1. Introduction

Preeclampsia (PE) is a pregnancy-related hypertensive and multisystemic disorder that affects 2–5% of pregnancies worldwide [1]. Although obstetrical care has significantly

improved and reduced its mortality, it remains a leading cause of maternal morbidity and pregnancy complications such as preterm delivery, intrauterine growth restriction (IUGR), placental abruption, stillbirth, and perinatal morbidity/mortality due to prematurity [2]. Although the pathophysiology of PE is not fully understood, it is well known that it is a placental disorder with impaired trophoblast invasion and differentiation [3] that leads to an unbalance of angiogenic and antiangiogenic factors [4]. Soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1, an inhibitor of vascular endothelial growth factor) is responsible for maternal dysfunction, causing peripheral vasoconstriction in an attempt to raise maternal blood pressure [5]. Elevated levels of sFlt-1, reduced levels of placental growth factor (PlGF), and an increased sFlt-1/PlGF ratio have been reported both in women with established PE, and before clinical development of the disease [6,7]. A high sFlt-1/PlGF ratio seems to be a better predictor of disease severity than either marker alone [8–10], and these findings have led to incorporation of the sFlt-1/PlGF ratio into clinical practice to improve diagnosis and prognosis of PE [11]. It is widely accepted that the cut-off value of  $<38$  for the sFlt-1/PlGF ratio between 24<sup>+0</sup> and 36<sup>+6</sup> weeks of gestation rules out PE in patients with clinical suspicion for up to four weeks [12], and the use of this ratio is cost effective [13]. However, evidence is more limited regarding management and prognosis of women that present an abnormally high sFlt-1/PlGF ratio during pregnancy.

Pregnancy promotes several changes that are stressful to the cardiovascular system in order to maintain utero-placental circulation: maternal cardiac output and heart rate increase, while blood pressure and vascular resistances decrease [14]. Cardiovascular adaptation in pregnancy is abnormal in patients with PE due to cardiac diastolic dysfunction [15]. As cardiovascular changes represent a stressful scenario for the heart, cardiac myocytes respond, producing cardiac damage markers. In particular, N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), which is used as a biomarker for heart failure in non-obstetric populations [16], has been described with higher concentrations in preeclamptic pregnancies in response to abnormal cardiovascular adaptation. Furthermore, there is a correlation between NT-proBNP levels and severity of PE [17], and higher levels are described in early vs. late-onset PE [18]. Thus, NT-proBNP could be a useful tool for the evaluation of PE and prediction of maternal cardiovascular complications reflecting cardiac changes. Serum uric acid is consistently elevated in PE secondary to reduced glomerular filtration, increased resorption, and decreased secretion in the proximal tubule, although the reasons for such an elevation are incompletely understood [19]. Thus, hyperuricemia has been classically considered a good biomarker for PE, since high concentrations have been associated with more severe disease and adverse outcomes at time of delivery [20].

Neither NT-proBNP nor uric acid individually have been shown to be good predictors for PE [21], but models combining these biomarkers show promise. Lafuente-Ganuzo et al. [22], published in 2020 a predictive machine-learning algorithm for early-onset PE using a combination of the sFlt-1/PlGF ratio, NT-proBNP and uric acid as biomarkers, with apparent better positive predictive values (PPV) than the sFlt-1/PlGF ratio alone. External validation is necessary to determine reproducibility for a prediction model and applicability to different populations. For this study, our primary objectives were, first, to perform external validation of this machine-learning model (MLM) to predict preterm PE in patients with clinical suspicion and, second, to study if the model performed better than the sFlt-1/PlGF ratio alone.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Design

Our real-world dataset included pregnant women with suspected PE between 24<sup>+0</sup> and 36<sup>+6</sup> weeks admitted to the Obstetrics Department of seven Spanish University Hospitals between March 2018 and December 2020. Patients were part of the EuroPE study cohort, a randomized open-label controlled trial to evaluate if the incorporation of sFlt1/PlGF ratio in diagnosis and classification of PE improved maternal and perinatal outcomes in women with suspicion of the disease (NCT03231657). Blood samples were obtained at inclusion (upon suspicion of PE), and multiple samples per patient were allowed but restricted to

one sample per gestational week. The study protocol was approved by the institutional Ethics Committee (IIBSP-EUR-2017-20) and all patients provided written informed consent. Exclusion criteria were pregnant women outside 24<sup>+0</sup> and 36<sup>+6</sup> weeks, multiple pregnancies, fetal chromosomal or congenital anomalies, those lost to follow-up and conditions that required immediate delivery (eclampsia, pulmonary edema, uncontrolled hypertension, severe visual disturbances, severe headache, fetal demise, and non-reassuring fetal status).

## 2.2. Diagnostic Criteria

Criteria for diagnosis of PE were those of the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy [23]. PE was defined as a previously normotensive woman who presented with systolic or diastolic blood pressure  $> 140/90$  mmHg, measured twice (at least 4 h apart), and proteinuria  $> 300$  mg in a 24-h urine specimen or 2+ protein on dipsticks in urine after 20 weeks' gestation. A diagnosis of PE before 33<sup>+6</sup> weeks of gestation was considered early-preterm PE, and between 34<sup>+0</sup> and 36<sup>+6</sup> weeks, late-preterm PE.

Suspected PE was considered upon high blood pressure or aggravation of pre-existing hypertension, new onset of proteinuria or aggravation of pre-existing proteinuria, or one or more preeclampsia-related symptoms such as epigastric pain, severe edema (face, hands, feet), persistent headache, visual disturbances, sudden weight gain ( $>1$  kg/week in the third trimester). It was also suspected when low platelets ( $<100,000$ ) or elevated liver enzymes were detected in blood analysis, as well as when abnormal uterine perfusion was detected by Doppler sonography with mean pulsatility index  $> 95$ th percentile in the second trimester and/or bilateral uterine artery notching. PE was also suspected when IUGR was detected, and was defined as an estimated fetal weight below the 3rd centile for gestational age (GA) according to local reference curves [24], or an estimated fetal weight below the 10th centile together with umbilical artery or mean uterine arteries pulsatility index above the 95th centile [25].

Adverse maternal outcome was defined as admission to the intensive care unit (ICU), eclampsia, placental abruption, disseminated intravascular coagulation, pulmonary edema, and HELLP syndrome. HELLP syndrome is a severe form of PE diagnosed when hemolysis, elevated liver enzymes ( $>100$  U/L) and low platelet counts  $< 100 \times 10^9 / L$  were detected, with or without proteinuria or severe hypertension [26]. Adverse perinatal outcomes were defined as preterm delivery before 34<sup>+0</sup> weeks, IUGR, stillbirth, and placental abruption. Adverse neonatal outcomes included neonatal ICU admission for  $>48$  h, proven and/or suspected sepsis, respiratory distress syndrome, intraventricular hemorrhage (grades II–VI), necrotizing enterocolitis, retinopathy, and bronchopulmonary dysplasia.

## 2.3. Laboratory Methods

Blood samples were collected in serum separator tubes and centrifuged at  $3000 \times g$  for 15 min. Serum concentrations of PlGF, sFlt-1, and NT-proBNP were measured using automated electrochemiluminescence immunoassays on the Roche Cobas® e601 platform (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) with a turnaround time of 18 min for PlGF and sFlt-1, and a turnaround time of 9 min for NT-proBNP. Serum concentration of uric acid was measured using an automated colorimetric uricase method on the Abbott Alinity® c platform (Abbott Laboratories, Chicago, IL, USA) with a turnaround time of 10 min. Product codes of reagents are 08P5620 for uric acid, 09315284190 for NT-proBNP, 07027818190 for sFlt-1, and 07027648190 for PlGF. The measuring ranges were 3–10,000 pg/mL for PlGF, 10–85,000 pg/mL for sFlt-1, 10–35,000 ng/L for NT-proBNP, and 60–1950  $\mu\text{mol/L}$  for uric acid. The limits of quantification were 10 pg/mL for PlGF, 15 pg/mL for sFlt-1, 50 ng/L for NT-proBNP, and 10  $\mu\text{mol/L}$  for uric acid. No high-dose hook effect has been described for concentrations up to 100,000 pg/mL for PlGF, 200,000 pg/mL for sFlt-1, 300,000 ng/L for NT-proBNP. Intra- and interassay coefficients of variation, evaluated with PreciControl Multimarkers 1 and 2 (Roche Diagnostics) for PlGF and sFlt-1, with PreciControl Cardiac 1 and 2 (Roche Diagnostics) for NT-proBNP, and with Multichem S Plus 1, 2 and 3 (Technopath) for uric acid, were found to be  $<5\%$  in all assays.



#### 2.4. Statistical Analysis

Demographic data were analyzed using the IBM SPSS Statistics 26 statistical package. Variables studied were tested for normal distribution using the Kolmogorov–Smirnov test. Comparisons between study groups were performed with analysis of variance (ANOVA) or Chi-squared test when appropriate, and are presented as mean (standard deviation) or percentage (*n*). *p*-values below 0.05 were considered statistically significant for all tests performed.

The MLM to predict PE included six predictors, as previously published [22]. Briefly, GA at admission, chronic hypertension, and biomarker serum levels (sFlt-1, PlGF, NT-proBNP, uric acid), corrected for GA at sampling, were included. Pregnancy data and outcomes were blinded to the professional who applied the random forest-based supervised MLM to predict the risk or probability of PE (low, moderately low, moderately high, or high) of a patient with clinical suspicion. We defined a patient as negative (no PE) if none of the patient's repeated measurements presented a moderately high risk or above. Otherwise, the patient was considered positive, and with high probability of developing PE. True positive and true negative patients are those coincident with the final decision of the clinician. The predictive model and the decision thresholds for being positive (high or very high) or being negative (low or very low) are found in the Supplementary Methods and Table S1. Scikit-learn (version 0.23.2), an open-source python library, was used to support the best machine-learning practices for setting up the predictive model of the software. The *p*-values and 95% confidence intervals were calculated by using the bootstrap method. Statistical significance of sensitivity, specificity, predictive values, and area under curve (AUC) were calculated using the 95% percentile bootstrap confidence intervals with 10,000 bootstrap samples.

### 3. Results

#### 3.1. Characteristics of the Study Population

A total of 792 women with suspected PE were initially recruited. A total of 4 twin pregnancies, 9 pregnancies lost to follow-up, and 182 pregnancies included at term were excluded, so the final analysis included 597 participants and 936 serum samples, obtained between 24<sup>+0</sup> and 36<sup>+6</sup> weeks. The global incidence of PE was 34.7% (207/597): 90 women (15.1%) developed early-preterm PE (<34<sup>+0</sup>), 67 (11.2%) had late-preterm PE (34–36<sup>+6</sup>), 50 (6.3%) had term PE (≥37<sup>+0</sup>), and 390 women (65.3%) did not develop PE.

Table 1 shows the demographic, clinical, and perinatal characteristics of the study population, divided into those women that developed early-preterm PE, late-preterm PE, and those without PE. There were no differences in baseline characteristics between these groups. Women with PE had significantly higher levels of sFlt-1, sFlt-1/PlGF ratio, NT-proBNP, and uric acid compared to those without PE (*p* < 0.001 for all variables mentioned), and patients with early-preterm PE had higher levels than those with late-preterm PE. GA at delivery was significantly earlier in the early-preterm PE group. The mode of delivery showed a significantly higher prevalence of caesarean section and maternal admission to the obstetric ICU in the early-preterm PE group. Regarding neonatal outcomes, birth weight was significantly lower in the early-preterm PE group, with higher rate of IUGR, as well as lower Apgar test, and higher rate of admission to the neonatal ICU and of adverse neonatal outcomes.

**Table 1.** Demographic, clinical, and perinatal characteristics of the study population.

	No Preeclampsia (n = 390)	Early-Preterm Preeclampsia (n = 90)	Late-Preterm Preeclampsia (n = 67)	p-Value
<b>Maternal characteristics</b>				
Age (years)	34.02 ± 6	35.5 ± 5.9	34.8 ± 7.6	0.422
Ethnicity				
Caucasian	88.1 (258)	76.5 (26)	94.2 (49)	0.143
Black	7.2 (21)	11.8 (4)	1.9 (1)	
Asian	4.8 (14)	11.8 (4)	3.8 (2)	
Smoking	7.6 (22)	8.8 (3)	0 (0)	0.112
Nulliparity	39.8 (117)	55.9 (19)	44.2 (23)	0.184
<b>Maternal morbidity</b>				
Diabetes mellitus type 1	1.4 (4)	2.9 (1)	3.8 (2)	0.415
Diabetes mellitus type 2	1.7 (5)	0 (0)	5.8 (5)	0.114
Hypertension	17 (50)	17.6 (6)	13.5 (7)	0.806
Cardiovascular disease	0.7 (2)	0 (0)	0 (0)	0.745
Renal disease	2.4 (7)	2.9 (1)	1.9 (1)	0.955
<b>Biomarker data</b>				
GA at sampling (weeks)	33.6 ± 3.3	30.8 ± 2.1 *	34.9 ± 1.2 †	<0.001
sFlt-1 (pg/mL)	3252 ± 2815.2	15043.1 ± 9289 *	12044.8 ± 9167.7 *†	<0.001
PlGF (pg/mL)	361.2 ± 394.7	66.9 ± 84.4	83.4 ± 72.9	0.227
sFlt-1/PlGF ratio	28.9 ± 56.8	443.7 ± 329.1 *	220.8 ± 229.9 *†	<0.001
NT-proBNP (ng/L)	44.3 ± 46.3	883.5 ± 2391.5 *	261.6 ± 247.2 *†	<0.001
Uric acid (mg/dL)	3.9 ± 1	5.9 ± 1.4 *	5.8 ± 1.5 *†	<0.001
<b>Pregnancy outcomes</b>				
GA at delivery (weeks)	38.3 ± 2.3	31.4 ± 2.1 *	35.3 ± 1 *†	<0.001
Mode of delivery				
Vaginal	53.3 (154)	11.8 (4) *	32.7 (17) *	<0.001
Operative vaginal	6.6 (19)	0 (0)	0 (0)	
Cesarean section	39.9 (115)	88.2 (30) *	67.3 (35) *	
Maternal admission to OICU	0.7 (2)	70.6 (24) *	63.5 (33) *	<0.001
<b>Neonatal outcomes</b>				
Birth weight (grams)	2755.4 ± 654.5	1315.5 ± 372 *	2249.1 ± 458.1 *†	<0.001
IUGR	23.7 (72)	82.9 (29) *	43.6 (24) *†	<0.001
1' Apgar score	8 ± 1	6 ± 2 *	8 ± 0 †	<0.001
5' Apgar score	9 ± 0	8 ± 1 *	9 ± 1 †	<0.001
Umbilical artery pH	7.2 ± 0.6	7.3 ± 0.1	7.2 ± 0.1	0.943
Umbilical vein pH	7.3 ± 0.1	7.3 ± 0.1	7.3 ± 0.1	0.05
Admission to NICU	13 (37)	97 (32) *	52.9 (27) *†	<0.001
Adverse neonatal outcome	11.3 (32)	87.9 (29) *	28.8 (15) *†	<0.001

Data shown as mean ± SD or % (n). GA, gestational age; IUGR, intrauterine growth restriction; NT-proBNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide; NICU, neonatal intensive care unit; OICU, obstetric intensive care unit; PlGF, placental growth factor; sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase 1. p-values obtained by ANOVA or Chi-squared test, where appropriate, and comparisons were performed between groups. \* p-value < 0.05 compared to no preeclampsia; † p-value < 0.05 compared to early-preterm PE.

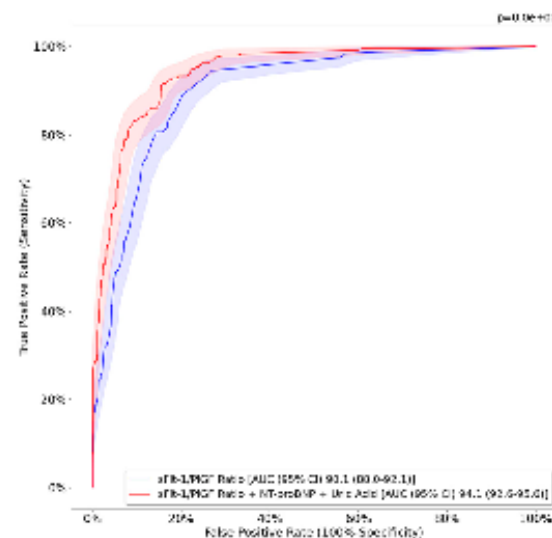
### 3.2. Predictive Model Results

Table 2 and Figure 1 show validation of the MLM compared to the sFlt-1/PlGF ratio alone in predicting preterm PE. A decreased false-positive rate was observed with this model compared to the sFlt-1/PlGF ratio alone (23% vs. 41%, respectively). There was also decreased false-negative rate with the model compared to the sFlt-1/PlGF ratio alone (29% vs. 32%, respectively), and to those patients with a clinical diagnosis of PE, but with normal values of biomarkers. Table 3 shows the validation models for predicting early-preterm and late-preterm PE individually. The complete ROC curve analysis comparing the model to the sFlt-1/PlGF ratio is shown in Figure S1 in the Supplementary Materials.

**Table 2.** Validation of models for predicting preterm PE.

	sFlt-1/PlGF Ratio	sFlt-1/PlGF Ratio + NT-proBNP + Uric Acid	p-Value
Sensitivity (%)	77.5 (71.9–83.0)	79.6 (74.4–84.5)	0.210
Specificity (%)	91.0 (89.0–93.0)	94.9 (93.4–96.5)	<0.05
PPV (%)	72.8 (67.4–78.4)	83.1 (78.5–88.2)	<0.05
NPV (%)	92.8 (91.0–94.7)	93.7 (92.0–95.3)	0.140

sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase 1; PlGF, placental growth factor; NT-proBNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value. Preterm PE was defined as PE below 37<sup>+0</sup> weeks. Sensitivity to rule in was calculated as the proportion of positives that were correctly classified as patients in whom preeclampsia developed at any time between 24 and 36<sup>+6</sup> weeks of gestation. Specificity to rule in was calculated as 1-proportion of positives that were incorrectly classified as patients in whom preeclampsia developed any time between 24 and 36<sup>+6</sup> weeks of gestation.



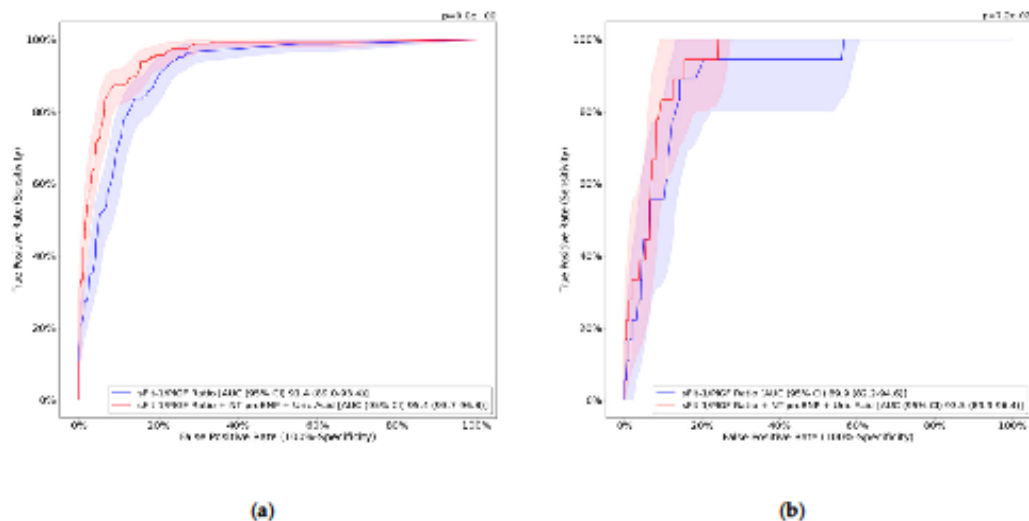
**Figure 1.** Performance of studied models for predicting preterm PE. sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase 1; PlGF, placental growth factor; NT-proBNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide; AUC, area under the curve; CI, confidence interval. Preterm PE was defined as PE below 37<sup>+0</sup> weeks.

**Table 3.** Validation of models for predicting early-preterm and late-preterm PE.

Biomarkers	sFlt-1/PlGF Ratio	sFlt-1/PlGF Ratio + NT-proBNP + Uric Acid
<b>Early-preterm PE</b>		
Sensitivity (%)	82.2 (76.3–88.5)	86.7 (81.8–92.6)
Specificity (%)	90.8 (88.4–93.5)	93.8 (91.7–95.9) *
PPV (%)	72.5 (66.1–79.4)	80.4 (74.2–86.4) *
NPV (%)	94.5 (92.6–96.6)	96.0 (94.3–97.8)
<b>Late-preterm PE</b>		
Sensitivity (%)	63.5 (53.1–75.0)	63.5 (53.1–75.0)
Specificity (%)	90.2 (87.6–92.8)	96.0 (94.2–97.8) *
PPV (%)	55.0 (45.7–64.9)	75.0 (65.2–86.2) *
NPV (%)	92.9 (90.7–95.5)	93.3 (91.1–95.7)

sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase 1; PlGF, placental growth factor; NT-proBNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value. Early-preterm PE was defined as PE below 34<sup>10</sup> weeks, late-preterm PE was defined as PE between 34<sup>10</sup> and 36<sup>16</sup> weeks. Sensitivity to rule in was calculated as the proportion of positives that were correctly classified as patients in whom preeclampsia developed at any time between 24 and 36<sup>16</sup> weeks of gestation. Specificity to rule in was calculated as 1-proportion of positives that were incorrectly classified as patients in whom preeclampsia developed any time between 24 and 36<sup>16</sup> weeks of gestation. \* p-value < 0.05.

The ROC curves of the combined model and the sFlt-1/PlGF ratio for predicting preterm PE within 1 and 3 weeks of clinical suspicion are observed in Figure 2. Results of specificity, sensitivity, and predictive values comparing both tests for predicting early-preterm PE and late-preterm PE within 1 and 2 or 3 weeks of clinical suspicion are shown in Table 4. ROC curves show that the algorithm performed better as the delivery date grew closer, within one and three weeks, and are shown as Figures S2 and S3 in the Supplementary Materials.



**Figure 2.** Performance of studied models for predicting preterm PE within 1 and 3 weeks to delivery. (a) Prediction of preterm PE within 1 week to delivery, (b) prediction of preterm PE within 3 weeks to delivery. sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase 1; PlGF, placental growth factor; NT-proBNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide; AUC, area under the curve; CI, confidence interval. Preterm PE was defined as PE below 37<sup>10</sup> weeks.

**Table 4.** Prediction of early and late-preterm PE using the combined model vs. sFlt-1/PIGF ratio alone.

Early-Preterm PE	sFlt-1/PIGF Ratio + NT-proBNP + Uric Acid		Late-Preterm PE	sFlt-1/PIGF Ratio + NT-proBNP + Uric Acid	
	Within 1 week			Within 1 week	
Sensitivity (%)	87.0 (81.4–92.7)	90.9 (86.0–95.9)	Sensitivity (%)	65.3 (54.8–75.9)	65.3 (54.8–75.9)
PPV (%)	70.5 (63.8–77.6)	78.7 (72.3–84.9) *	PPV (%)	54.2 (44.7–63.6)	74.4 (64.3–84.0) *
Specificity (%)	90.8 (88.1–93.2)	93.8 (91.8–95.8) *	Specificity (%)	90.2 (87.6–92.9)	96.0 (94.3–97.8) *
NPV (%)	96.5 (94.9–98.2)	97.6 (96.2–98.9)	NPV (%)	93.6 (91.5–95.9)	94.0 (92.0–96.1)
	Within 3 weeks		Within 2 weeks		
Sensitivity (%)	71.4 (50.0–100.0)	50 (25.0–71.4)	Sensitivity (%)	40.0 (18.2–60.0)	40.0 (18.2–60.0)
PPV (%)	26.3 (13.6–36.4)	26.9 (11.8–40.0)	PPV (%)	18.2 (5.9–27.8)	35.3 (15.4–55.6)
Specificity (%)	90.8 (88.4–93.3)	93.8 (91.7–95.9) *	Specificity (%)	90.2 (87.6–92.9) *	96.0 (94.3–97.8) *
NPV (%)	98.6 (97.7–100.0)	97.6 (96.3–99.0)	NPV (%)	96.5 (94.8–98.2)	96.7 (95.1–98.3)

sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF, placental growth factor; NT-proBNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value. \* p-value < 0.05.

**4. Discussion**

**4.1. Principal Findings**

Our study demonstrates the high performance of a predictive model combining the sFlt-1/PIGF ratio, NT-proBNP, and uric acid to rule in and rule out preterm PE in women with clinical suspicion. The PPV (to develop PE in the subsequent 6 weeks) and specificity (false positives) of the model were significantly better than the sFlt-1/PIGF ratio alone. Although differences were not significant, sensitivity and NPV of the model to rule out PE were slightly better than the sFlt-1/PIGF ratio alone. These differences were observed mainly in early-preterm PE, but also in late-preterm PE, and the model performed better as the delivery date approached. The short-term prediction of early-onset and late-preterm PE within 1 week was also better with the combined model.

**4.2. Interpretation of Results and Comparison with Existing Literature**

The sFlt-1/PIGF ratio is a good predictor of PE and serious pregnancy complications, since it increases before the first clinical symptoms appear [4]. Other biomarkers used individually have not shown to improve the predictive results of the sFlt-1/PIGF ratio [9]. We and others have previously demonstrated that the sFlt-1/PIGF ratio is increased in early and severe cases of placental insufficiency (i.e., IUGR with or without PE) because of increased levels of sFlt-1 [4,10]. It is known that high values of the sFlt-1/PIGF ratio are associated with shorter intervals to delivery [8], but hospitalization and intense monitoring in test-positive patients are often required because of high false positives. The reason why an antiangiogenic state does not always result in development of PE is still unclear, but maternal predisposition is probably necessary, added to a severe and prolonged endothelial insult.

NT-proBNP has shown higher concentrations in women with hypertensive disorders of pregnancy [18,27], especially those complicated with severe and preterm PE [27,28]. A recent study reported mean NT-proBNP levels of 349.1 ± 93.5 pg/mL in PE without severe clinical signs and 725.3 ± 290.5 pg/mL in severe PE [29]. In our data, NT-proBNP levels were also higher in preterm PE, with early-preterm showing the highest values, and higher levels were observed in the most severe cases. NT-proBNP levels are higher in pregnant women with chronic hypertension [30,31]; therefore, this was taken into account in the MLM of our study and the necessary adjustments were performed.

The prospective, multicenter, and observational PROGNOSIS study [9] reported that an sFlt-1/PIGF ratio of 38 was the optimal cut off in pregnancies between 24<sup>+0</sup> and 36<sup>+6</sup> weeks to rule out PE in women with clinical suspicion. This cut off performed with an NPV of 99.3% (95% CI, 97.9 to 99.9) within 1 week, and remained high at 2 (97.9%), 3 (95.7%), and 4 weeks (94.3%) after testing [12]; that is, a woman with results in this range was extremely

unlikely to progress to PE or HELLP within the next month. In our study, the combined model rules out preterm PE in the next 6 weeks with 93.7% probability, slightly better than the sFlt-1/PlGF ratio alone, and performs better for early-preterm PE, ruling out with a 96% probability. Although the NPV of the sFlt-1/PlGF ratio to rule out early-preterm PE within 1 week was slightly lower than that reported in the PROGNOSIS study, this improved with the MLM (96.5% to 97.6%).

On the other hand, an sFlt-1/PlGF ratio > 38 was characterized by poor PPV: within 1 week 16.7% (95% CI, 12.3–21.9), and in the next 4 weeks 36.7% (95% CI, 28.4 to 45.7%), with 66.2% sensitivity (95% CI, 54.0–77.0) and 83.1% specificity (95% CI, 79.4–86.3) [9]. In addition, the reported ability of NT-proBNP to predict PE alone is modest, with an AUC of 0.55 [32] and 0.69 [31] in the first and third trimesters, respectively. The strategy of adding NT-proBNP to the sFlt/PlGF ratio to try to improve short-term prediction of PE has previously been reported. Lafuente-Ganuza et al. [22] identified that when maternal serum NT-proBNP value > 174 pg/mL was combined with an sFlt-1/PlGF ratio > 45, the PPV for diagnosis of early-onset PE (24<sup>+0</sup> to 33<sup>+6</sup> weeks) was 86% (95% CI: 79.2–92.6) at any point in time, with a sensitivity of 72.5% (95% CI 70.5–81.8) and specificity of 97.7% (95% CI 96.7–98.5). Similar results have been obtained in our study. In our cohort the PPV of the model is somewhat lower to predict preterm PE in the subsequent 6 weeks, but is statistically superior to those obtained with the sFlt1/PlGF ratio alone [72.5% (95% CI 66.1–79.4) vs. 80.4% (95% CI 74.2–86.4)], with statistically better specificity. This is the first time this model was applied to pregnancies between 34<sup>+0</sup> and 36<sup>+6</sup> weeks but it performed better for early-preterm PE, and also surpassed the PPV and specificity of the sFlt-1/PlGF ratio alone. Our data did not allow us to perform analysis for a 4-week period, but the model's precision for PE was also better than the sFlt1/PlGF ratio alone from 1 to 3 weeks, improving clinical decisions regarding monitoring intervals. Sabrià et al. [33] described a prediction model where the addition of NT-proBNP assessment to an sFlt/PlGF ratio  $\geq 38$  yielded a superior ability for detecting delivery in the subsequent week in women with suspected PE. The AUC was 0.845 (95% CI 0.7870.896), which was significantly greater than the AUC of the sFlt-1/PlGF ratio alone 0.786 (95% CI: 0.722–0.844). This means that when adding NT-proBNP to the sFlt1/PlGF ratio, a false-positive rate reduction of 18.2% could be achieved. Finally, in line with previous studies, serum levels of uric acid were higher in pregnancies complicated with PE [34,35]. Hyperuricemia precedes the onset of proteinuria and hypertension in PE, but its prognostic value is debated [36]. It seems that among women with diagnosed PE, higher levels may help to identify those who will develop a more severe disease, but a cut-off value has not been established.

Multiple sFlt-1/PlGF ratio cut offs have been studied to enhance the diagnostic accuracy of this maternal syndrome. The MLM produced a cut-off value of 45 for the sFlt/PlGF ratio, 174 pg/mL for NT-proBNP, and 5.6 mg/dL for uric acid for PE prediction of early-preterm PE. A retrospective cohort study [22] described that the PPV to rule in early-onset PE of the sFlt-1/PlGF ratio > 45 was 49.5% (95% CI 41.9–51.8), with a specificity of 79.8% (95% CI 78.5–83.6). A multicenter case-control study including a total of 1149 patients concluded that the sFlt-1/PlGF ratio  $\geq 85$  for early-onset PE and  $\geq 110$  for late-onset PE resulted in a sensitivity/specificity of 88%/99.5% and 58.2%/95.5%, respectively [37]. A recent study has reported that uric acid has similar specificity to the sFlt-1/PlGF ratio for the diagnosis of PE, although the sensitivity appears to be much lower [38]. The NT-proBNP cut-off point to associate pregnancy complications is not known. Serum NT-proBNP < 125 pg/mL excludes heart failure in non-obstetric populations [39], and it seems that maternal serum NT-proBNP levels < 40.6 pg/mL could rule out PE with a high NPV of 92% [40]. Alvarez et al. [18] described that a cut-off point of NT-proBNP 219 ng/L predicted development of an adverse outcome in pregnant women < 34 weeks, with a sensitivity of 76% and specificity of 94%. Another study of this group demonstrated similar performance in the prediction of adverse outcomes with cut-off points of 178 and 219 for the sFlt-1/PlGF ratio and NT-proBNP, with a sensitivity/specificity of

95/84% and 94/76%, respectively [18]. Therefore, it seems that maternal serum NT-proBNP levels > 129.5 g/mL would warrant close follow-up during pregnancy [27,41,42].

Pregnancies with placental-related disorders, such as isolated IUGR or placental abruption, also show increased sFlt-1/PlGF ratio levels, exceeding the cut-off points for PE diagnosis explained above, but it is unknown how these entities affect NT-proBNP levels [43]. Elevated NT-proBNP levels may reflect ventricular stress and subclinical cardiac dysfunction, worsening if IUGR is present. When PE is associated with IUGR, patients present higher peripheral vascular resistance and lower cardiac output compared to isolated IUGR [44]. Few studies have evaluated NT-proBNP levels in pregnant women with IUGR, and higher maternal serum NT-proBNP levels have been detected in pregnancies with early-onset PE, with or without IUGR, than in pregnancies with isolated IUGR [22,41]. Therefore, when a high sFlt-1/PlGF ratio is detected, lower levels of NT-proBNP could discriminate between those pregnant women that are not going to develop PE.

#### 4.3. Clinical Implications and Future Research Directions

Clinical presentation of PE is heterogeneous, and a daily challenge to the practicing obstetrician. This diagnostic model using a combination of cardiac, renal, and placental biomarkers has been validated to predict preterm PE in patients with clinical suspicion, with better PPV, sensitivity, and specificity than the sFlt-1/PlGF ratio alone. This information could help clinicians decide which women may be followed up on safely on an outpatient basis, and which women need careful and close surveillance, and hospitalization. If expectant management is considered, this MLM could also provide more accurate and valuable information for the frequency of patient assessment and follow-up. Furthermore, a specific software could be developed and studied to calculate the risk of maternal and fetal-adverse outcomes, and indicate imminent delivery, evaluating also the cost effectiveness of the routinely incorporation of uric acid and NT-proBNP in women with suspected PE.

#### 4.4. Strengths and Limitations

This study externally validates an MLM previously published to predict PE. This is the first study that improves the sFlt-1/PlGF ratio's prognosis of PE using other related maternal serum PE biomarkers. It is a nested study, with a very strict selection process for patients, prospectively included in the database but not managed based on these results; therefore, it has no bias with regard to our findings. However, more data from randomized trials is needed to establish whether the use of this algorithm in clinical practice could really reduce unnecessary hospitalization and costs. Another limitation of this study is that the different cut-off values proposed for the sFlt-1/PlGF ratio can only be applied when using Elecsys immunoassays, since differences have been reported with other brands or platforms.

#### 5. Conclusions

An MLM combining the sFlt-1/PlGF ratio, NT-proBNP, and uric acid performs better to predict preterm PE compared to the sFlt-1/PlGF ratio alone, potentially increasing clinical precision, decreasing false-positive rates, and increasing PPV and specificity. This model also performed better than the sFlt-1/PlGF ratio for prediction of PE within 1 and 3 weeks. These results could avoid unnecessary interventions in women with suspected PE. Our work highlights the need of further studies combining different biomarkers and supports the use of NT-proBNP and uric acid added to maternal serum angiogenic factors to increase PE prediction.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/jcm12020431/s1>, Figure S1: Performance of studied models for predicting preterm PE; Figure S2: Performance of studied models for predicting early-preterm PE within 1 and 3 weeks to delivery; Figure S3: Performance of studied models for predicting late-preterm PE within 1 and 2 weeks to delivery. Table S1: Decision thresholds.

**Author Contributions:** Conceptualization, E.L.; methodology, F.V.Á., J.A.-R. and E.L.; software, F.V.Á. and F.C.; validation, C.G.-G. and M.C.-L.; formal analysis, M.C.-L., F.V.Á. and F.C.; investigation, C.G.-G., M.N.N., A.F.-O., J.M., O.S.-G. and Á.G.-O.; resources, E.L.; data curation, C.G.-G., M.N.N. and F.C.; writing—original draft, C.G.-G.; writing—review and editing, M.C.-L., J.A.-R. and E.L.; visualization, C.G.-G.; supervision, J.A.-R.; project administration, E.L.; funding acquisition, E.L. The EuroPE Working Group contributed on investigation (inclusion of patients). All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This work was supported by public funds obtained in competitive calls with peer review (grant PI19/00702), Instituto de Salud Carlos III, Spanish Ministry of Health, by the Maternal and Child Health and Development Network (SAMID, RD16/0022/0015), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain, the Spanish Clinical Research and Clinical Trials Platform, SCReN (Spanish Clinical Research Network), funded by the ISCIII-General Subdirectorate for Evaluation and Promotion of Research, through project PT13/0002/0028, integrated in the 2013–2016 R + D + I State Plan and co-financed by and the European Regional Development Fund (FEDER); and by the Primary Care Interventions to Prevent Maternal and Child Chronic Diseases of Perinatal and Developmental Origin Network (RICORS, RD21/0012/0001), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain, funded by the Recovery, Transformation and Resilience Plan 2017–2020, ISCIII, and by the European Union-Next Generation EU. Dr Cruz-Lemini is supported by Juan Rodés contract JR19/00047, Instituto de Salud Carlos III-Spanish Ministry of Health. Funding sources were not involved in study design, collection, analysis, and interpretation of data.

**Institutional Review Board Statement:** All subjects gave their informed consent for inclusion before they participated in this study. This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau—IBB Sant Pau (IBBSP-EUR-2017-20, 02/03/2017).

**Informed Consent Statement:** Written informed consent has been obtained from the patients to publish this paper.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available upon request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy policies.

**Acknowledgments:** The authors greatly appreciate collaboration from the different hospitals and participants who agreed to take part in the EuroPE study. Collaborators of the EuroPE working group: M Vila-Cortés, (Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Universitari Son Espases, Palma, Spain); MJ Pelegay, (Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Lleida, Spain); M Ricart, (Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain); B Muñoz-Abellana, (Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Universitari Sant Joan de Reus, Tarragona, Spain); X Gabaldó Barrios, (Clinical Laboratory Department, Hospital Universitari Sant Joan de Reus, Reus and Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain).

**Conflicts of Interest:** Llorba reports receiving fees for lectures from Cook, Roche, and serving on advisory boards for Roche Diagnostics. The remaining authors report no conflict of interest.

## References

1. Abalos, E.; Cuesta, C.; Grosso, A.L.; Chou, D.; Say, L. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: A systematic review. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **2013**, *170*, 1–7. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Ronsmans, C.; Graham, W.J. Maternal mortality: Who, when, where, and why. *Lancet* **2006**, *368*, 1189–1200. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Fantone, S.; Mazzucchelli, R.; Giannubilo, S.R.; Ciavattini, A.; Marziani, D.; Tossetta, G. AT-rich interactive domain 1A protein expression in normal and pathological pregnancies complicated by preeclampsia. *Histochem. Cell Biol.* **2020**, *154*, 339–346. [[CrossRef](#)]
4. Levine, R.J.; Maynard, S.E.; Qian, C.; Lim, K.-H.; England, L.J.; Yu, K.F.; Schisterman, E.F.; Thadhani, R.; Sachs, B.P.; Epstein, F.H.; et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N. Engl. J. Med.* **2004**, *350*, 672–683. [[CrossRef](#)]
5. Staff, A.C.; Braekke, K.; Harsem, N.K.; Lyberg, T.; Holthe, M.R. Circulating concentrations of sFlt1 (soluble fms-like tyrosine kinase 1) in fetal and maternal serum during pre-eclampsia. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **2005**, *122*, 33–39. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Maynard, S.E.; Min, J.Y.; Merchan, J.; Lim, K.H.; Li, J.; Mondal, S.; Libermann, T.A.; Morgan, J.P.; Sellke, F.W.; Stillman, R.E.; 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*, 649–658. [[CrossRef](#)]



7. Staff, A.C.; Benton, S.J.; von Dadelszen, P.; Roberts, J.M.; Taylor, R.N.; Powers, R.W.; Charnock-Jones, D.S.; Redman, C.W.G. Redefining preeclampsia using placenta-derived biomarkers. *Hypertension* **2013**, *61*, 932–942. [\[CrossRef\]](#)
8. Zeisler, H.; Llorba, E.; Chantraine, F.; Vatish, M.; Staff, A.C.; Sennström, M.; Olovsson, M.; Brennecke, S.P.; Stepan, H.; Allegranza, D.; et al. Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1-to-Placental Growth Factor Ratio and Time to Delivery in Women with Suspected Preeclampsia. *Obstet. Gynecol.* **2016**, *128*, 261–269. [\[CrossRef\]](#)
9. Zeisler, H.; Llorba, E.; Chantraine, F.; Vatish, M.; Staff, A.C.; Sennström, M.; Olovsson, M.; Brennecke, S.P.; Stepan, H.; Allegranza, D.; et al. Predictive Value of the sFlt-1: PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N. Engl. J. Med.* **2016**, *374*, 13–22. [\[CrossRef\]](#)
10. Verlooven, S.; Herraiz, I.; Lapaire, O.; Schlembach, D.; Moertl, M.; Zeisler, H.; Calda, P.; Holzgriewe, W.; Galindo, A.; Engels, T.; 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. [\[CrossRef\]](#)
11. Herraiz, I.; Llorba, E.; Verlooven, S.; Galindo, A.; Bartha, J.L.; De La Calle, M.; Delgado, J.L.; De Paco, C.; Escudero, A.I.; Moreno, F.; et al. Update on the Diagnosis and Prognosis of Preeclampsia with the Aid of the sFlt-1/PlGF Ratio in Singleton Pregnancies. *Fetal Diagn. Ther.* **2018**, *43*, 81–89. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Zeisler, H.; Llorba, E.; Chantraine, F.; Vatish, M.; Staff, A.C.; Sennström, M.; Olovsson, M.; Brennecke, S.P.; Stepan, H.; Allegranza, D.; 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*, 367–375. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. 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*, 765–771. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Sanghavi, M.; Rutherford, J.D. Cardiovascular physiology of pregnancy. *Circulation* **2014**, *130*, 1003–1008. [\[CrossRef\]](#)
15. Melchiorre, K.; Sutherland, G.R.; Baltabaeva, A.; Liberati, M.; Thilaganathan, B. Maternal cardiac dysfunction and remodeling in women with preeclampsia at term. *Hypertension* **2011**, *57*, 85–93. [\[CrossRef\]](#)
16. Chow, S.L.; Maisel, A.S.; Anand, I.; Bozkurt, B.; De Boer, R.A.; Felker, G.M.; Fonarow, G.C.; Greenberg, B.; Januzzi, J.L.; Kiernan, M.S.; et al. Role of biomarkers for the prevention, assessment, and management of heart failure: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* **2017**, *135*, e1054–e1091. [\[CrossRef\]](#)
17. Seong, W.J.; Kim, S.C.; Hong, D.G.; Koo, Y.B.; Park, S. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in hypertensive disorders complicating pregnancy. *Hypertens. Pregnancy* **2011**, *30*, 287–294. [\[CrossRef\]](#)
18. Álvarez-Fernández, I.; Prieto, B.; Rodríguez, V.; Ruano, Y.; Escudero, A.I.; Álvarez, E.V. N-terminal pro B-type natriuretic peptide and angiogenic biomarkers in the prognosis of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Clin. Chim. Acta* **2016**, *463*, 150–157. [\[CrossRef\]](#)
19. Lam, C.; Lim, K.H.; Kang, D.H.; Karumanchi, S.A. Uric acid and preeclampsia. *Semin. Nephrol.* **2005**, *25*, 56–60. [\[CrossRef\]](#)
20. Germany Paula, L.; Ercilia Pinheiro Da Costa, B.; Eduardo Poli-De-Figueiredo, C.; Carlos Ferreira Antonello, I. Does uric acid provide information about maternal condition and fetal outcome in pregnant women with hypertension? *Hypertens. Pregnancy* **2008**, *27*, 413–420. [\[CrossRef\]](#)
21. Townsend, R.; Khalil, A.; Premakumar, Y.; Allotey, J.; Snell, K.I.E.; Chan, C.; Chappell, L.C.; Hooper, R.; Green, M.; Mol, B.W.; et al. Prediction of pre-eclampsia: Review of reviews. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2019**, *54*, 16–27. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Lafuente-Ganuzas, P.; Lequerica-Fernandez, P.; Carretero, E.; Escudero, A.I.; Martinez-Morillo, E.; Sabria, E.; Herraiz, I.; Galindo, A.; Lopez, A.; Martinez-Triguero, M.L.; et al. A more accurate prediction to rule in and rule out pre-eclampsia using the sFlt-1/PlGF ratio and NT-proBNP as biomarkers. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2020**, *58*, 399–407. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Tranquilli, A.L.; Brown, M.A.; Zeeman, G.G.; Dekker, G.; Sibai, B.M. The definition of severe and early-onset preeclampsia. Statements from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Pregnancy Hypertens. Int. J. Women's Cardiovasc. Health* **2013**, *3*, 44–47. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Figueras, F.; Melet, E.; Iraola, A.; Eixarch, E.; Coll, O.; Figueras, J.; Francis, A.; Gratacos, E.; Gardosi, J. Customized birthweight standards for a Spanish population. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **2008**, *136*, 20–24. [\[CrossRef\]](#)
25. Arduini, D.; Rizzo, G. Normal values of Pulsatility Index from fetal vessels: A cross-sectional study on 1556 healthy fetuses. *J. Perinat. Med.* **1990**, *18*, 165–172. [\[CrossRef\]](#)
26. American College of Obstetricians; Task Force on Hypertension in Pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet. Gynecol.* **2013**, *122*, 1122–1131. [\[CrossRef\]](#)
27. Borghi, C.; Esposti, D.D.; Immordino, V.; Cassani, A.; Boschi, S.; Bovicelli, L.; Ambrosioni, E. Relationship of systemic hemodynamics, left ventricular structure and function, and plasma natriuretic peptide concentrations during pregnancy complicated by preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2000**, *183*, 140–147. [\[CrossRef\]](#)
28. Zhang, Y.; Tan, X.; Yu, F. The diagnostic and predictive values of N-terminal pro-B-type natriuretic peptides in pregnancy complications and neonatal outcomes. *Am. J. Transl. Res.* **2021**, *13*, 10372–10379.
29. Nguyen, T.X.; Nguyen, V.T.; Nguyen-Phan, H.N.; Hoang Bui, B. Serum Levels of NT-Pro BNP in Patients with Preeclampsia. *Integr. Blood Press. Control* **2022**, *15*, 43–51. [\[CrossRef\]](#)
30. Fleming, S.M.; O'Byrne, L.; Grimes, H.; Daly, K.M.; Morrison, J.J.; Morrison, J.J. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide in normal and hypertensive pregnancy. *Hypertens. Pregnancy* **2001**, *20*, 169–175. [\[CrossRef\]](#)

31. Verlohren, S.; Perschel, F.H.; Thilaganathan, B.; Dröge, L.A.; Henrich, W.; Busjahn, A.; Khalil, A. Angiogenic Markers and Cardiovascular Indices in the Prediction of Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Hypertension* **2017**, *69*, 1192–1197. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Pihl, K.; Sørensen, S.; Steier Jørgensen, F. Prediction of Preeclampsia in Nulliparous Women according to First Trimester Maternal Factors and Serum Markers. *Fetal Diagn. Ther.* **2020**, *47*, 277–283. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Sabriá, E.; Lequerica-Fernández, P.; Lafuente-Ganuza, P.; Eguía-Ángeles, E.; Escudero, A.I.; Martínez-Morillo, E.; Barceló, C.; Álvarez, F.V. Addition of N-terminal pro-B natriuretic peptide to soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio > 38 improves prediction of pre-eclampsia requiring delivery within 1 week: A longitudinal cohort study. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2018**, *51*, 758–767. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Kumar, N.; Singh, A.K. Maternal Serum Uric Acid as a Predictor of Severity of Hypertensive Disorders of Pregnancy: A Prospective Cohort Study. *Curr. Hypertens. Rev.* **2018**, *15*, 154–160. [[CrossRef](#)]
35. Hawkins, T.L.A.; Roberts, J.M.; Mangos, G.J.; Davis, G.K.; Roberts, L.M.; Brown, M.A. Plasma uric acid remains a marker of poor outcome in hypertensive pregnancy: A retrospective cohort study. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **2012**, *119*, 484–492. [[CrossRef](#)]
36. Bellomo, G.; Venanzi, S.; Saronio, P.; Verdura, C.; Narducci, P.L. Prognostic significance of serum uric acid in women with gestational hypertension. *Hypertension* **2011**, *58*, 704–708. [[CrossRef](#)]
37. Verlohren, S.; Herraiz, I.; Lapaire, O.; Schlembach, D.; Zeisler, H.; Calda, P.; Sabria, J.; Markfeld-Erol, F.; Galindo, A.; Schoofs, K.; 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*, 346–352. [[CrossRef](#)]
38. Álvarez-Fernández, I.; Prieto, B.; Rodríguez, V.; Ruano, Y.; Escudero, A.I.; Álvarez, F.V. New biomarkers in diagnosis of early onset preeclampsia and imminent delivery prognosis. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2014**, *52*, 1159–1168. [[CrossRef](#)]
39. Ponikowski, P.; Voors, A.A.; Anker, S.D.; Bueno, H.; Cleland, J.G.F.; Coats, A.J.S.; Falk, V.; González-Juanatey, J.R.; Harjola, V.P.; Jankowska, E.A.; et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. J. Heart Fail.* **2016**, *18*, 891–975. [[CrossRef](#)]
40. Resnik, J.L.; Hong, C.; Resnik, R.; Kazaregra, R.; Beede, J.; Bhalla, V.; Maisel, A. Evaluation of B-type natriuretic peptide (BNP) levels in normal and preeclamptic women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2005**, *193*, 450–454. [[CrossRef](#)]
41. Lafuente-Ganuza, P.; Carretero, F.; Lequerica-Fernández, P.; Fernandez-Bernardo, A.; Escudero, A.I.; De La Hera-Galarza, J.M.; Garcia-Iglesias, D.; Alvarez-Velasco, R.; Alvarez, F.V. NT-proBNP levels in preeclampsia, intrauterine growth restriction as well as in the prediction on an imminent delivery. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2021**, *59*, 1077–1085. [[CrossRef](#)]
42. Zheng, Z.; Lin, X.; Cheng, X. Serum Levels of N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide in Gestational Hypertension, Mild Preeclampsia, and Severe Preeclampsia: A Study from a Center in Zhejiang Province, China. *Med. Sci. Monit.* **2021**, *28*, e934285-1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Herraiz, I.; Dröge, L.A.; Gómez-Montes, E.; Henrich, W.; Galindo, A.; Verlohren, S. Characterization of the soluble fms-like tyrosine kinase-1 to placental growth factor ratio in pregnancies complicated by fetal growth restriction. *Obstet. Gynecol.* **2014**, *124*, 265–273. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Tay, J.; Foo, L.; Masini, G.; Bennett, P.R.; McEniery, C.M.; Wilkinson, I.B.; Lees, C.C. Early and late preeclampsia are characterized by high cardiac output, but in the presence of fetal growth restriction, cardiac output is low: Insights from a prospective study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2018**, *218*, 517.e1–517.e12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



## Resumen del segundo artículo

El objetivo de este estudio fue realizar una validación externa de un modelo machine learning (MML) que utiliza la combinación de marcadores bioquímicos para la predicción de PE pretérmino en gestantes con sospecha clínica (NT-proBNP, ácido úrico y el ratio sFlt-1/PIGF). En segundo lugar, se estudió si este modelo mejoraba la capacidad predictiva del ratio sFlt-1/PIGF. Se realizó un estudio multicéntrico que incluyó gestantes con sospecha clínica de PE entre las 24<sup>+0</sup> y 36<sup>+6</sup> semanas de gestación que acudieron a urgencias o que se visitaron en la consulta de Alto Riesgo Obstétrico de siete Hospitales Universitarios españoles, entre marzo de 2018 y diciembre de 2020. Se obtuvieron las analíticas con los biomarcadores en el momento de la inclusión, con obtención posterior de más determinaciones por paciente, restringida a una por semana.

Inicialmente se incluyeron 792 mujeres con sospecha clínica de PE, pero el análisis se realizó finalmente con 597 gestantes y 936 muestras sanguíneas obtenidas entre la semana 24<sup>+0</sup> y 36<sup>+6</sup>. El 34.7% de las gestantes desarrolló PE: 90 (15.1%) PE pretérmino precoz (< 34<sup>+0</sup> semanas), 67 (11.2%) PE pretérmino tardía (34-36<sup>+6</sup> semanas), 50 (6.3%) PE a término ( $\geq$  37<sup>+0</sup> semanas), y 390 (65.3%) no desarrollaron PE (grupo control). Como el MML fue diseñado para la detección de PE pretérmino, no se analizaron las PE  $\geq$  37<sup>+0</sup> semanas.

Se compararon los grupos mediante análisis de varianza (ANOVA) y  $\chi^2$ , y los resultados se presentaron con medias (desviación estándar) o n (porcentaje). El MML para predecir PE incluye seis predictores: semana de gestación al ingreso, la presencia de hipertensión crónica y los niveles séricos de NT-proBNP, ácido úrico, sFlt-1 y PIGF. El profesional que aplicó el algoritmo no conocía más datos que los predictores comentados previamente. Se calculó la sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del modelo y el área bajo la curva (AUC) de las curvas ROC.

Las gestantes con PE tuvieron mayores niveles de NT-proBNP, ácido úrico y ratio sFlt-1/PIGF que las gestantes que no desarrollaron PE ( $p < 0.001$  para todas las variables mencionadas), siendo las PE pretérmino precoces las que tuvieron concentraciones más elevadas de todos los biomarcadores. La sensibilidad y especificidad del MML fue mejor que la del ratio sFlt-1/PIGF [79.6 (74.4-84.5) vs. 77.5 (71.9-83.0) y 94.9 (93.4-96.5) vs. 91.0 (89.0-93.0) respectivamente], y también fue mejor el VPP y el VPN del modelo combinado [83.1 (78.5-88.2) vs. 72.8 (67.4-78.4) y 93.7 (92.0-95.3) vs. 92.8 (91.0-94.7) respectivamente], aunque sólo el VPP y la especificidad mostraron diferencias estadísticamente significativas. Estas diferencias también se observaron cuando se analizaron por separado las pacientes con PE pretérmino precoz y tardía, aunque el MML mostró mejor rendimiento para el pronóstico de PE  $< 34^{+0}$  semanas. El AUC del MML fue mejor que el AUC del ratio sFlt-1/PIGF [94.1 (92.6-95.6) vs. 90.1 (88.0-92.1)]. Cuando se comparó la capacidad predictiva de ambas herramientas en 1 y 3 semanas, el modelo combinado también mostró mejor VPP y especificidad, con resultados estadísticamente significativos, y mostrando mejores resultados conforme se acercaba la edad gestacional al parto.

En conclusión, la combinación del ratio sFlt-1/PIGF, el NT-proBNP y el ácido úrico mejora la predicción de PE en gestantes con sospecha clínica entre la semana  $24^{+0}$  y  $36^{+6}$ . Este hecho aumenta potencialmente la precisión clínica, disminuyendo la tasa de falsos positivos y aumentando la especificidad, pudiendo evitar intervenciones innecesarias en gestantes que no desarrollaran la enfermedad.



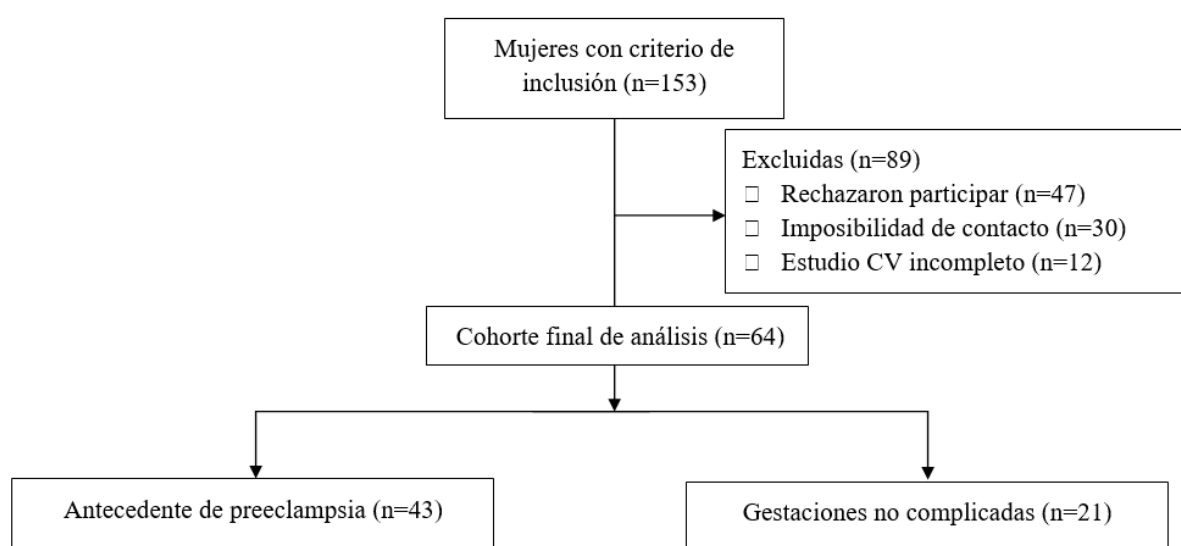
# **RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS**



## 5. RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

### 5.1 Primer trabajo

Se incluyeron 64 mujeres ~ 12 años después del embarazo: 43 tuvieron gestaciones complicadas con PE y 21 tuvieron embarazos de transcurso normal (grupo control). De las 43 mujeres con PE, 30 de ellas (69.8%) debutaron con PE pretérmino precoz (<34<sup>+0</sup> semanas).



**Figura 5.** Diagrama de selección de pacientes del primer estudio

Los grupos presentaron características basales similares (**Tabla 2**). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la paridad ( $p=0.020$ ) y la etnia ( $p=0.014$ ), que era lo esperable al ser factores de riesgo de PE. Las mujeres con PE tuvieron más antecedentes familiares de primer grado de trastornos hipertensivos ( $p=0.035$ ). Las gestantes con PE tuvieron cifras de TA superiores en el momento de la inclusión. Durante el embarazo, las mujeres con PE presentaron niveles más elevados de sFlt-1, niveles disminuidos de PlGF, mayor ratio sFlt-1/PlGF, aumento del IP de las arterias uterinas, y



mayor concentración de VCAM-1. El 51% de las gestantes con PE volvieron a quedarse embarazadas, siendo la tasa de recurrencia del 23.3%. La edad gestacional al parto de las mujeres con PE fue más temprana, con un aumento de la tasa de cesárea, y con menor peso al nacimiento de los neonatos, como era lo esperable.

En cuanto a la evaluación CV realizada a largo plazo tras la gestación (**Tabla 3**), los grupos también fueron homogéneos ya que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la edad, la prevalencia de fumadoras, el índice de masa corporal (IMC) ni la circunferencia abdominal. En el grupo PE hubo mayor proporción de hipertensas y dislipidémicas, y presentaron cifras tensionales superiores. No se observaron diferencias entre los grupos en cuanto al estilo de vida, considerando la actividad física referida y el nivel de estrés percibido (*Perceived Stress Scale*).<sup>115,116</sup>

**Tabla 2.** Variables demográficas y clínicas de las participantes durante la gestación

	<b>Preeclampsia n=43</b>	<b>Gestaciones no complicadas n=21</b>	<b>p</b>
<b><i>Características maternas</i></b>			
Edad, años	30 (26;33.5)	31 (27;33)	0.443
IMC, kg/m <sup>2</sup>	28.4 (25.2;30.8)	27.8 (26.2;29.9)	0.731
Fumadora	11 (25.6)	6 (28.6)	1.000
Nuliparidad	34 (79.1)	10 (47.6)	<b>0.020</b>
Obesidad†	15 (34.9)	6 (28.6)	0.778
Etnia caucásica	29 (67.4)	20 (95.2)	<b>0.014</b>
<b><i>Historia familiar</i></b>			
Hipertensión	27 (62.8)	7 (33.3)	<b>0.035</b>
Dislipemia	12 (27.9)	3 (14.3)	0.348
<b><i>Tensión arterial*</i></b>			
Sistólica, mmHg	170 (160.3;181.5)	114.5 (102;121.5)	<b>&lt;0.001</b>
Diastólica, mmHg	100 (97;110)	62.5 (60;69)	<b>&lt;0.001</b>
PAM, mmHg	125.8 (119;133.2)	79.8 (76.3;86)	<b>&lt;0.001</b>
<b><i>Biomarcadores gestacionales</i></b>			
SG en la evaluación	30.6 (28.6;35.5)	37.0 (25.6;39.3)	0.585
sFlt-1, pg/mL	2808 (2156;3981)	537.8 (347.2;1411)	<b>&lt;0.001</b>
PIGF, pg/mL	56 (38.9;123.3)	225.3 (168.4;344.1)	<b>&lt;0.001</b>
Ratio sFlt-1/PIGF	55.9 (17.3;100.2)	1.7 (1.4;6.1)	<b>&lt;0.001</b>
VCAM-1, pg/mL	861.4 (738.7;1026.5)	582.6 (471.2;641.7)	<b>&lt;0.001</b>
UtA-IPm	1.79 (1.65;2.15)	0.88 (0.76;1.17)	<b>&lt;0.001</b>
<b><i>Resultados obstétricos</i></b>			
SG al parto, semanas	33.5 (29.6;36.5)	40.0 (39.0;41.0)	<b>&lt;0.001</b>
Cesárea	31 (72.1)	5 (23.8)	<b>&lt;0.001</b>
Peso al nacimiento, g	1415 (975;2185)	3150 (3100;3520)	<b>&lt;0.001</b>
Peso al nacimiento, p	1 (1;8)	43 (26;67)	<b>&lt;0.001</b>

Los datos se muestran como medianas (intervalo intercuartílico) o n (%). IMC, índice de masa corporal; PAM, presión arterial media; SG, semanas de gestación; sFlt-1, forma soluble del receptor tirosina quinasa-1; PIGF, factor de crecimiento placentario; VCAM-1, molécula de adhesión de células vasculares-1; UtA-IPm, índice de pulsatilidad medio de las arterias uterinas; g, gramos; p, percentil.

† IMC ≥ 30 \*Cifra más alta obtenida durante la gestación.

**Tabla 3.** Datos clínicos de la evaluación cardiovascular la evaluación cardiovascular ~12 años después de la gestación

	<b>Preeclampsia n=43</b>	<b>Gestaciones no complicadas n=21</b>	<b>Valor p</b>
<b><i>Características basales</i></b>			
Intervalo de tiempo, años	12.5 (12.2;12.9)	12.8 (12.5;13.1)	0.137
Edad, años	42 (38;46)	43 (41;46)	0.366
IMC, kg/m <sup>2</sup>	24.9 (22.5;29.1)	24.4 (21.3;26.7)	0.230
Circunferencia abdominal, cm	89 (77;98)	83.5 (74.5;85.5)	0.059
Fumadoras	16 (37.2)	10 (47.6)	0.588
<b><i>Patologías médicas actuales</i></b>			
TVP	-	-	-
Infarto agudo miocardio	-	-	-
AVC	2 (4.7)	-	1.000
Hipertensión	14 (32.6)	1 (4.8)	<b>0.014</b>
Dislipidemia	12 (27.9)	1 (4.8)	<b>0.045</b>
Diabetes	2 (4.7)	-	1.000
Síndrome metabólico*	10 (23.3)	2 (9.5)	0.308
<i>Perceived Stress Scale</i>	18 (13;26)	17 (11;20)	0.178
<b><i>Actividad física</i></b>			
< 2 h/semana	25 (58.1)	10 (47.6)	
2-4 h/semana	12 (27.9)	8 (38.1)	0.576
≥ 4 h/semana	6 (14)	3 (14.3)	
<b><i>Tensión arterial</i></b>			
Sistólica, mmHg	123 (113;137)	111(104;125)	<b>0.011</b>
Diastólica, mmHg	78 (71;88)	71 (64.5;78)	<b>0.008</b>
PAM, mmHg	92.7 (83;104.3)	85 (77.3;90.8)	<b>0.007</b>
Los datos se presentan como medianas (intervalo intercuartílico) o n (%). IMC, índice de masa corporal; TVP, trombosis venosa profunda; AVC, accidente cerebrovascular; PAM, presión arterial media			
*Se consideró síndrome metabólico cuando hubo la presencia de ≥ 3 de los siguientes: glicemia en ayunas ≥ 100mg/dL, triglicéridos ≥ 150mg/dL, colesterol HDL < 50mg/dL, circunferencia abdominal ≥ 80cm, tensión arterial ≥ 130/85mmHg o en tratamiento médico para la hipertensión.			

A continuación, en la **Tabla 4** se describen los resultados analíticos y ecocardiográficos durante el asesoramiento CV. El grupo PE presentó menor concentración de HDL y ApoA-1 ( $p<0.001$  y  $p=0.036$ , respectivamente) ~12 años después del embarazo. Se evaluaron otros marcadores metabólicos, inflamatorios, renales y cardíacos (NT-proBNP y Troponina T), con valores dentro de la normalidad y sin diferencias entre los grupos. Las mujeres con antecedente de PE presentaron mayor disfunción cardíaca: peor SLG ( $p=0.038$ ), mayor masa miocárdica ( $p=0.032$ ), mayor grosor del septo interventricular ( $p=0.027$ ) y de la pared posterior del ventrículo izquierdo ( $p=0.020$ ). Además, el grupo PE tuvo mayor GIMc ( $p=0.015$ ). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los otros parámetros ecocardiográficos evaluados.

**Tabla 4.** Resultados de laboratorio y parámetros ecocardiográficos de la evaluación cardiovascular ~12 años después de la gestación

	Preeclampsia n=43	Gestaciones no complicadas n=21	p
<b><i>Factores angiogénicos y antiangiogénicos</i></b>			
sFlt-1, pg/mL	85.7 (78.6;91.0)	82.9 (80.6;94.2)	0.808
PlGF, pg/mL	10.3 (8.6;12.9)	10.4 (9.5;12.3)	0.715
Ratio sFlt1/PlGF	7.9 (6.3;11.4)	7.8 (6.7;9.1)	0.892
sEng, ng/mL	6.1 (5.4;6.9)	6.3 (5.8;6.9)	0.574
<b><i>Marcadores bioquímicos e inflamatorios</i></b>			
Glucosa, mg/dL	84 (78;92)	84 (77.5;88)	0.764
Urea, mg/dL	28 (26;34)	31 (29;35)	0.190
Creatinina, mg/dL	0.63 (0.57;0.69)	0.69 (0.63;0.70)	0.051
HbA1c, mmol/mol	33 (32;37)	33 (31;35)	0.454
Colesterol total, mg/dL	182 (155;222)	196 (171.5;216.5)	0.247
HDL, mg/dL	54 (49;60)	61 (57;73.5)	<b>0.001</b>
LDL, mg/dL	112 (91;138)	118 (96.5;137)	0.926
Triglicéridos, mg/dL	70 (59;111)	70 (46;103)	0.488
Apolipoproteína A-1, mg/dL	152 (141;170)	165 (151;197.5)	<b>0.036</b>
Apolipoproteína B, mg/dL	82 (68.8;103)	78.7 (69.9;99.35)	0.705

Lipoproteína (a), mg/dL	8.5 (4.15;27.4)	8.6 (4.37;23.8)	0.813
Homocisteína, $\mu\text{mol/L}$	10 (8.2;12.4)	9.5 (7.6;11.6)	0.632
PCR, mg/dL	0.2 (0.08;0.38)	0.2 (0.1;0.26)	0.673
VCAM-1, pg/mL	573 (498.8;714.1)	577.4(471.2;631.4)	0.371
ASM, nmol/mL	4.2 (3.4;6.5)	3.6 (2.6;4.8)	0.066
<b><i>Marcadores cardíacos</i></b>			
NT-proBNP,pg/mL	1 (0.9;1.2)	1.01 (0.9;1.3)	0.878
BNP, pg/mL	21.1 (9.2;32.7)	15.2 (11.6;31.8)	0.960
Troponina T, pg/mL	11.2 (9.3;13.5)	11.3 (9.4;13.6)	1.000
<b><i>Índices ecocardiográficos</i></b>			
SLG, %	-20 (-22;-19)	-21 (-24;-20)	<b>0.038</b>
FEVI (Simpson's biplano) %	62 (60;65)	64 (60.5;66)	0.281
Volumen telediastólico del VI, mL	85 (73;94)	82 (65.5;88.5)	0.176
Volumen telesistólico del VI, mL	31 (28;38)	29 (23.5;32.5)	0.069
Grosor septo interventricular, mm	9 (8;11)	8 (8;9.5)	<b>0.027</b>
Grosor pared posterior VI, mm	8 (8;9)	7 (7;8.5)	<b>0.020</b>
Masa miocárdica VI, gramos	107 (95;125)	93 (80;111)	<b>0.032</b>
E/e' de la válvula mitral	7.8 (5.67;9)	7 (6;8)	0.988
Diámetro AI, mm	35 (32;38)	35 (32.5;38)	0.405
Volumen AI, mL	46.5 (39;56)	40 (36;50)	0.237
Tracto de salida VI, mm	20 (19;21)	20 (19;21.5)	0.293
Volumen sistólico VI, mL	64.1 (55.0;74.0)	64.6 (56.3;77.4)	0.547
Gasto cardíaco, lt/min	4.45 (3.94;5.29)	4.20 (3.61;5.27)	0.346
TAPSE, cm	22.5 (20;23)	23 (21;25)	0.070
Velocidad anillo tricúspide lateral (S'), cm/s	13 (12;14)	13 (12;24)	0.609
PAPs, mmHg	23 (19.5;31.5)	24 (24;24)	0.800
GIMc, mm	0.52 (0.49;0.63)	0.50 (0.40;0.50)	<b>0.013</b>

Los datos se presentan como medianas (intervalo intercuartílico) o n (%); los valores *p* se calcularon con el test U de Mann-Whitney y el test de Fisher.

sFlt-1, forma soluble del receptor tipo tirosina quinasa-1; PlGF, factor de crecimiento placentario; sEng, endoglina soluble; HbA1c, hemoglobina glicosilada; HDL, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; LDL, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; PCR, proteína C reactiva; VCAM-1, molécula de adhesión de células vasculares-1; ASM, esfingomielinasa ácida; NT-proBNP, porción N-terminal del pro-péptido natriurético cerebral tipo B; BNP, péptido natriurético de tipo B; SGL, *strain* longitudinal global; FEVI, fracción de eyección del ventrículo izquierdo; VI, ventrículo izquierdo; AI, aurícula izquierda; TAPSE, excursión sistólica del plano anular del anillo tricúspideo; PAPs, presión arterial pulmonar sistólica; GIMc, grosor íntima-media carotídeo

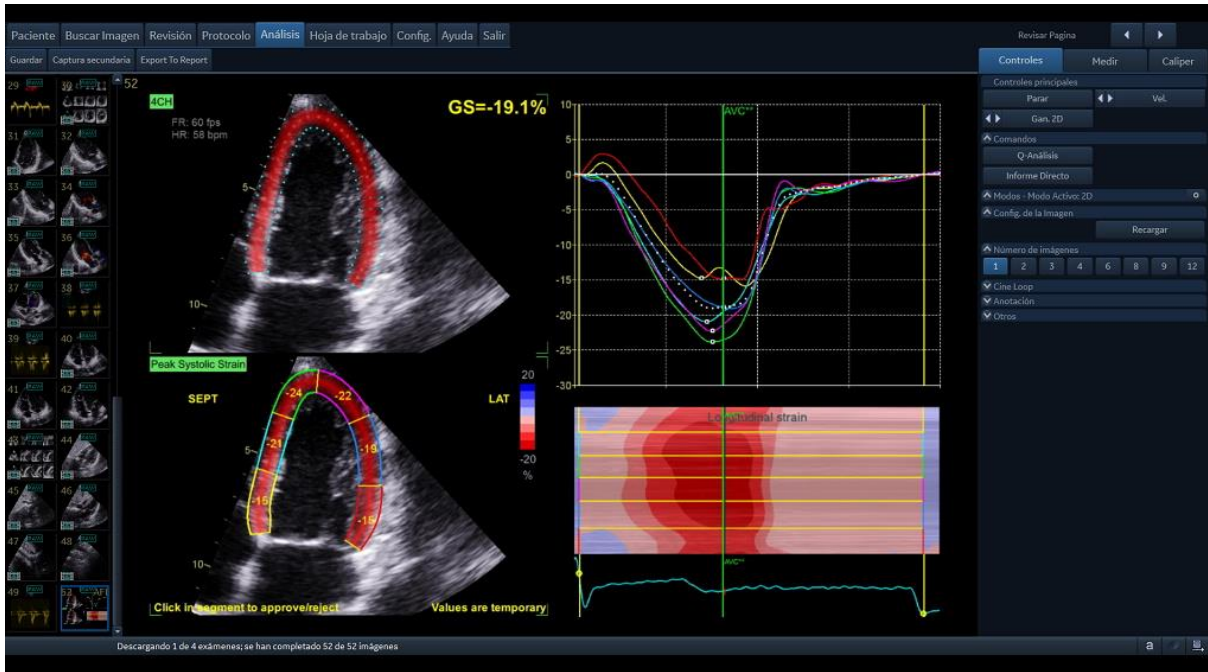


Figura 6. Ejemplo de valoración ecocardiográfica del *strain* longitudinal global (SLG)

Los coeficientes de correlación entre el sFlt-1 y el PIGF durante la gestación y los parámetros de riesgo CV ~12 años después se describen en la **Tabla 5**. Después de ajustar por el grupo de estudio, se encontró una correlación positiva entre el PIGF y el colesterol HDL ( $p=0.006$ ). A su vez, el PIGF se correlacionó negativamente con el SLG ( $p<0.001$ ), el GIMc ( $p=0.045$ ), la TAD ( $p=0.021$ ) y la PAM ( $p=0.045$ ). El sFlt-1 se correlacionó negativamente con el colesterol HDL ( $p=0.002$ ) y la ApoA-1 ( $p=0.040$ ), y positivamente con el GIMc ( $p=0.032$ ) y el grosor de la pared posterior del ventrículo izquierdo ( $p=0.012$ ). El ratio sFlt-1/PIGF solo se correlacionó negativamente con los niveles de colesterol HDL ( $p=0.012$ ). Estas asociaciones fueron independientes de la PAM y de la presencia de HTA.

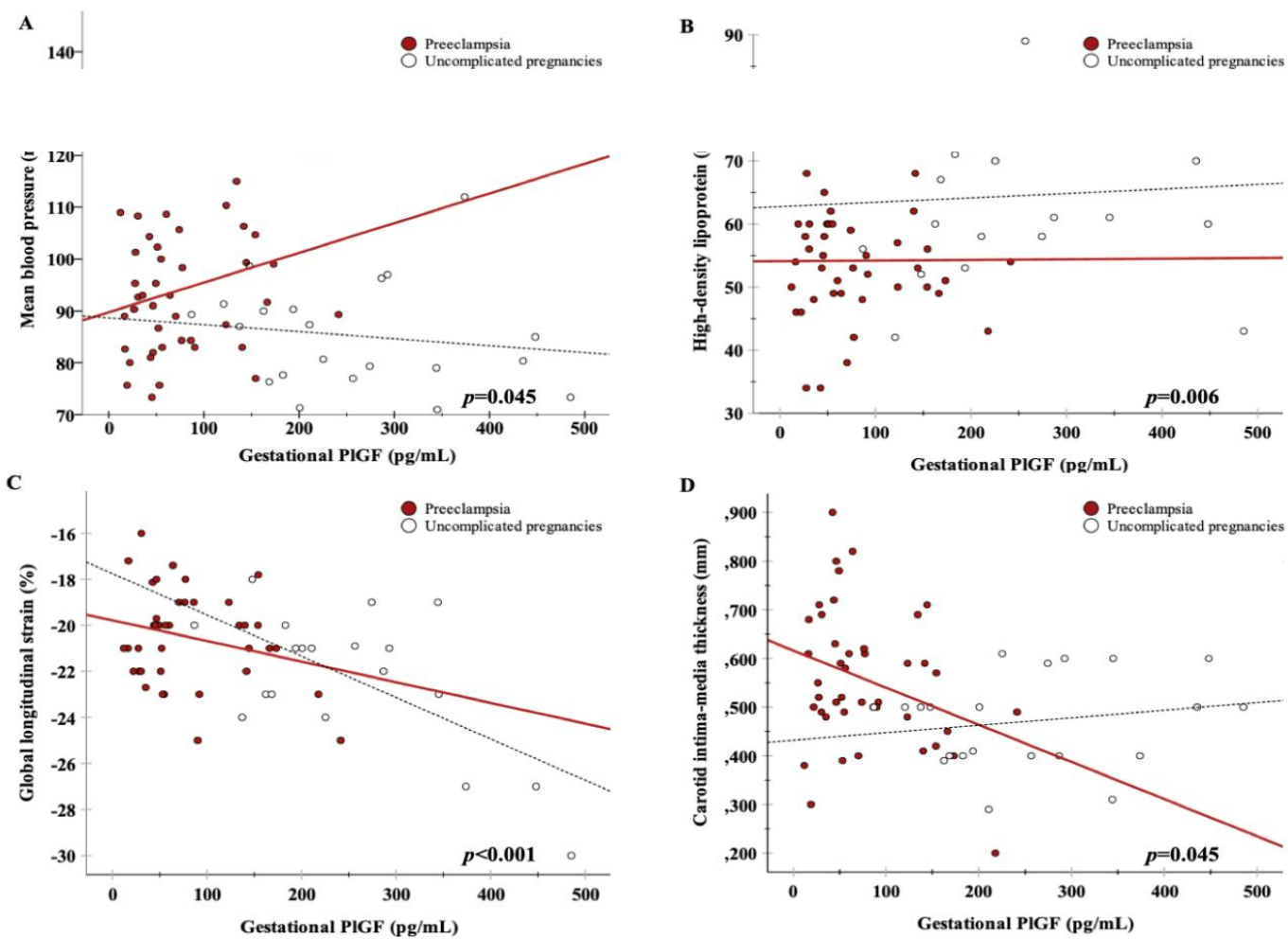
En la **Figura 7** y la **Figura 8** se muestran las gráficas de las correlaciones estadísticamente significativas entre el sFlt-1 y el PIGF con los parámetros de evaluación CV a largo plazo.

**Tabla 5.** Coeficientes de correlación entre los factores angiogénicos durante la gestación y los parámetros de evaluación de riesgo cardiovascular a largo plazo (~12 años después de la gestación)

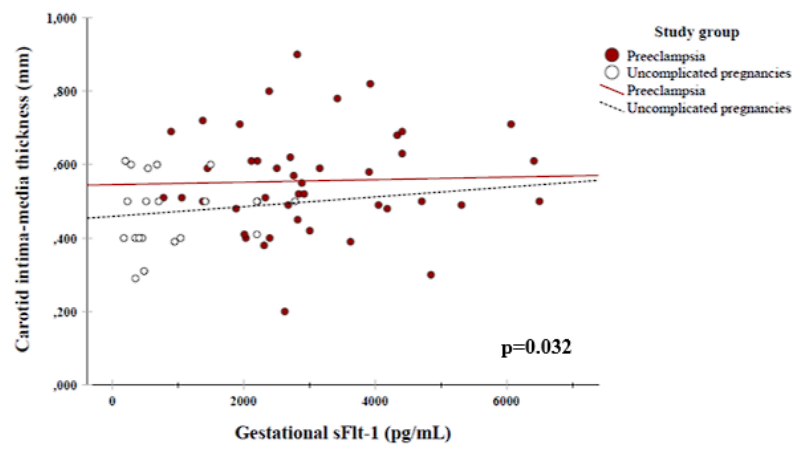
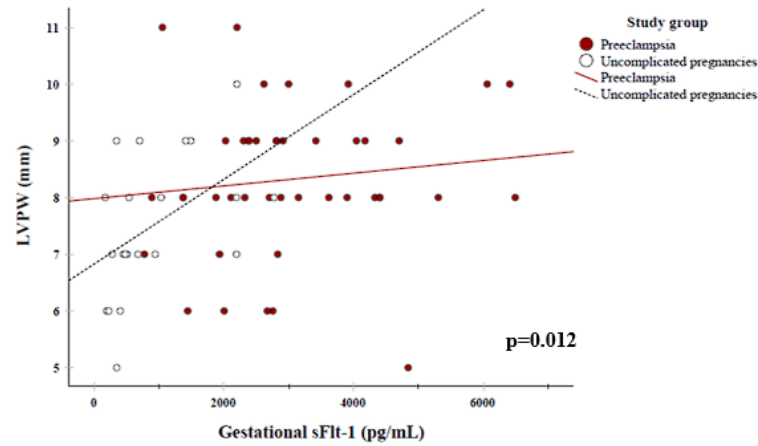
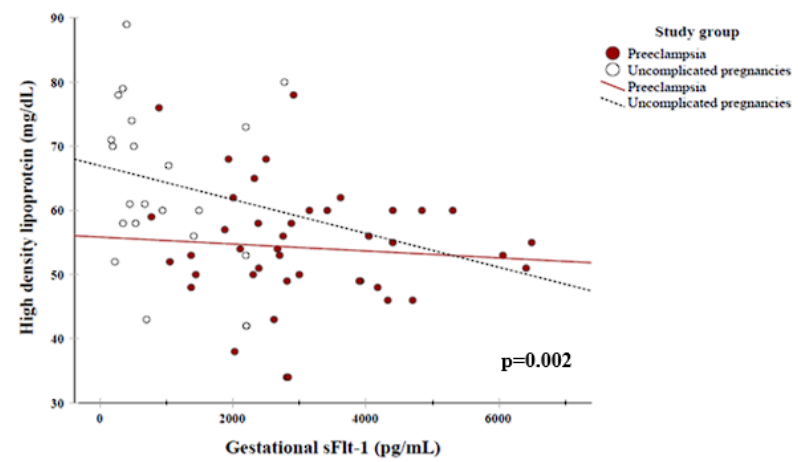
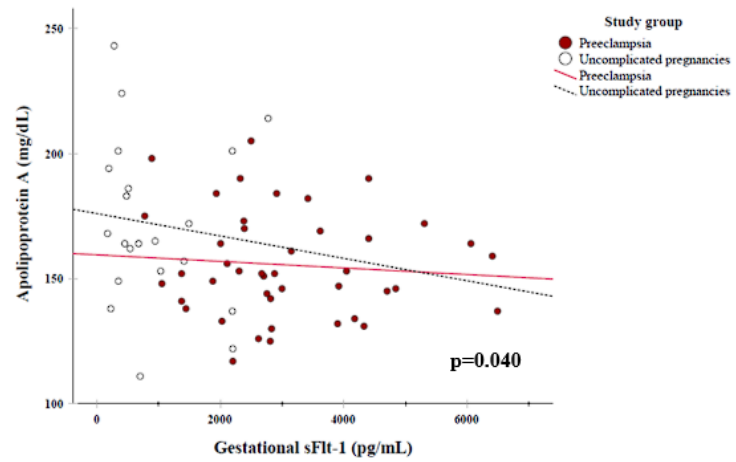
Parámetros de riesgo CV	sFlt-1			PlGF			sFlt-1/PlGF ratio			VCAM-1		
	Coefficiente de correlación	<i>p</i>	<i>p</i> ajustada	Correlation coefficient	<i>p</i> -value	Adjusted <i>p</i> -value	Coefficiente de correlación	<i>p</i>	<i>p</i> ajustada	Coefficiente de correlación	<i>p</i>	<i>p</i> ajustada
Tensión arterial sistólica	0.048	0.354	0.709	-0.188	0.069	0.138	-0.006	0.481	0.961	0.238	0.029	0.059
Tensión arterial diastólica	0.159	0.105	0.210	-0.287	<b>0.011</b>	<b>0.021</b>	0.088	0.244	0.489	0.343	<b>0.003</b>	<b>0.006</b>
Presión arterial media	0.115	0.182	0.364	-0.252	<b>0.022</b>	<b>0.045</b>	0.005	0.348	0.696	0.307	<b>0.007</b>	<b>0.014</b>
Colesterol HDL	-0.372	<b>0.001</b>	<b>0.002</b>	0.341	<b>0.003</b>	<b>0.006</b>	-0.311	<b>0.006</b>	<b>0.012</b>	-0.282	<b>0.012</b>	<b>0.024</b>
Apo-A1	-0.257	<b>0.020</b>	<b>0.040</b>	0.541	0.028	0.056	-0.227	0.036	0.072	-0.224	0.038	0.075
SLG	0.150	0.131	0.262	-0.581	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.237	0.037	0.074	0.260	<b>0.024</b>	<b>0.049</b>
Grosor septo interventricular	0.171	0.088	0.176	-0.193	0.064	0.127	0.114	0.185	0.371	0.230	0.034	0.067
Grosor pared posterior VI	0.368	<b>0.001</b>	<b>0.012</b>	-0.180	0.078	0.155	0.127	0.159	0.318	0.284	0.011	<b>0.023</b>
Masa miocárdica VI	0.138	0.141	0.281	-0.126	0.162	0.325	-0.025	0.422	0.843	0.245	0.026	0.053
GIMc	0.269	<b>0.016</b>	<b>0.032</b>	-0.251	<b>0.023</b>	<b>0.045</b>	0.184	0.073	0.146	0.191	0.065	0.131

sFlt-1, forma soluble del receptor tipo tirosina quinasa-1; PlGF, factor de crecimiento placentario; VCAM-1, molécula de adhesión de células vasculares-1; HDL, lipoproteínas de alta densidad; Apo-A1, apolipoproteína A1; SLG, *strain* longitudinal global; VI, ventrículo izquierdo; GIMc, grosor íntima-media carotídeo. Valores *p* obtenidos mediante correlación de Spearman, y *p*-ajustada por el grupo de estudio.





**Figura 7.** Correlaciones entre los niveles de PIGF durante el embarazo y los parámetros de la evaluación cardiovascular a largo plazo

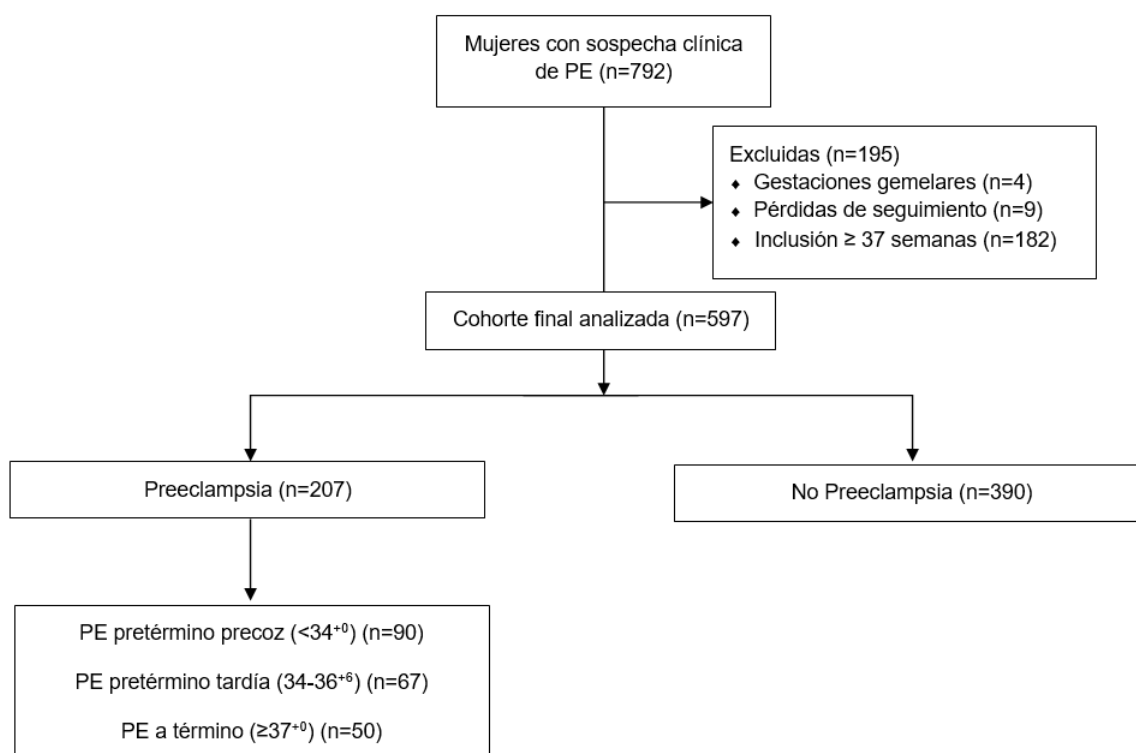


**Figura 8.** Correlaciones entre los niveles de sFlt-1 durante el embarazo y los parámetros de la evaluación cardiovascular a largo plazo



## 5.2 Segundo trabajo

Se incluyeron 597 gestantes con sospecha clínica de PE entre la semana 24<sup>+0</sup> y 36<sup>+6</sup>. La incidencia global de PE fue de 34.7% (207/597): 90 (15.1%) desarrollaron PE pretérmino precoz (<34<sup>+0</sup> semanas), 67 (11.2%) PE pretérmino tardía (34-36<sup>+6</sup> semanas), 50 (6.3%) PE a término ( $\geq$  37<sup>+0</sup> semanas), y 390 (65.3%) no desarrollaron PE (grupo control). Como el MML fue diseñado para la detección de PE pretérmino, en los análisis se excluyeron las gestantes con PE a término, por lo que se analizaron tres grupos por separado y entre ellos.



**Figura 9.** Diagrama de selección de pacientes del segundo estudio

Ambos grupos presentaron características basales similares (**Tabla 6**). Como era lo esperable, las gestantes con PE tuvieron niveles aumentados de sFlt-1 y disminuidos de PlGF, sobre todo aquellas con PE precoz, que tuvieron los niveles más elevados del ratio sFlt-1/PlGF. Las gestantes con PE también tuvieron mayores concentraciones de NT-proBNP y ácido úrico, siendo los niveles más altos en el grupo con PE precoz ( $p < 0.001$  para todas las variables previamente mencionadas). En cuanto a los resultados obstétricos, como era esperable, el grupo con PE precoz tuvo menor edad gestacional al parto, mayor tasa de cesárea y mayor número de ingresos en la unidad de curas intensivas (UCI). El 82.9% de las gestantes con PE precoz asociaron CIR. Respecto a los resultados perinatales, el grupo con PE precoz presentó un menor peso al nacimiento, mayor proporción de fetos CIR (82.9%), menor puntuación en el test de Apgar, y mayor tasa de eventos adversos neonatales y de admisión en la UCI neonatal ( $p < 0.001$  para todas las variables mencionadas).

Tabla 6. Características demográficas, clínicas y perinatales de la población de estudio

	Sin Preeclampsia (n=390)	Preeclampsia pretérmino precoz (n=90)	Preeclampsia pretérmino tardía (n=67)	p
<b>Características maternas</b>				
Edad, años	34.02 ± 6	35.5 ± 5.9	34.8 ± 7.6	0.422
Etnia				
Caucásica	258 (88.1)	26 (76.5)	49 (94.2)	0.143
Negra	21 (7.2)	4 (11.8)	1 (1.9)	
Asiática	14 (4.8)	4 (11.8)	2 (3.8)	
Fumadora	22 (7.6)	3 (8.8)	0 (0)	0.112
Nuliparidad	117 (39.8)	19 (55.9)	23 (44.2)	0.184
<b>Morbilidad materna</b>				
Diabetes mellitus tipo 1	4 (1.4)	1 (2.9)	2 (3.8)	0.415
Diabetes mellitus tipo 2	5 (1.7)	0 (0)	5 (5.8)	0.114
Hipertensión	50 (17)	6 (17.6)	7 (13.5)	0.806
ECV	2 (0.7)	0 (0)	0 (0)	0.745
Patología renal	7 (2.4)	1 (2.9)	1 (1.9)	0.955
<b>Biomarcadores</b>				
SG de la muestra	33.6 ± 3.3	30.8 ± 2.1*	34.9 ± 1.2¥	<0.001
sFlt-1, pg/mL	3252 ± 2815.2	15043.1 ± 9289*	12044.8 ± 9167.7*¥	<0.001
PlGF, pg/mL	361.2 ± 394.7	66.9 ± 84.4	83.4 ± 72.9	0.227
Ratio sFlt-1/PlGF	28.9 ± 56.8	443.7 ± 329.1*	220.8 ± 229.9*¥	<0.001
NT-proBNP, ng/L	44.3 ± 46.3	883.5 ± 2391.5*	261.6 ± 247.2*¥	<0.001
Ácido úrico, mg/dL	3.9 ± 1	5.9 ± 1.4*	5.8 ± 1.5*¥	<0.001
<b>Resultados obstétricos</b>				
SG al parto, semanas	38.3 ± 2.3	31.4 ± 2.1*	35.3 ± 1*¥	<0.001
Tipo de parto				
Vaginal	154 (53.3)	4 (11.8)*	17 (32.7)*	<0.001
Parto instrumentado	19 (6.6)	0 (0)	0 (0)	
Cesárea	115 (39.9)	30 (88.2)*	35 (67.3)*	
Ingreso materno en UCI	2 (0.7)	24 (70.6)*	33 (63.5)*	<0.001
<b>Resultados neonatales</b>				
Peso, gramos	2755.4 ± 654.5	1315.5 ± 372*	2249.1 ± 458.1*¥	<0.001
CIR	72 (23.7)	29 (82.9)*	24 (43.6)*¥	<0.001
Test Apgar 1'	8 ± 1	6 ± 2*	8 ± 0¥	<0.001

Test Apgar 5'	9 ± 0	8 ± 1*	9 ± 1¥	<0.001
pH umbilical arterial	7.2 ± 0.6	7.3 ± 0.1	7.2 ± 0.1	0.943
pH umbilical venoso	7.3 ± 0.1	7.3 ± 0.1	7.3 ± 0.1	0.05
Ingreso en UCI	37 (13)	32 (97)*	27 (52.9)*¥	<0.001
Resultados adversos	32 (11.3)	29 (87.9)*	15 (28.8)*¥	<0.001

Los datos se muestran como medias ± desviación estándar o n (%).

ECV enfermedad cardiovascular; sFlt-1, forma soluble del receptor tipo tirosina quinasa-1; PlGF, factor de crecimiento placentario; NT-proBNP, porción N-terminal del pro-péptido natriurético cerebral tipo B; SG, semana de gestación; UCI, unidad de curas intensivas; CIR, crecimiento intrauterino restringido.

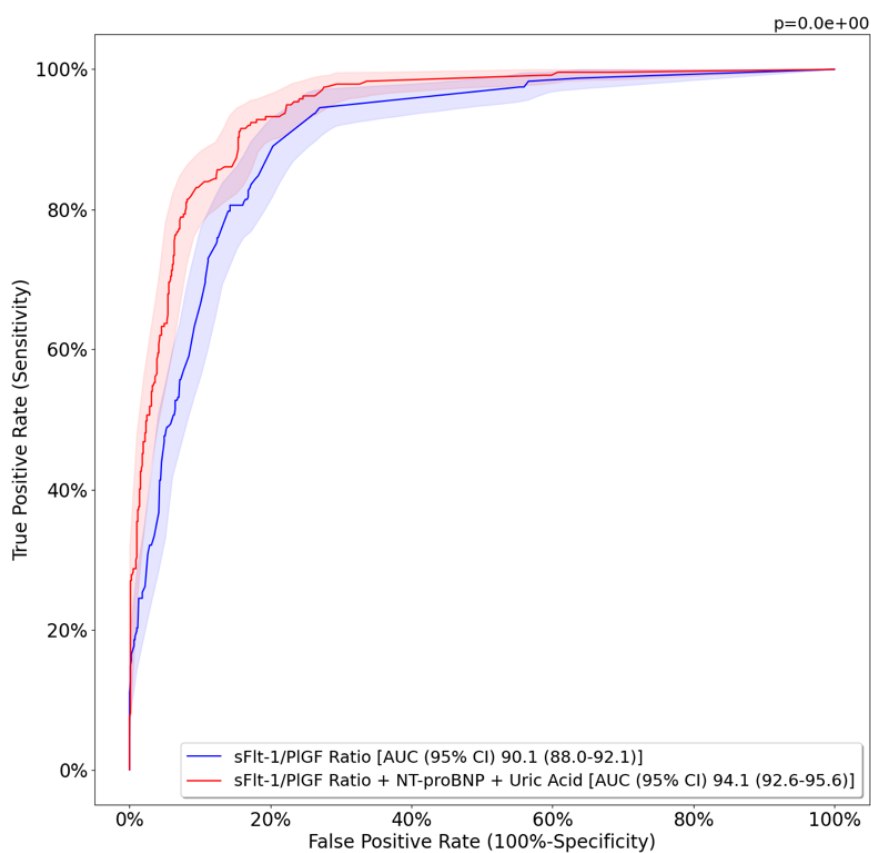
Los valores p fueron obtenidos por ANOVA o Chi-cuadrado, lo más apropiado en cada caso, y se realizaron comparaciones entre los grupos. \*valor p<0.05 comparado con gestantes sin preeclampsia; ¥ valor p <0.05 comparado con la PE pretérmino precoz.

En la **Tabla 7** y en la **Figura 10** se muestran los resultados de validación del MML comparado con el ratio sFlt-1/PlGF solo para la predicción de PE. Con el modelo combinado se observó menor tasa de falsos positivos y de falsos negativos que con el ratio sFlt-1/PlGF: 23% vs. 41% y 29% vs. 32%, respectivamente. Los falsos negativos fueron pacientes con diagnóstico clínico de PE pero sin alteración de los biomarcadores.

**Tabla 7. Comparación de los modelos en la predicción de PE pretérmino**

	Ratio sFlt-1/PlGF	Modelo machine learning
Sensibilidad (%)	77.5 (71.9-83.0)	79.6 (74.4-84.5)
Especificidad (%)	91.0 (89.0-93.0)*	94.9 (93.4-96.5)*
Valor predictivo positivo (%)	72.8 (67.4-78.4)*	83.1 (78.5-88.2)*
Valor predictivo negativo (%)	92.8 (91.0-94.7)	93.7 (92.0-95.3)

\*p<0.05



**Figura 10.** Rendimiento de los modelos estudiados para la predicción de PE pretérmino

La **Tabla 8** muestra por separado predicción de PE pretérmino (precoz y tardía) del ratio sFlt-1/PIGF y del MML. Tanto la sensibilidad, la especificidad, el VPP y el VPN del modelo combinado mejoró la tasa de detección de PE, aunque sólo la especificidad y el VPP mostraron diferencias estadísticamente significativas.

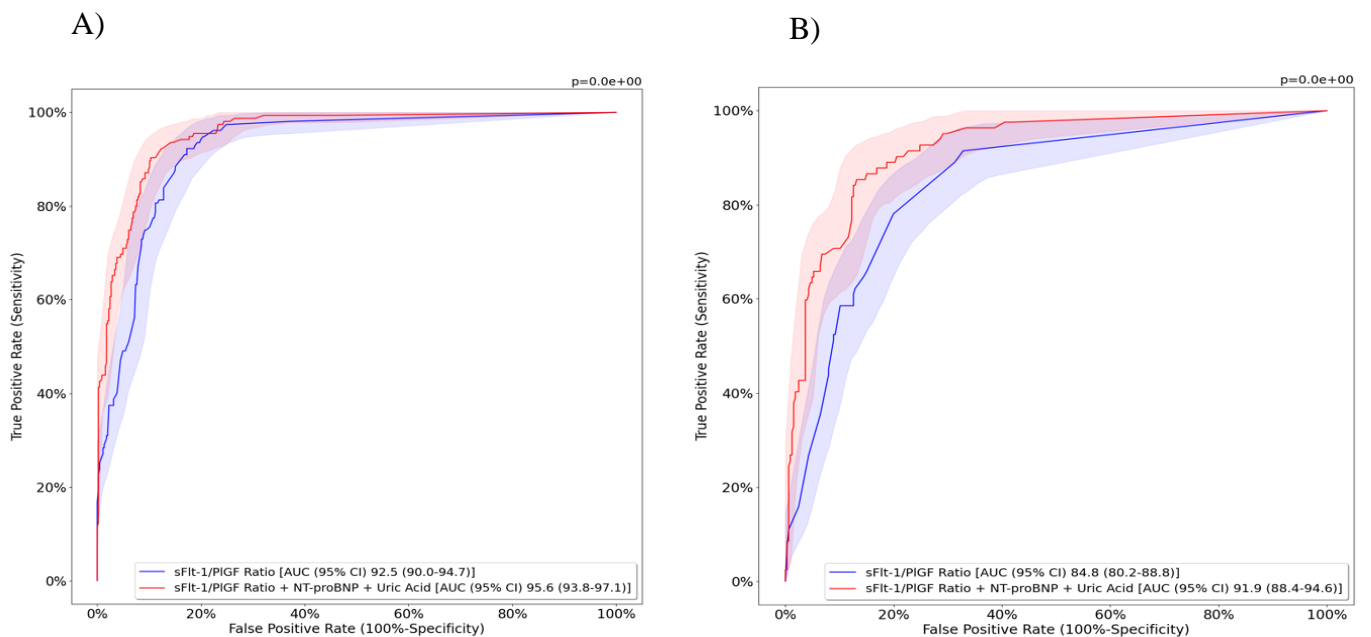


**Tabla 8.** Validación de los modelos para predecir PE pretérmino precoz y tardía

	Ratio sFlt-1/PIGF	Modelo machine-learning
<b><i>PE pretérmino precoz</i></b>		
Sensibilidad (%)	82.2 (76.3-88.5)	86.7 (81.8-92.6)
Especificidad (%)	90.8 (88.4-93.5)*	93.8 (91.7-95.9)*
Valor predictivo positivo (%)	72.5 (66.1-79.4)*	80.4 (74.2-86.4)*
Valor predictivo negativo (%)	94.5 (92.6-96.6)	96.0 (94.3-97.8)
<b><i>PE pretérmino tardía</i></b>		
Sensibilidad (%)	63.5 (53.1-75.0)	63.5 (53.1-75.0)
Especificidad (%)	90.2 (87.6-92.8)*	96.0 (94.2-97.8)*
Valor predictivo positivo (%)	55.0 (45.7-64.9)*	75.0 (65.2-86.2)*
Valor predictivo negativo (%)	92.9 (90.7-95.5)	93.3 (91.1-95.7)

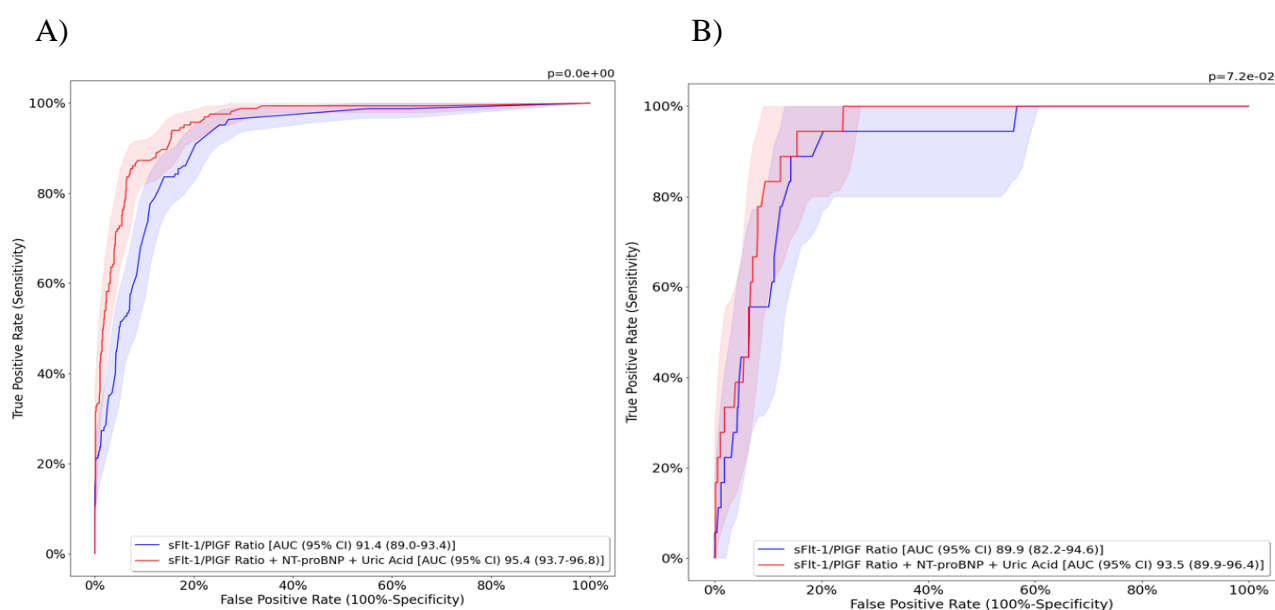
\*p &lt; 0.05

En la **Figura 11** se observa como el AUC del MML es superior a la del ratio sFlt-1/PIGF, por lo que el modelo demuestra mayor rendimiento para la predicción de PE pretérmino.

**Figura 11.** Rendimiento de los modelos para predecir PE pretérmino precoz y tardía.

A) PE pretérmino precoz B) PE pretérmino tardía

A nivel práctico, nos interesaba comparar el rendimiento del MML y del ratio sFlt-1/PIGF para detectar PE en las próximas semanas (no fue posible hacer el análisis a las 4 semanas por tener pocas muestras). En la **Figura 12** se observan las curvas ROC del modelo combinado y del ratio sFlt-1/PIGF a la semana y a las 3 semanas, observando mejor AUC en el MML. En la **Tabla 9** se describe la sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del MML y del ratio sFlt-1/PIGF en 1 y 3 semanas. El MML mostró nuevamente mejor rendimiento, encontrando diferencias estadísticamente significativas para el VPP y la especificidad.



**Figura 12.** Rendimiento global de los modelos para predecir PE  
 A) Predicción de PE en 1 semana    B) Predicción de PE en 3 semanas

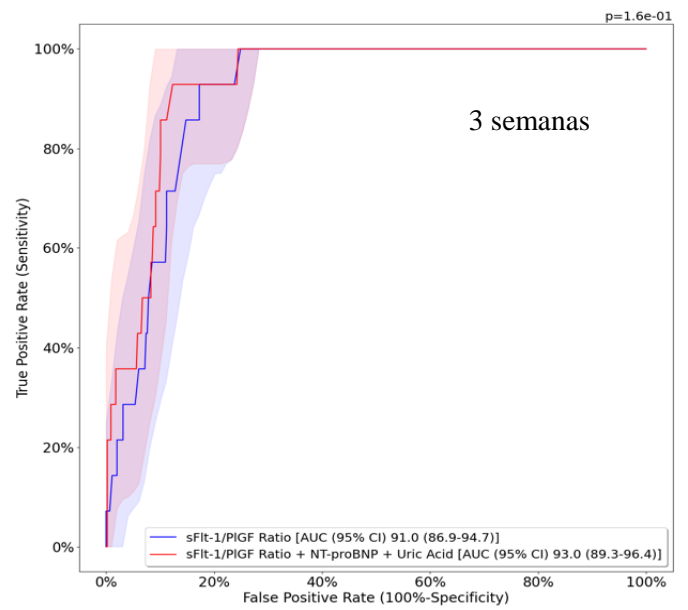
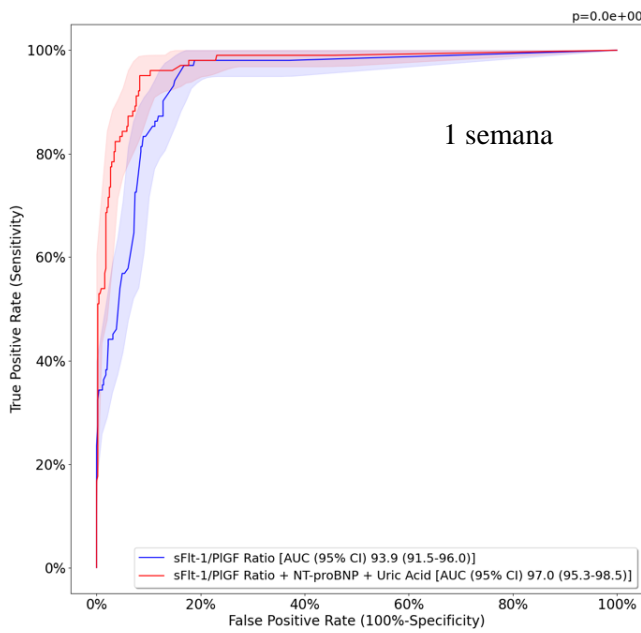
**Tabla 9.** Predicción de PE pretérmino en 1 y 3 semanas con ambos modelos

	Ratio sFlt-1/PIGF	Modelo machine-learning
<b><i>1 semana</i></b>		
Sensibilidad (%)	87.0 (81.4-92.7)	90.9 (86.0-95.9)
Especificidad (%)	70.5 (63.8-77.6)*	78.7 (72.3-84.9)*
Valor predictivo positivo (%)	90.8 (88.1-93.2)*	93.8 (91.8-95.8)*
Valor predictivo negativo (%)	96.5 (94.9-98.2)	97.6 (96.2-98.9)
<b><i>3 semanas</i></b>		
Sensibilidad (%)	62.5 (33.3-100.0)	62.5 (33.3-100.0)
Especificidad (%)	31.2 (11.1-50.0)*	41.7 (16.7-66.7)*
Valor predictivo positivo (%)	86.2 (80.4-92.3)*	91.2 (86.3-96.1)*
Valor predictivo negativo (%)	95.8 (93.0-100.0)	96.1 (93.5-100.0)

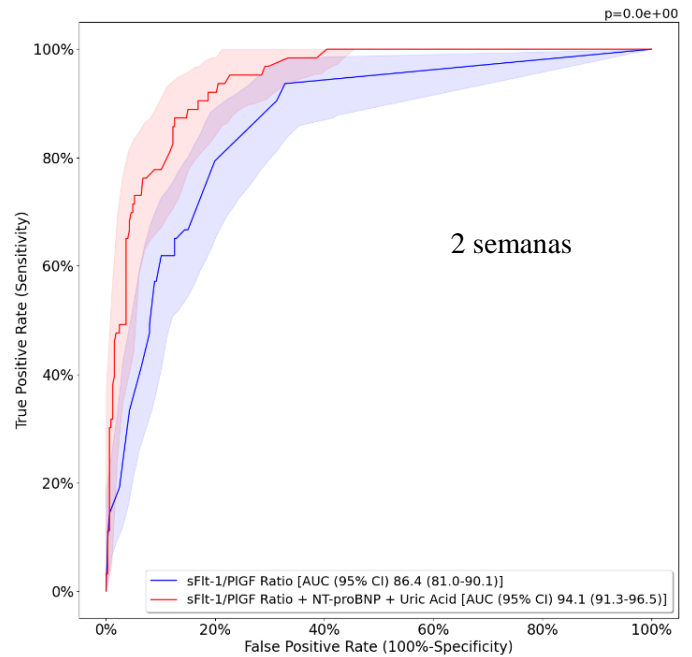
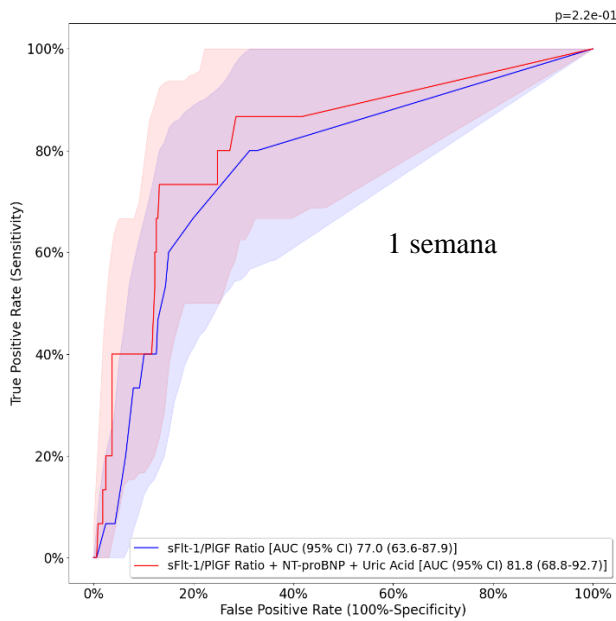
\*p&lt;0.05

La **Figura 13** compara el rendimiento del MML y del ratio sFlt-1/PIGF para la detección de PE pretérmino precoz y tardía, mostrando nuevamente mejores resultados con el modelo combinado y con mejor rendimiento para la detección de PE precoz.

A)



B)



**Figura 13.** Rendimiento de los modelos para predecir PE pretérmino en 1,2 y 3 semanas  
 A) Predicción de PE pretérmino precoz B) Predicción de PE pretérmino tardía





# **RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN**



## 6. RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN

### Hallazgos principales

Los resultados del primer estudio sugieren que el desequilibrio entre los factores angiogénicos y antiangiogénicos durante la PE es un factor pronóstico para la afectación CV a largo plazo. Por otro lado, la combinación de un marcador de daño cardíaco, el ácido úrico y el ratio de factores angiogénicos mejora la predicción de PE pretérmino en gestantes con sospecha clínica de la enfermedad.

El **primer estudio** describe por primera vez la asociación entre los factores angiogénicos (sFlt-1 y PlGF) en las gestaciones complicadas con PE y el riesgo CV ~ 12 años después, determinado por una evaluación clínica, analítica y ecocardiográfica. Las mujeres con PE y niveles más disminuidos de PlGF presentaron peor salud CV a largo plazo: niveles inferiores de colesterol HDL, peor función cardíaca e incremento del GIMc. Además, las mujeres con PE y niveles más elevados de sFlt-1 presentaron peor perfil lipídico (menor HDL y Apo-A1), mayor grosor de la pared posterior del ventrículo izquierdo y mayor GIMc a largo plazo.

El **segundo estudio** valida un MML que combina marcadores bioquímicos (ratio sFlt-1/PlGF, NT-proBNP y ácido úrico) para la detección de PE pretérmino en gestantes con sospecha clínica. El modelo combinado tuvo mejor capacidad de predicción de PE pretérmino que el ratio sFlt-1/PlGF: el VPP (desarrollar una PE en las próximas 6 semanas) y la especificidad (menor tasa de falsos positivos) del modelo combinado fue superior, con resultados estadísticamente significativos. El MML también mostró mejor sensibilidad y VPN (menor tasa de falsos negativos), aunque estos resultados no llegaron a alcanzar la significación estadística. Estas diferencias se observaron tanto para la PE pretérmino precoz como tardía, mostrando un mayor rendimiento en la PE precoz y



cuanto más cerca de la fecha de parto. La capacidad de predicción de PE pretérmino para una y tres semanas fue mejor con el modelo combinado que con el ratio sFlt-1/PlGF solo.

### **Factores angiogénicos y alteraciones CV a largo plazo tras preeclampsia**

La lesión cardíaca en la gestante con PE se caracteriza por remodelado concéntrico, con aumento de grosor de la pared del ventrículo izquierdo y disminución de la relajación miocárdica, lo que conlleva una disfunción global del ventrículo izquierdo.<sup>78,117</sup> La disfunción diastólica complica casi la mitad de casos de PE.<sup>118,119</sup> La función sistólica suele estar conservada, especialmente en las PE tardías, aunque en muchos casos existe también disfunción sistólica subclínica.<sup>117,120</sup> Estas alteraciones son más significativas en las PE precoces y severas, apareciendo incluso antes que los signos clínicos de la enfermedad,<sup>58</sup> y no se limitan al periodo gestacional sino que evolucionan después del parto persistiendo años después de la gestación.<sup>62,119,121–123</sup>

La HTA es el principal factor de riesgo de muerte por cardiopatía isquémica y accidente cerebrovascular.<sup>124</sup> En consonancia con lo descrito en la literatura,<sup>121,125,126</sup> en el primer estudio hubo mayor proporción de hipertensas entre las mujeres con antecedente de PE durante le gestación. Benschop y cols.<sup>127</sup> describieron, como en nuestro estudio, una asociación inversa entre los niveles disminuidos de PlGF a la mitad del embarazo y la TA 6-9 años después del parto. Sin embargo, evaluaron un grupo heterogéneo de gestantes, ya que incluyeron mujeres con PE pero también gestantes sin insuficiencia placentaria (fetos pequeños para edad gestacional y parto prematuro), y además tampoco analizaron los factores angiogénicos en el momento del diagnóstico de la PE, por lo que probablemente sus resultados estén infraestimados. Neuman y cols.<sup>128</sup> estudiaron un año después del parto a mujeres que habían tenido PE, y las que eran hipertensas tuvieron

menores niveles de PIGF en el tercer trimestre de gestación. Sin embargo, el sFlt-1 y PIGF no resultaron de utilidad para predecir el desarrollo de HTA.

Se han publicado estudios que detectan cambios sutiles en SLG en pacientes hipertensos con FEVI normal.<sup>129</sup> Las gestantes con PE presentan peor SLG que las gestantes sin enfermedad hipertensiva del embarazo.<sup>63,120</sup> Nuestro estudio fue el primero que evaluó el SLG tantos años después de la PE. Como la longitud final de la cavidad (sistólica) es menor que la longitud inicial (diastólica), el porcentaje de la deformación es negativo, y los valores más cercanos a cero indican una peor funcionalidad global del ventrículo izquierdo. Aunque la FEVI estuvo conservada en todos los casos, y era lo esperable, las mujeres con antecedente de PE presentaron peor SLG, una diferencia modesta pero significativa, indicando una tendencia a la disfunción miocárdica subclínica y una mayor predisposición a la insuficiencia cardíaca.<sup>129</sup> Recientemente se ha publicado un estudio de evaluación del riesgo CV a los 10 años de 84 mujeres con antecedente de PE o hipertensión gestacional y 51 controles sanos, sin encontrar diferencias en el SLG entre los grupos. Sin embargo, el grupo con antecedentes de trastornos hipertensivos del embarazo tuvo un peor *strain* circunferencial, con diferencias estadísticamente significativas.<sup>126</sup> Sin embargo, la cohorte de este estudio fue muy heterogénea y sabemos que la disfunción cardíaca subclínica es diferente para estas dos entidades, es mayor en la PE, por lo que probablemente sus resultados estén subestimados. Shaul y cols.<sup>130</sup> describieron por primera vez una asociación entre el ambiente antiangiogénico y la disfunción sistólica subclínica en gestantes con PE: las que tuvieron niveles más elevados de sFlt-1 y Eng presentaron peor SLG. En nuestro estudio no encontramos asociación entre el sFlt-1 y el SLG a largo plazo, pero sí que encontramos asociación con el PIGF (a menor concentración de PIGF, peor SLG), un biomarcador que Shaul y cols no evaluaron

en su estudio. Todos estos hallazgos sugieren que el ambiente antiangiogénico del embarazo impulsa una peor respuesta CV después de la PE.

En el primer estudio las mujeres con antecedente de PE presentaron un aumento de masa miocárdica respecto el grupo control, lo cual está en consonancia con lo descrito en la literatura,<sup>58,131</sup> y contribuye al aumento del riesgo CV de estas mujeres.<sup>132</sup> El Framingham Heart Study<sup>133</sup> comunicó un riesgo de ECV de 1.57 veces por cada aumento de 50gr de masa del ventrículo izquierdo. Además del aumento de masa miocárdica, las mujeres con antecedente de PE tuvieron mayor grosor del septo interventricular y de la pared posterior del ventrículo izquierdo. Resultados similares obtuvieron Bokslag y cols.<sup>134</sup> en su evaluación a los 9-16 años postparto de mujeres que tuvieron gestaciones complicadas con PE < 34<sup>+0</sup> semanas. También se ha asociado la disminución del PIGF a la mitad del embarazo con el índice de masa del ventrículo izquierdo 6 años después de la gestación.<sup>127</sup> En nuestro estudio hubo una tendencia a la correlación entre el PIGF y la masa miocárdica, que probablemente con mayor tamaño muestral hubiese alcanzado la significación estadística (p=0.053).

Aunque las alteraciones del corazón derecho en las mujeres con PE han sido menos estudiadas, se ha descrito que tienen mayor diámetro de la aurícula derecha al final de la sístole, así como menor excursión sistólica del plano anular del anillo tricuspídeo (TAPSE) y menor velocidad del anillo tricúspide lateral (S') que las gestantes sanas.<sup>118</sup> Las alteraciones cardíacas derechas pueden ser un factor de riesgo independiente de resultado CV adverso a largo plazo,<sup>135</sup> y por eso decidimos añadir el estudio del corazón derecho en la evaluación ecocardiográfica ~12 años después de la gestación, aunque los valores resultaron normales en todas las mujeres y no se detectaron diferencias entre los grupos de estudio.

Se han publicado pocos estudios que hayan evaluado la función CV a largo plazo tras la PE, y tienen cohortes pequeñas. Al-Nashi y cols.<sup>136</sup> realizaron una ecocardiografía 11 años después de la gestación a 15 mujeres que tuvieron PE y 16 controles, y no encontraron signos de disfunción cardíaca ni diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Sin embargo, Strobl y cols.<sup>137</sup> realizaron una ecocardiografía entre 13 y 18 años después de la gestación a 17 mujeres con síndrome HELLP, 14 con PE y 17 controles, documentando que las mujeres asintomáticas del grupo PE y HELLP tenían un incremento del índice de rendimiento miocárdico respecto los controles. Este índice, también llamado Tei, es una herramienta que permite hacer una estimación global de la función ventricular sistólica y diastólica, y estima la afectación miocárdica, por lo que se observó que muchos años después de la PE las mujeres asintomáticas tenían mayor riesgo de deterioro de la función cardíaca. Esto va en la misma línea que nuestros hallazgos ya que, aunque las mediciones ecocardiográficas estuvieron dentro de la normalidad, sí que observamos mayor tendencia a la disfunción cardíaca. Hay que tener en cuenta que la cohorte de nuestro estudio estuvo formada por mujeres relativamente jóvenes, siendo probable que en unos años los parámetros evaluados empeoren, evolucionando a disfunción sistólica y diastólica subclínica, o incluso a la insuficiencia cardíaca.

En el primer estudio se identificaron durante la gestación algunas de las lipoproteínas más implicadas en la fisiopatología de la aterosclerosis, siendo la primera vez que se ha establecido asociación entre los factores angiogénicos durante la PE y las alteraciones del metabolismo lipídico a largo plazo. El colesterol HDL protege frente a la aterosclerosis por su capacidad para promover el transporte de colesterol hacia el hígado para su eliminación, por sus propiedades antiinflamatorias y porque puede proteger al colesterol LDL de la oxidación. El colesterol HDL bajo es un importante factor de riesgo para ECV, y sigue siendo un factor de riesgo incluso en pacientes con niveles bajos de LDL.<sup>138</sup> Sattar

y cols.<sup>139</sup> examinaron los niveles de colesterol total, HDL, LDL, y triacilglicéridos de 40 mujeres 15-25 años después de la PE, sin observar diferencias entre los grupos. Sin embargo, en nuestro estudio sí que observamos niveles inferiores de colesterol HDL en el grupo que tuvo PE, así como de Apo-A1. La Apo-A1 actúa como la principal proteína  $\beta$ antiaterogénica en las partículas de HDL; sin embargo, tiene poco valor clínico.<sup>140</sup> La determinación rutinaria de apolipoproteínas no está indicada en la práctica clínica habitual, siendo necesario un mayor número de estudios clínicos que analicen los cambios en los niveles de estas apolipoproteínas en la insuficiencia placentaria y su relación con la ECV a largo plazo.

Se han publicado más de 50 distintos marcadores de lesión y/o activación endotelial, entre ellos CD54/ICAM-1 (molécula de adhesión intracelular-1), VCAM, factor Von Willebrand, integrina  $\beta$ 1, CD62E/E-selectin, CD144/VE-cadherin, disintegrin-like metalloprotease with repeat-13 thrombospondine type 1 (ADAMTS-13) e incluso, la misma endoglin (CD105/endoglin).<sup>141</sup> Algunas de estas moléculas también se han estudiado en mujeres con PE. Se ha descrito un aumento de VCAM-1 en la PE como signo de daño endotelial,<sup>142</sup> pero hay pocos estudios que evalúen los niveles postparto. Bokslag y cols.<sup>134</sup> estudiaron los niveles de ICAM-1 entre los 9 y 16 años postparto, encontrando concentraciones superiores en las mujeres que habían tenido gestaciones complicadas con PE. El VCAM-1 se asoció de forma significativa con el riesgo CV a largo plazo en nuestro estudio: niveles más elevados durante la gestación se asociaron con cifras superiores de TA, menor colesterol HDL y peor SLG, ajustado por grupo de estudio. Esto reforzaría el concepto de que la gravedad del daño endotelial durante el embarazo podría determinar el grado de susceptibilidad a la ECV a largo plazo.

A pesar de que la PE se asocia frecuentemente al CIR, en la mayoría de estudios que evalúan la función CV en la PE no se considera esta entidad. El CIR aislado presenta

cambios hemodinámicos similares a la PE, aunque de menor gravedad.<sup>143-145</sup> Cuando se asocian estas dos entidades las gestantes presentan peor adaptación hemodinámica, con mayor resistencia vascular periférica y menor gasto cardíaco, por lo que hay autores que consideran a madre y feto como una unidad cardiaco-fetal-placentaria.<sup>145,146</sup> En la evaluación a largo plazo también se ha observado que la alteración CV de las mujeres con antecedentes de CIR son similares a aquellas con antecedente de PE previa durante la gestación, aunque con menor grado.<sup>147</sup> En nuestro primer estudio, casi el 70% de casos fueron PE precoces, y la mitad asoció CIR, pero no se analizaron por separado (PE con y sin CIR) por el pequeño tamaño muestral.

Algunos estudios han evaluado los factores angiogénicos después embarazo, pero no queda claro cómo evolucionan los niveles tras el parto. Kvehaugen y cols.<sup>148</sup> informaron de valores aumentados de sFlt-1, pero no de PlGF, a los 5-8 años postparto. Otros estudios también han reportado niveles aumentados de sFlt-1 a los 12 meses, 18 meses, y 4.5 años tras la PE.<sup>62,149-151</sup> Sin embargo, hay trabajos que describen una disminución significativa de los niveles de sFlt-1 a las 48h postparto, y no han encontrado diferencias entre los grupos a las 12 semanas, ni a los 6 – 24 meses postparto.<sup>152-154</sup> Noori y cols.<sup>153</sup> observaron niveles más elevados de PlGF a las 12 semanas postparto, mientras que Escouto y cols.<sup>155</sup> observaron niveles de PlGF comparables entre casos y controles a las 6 semanas postparto en una cohorte más grande de 288 casos. Sólo hay publicados dos estudios que hayan evaluado los niveles de sFlt-1 y PlGF 10 años después de la PE, con resultados similares a nuestro trabajo, sin detectar diferencias entre el grupo que tuvo PE y el que tuvo una gestación no complicada. Por otro lado, aunque el VCAM-1 aumente durante la PE, los trabajos que han evaluado los niveles hasta 20 años después de la gestación tampoco han encontrado diferencias entre los grupos.<sup>62,156,157</sup> Por consiguiente, unos niveles alterados

de PIGF, sFlt-1 y VCAM-1 durante el embarazo y los primeros años postparto pueden predisponer a la lesión endotelial y al aumento de riesgo CV de las mujeres con PE.

Varios estudios han reportado un aumento del GIMc tras el parto de gestantes con PE, con resultados similares a los obtenidos en nuestro primer estudio.<sup>85</sup> Un meta-análisis reciente que incluyó 813 mujeres con historia de PE al menos 10 años antes, demostró mayor GIMc en el grupo PE comparado con el grupo control [0.18mm (95% CI, 0.05-0.30mm; p=0.004)].<sup>158</sup> Sin embargo, la relación causal no está bien establecida ya que no se sabe si estas mujeres tenían mayor GIMc antes de la gestación, y tampoco queda claro durante cuánto tiempo persistirá la disfunción endotelial después de la PE. En pacientes hipertensos no gestantes niveles elevados de sFlt-1 se asocian con el GIMc y la progresión de la aterosclerosis.<sup>88</sup> En gestantes con PE también se ha descrito una correlación positiva entre el sFlt-1 y el ratio sFlt-1/PIGF con el GIMc, que se mantuvo un año después de la gestación.<sup>151</sup> En el primer estudio de esta tesis se describe por primera vez una asociación entre el sFlt-1 y el PIGF en la PE y el GIMc a largo plazo, sugiriendo que el deterioro de la función endotelial causado por el entorno antiangiogénico durante el embarazo y el periodo posterior podría potenciar el envejecimiento arterial y la progresión a aterosclerosis.

### **NT-proBNP y riesgo cardiovascular**

En nuestro segundo estudio, y acorde con lo publicado en la literatura, los niveles de NT-proBNP fueron superiores en las mujeres con PE,<sup>159</sup> siendo las formas más graves y precoces las que presentaron los niveles más elevados.<sup>160,161</sup> Nguyen TX y cols.<sup>162</sup> reportaron una concentración media de NT-proBNP de  $349.1 \pm 93.5$  pg/mL en gestantes con PE sin criterios de gravedad, y de  $725.3 \pm 290.5$  pg/mL en las gestantes con PE y

criterios de gravedad.<sup>162</sup> Sin embargo, en nuestra cohorte los niveles de NT-proBNP fueron incluso superiores (en los casos más graves la media fue de  $885.5 \pm 2391.5$  pg/mL). También se ha descrito un aumento del NT-proBNP en las mujeres con hipertensión crónica y con hipertensión gestacional,<sup>163</sup> aunque no tanto como en la PE.<sup>162,164,165</sup> Por eso la hipertensión crónica es un parámetro que se tuvo en cuenta al diseñar el MML y ya se realizaron los ajustes necesarios en el modelo.<sup>113,166,167</sup> Las gestantes con hipertensión crónica y PE sobreañadida presentan un aumento del NT-proBNP pero no tanto del ratio sFlt-1/PlGF, y probablemente esto sea porque el daño endotelial preexistente reduce el umbral de disfunción placentaria necesario para desarrollar PE. Por lo tanto, el NT-proBNP se postula como un marcador prometedor para el diagnóstico y seguimiento de estos casos.<sup>168</sup>

El mecanismo fisiopatológico del aumento del NT-proBNP en la PE no está bien establecido. Junus y cols.<sup>169</sup> describieron producción placentaria de PNs sugiriendo la posible relación con los factores angiogénicos en respuesta a la hipoxia placentaria. Otros autores consideran que la producción aumentada de marcadores de daño cardíaco es consecuencia del remodelado miocárdico en la PE, sobre todo hipertrofia ventricular, lo que refleja estrés ventricular y se asocia a un compromiso subclínico de la función cardíaca.<sup>167,170</sup> Se ha descrito que las gestantes con cardiopatías presentan concentraciones superiores de NT-proBNP que las mujeres no gestantes con cardiopatías,<sup>171</sup> lo que puede indicar una adaptación incompleta a la carga hemodinámica del embarazo.

Existe asociación entre los PNs y algunos parámetros ecocardiográficos de las gestantes con PE. Respecto al estudio del corazón izquierdo, el NT-proBNP se ha asociado con aumento de la masa ventricular,<sup>117</sup> aumento de volumen del final de la sístole y de la diástole, y disminución de la FEVI.<sup>72,112</sup> También se ha encontrado una asociación entre



el NT-proBNP y el índice de resistencia vascular sistémica.<sup>170</sup> García-Iglesias y cols.<sup>172</sup> observaron una correlación inversamente proporcional entre los niveles de NT-proBNP y el *strain* de la aurícula izquierda en las gestantes con PE. Speksnijder y cols.<sup>173</sup> encontraron asociación entre los niveles de BNP con las presiones pulmonares diastólicas y la presión de enclavamiento capilar pulmonar en las gestantes con PE.

Los niveles de NT-proBNP se normalizan después del parto, también en gestantes con PE sin cardiopatías clínicas asociadas.<sup>172</sup> No obstante, pueden persistir elevados incluso durante 6 meses.<sup>164,174,175</sup> En el primer estudio vimos que las mujeres con antecedente de PE presentaron niveles de NT-proBNP dentro de la normalidad ~ 12 años postparto, similar a los datos reportados en estudios previos.<sup>136,155,156</sup>

Muy pocos estudios han evaluado el NT-proBNP en el CIR. El CIR se asocia a remodelado cardíaco fetal anómalo<sup>176</sup> y, al igual que los fetos con cardiopatías congénitas, presentan niveles superiores de marcadores de daño cardíaco en sangre del cordón umbilical (NT-proBNP y troponina T).<sup>177</sup> Parece que las gestantes con CIR aislado tienen los mismos niveles de NT-proBNP que las gestantes sanas.<sup>178,179</sup> García-Iglesias y cols.<sup>172</sup> no encontraron diferencias en los niveles de NT-proBNP entre las gestantes con PE que asociaron CIR y las PE que no lo asociaron. Sin embargo, cuando el CIR se asocia a la PE las gestantes pueden presentar peor función CV, con mayor resistencia vascular periférica y peor gasto cardíaco, por lo que lo lógico sería pensar que los niveles de NT-proBNP deberían ser superiores cuando se asocian las dos entidades.<sup>143,146</sup> Giannubilo y cols.<sup>180</sup> describieron una correlación negativa entre el gasto cardíaco y el NT-proBNP solo cuando el CIR se asociaba a PE, indicando peor función CV en estos casos.

No hay estudios que hayan comunicado asociación entre niveles elevados de PN y progresión a eclampsia, y la literatura es muy escasa y limitada respecto al síndrome HELLP. En estudios con cohortes pequeñas se ha descrito que las gestantes con síndrome

HELLP presentan niveles más elevados de NT-proBNP que las gestantes con hipertensión gestacional,<sup>181</sup> y que tienen niveles similares a las gestantes con PE, como es lo esperable al tratarse de una forma grave de PE.<sup>173</sup>

### **Combinación de biomarcadores para la predicción de PE**

El ratio sFlt-1/PlGF es un buen predictor de disfunción placentaria pero no es específico de ninguna de sus formas, observándose valores similares en la PE y el CIR. Los valores del ratio sFlt-1/PlGF se alteran más de un mes antes de que aparezcan los primeros signos y síntomas clínicos detectables de insuficiencia placentaria:<sup>42</sup> descienden los niveles de PlGF, ascienden los de sFlt-1 y, como resultado, aumenta el ratio sFlt-1/PlGF. Su elevación es proporcional al grado de disfunción placentaria, siendo más acentuada en los casos más graves y precoces.<sup>182,183</sup>

Hasta el momento actual ningún otro biomarcador utilizado individualmente ha conseguido mejorar el valor predictivo del ratio sFlt-1/PlGF en una gestante con sospecha clínica de PE. Su sensibilidad y especificidad son elevadas (80 y 92%, respectivamente) y sus likelihood ratio positivo y negativo (10 y 0.2, respectivamente), cumpliendo con los requisitos de un test robusto.<sup>184</sup> Los resultados del ratio sFlt-1/PlGF han demostrado resultados superiores al uso individual de sFlt-1 y PlGF.<sup>168,185,186</sup> La capacidad de predicción de PE utilizando sólo el NT-proBNP en tercer trimestre es baja.<sup>46</sup> Un estudio retrospectivo comunicó que el NT-proBNP  $\geq$  219 ng/L tenía el mismo rendimiento que el ratio sFlt-1/PlGF  $\geq$  178 para predecir resultados adversos gestacionales  $<$ 34 semanas, con sensibilidad/especificidad de 94/76% y 95/84% respectivamente.<sup>113</sup> A pesar de que la hiperuricemia se asocia a PE grave y resultados obstétricos adversos,<sup>187,188</sup> así como a insuficiencia renal, fetos pequeños para la edad gestacional y parto pretérmino,<sup>189</sup> el ácido úrico es un mal predictor de PE ya que en muchos casos su elevación se produce después

del diagnóstico clínico o de la aparición de complicaciones asociadas.<sup>190</sup> Un estudio reciente ha descrito que el ácido úrico tiene una especificidad similar a la del ratio sFlt-1/PIGF para el diagnóstico de PE, aunque la sensibilidad es muy inferior.<sup>191</sup>

El estudio PROGNOSIS<sup>47</sup> fue un estudio prospectivo, multicéntrico, observacional que evaluó puntos de corte del ratio sFlt-1/PIGF en gestantes con sospecha clínica de PE entre la semana 24<sup>+0</sup> y 36<sup>+6</sup> (se incluyeron 500 pacientes en la cohorte de desarrollo y 550 pacientes en la cohorte de validación). Esta investigación fue muy importante porque determinó que en mujeres con sospecha clínica de PE un valor de ratio sFlt-1/PIGF  $\leq 38$  tenía un VPN muy elevado, siendo del 99.3% (95% CI, 97.9 to 99.9) en la siguiente semana, y del 97.9%, 95.7% y 94.3% en las siguientes 2, 3 y 4 semanas, respectivamente.<sup>192</sup> Es decir, una gestante con un ratio sFlt-1/PIGF  $\leq 38$  es altamente improbable que desarrolle una complicación relacionada con la insuficiencia placentaria en el siguiente mes. Lafuente-Ganuza y cols.<sup>193</sup> trabajaron con la combinación de factores angiogénicos y marcadores de daño cardíaco para descartar PE, aumentando el VPN al 95.9% (por ejemplo, en casos con ratio sFlt-1/PIGF  $< 23$  y NT-proBNP  $\leq 76$  pg/mL se descartaría PE durante las próximas 6 semanas). En nuestro segundo estudio confirmamos el buen rendimiento del modelo combinado que diseñó este grupo, siendo capaz de descartar PE  $< 37^{+0}$  semanas con un 93.7% de probabilidad, y  $< 34^{+0}$  semanas con un 96% de probabilidad. Aunque en nuestro estudio el VPN del ratio sFlt-1/PIGF para descartar PE pretérmino precoz en 1 semana fue discretamente inferior al reportado en el estudio PROGNOSIS, éste mejoró con el modelo combinado (del 96.5% al 97.6%).

A pesar de los buenos resultados del ratio sFlt-1/PIGF para el rule out de PE, los valores  $> 38$  tienen un bajo VPP: 16.7% (95% CI, 12.3-21.9) para la próxima semana, y del 36.7% (95% CI, 28.4 to 45.7%) para el próximo mes, con 66.2% de sensibilidad (95% CI, 54.0–77.0) y 83.1% de especificidad (95% CI, 79.4–86.3).<sup>47</sup> Sabemos que un ratio sFlt-1/PIGF

> 38 se asocia con menor duración de la gestación y menor latencia hasta el parto,<sup>194</sup> pero a menudo se requiere la hospitalización de las mujeres para hacer un seguimiento estricto porque no se sabe exactamente cuales desarrollarán un resultado gestacional adverso ni en qué momento. Desde el año 2016 guías como las del National Institute for Health and Care Excellence (NICE) ya recomiendan el uso del ratio sFlt-1/PlGF para descartar PE en gestantes con sospecha clínica entre la 20 y las 34<sup>+6</sup> semanas, pero no lo recomiendan para diagnosticarla o confirmarla.<sup>5,195</sup> El motivo por el que un estado antiangiogénico no siempre desarrolla PE aún no está claro, pero probablemente sea necesaria una predisposición materna sumado al daño endotelial grave y prolongado.

Se han publicado numerosos trabajos tratando de encontrar el valor de ratio sFlt-1/PlGF que asocie complicaciones. Un estudio multicéntrico de casos-controles (n=1149) describió unos puntos de corte para el diagnóstico de PE independientemente de la edad gestacional: para el diagnóstico de PE precoz la sensibilidad y especificidad del ratio sFlt-1/PlGF  $\geq 85$  fue de 88% y 99.5% respectivamente; y para la PE tardía la sensibilidad y especificidad del ratio sFlt-1/PlGF  $\geq 110$  fue de 58.2% y 95.5% respectivamente.<sup>196</sup> Por lo tanto, cuando se sobrepasan estos puntos de corte la probabilidad diagnóstica de PE es bastante alta, aunque hay un subgrupo de gestantes que no llegan a alcanzar estos puntos de corte, sobre todo en la PE tardía. En la PE tardía existe poca alteración del equilibrio angiogénico, ya que tiene menor componente de insuficiencia placentaria, y se ha relacionado más con factores de riesgo materno que predisponen al daño endotelial. Verlohren y cols.<sup>197</sup> describieron que cuando el ratio sFlt-1/PlGF  $> 655$ , en el 29% de los casos el embarazo duró más de 2 días, y en el 6% duró más de 7 días, aunque este punto de corte tiene un valor limitado para predecir resultados obstétricos adversos.<sup>198</sup> Así pues, todavía no se ha demostrado el beneficio de utilizar estos puntos de corte en la toma de decisiones clínicas,<sup>199</sup> y otro problema es que se delimitan unas zonas intermedias en el

que no queda claro el manejo a seguir. Hoffman y cols.<sup>200</sup> encontraron que las pacientes con ratio sFlt-1/PlGF intermedios frecuentemente presentaban patologías asociadas que, a su vez, representan factores de riesgo para desarrollar PE, como la diabetes o la obesidad.

En el embarazo no se conoce cuál es el punto de corte del NT-proBNP para diagnosticar ni clasificar la PE, ni tampoco para asociar complicaciones. La Sociedad Europea de Cardiología,<sup>201</sup> así como el documento de consenso de expertos en España,<sup>104</sup> establecen el BNP de 35pg/mL y de NT-proBNP de 125pg/mL como límites de normalidad. Por lo tanto, debido a su alto VPN, unos niveles de NT-proBNP < 125 pg/mL excluyen la presencia de insuficiencia cardíaca en no gestantes.<sup>201</sup> El estudio ZAHARA<sup>202</sup> evaluó el NT-proBNP como marcador predictivo de eventos CV durante el embarazo de mujeres con cardiopatías. Los autores determinaron que a las 20 semanas de gestación unos valores de NT-proBNP < 128 pg/mL tenían un VPN del 96.9%, y niveles > 128 pg/mL eran predictores independientes de eventos adversos CV. Otro estudio reportó que un NT-proBNP < 100pg/mL descartaba complicaciones cardíacas durante la gestación con VPN del 97%.<sup>113</sup> Zheng y cols.<sup>163</sup> concluyeron que 129.5 pg/mL fue el mejor punto de corte para diagnosticar PE (AUC 0.973; sensibilidad 84.7% y especificidad 97.7%). Por lo tanto, a modo general y con la evidencia disponible, se podría decir que con unos niveles de NT-proBNP > 128pg/mL sería prudente hacer un seguimiento estrecho de la gestante. Lafuente-Ganuzo y cols.<sup>193</sup> elaboraron un modelo predictivo de PE utilizando un set de puntos de corte del ratio sFlt-1/PlGF, el NT-proBNP y el ácido úrico, el que se ha estudiado en el segundo trabajo de esta tesis. Identificaron que cuando un valor de NT-proBNP > 174pg/mL y de ácido úrico > 5.6mg/dL se combinaban con un ratio sFlt-1/PlGF > 45, el VPP para el diagnóstico de PE precoz (24<sup>+0</sup> to 33<sup>+6</sup>) aumentaba al 86% (95% CI: 79.2-92.6) en cualquier momento de la gestación, con una sensibilidad del

72.5% (95% CI 70.5-81.8) y una especificidad del 97.7% (95% CI 96.7-98.5). A partir de estos valores, el cálculo de riesgo se realiza de forma continua, y el algoritmo informa tanto del riesgo de desarrollo de PE como sugiere el tiempo en que sería necesario volver a realizar nuevamente los marcadores si la sospecha de PE persiste clínicamente. No obstante, el ácido úrico les mostró bajo rendimiento al tener poco peso como predictor en comparación con los otros dos marcadores bioquímicos. En nuestra cohorte de estudio obtuvimos resultados similares a los previamente publicados:<sup>193</sup> el VPP del MML fue algo inferior al reportado en el estudio inicial para la PE pretérmino precoz, pero fue estadísticamente superior al obtenido con el ratio sFlt-1/PIGF solo [80.4% (95% CI 74.2-86.4) vs. 72,5% (95% CI 66.1-79.4)], mejorando la capacidad predictiva del mismo. Debido a la naturaleza retrospectiva del análisis, los datos no permitieron hacer el cálculo de predicción de PE para el próximo mes, pero sí nos permitió analizar los resultados a las 3 semanas. La precisión del modelo combinado superó la del ratio sFlt-1/PIGF, lo que podría mejorar las decisiones clínicas respecto a los periodos de monitorización de las pacientes.

Entre las 34<sup>+0</sup> y 36<sup>+6</sup> semanas todavía existe cierto interés en continuar con el embarazo para poder lograr mejores resultados perinatales, siempre que no aparezcan criterios de gravedad de la PE. En esta etapa, un valor de ratio sFlt-1/PIGF > 201 se considera muy elevado, y sólo el 17% de las pacientes continúan gestantes después de 2 días, y ninguna después de 7 días.<sup>203,204</sup> Para el diagnóstico de PE pretérmino tardía, el rendimiento del MLM no fue tan bueno como para la PE precoz, probablemente porque la disfunción ventricular es peor en las formas más precoces y graves de la PE;<sup>205</sup> no obstante, la predicción con el modelo combinado también fue mejor que con el ratio sFlt-1/PIGF solo.

Las gestantes con PE y CIR asociado tienen perfiles angiogénicos similares y comparten la misma fisiopatología.<sup>206</sup> Añadir el NT-proBNP y el ácido úrico como marcadores ha demostrado reducir la tasa de falsos positivos de PE, por lo que un ratio sFlt-1/PIGF elevado con valores bajos de NT-proBNP y/o ácido úrico nos puede ayudar a diferenciar aquellas gestantes con CIR que no asociaran una PE. Además se ha reportado que el NT-proBNP se eleva las dos semanas previas al parto por PE pero no en el CIR aislado.<sup>168</sup> En los estudios de coste-efectividad realizados, el ratio sFlt-1/PIGF resulta una herramienta de diagnóstico costo-efectiva en las gestantes con sospecha clínica ya que ha demostrado reducir el número de hospitalizaciones innecesarias debido a su alto VPN.<sup>48,207</sup> El NT-proBNP y el ácido úrico son marcadores económicos y accesibles en la mayoría de centros por lo que, a pesar de no haber realizado estudios de coste-efectividad, la utilización de estos marcadores conjuntamente con el ratio sFlt-1/PIGF potenciaría la precisión clínica sin aumentar significativamente el coste de laboratorio, y seguramente se traduciría en un ahorro global de costes al reducir los ingresos hospitalarios. En el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau el precio del reactivo y procesamiento técnico del ratio sFlt-1/PIGF es de 85€, el del NT-proBNP de 27.04€ y el del ácido úrico de 2.19€.

### **6.1 Fortalezas y limitaciones del proyecto**

En la literatura existe mucha heterogeneidad en la definición y clasificación de la enfermedad hipertensiva, y una fortaleza de este proyecto es que la cohorte de pacientes está bien definida. En nuestros trabajos se han utilizado los mismos criterios diagnósticos de PE, y se ha realizado un seguimiento estandarizado en la Unidad de Alto Riesgo Obstétrico por el mismo equipo de especialistas. Otro punto fuerte es que las determinaciones durante la gestación (marcadores bioquímicos, evaluación ecográfica, datos del parto) se estudiaron de forma prospectiva y con procedimientos bien estandarizados, ya que todas estas pacientes participaban en ensayos clínicos liderados

por nuestro equipo. Esto ha favorecido el reclutamiento y ha permitido, para el primer estudio, poder realizar un seguimiento prospectivo años después del embarazo y correlacionar por primera vez el sFlt-1 y el PIGF de la gestación con el riesgo CV futuro. Otra característica a destacar en ambos estudios, es la evaluación ciega de los investigadores, ya que ni los cardiólogos durante la realización del ecocardiograma para el primer estudio, ni el equipo que aplicó el MML para la validación externa del mismo en el segundo estudio, conocían el grupo de estudio al que pertenecían las pacientes, ni los resultados de la gestación.

Sin embargo, también hay que considerar algunas limitaciones en el proyecto. El primer estudio estaba previsto realizarse con el doble de pacientes, pero tras 12 años fue difícil contactar con la mayoría de mujeres o animarlas a colaborar (finalmente participó el 41.8% de las posibles candidatas). Es posible que las mujeres con antecedentes de PE más graves y las que tenían más motivos para ser examinadas o tranquilizadas sobre su salud CV (por ejemplo, antecedentes familiares de ECV grave, vida sedentaria, obesidad, tabaquismo, etc.) estuvieran más dispuestas a participar en el estudio, contribuyendo a un posible sesgo de selección, y aumentando las diferencias encontradas entre los grupos de estudio. No obstante, esto se aplica a todas las participantes, por lo que no debería afectar a la diferencia encontrada entre los grupos. El hecho de haber incluido un grupo control permitió tener un grupo en el que evaluar estos parámetros sin el sesgo anteriormente reportado.

Una limitación del segundo estudio es que el MML se comparó con el ratio de sFlt-1/PIGF exclusivamente para la predicción de PE, sin tener en cuenta otras complicaciones relacionadas con la insuficiencia placentaria. Este algoritmo se diseñó específicamente para la predicción de PE pretérmino, y nuestro estudio buscaba replicar los mismos resultados que la cohorte de desarrollo inicial para poder confirmar esta importante



contribución. Los resultados se analizaron en dos grupos con respecto a este resultado, y las gestantes que no desarrollaron PE se incluyeron en el grupo control. Otra limitación del segundo estudio es que no se consideraron variables que pueden modificar la concentración de PNs durante la gestación, como la obesidad (el incremento de IMC disminuye los niveles de NT-proBNP),<sup>208</sup> la enfermedad renal o la anemia severa (que podrían aumentar los niveles de NT-proBNP).<sup>209</sup> Estas comorbilidades podrían influir en la tasa de falsos positivos y negativos encontrados.

## 6.2 Implicaciones clínicas

Las mujeres que han tenido PE presentan más factores de riesgo CV y más comorbilidades que las mujeres con gestaciones normales, por lo que su riesgo de desarrollar ECV está aumentado.<sup>210</sup> De hecho, la American Stroke Association (ASA) y la European Society of Cardiology (ESC) ya consideran la PE como el factor de riesgo más importante en mujeres para desarrollar ECV.<sup>70</sup> Nuestro primer estudio tuvo un seguimiento a 12 años de una población relativamente joven (42 años) hallando tendencia al empeoramiento de la función CV en el grupo con PE y, si aumentáramos el periodo de seguimiento, es probable que la magnitud de los hallazgos también aumentara.<sup>134</sup> Los 10-15 años posteriores a la gestación es un periodo de tiempo en el que las mujeres acostumbran a estar asintomáticas y no suelen recibir atención médica, pero sabemos que ya tienen indicios de lesión CV subclínica. Las guías NICE<sup>125</sup> y las del AHA<sup>70</sup> recomiendan realizar estrategias preventivas de ECV tras la PE; no obstante, aún no se ha diseñado ningún modelo predictivo exclusivo para mujeres,<sup>211</sup> ni existe consenso sobre cómo realizar el seguimiento, aunque la evidencia más reciente recomienda iniciar controles a partir de la cuarta década.<sup>212,213</sup> Dado que hay un porcentaje elevado de población que desarrolla PE durante la gestación, habría que mejorar la identificación de aquellas mujeres con mayor riesgo de ECV. Los resultados de nuestro primer estudio

sugieren que el seguimiento podría decidirse en función de la gravedad de la PE y/o de la alteración de los factores angiogénicos durante la gestación, los cuales pueden contribuir a identificar aquellas mujeres con mayor riesgo de desarrollar complicaciones CV en el futuro. A estas mujeres habría que ofrecerles, ya desde el postparto, una estrategia de reducción de riesgo multifactorial enfatizando en cambios del estilo de vida. Nuestros resultados también sugieren que para optimizar el manejo debería realizarse una evaluación CV más extensa durante el seguimiento, incluyendo analítica con perfil lipídico completo, ecocardiografía y valoración del GIMc para detectar aterosclerosis subclínica. La detección precoz y el manejo temprano de la ECV subclínica ofrece una ventana de oportunidad para reducir el riesgo CV asociado a la PE, especialmente en el intervalo entre la maternidad y la menopausia, cuando el riesgo incrementa por la pérdida de acción protectora de los estrógenos.

Durante el embarazo se podrían instaurar nuevas estrategias terapéuticas para mejorar el perfil angiogénico y reducir el impacto de la lesión CV. Las **estatinas** (y en particular la pravastatina) son medicamentos reductores de lípidos, que además tienen propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras, con efectos anticoagulantes y antioxidantes, que participan en la restauración de la función endotelial.<sup>214</sup> En estudios experimentales de animales con PE inducida, la pravastatina ha demostrado mejorar el perfil antiangiogénico, disminuyendo las concentraciones de sFlt-1 y aumentando las de PlGF, con mejoras clínicas y analíticas asociadas.<sup>215,216</sup> También se han realizado estudios en gestantes que apoyan el uso de pravastatina como tratamiento de formas tempranas y graves de PE.<sup>217</sup> Además, las estatinas tienen un papel estabilizador de la placa aterosclerótica, ya que pueden reducir el número de células inflamatorias y disminuir la expresión de moléculas como el ICAM-1 y el VCAM-1.<sup>218</sup> Por lo tanto, las estatinas podrían desempeñar un papel importante en la prevención de riesgo CV tanto para la

madre como para el feto por sus efectos capaces de revertir los mecanismos fisiopatológicos de la PE. Por otro lado, dos estudios piloto han sugerido que la **aféresis de dextrano** de sulfato en pacientes con PE pretérmino precoz podrían reducir los niveles circulantes de sFlt-1 y la proteinuria.<sup>219,220</sup> Estudios in vitro han descrito que los **inhibidores de la bomba de protones** disminuyen el sFlt-1 y la sEng, mejorando los marcadores de disfunción endotelial,<sup>221</sup> y parece que la combinación con **metformina** tiene un efecto aditivo potenciando la reducción de secreción y expresión del sFlt-1 en células placentarias y endoteliales.<sup>222,223</sup>

Añadir un marcador cardíaco a los factores angiogénicos permite conocer el estatus CV además del placentario, por lo que el NT-proBNP puede ayudar a detectar de forma precoz un compromiso CV subyacente. Esto cada vez es más relevante debido al aumento de gestantes con edad materna avanzada y comorbilidades. Una vez detectados cambios subclínicos de la función cardíaca, se podría plantear algún tratamiento para mejorar su salud CV, como una terapia con betabloqueantes selectivos (ya que en pacientes que reciben quimioterapia cardiotoxica la administración de betabloqueantes revierte el empeoramiento del SLG).<sup>224</sup>

El MML estudiado es una herramienta objetiva que permite realizar un mejor manejo de la gestante con signos y/o síntomas de PE, ya que mejora la precisión clínica y minimiza errores. Sabemos que en una gestante con sospecha clínica de PE y un ratio sFlt-1/PIGF  $\leq 38$  es altamente improbable que desarrolle PE o una complicación relacionada con la insuficiencia placentaria durante la próxima semana, incluso durante el próximo mes. Sin embargo, cuando el ratio sFlt-1/PIGF  $> 38$  las otras variables ayudan a cuantificar el riesgo, y el modelo asigna un riesgo concreto para la gestante. Por ejemplo, en una gestante de 28<sup>+0</sup> semanas sin hipertensión crónica, con un ratio sFlt-1/PIGF de 45, NT-proBNP de 70pg/mL y ácido úrico de 4mg/dL, el riesgo que tendría de desarrollar PE

pretérmino precoz sería muy bajo, por lo que se podría realizar un seguimiento ambulatorio incluso a las 6 semanas. Sin embargo, si esta gestante presentase ese mismo valor de ratio sFlt-1/PlGF pero con un nivel superior de NT-proBNP (200pg/mL) y de ácido úrico (5mg/dL), el algoritmo estimaría que el riesgo de PE pretérmino precoz sería moderado-alto; y si el NT-proBNP fuese de 300pg/mL y el ácido úrico de 6mg/dl, el riesgo sería alto, por lo que se recomendaría hospitalización y vigilancia estrecha.

**Tabla 10.** Ejemplo de aplicación del MML en la práctica clínica.

Aplicación del modelo	
Fecha de la extracción	25/4/2020
Semanas de gestación	28 <sup>+0</sup>
Hipertensión crónica	no
Ratio sFlt-1/PlGF	45
NT-proBNP (pg/mL)	70
Ácido úrico (mg/dL)	4
Riesgo de preeclampsia	<i>Muy bajo riesgo (VPP=3%)</i>
Recomendación	Se recomienda nueva valoración a las 34 <sup>+0</sup> semanas si la gestante continua con signos y/o síntomas de preeclampsia

Aplicación del modelo	
Fecha de la extracción	25/4/2020
Semanas de gestación	28 <sup>+0</sup>
Hipertensión crónica	no
Ratio sFlt-1/PlGF	45
NT-proBNP (pg/mL)	200
Ácido úrico (mg/dL)	5
Riesgo de preeclampsia	<i>Riesgo moderado-alto (VPP=51%)</i>
Recomendación	Se recomienda nueva valoración en 1-2 semanas si la gestante continua con signos y/o síntomas de preeclampsia

Aplicación del modelo	
Fecha de la extracción	25/4/2020
Semanas de gestación	28 <sup>+0</sup>
Hipertensión crónica	no
Ratio sFlt-1/PIGF	45
NT-proBNP (pg/mL)	300
Ácido úrico (mg/dL)	6
Riesgo de preeclampsia	<i>Riesgo alto (VPP=85%)</i>
Recomendación	Se recomienda nueva valoración en 24-48 horas si la gestante continua con signos y/o síntomas de preeclampsia

Por otro lado, el ratio sFlt-1/PIGF se eleva en situaciones graves de insuficiencia placentaria y también cuanto más se acerca la necesidad de finalizar la gestación por un acontecimiento adverso. Sin embargo, es inespecífico de la situación que puede acontecer. Es decir, un valor extremadamente alto nos advierte que debemos estar en guardia ante una complicación pero puede tratarse de un desprendimiento de placenta, un síndrome HELLP, una eclampsia, un edema agudo de pulmón o un deterioro del bienestar fetal. Conocer el valor de NT-proBNP nos podría ayudar a orientar mejor si esta gestante hará una complicación materna o fetal.



# CONCLUSIONES



## 7. CONCLUSIONES

1. Existe una asociación entre el desequilibrio de los factores angiogénicos durante la PE y la enfermedad cardiovascular. La evaluación de ambas vías fisiopatológicas, ya sea para predecir PE durante la gestación o bien para identificar aquellas mujeres con mayor riesgo CV a largo plazo, parece potenciar la capacidad predictiva y diagnóstica.
2. Las mujeres con antecedente de PE presentan cifras tensionales más elevadas, peor perfil lipídico, peor función cardíaca y mayor grosor del GIMc ~12 años después de la gestación.
3. El desequilibrio de los factores angiogénicos durante la PE se asocia a mayor riesgo CV a largo plazo: el aumento del sFlt-1 y la disminución del PlGF se asocia a peor perfil lipídico, peor función miocárdica y aumento del GIMc.
4. El estudio de los factores angiogénicos durante la gestación puede ayudar a identificar mejor aquellas mujeres con mayor riesgo CV tras la insuficiencia placentaria, abriendo una ventana de oportunidad a intervenciones preventivas.
5. La adición del NT-proBNP y el ácido úrico al ratio sFlt-1/PlGF mejora la predicción de PE pretérmino en gestantes con sospecha clínica de la enfermedad, optimizando el manejo durante la gestación y evitando intervenciones innecesarias.







# **FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN**



## 8. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Dado que el diseño del primer estudio no permite describir causalidad entre los factores angiogénicos durante el embarazo y las alteraciones CV tras la PE, se necesitan más estudios para comprender mejor la interacción entre los factores angiogénicos, el sistema CV materno y la disfunción endotelial a largo plazo. Sería interesante verificar causalidad en un modelo animal, estableciendo además grupos experimentales en el postparto para evaluar si ciertas intervenciones consiguen reducir el riesgo CV tras la PE: dieta y ejercicio, administración de ácido acetilsalicílico, estatinas, etc. El uso de un modelo animal nos permitiría reducir los tiempos de estudio, controlar la exposición ambiental, y obtener muestras de tejidos de los órganos diana de la ECV. Por otro lado, disponemos de los niveles de sFlt-1, PlGF, NT-proBNP, ácido úrico y otros biomarcadores de las gestantes del segundo estudio, por lo que tenemos previsto realizar un seguimiento de esta cohorte para ofrecerles un asesoramiento CV en el futuro y poder buscar asociaciones con los biomarcadores durante el embarazo.

Hemos confirmado con una cohorte retrospectiva que el MML publicado mejora el rendimiento del ratio sFlt-1/PlGF para la predicción de PE, pero no sabemos si su aplicación clínica también presenta ventajas en la predicción de otras complicaciones gestacionales relacionadas con la insuficiencia placentaria, ya que el modelo no fue diseñado con esta finalidad. Para este propósito estamos planeando realizar otros estudios con mayor tamaño muestral que incluyan todas las posibles complicaciones de la insuficiencia placentaria.

Además, el ratio sFlt-1/PlGF y el NT-proBNP podrían ser marcadores útiles en ensayos clínicos para evaluar el efecto de algunos prometedores tratamientos de la PE como, por ejemplo, la pravastatina, la metformina o el esomeprazol.





# **BIBLIOGRAFÍA**



## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Brown MA, Magee LA, Kenny LC, Karumanchi SA, McCarthy FP, Saito S, Hall DR, Warren CE, Adoyi G, Ishaku S. Hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis, and management recommendations for international practice. *Hypertension*. 2018;72(1):24-43. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10803
2. American College of Obstetricians, 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*. 2013;122(5):1122-1131. doi:10.1097/01.AOG.0000437382.03963.88
3. Figueras F, Meler E, Iraola A, Eixarch E, Coll O, Figueras J, Francis A, Gratacos E, Gardosi J. Customized birthweight standards for a Spanish population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008;136(1):20-24. doi:10.1016/j.ejogrb.2006.12.015
4. Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, Papageorgiou A, Baschat AA, Baker PN, Silver RM, Wynia K, Ganzevoort W. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;48(3):333-339. doi:10.1002/uog.15884
5. (SEGO) G de trabajo de la SE de G y O. Tratornos hipertensivos en la gestación. Guía de Asistencia Práctica actualizada en febrero de 2020 Índice. *SEGO, Guía Asist Práctica, Med Perinat*. Published online 2020:1-44. www.prosego.com
6. Saudan P, Brown MA, Buddle ML, Jones M. Does gestational hypertension become pre-eclampsia? *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 1998;105(11):1177-1184. doi:10.1111/j.1471-0528.1998.tb09971.x
7. 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 pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008;31(3):303-309. doi:10.1002/uog.5184
8. Tranquilli AL, Brown MA, Zeeman GG, Dekker G, Sibai BM. The definition of severe and early-onset preeclampsia. Statements from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Pregnancy Hypertens An Int J Women's Cardiovasc Heal*. 2013;3(1):44-47. doi:10.1016/j.preghy.2012.11.001
9. Umesawa M, Kobashi G. Epidemiology of hypertensive disorders in pregnancy: Prevalence, risk factors, predictors and prognosis. *Hypertens Res*. 2017;40(3):213-220. doi:10.1038/hr.2016.126
10. Abalos E, Cuesta C, Grosso AL, Chou D, Say L. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013;170(1):1-7. doi:10.1016/J.EJOGRB.2013.05.005
11. Say L, Chou D, Gemmill A, Tunçalp Ö, Moller AB, Daniels J, Gülmezoglu AM, Temmerman M, Alkema L. Global causes of maternal death: A WHO systematic analysis. *Lancet Glob Heal*. 2014;2(6). doi:10.1016/S2214-109X(14)70227-X



12. Vogel JP, Souza JP, Mori R, Morisaki N, Lumbiganon P, Laopaiboon M, Ortiz-Panozo E, Hernandez B, Pérez-Cuevas R, Roy M, Mittal S, Cecatti JG, Tunçalp Ö, Gülmezoglu AM, WHO Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health Research Network. Maternal complications and perinatal mortality: findings of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG*. 2014;121 Suppl 1:76-88. doi:10.1111/1471-0528.12633
13. Tucker MJ, Berg CJ, Callaghan WM, Hsia J. The Black-White disparity in pregnancy-related mortality from 5 conditions: differences in prevalence and case-fatality rates. *Am J Public Health*. 2007;97(2):247-251. doi:10.2105/AJPH.2005.072975
14. Poon LC, Rolnik DL, Tan MY, Delgado JL, Tsokaki T, Akolekar R, Singh M, Andrade W, Efeturk T, Jani JC, Plasencia W, Papaioannou G, Blazquez AR, Carbone IF, Wright D, Nicolaides KH. ASPRE trial: incidence of preterm pre-eclampsia in patients fulfilling ACOG and NICE criteria according to risk by FMF algorithm. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018;51(6):738-742. doi:10.1002/uog.19019
15. Bokslag A, van Weissenbruch M, Mol BW, de Groot CJM. Preeclampsia; short and long-term consequences for mother and neonate. *Early Hum Dev*. 2016;102:47-50. doi:10.1016/j.earlhumdev.2016.09.007
16. Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. *Semin Perinatol*. 2012;36(1):56-59. doi:10.1053/j.semperi.2011.09.011
17. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: Current concepts. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;179(5):1359-1375. doi:10.1016/S0002-9378(98)70160-7
18. Lisonkova S, Joseph KS. Incidence of preeclampsia: Risk factors and outcomes associated with early-versus late-onset disease. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;209(6):544.e1-544.e12. doi:10.1016/j.ajog.2013.08.019
19. Lisonkova S, Bone JN, Muraca GM, Razaz N, Wang LQ, Sabr Y, Boutin A, Mayer C, Joseph KS. Incidence and risk factors for severe preeclampsia, hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count syndrome, and eclampsia at preterm and term gestation: a population-based study. *Am J Obstet Gynecol*. 2021;225(5):538.e1-538.e19. doi:10.1016/j.ajog.2021.04.261
20. Redman CWG, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180(2 I):499-506. doi:10.1016/S0002-9378(99)70239-5
21. Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: The role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation*. 2011;123(24):2856-2869. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.853127
22. Fisher SJ. Why is placentation abnormal in preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol*. 2015;213(4):S115-S122. doi:10.1016/j.ajog.2015.08.042
23. Acar N, Ustunel I, Demir R. Uterine natural killer (uNK) cells and their missions during pregnancy: A review. *Acta Histochem*. 2011;113(2):82-91. doi:10.1016/j.acthis.2009.12.001

24. Bachmayer N, Rafik Hamad R, Liszka L, Bremme K, Sverremark-Ekström E. Aberrant uterine natural killer (NK)-cell expression and altered placental and serum levels of the NK-cell promoting cytokine interleukin-12 in pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2006;56(5-6):292-301. doi:10.1111/j.1600-0897.2006.00429.x
25. Wallace AE, Host AJ, Whitley GS, Cartwright JE. Decidual natural killer cell interactions with trophoblasts are impaired in pregnancies at increased risk of preeclampsia. *Am J Pathol*. 2013;183(6):1853-1861. doi:10.1016/j.ajpath.2013.08.023
26. Perez-Sepulveda A, Torres MJ, Khoury M, Illanes SE. Innate immune system and preeclampsia. *Front Immunol*. 2014;5(MAY):244. doi:10.3389/fimmu.2014.00244
27. Hiby SE, Apps R, Sharkey AM, Farrell LE, Gardner L, Mulder A, Claas FH, Walker JJ, Redman CC, Morgan L, Tower C, Regan L, Moore GE, Carrington M, Moffett A. Maternal activating KIRs protect against human reproductive failure mediated by fetal HLA-C2. *J Clin Invest*. 2010;120(11):4102-4110. doi:10.1172/JCI43998
28. Xia Y, Kellems RE. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies and hypertension : Preeclampsia and beyond. *Circ Res*. 2013;113(1):78-87. doi:10.1161/CIRCRESAHA.113.300752
29. Walter IJ, Klein Haneveld MJ, Lely AT, Bloemenkamp KWM, Limper M, Kooiman J. Pregnancy outcome predictors in antiphospholipid syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev*. 2021;20(10). doi:10.1016/J.AUTREV.2021.102901
30. Alijotas-Reig J, Esteve-Valverde E, Anunciación-Llunell A, Marques-Soares J, Pardos-Gea J, Miró-Mur F. Pathogenesis, Diagnosis and Management of Obstetric Antiphospholipid Syndrome: A Comprehensive Review. *J Clin Med*. 2022;11(3). doi:10.3390/jcm11030675
31. Triche EW, Uzun A, Dewan AT, Kurihara I, Liu J, Occhiogrosso R, Shen B, Parker J, Padbury JF. Bioinformatic approach to the genetics of preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2014;123(6):1155-1161. doi:10.1097/AOG.0000000000000293
32. van Dijk M, Oudejans CBM. STOX1: Key player in trophoblast dysfunction underlying early onset preeclampsia with growth retardation. *J Pregnancy*. 2011;2011:521826. doi:10.1155/2011/521826
33. Belo L, Gaffney D, Caslake M, Santos-Silva A, Pereira-Leite L, Quintanilha A, Rebelo I. Apolipoprotein e and cholesteryl ester transfer protein polymorphisms in normal and preeclamptic pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004;112(1):9-15. doi:10.1016/S0301-2115(03)00240-9
34. Sun W, Cui B, Hong F, Xu Y. Establishment of ApoE-knockout mouse model of preeclampsia and relevant mechanisms. *Exp Ther Med*. 2016;12(4):2634-2638. doi:10.3892/etm.2016.3678
35. MiHu D, Razvan C, Malutan A, Mihaela C. Evaluation of maternal systemic inflammatory response in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2015;54(2):160-166. doi:10.1016/j.tjog.2014.03.006

36. Ahmed A, Rezai H, Broadway-Stringer S. Evidence-based revised view of the pathophysiology of preeclampsia. *Adv Exp Med Biol.* 2017;956:355-374. doi:10.1007/5584\_2016\_168
37. Staff AC, Dechend R, Pijnenborg R. Learning from the placenta: Acute atherosclerosis and vascular remodeling in preeclampsia-novel aspects for atherosclerosis and future cardiovascular health. *Hypertension.* 2010;56(6):1026-1034. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.157743
38. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003;111(5):649-658. doi:10.1172/JCI17189
39. Bergmann A, Ahmad S, Cudmore M, Gruber AD, Wittschen P, Lindenmaier W, Christofori G, Gross V, Gonzalves AC da C, Gröne HJ, Ahmed A, Weich HA. Reduction of circulating soluble Flt-1 alleviates preeclampsia-like symptoms in a mouse model. *J Cell Mol Med.* 2010;14(6 B):1857-1867. doi:10.1111/j.1582-4934.2009.00820.x
40. Karumanchi SA, Maynard SE, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP. Preeclampsia: a renal perspective. *Kidney Int.* 2005;67(6):2101-2113. doi:10.1111/J.1523-1755.2005.00316.X
41. Patten IS, Rana S, Shahul S, Rowe GC, Jang C, Liu L, Hacker MR, Rhee JS, Mitchell J, Mahmood F, Hess P, Farrell C, Koullis N, Khankin E V, Burke SD, Tudorache I, Bauersachs J, del Monte F, Hilfiker-Kleiner D, Karumanchi SA, Arany Z. Cardiac angiogenic imbalance leads to peripartum cardiomyopathy. *Nature.* 2012;485(7398):333-338. doi:10.1038/nature11040
42. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med.* 2004;350(7):672-683. doi:10.1056/NEJMoa031884
43. Chaiworapongsa T, Romero R, Kim YM, Kim GJ, Kim MR, Espinoza J, Bujold E, Gonçalves L, Gomez R, Edwin S, Mazor M. Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 concentration is elevated prior to the clinical diagnosis of pre-eclampsia. *J Matern Neonatal Med.* 2005;17(1):3-18. doi:10.1080/14767050400028816
44. M. Reslan O, A. Khalil R. Molecular and Vascular Targets in the Pathogenesis and Management of the Hypertension Associated with Preeclampsia. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2010;8(4):204-226. doi:10.2174/187152510792481234
45. Zhang J, Klebanoff MA, Roberts JM. Prediction of adverse outcomes by common definitions of hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2001;97(2):261-267. doi:10.1016/S0029-7844(00)01125-X
46. Verlohren S, Perschel FH, Thilaganathan B, Dröge LA, Henrich W, Busjahn A, Khalil A. Angiogenic Markers and Cardiovascular Indices in the Prediction of Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).*

- 2017;69(6):1192-1197. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09256
47. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M, Olovsson M, Brennecke SP, Stepan H, Allegranza D, Dilba P, Schoedl M, Hund M, Verlohren S. Predictive Value of the sFlt-1:PIGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med*. 2016;374(1):13-22. doi:10.1056/NEJMoa1414838
  48. Vatish M, Strunz-McKendry T, Hund M, Allegranza D, Wolf C, Smare C. sFlt-1/PIGF ratio test for pre-eclampsia: an economic assessment for the UK. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;48(6):765-771. doi:10.1002/uog.15997
  49. Herraiz I, Llurba E, Verlohren S, Galindo A, Bartha JL, De La Calle M, Delgado JL, De Paco C, Escudero AI, Moreno F, Garcia-Hernandez JA, Romero-Requejo A, Marcos-Puig B, Perales A, Mendoza M. 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(2):81-89. doi:10.1159/000477903
  50. Stepan H, Herraiz I, Schlembach D, Verlohren S, Brennecke S, Chantraine F, Klein E, Lapaire O, Llurba E, Ramoni A, Vatish M, Wertaschnigg D, Galindo A. 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(3):241-246. doi:10.1002/uog.14799
  51. Ukah UV, Payne B, Hutcheon JA, Ansermino JM, Ganzevoort W, Thangaratinam S, Magee LA, Von Dadelszen P. Assessment of the fullPIERS Risk Prediction Model in Women With Early-Onset Preeclampsia. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 2018;71(4):659-665. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10318
  52. Poon LC, Shennan A, Hyett JA, Kapur A, Hadar E, Divakar H, McAuliffe F, da Silva Costa F, von Dadelszen P, McIntyre HD, Kihara AB, Di Renzo GC, Romero R, D'Alton M, Berghella V, Nicolaides KH, Hod M. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: A pragmatic guide for first-trimester screening and prevention. *Int J Gynaecol Obstet*. 2019;145 Suppl 1(Suppl 1):1-33. doi:10.1002/IJGO.12802
  53. Akolekar R, Syngelaki A, Poon L, Wright D, Nicolaides KH. Competing risks model in early screening for preeclampsia by biophysical and biochemical markers. *Fetal Diagn Ther*. 2013;33(1):8-15. doi:10.1159/000341264
  54. Jhee JH, Lee S, Park Y, Lee SE, Kim YA, Kang SW, Kwon JY, Park JT. Prediction model development of late-onset preeclampsia using machine learning-based methods. *PLoS One*. 2019;14(8). doi:10.1371/journal.pone.0221202
  55. Hackelöer M, Schmidt L, Verlohren S. New advances in prediction and surveillance of preeclampsia: role of machine learning approaches and remote monitoring. *Arch Gynecol Obstet*. Published online 2022. doi:10.1007/s00404-022-06864-y
  56. Beam AL, Kohane IS. Big data and machine learning in health care. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2018;319(13):1317-1318. doi:10.1001/jama.2017.18391
  57. Melchiorre K, Sharma R, Thilaganathan B. Cardiovascular implications in

- preeclampsia: An overview. *Circulation*. 2014;130(8):703-714.  
doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.003664
58. Castleman JS, Ganapathy R, Taki F, Lip GYH, Steeds RP, Kotecha D. Echocardiographic Structure and Function in Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2016;9(9).  
doi:10.1161/CIRCIMAGING.116.004888
  59. Easterling TR, Benedetti TJ, Schmucker BC, Millard SP. Maternal hemodynamics in normal and preeclamptic pregnancies: A longitudinal study. *Obstet Gynecol*. 1990;76(6):1061-1069.
  60. Tomsin K, Mesens T, Molenberghs G, Peeters L, Gyselaers W. Characteristics of heart, arteries, and veins in low and high cardiac output preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013;169(2):218-222.  
doi:10.1016/j.ejogrb.2013.03.016
  61. Behrens I, Basit S, Lykke JA, Ranthe MF, Wohlfahrt J, Bundgaard H, Melbye M, Boyd HA. Association between hypertensive disorders of pregnancy and later risk of cardiomyopathy. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2016;315(10):1026-1033.  
doi:10.1001/jama.2016.1869
  62. Sandvik MK, Leirgul E, Nygård O, Ueland PM, Berg A, Svarstad E, Vikse BE. Preeclampsia in healthy women and endothelial dysfunction 10 years later. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;209(6):569.e1-569.e10. doi:10.1016/j.ajog.2013.07.024
  63. Shahul S, Rhee J, Hacker MR, Gulati G, Mitchell JD, Hess P, Mahmood F, Arany Z, Rana S, Talmor D. Subclinical left ventricular dysfunction in preeclamptic women with preserved left ventricular ejection fraction: a 2D speckle-tracking imaging study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012;5(6):734-739.  
doi:10.1161/CIRCIMAGING.112.973818
  64. Gorcsan J, Tanaka H. Echocardiographic Assessment of Myocardial Strain. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58(14):1401-1413. doi:10.1016/j.jacc.2011.06.038
  65. Stanton T, Leano R, Marwick TH. Prediction of all-cause mortality from global longitudinal speckle strain: comparison with ejection fraction and wall motion scoring. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2009;2(5):356-364.  
doi:10.1161/CIRCIMAGING.109.862334
  66. Cimino S, Canali E, Petronilli V, Cicogna F, De Luca L, Francone M, Sardella G, Iacoboni C, Agati L. Global and regional longitudinal strain assessed by two-dimensional speckle tracking echocardiography identifies early myocardial dysfunction and transmural extent of myocardial scar in patients with acute ST elevation myocardial infarction and relatively preserved LV function. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2013;14(8):805-811. doi:10.1093/ehjci/jes295
  67. Yingchoncharoen T, Agarwal S, Popović ZB, Marwick TH. Normal ranges of left ventricular strain: A meta-analysis. *J Am Soc Echocardiogr*. 2013;26(2):185-191. doi:10.1016/j.echo.2012.10.008
  68. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, Foster E, Hlatky MA, Hodgson JMB, Kushner FG, Lauer MS, Shaw LJ, Smith SC, Taylor AJ, Weintraub WS, Wenger NK. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: executive summary: a

- report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2010;122(25):2748-2764. doi:10.1161/CIR.0B013E3182051BAB
69. Brandt Y, Ghossein-Doha C, Gerretsen SC, Spaanderman MEA, Kooi ME. Noninvasive Cardiac Imaging in Formerly Preeclamptic Women for Early Detection of Subclinical Myocardial Abnormalities: A 2022 Update. *Biomolecules*. 2022;12(3). doi:10.3390/biom12030415
  70. Mosca L, Benjamin EJ, Berra K, Bezanson JL, Dolor RJ, Lloyd-Jones DM, Newby LK, Piña IL, Roger VL, Shaw LJ, Zhao D, Beckie TM, Bushnell C, D'Armiento J, Kris-Etherton PM, Fang J, Ganiats TG, Gomes AS, Gracia CR, Haan CK, Jackson EA, Judelson DR, Kelepouris E, Lavie CJ, Moore A, Nussmeier NA, Ofili E, Oparil S, Ouyang P, Pinn VW, Sherif K, Smith SC, Sopko G, Chandra-Strobos N, Urbina EM, Vaccarino V, Wenger NK. Effectiveness-based guidelines for the prevention of cardiovascular disease in women-2011 update: A Guideline from the American Heart Association. *Circulation*. 2011;123(11):1243-1262. doi:10.1161/CIR.0b013e31820faaf8
  71. Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Chiuve SE, Cushman M, Muntner P, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2018;137(12):E67-E492. doi:10.1161/CIR.0000000000000558
  72. Naghavi M, Wang H, Lozano R, Davis A, Liang X, Zhou M, Vollset SE, Abbasoglu Ozgoren A, Temesgen AM, et al. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015;385(9963):117-171. doi:10.1016/S0140-6736(14)61682-2
  73. Wu P, Haththotuwa R, Kwok CS, Babu A, Kotronias RA, Rushton C, Zaman A, Fryer AA, Kadam U, Chew-Graham CA, Mamas MA. Preeclampsia and Future Cardiovascular Health. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2017;10(2). doi:10.1161/CIRCOUTCOMES.116.003497
  74. Bellamy L, Casas J-P, Hingorani AD, Williams DJ. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2007;335(7627):974. doi:10.1136/bmj.39335.385301.BE
  75. Leon LJ, McCarthy FP, Direk K, Gonzalez-Izquierdo A, Prieto-Merino D, Casas JP, Chappell L. Preeclampsia and Cardiovascular Disease in a Large UK Pregnancy Cohort of Linked Electronic Health Records: A CALIBER Study. *Circulation*. 2019;140(13):1050-1060. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038080
  76. McDonald SD, Malinowski A, Zhou Q, Yusuf S, Devereaux PJ. Cardiovascular sequelae of preeclampsia/eclampsia: A systematic review and meta-analyses. *Am Heart J*. 2008;156(5):918-930. doi:10.1016/j.ahj.2008.06.042
  77. Mongraw-Chaffin ML, Cirillo PM, Cohn BA. Preeclampsia and Cardiovascular Disease Death. *Hypertension*. 2010;56(1):166-171. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.150078
  78. Melchiorre K, Sutherland G, Sharma R, Nanni M, Thilaganathan B. Mid-

- gestational maternal cardiovascular profile in preterm and term pre-eclampsia: a prospective study. *BJOG*. 2013;120(4):496-504. doi:10.1111/1471-0528.12068
79. Brouwers L, van der Meiden-van Roest AJ, Savelkoul C, Vogelvang TE, Lely AT, Franx A, van Rijn BB. Recurrence of pre-eclampsia and the risk of future hypertension and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *BJOG*. 2018;125(13):1642-1654. doi:10.1111/1471-0528.15394
  80. Theilen LH, Meeks H, Fraser A, Esplin MS, Smith KR, Varner MW. Long-term mortality risk and life expectancy following recurrent hypertensive disease of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2018;219(1):107.e1-107.e6. doi:10.1016/j.ajog.2018.04.002
  81. Alsnes I V., Vatten LJ, Fraser A, Bjørngaard JH, Rich-Edwards J, Romundstad PR, Åsvold BO. Hypertension in Pregnancy and Offspring Cardiovascular Risk in Young Adulthood: Prospective and Sibling Studies in the HUNT Study (Nord-Trøndelag Health Study) in Norway. *Hypertension*. 2017;69(4):591-598. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08414
  82. Timpka S, Macdonald-Wallis C, Hughes AD, Chaturvedi N, Franks PW, Lawlor DA, Fraser A. Hypertensive Disorders of Pregnancy and Offspring Cardiac Structure and Function in Adolescence. *J Am Heart Assoc*. 2016;5(11). doi:10.1161/JAHA.116.003906
  83. Ahmed R, Dunford J, Mehran R, Robson S, Kunadian V. Pre-eclampsia and future cardiovascular risk among women: a review. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(18):1815-1822. doi:10.1016/j.jacc.2014.02.529
  84. Thilaganathan B, Kalafat E. Cardiovascular System in Preeclampsia and Beyond. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 2019;73(3):522-531. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11191
  85. Milic NM, Milin-Lazovic J, Weissgerber TL, Trajkovic G, White WM, Garovic VD. Preclinical atherosclerosis at the time of pre-eclamptic pregnancy and up to 10 years postpartum: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017;49(1):110-115. doi:10.1002/uog.17367
  86. Hammadah M, Georgiopoulou V V, Kalogeropoulos AP, Weber M, Wang X, Samara MA, Wu Y, Butler J, Tang WHW. Elevated Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase-1 and Placental-Like Growth Factor Levels Are Associated With Development and Mortality Risk in Heart Failure. *Circ Heart Fail*. 2016;9(1):e002115. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002115
  87. Onoue K, Uemura S, Takeda Y, Somekawa S, Iwama H, Nishida T, Morikawa Y, Nakagawa H, Tsutsumi T, Sung JH, Takemoto Y, Soeda T, Okayama S, Ishigami K, Kawata H, Horii M, Nakajima T, Saito Y. Usefulness of soluble Fms-like tyrosine kinase-1 as a biomarker of acute severe heart failure in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 2009;104(11):1478-1483. doi:10.1016/J.AMJCARD.2009.07.016
  88. Draker N, Torry DS, Torry RJ. Placenta growth factor and sFlt-1 as biomarkers in ischemic heart disease and heart failure: a review. *Biomark Med*. Published online June 3, 2019:bmm-2018-0492. doi:10.2217/bmm-2018-0492
  89. Chung NAY, Makin AJ, Lip GYH. Measurement of the soluble angiopoietin

- receptor tie-2 in patients with coronary artery disease: development and application of an immunoassay. *Eur J Clin Invest.* 2003;33(7):529-535. doi:10.1046/J.1365-2362.2003.01173.X
90. Spradley FT, Tan AY, Joo WS, Daniels G, Kussie P, Karumanchi SA, Granger JP. Placental Growth Factor Administration Abolishes Placental Ischemia-Induced Hypertension. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 2016;67(4):740-747. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06783
  91. Aasa KL, Zavan B, Luna RL, Wong PG, Ventura NM, Tse MY, Carmeliet P, Adams MA, Pang SC, Croy BA. Placental growth factor influences maternal cardiovascular adaptation to pregnancy in mice. *Biol Reprod.* 2015;92(2):44. doi:10.1095/biolreprod.114.124677
  92. Bytautiene E, Lu F, Tamayo EH, Hankins GDV, Longo M, Kublickiene K, Saade GR. Long-term maternal cardiovascular function in a mouse model of sFlt-1-induced preeclampsia. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol.* 2010;298(1). doi:10.1152/ajpheart.00792.2009
  93. Bello N, Rendon ISH, Arany Z. The relationship between pre-eclampsia and peripartum cardiomyopathy: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(18):1715-1723. doi:10.1016/j.jacc.2013.08.717
  94. Iwama H, Uemura S, Naya N, Imagawa K, Takemoto Y, Asai O, Onoue K, Okayama S, Somekawa S, Kida Y, Takeda Y, Nakatani K, Takaoka M, Kawata H, Horii M, Nakajima T, Doi N, Saito Y. Cardiac expression of placental growth factor predicts the improvement of chronic phase left ventricular function in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(8):1559-1567. doi:10.1016/j.jacc.2005.11.064
  95. Matsumoto T, Uemura S, Takeda Y, Matsui M, Okada S, Nishida T, Soeda T, Okayama S, Somekawa S, Ishigami K-I, Onoue K, Kawata H, Kawakami R, Horii M, Saito Y. An elevated ratio of placental growth factor to soluble fms-like tyrosine kinase-1 predicts adverse outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Intern Med.* 2013;52(10):1019-1027. doi:10.2169/internalmedicine.52.9073
  96. Llurba E, Sánchez O, Ferrer Q, Nicolaidis KH, Ruíz A, Domínguez C, Sánchez-de-Toledo J, García-García B, Soro G, Arévalo S, Goya M, Suy A, Pérez-Hoyos S, Alijotas-Reig J, Carreras E, Cabero L. Maternal and foetal angiogenic imbalance in congenital heart defects. *Eur Heart J.* 2014;35(11):701-707. doi:10.1093/eurheartj/eht389
  97. Ruiz A, Ferrer Q, Sánchez O, Ribera I, Arévalo S, Alomar O, Mendoza M, Cabero L, Carreras E, Llurba E. Placenta-related complications in women carrying a foetus with congenital heart disease. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(20):3271-3275. doi:10.3109/14767058.2015.1121480
  98. Kapur NK, Morine KJ, Letarte M. Endoglin: a critical mediator of cardiovascular health. *Vasc Health Risk Manag.* 2013;9:195-206. doi:10.2147/vhrm.s29144
  99. Lam C, Lim KH, Kang DH, Karumanchi SA. Uric acid and preeclampsia. *Semin Nephrol.* 2005;25(1):56-60. doi:10.1016/j.semnephrol.2004.09.009
  100. Jeyabalan A, Conrad KP. Renal function during normal pregnancy and



- preeclampsia. *Front Biosci.* 2007;12(7):2425-2437. doi:10.2741/2244
101. CW R, J B. Plasma urate changes in pre-eclampsia. *Br Med J.* 1978;1(6125):1484-1485. doi:10.1136/BMJ.1.6125.1484-D
  102. Rubattu S, Sciarretta S, Valenti V, Stanzione R, Volpe M. Natriuretic peptides: an update on bioactivity, potential therapeutic use, and implication in cardiovascular diseases. *Am J Hypertens.* 2008;21(7):733-741. doi:10.1038/AJH.2008.174
  103. Gondek A, Jagodzińska A, Pietrzak B, Mamcarz A, Cudnoch-Jędrzejewska A. Relevance of the assessment of natriuretic peptide plasma concentrations in hypertensive pregnant women. *Biomarkers.* Published online 2020:449-457. doi:10.1080/1354750X.2020.1795264
  104. Pascual-Figal DA, Casademont J, Lobos JM, Piñera P, Bayés-Genis A, Ordóñez-Llanos J, González-Juanatey JR. Consensus document and recommendations on the use of natriuretic peptides in clinical practice. *Rev Clin Esp.* 2016;216(6):313-322. doi:10.1016/J.RCE.2016.02.008
  105. Lew J, Sanghavi M, Ayers CR, McGuire DK, Omland T, Atzler D, Gore MO, Neeland I, Berry JD, Khera A, Rohatgi A, De Lemos JA. Sex-Based Differences in Cardiometabolic Biomarkers. *Circulation.* 2017;135(6):544-555. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023005
  106. Saenger AK, Rodriguez-Fraga O, Ler R, Ordonez-Llanos J, Jaffe AS, Goetze JP, Apple FS. Specificity of B-type natriuretic peptide assays: Cross-reactivity with different BNP, NT-proBNP, and proBNP peptides. *Clin Chem.* 2017;63(1):351-358. doi:10.1373/clinchem.2016.263749
  107. Chow SL, Maisel AS, Anand I, Bozkurt B, De Boer RA, Felker GM, Fonarow GC, Greenberg B, Januzzi JL, Kiernan MS, Liu PP, Wang TJ, Yancy CW, Zile MR. Role of biomarkers for the prevention, assessment, and management of heart failure: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2017;135(22):e1054-e1091. doi:10.1161/CIR.0000000000000490
  108. Oremus M, McKelvie R, Don-Wauchope A, Santaguida PL, Ali U, Balion C, Hill S, Booth R, Brown JA, Bustamam A, Soheli N, Raina P. A systematic review of BNP and NT-proBNP in the management of heart failure: Overview and methods. *Heart Fail Rev.* 2014;19(4):413-419. doi:10.1007/s10741-014-9440-0
  109. Kumari M, Tang WHW, Maroo AP. Natriuretic Peptide Testing in High-Risk Pregnancy: A Preventive Opportunity? *Curr Heart Fail Rep.* 2014;11(4):471-476. doi:10.1007/s11897-014-0228-2
  110. Hameed AB, Chan K, Ghamsary M, Elkayam U. Longitudinal changes in the B-type natriuretic peptide levels in normal pregnancy and postpartum. *Clin Cardiol.* 2009;32(8). doi:10.1002/clc.20391
  111. Johns MC, Stephenson C. Amino-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Testing in Neonatal and Pediatric Patients. *Am J Cardiol.* 2008;101(3 SUPPL.). doi:10.1016/j.amjcard.2007.11.028
  112. Borghi C, Esposti DD, Immordino V, Cassani A, Boschi S, Bovicelli L, Ambrosioni E. Relationship of systemic hemodynamics, left ventricular structure

- and function, and plasma natriuretic peptide concentrations during pregnancy complicated by preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(1):140-147. doi:10.1067/mob.2000.105684
113. Álvarez-Fernández I, Prieto B, Rodríguez V, Ruano Y, Escudero AI, Álvarez F V. N-terminal pro B-type natriuretic peptide and angiogenic biomarkers in the prognosis of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Clin Chim Acta.* 2016;463:150-157. doi:10.1016/j.cca.2016.10.033
  114. Hilfiker-Kleiner D, Haghikia A, Nonhoff J, Bauersachs J. Peripartum cardiomyopathy: current management and future perspectives. *Eur Heart J.* 2015;36(18):1090-1097. doi:10.1093/EURHEARTJ/EHV009
  115. Graff S, Prior A, Fenger-Grøn M, Christensen B, Glümer C, Larsen FB, Vestergaard M. Does perceived stress increase the risk of atrial fibrillation? A population-based cohort study in Denmark. *Am Heart J.* 2017;188:26-34. doi:10.1016/j.ahj.2017.03.002
  116. Cohen S, Kamarck T, Mermelstein R. A global measure of perceived stress. *J Health Soc Behav.* 1983;24(4):385-396. Accessed May 2, 2019. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6668417>
  117. Rafik Hamad R, Larsson A, Pernow J, Bremme K, Eriksson MJ. Assessment of left ventricular structure and function in preeclampsia by echocardiography and cardiovascular biomarkers. *J Hypertens.* 2009;27(11):2257-2264. doi:10.1097/HJH.0b013e3283300541
  118. Çağlar FNT, Ozde C, Bostanci E, Çağlar IM, Çiftçi S, Unğan I, Demir B, Karakaya O. Assessment of right heart function in preeclampsia by echocardiography. *Pregnancy Hypertens.* 2016;6(2):89-94. doi:10.1016/j.preghy.2015.12.004
  119. Thayaparan AS, Said JM, Lowe SA, McLean A, Yang Y. Pre-eclampsia and long-term cardiac dysfunction: A review of asymptomatic cardiac changes existing well beyond the post-partum period. *Australas J ultrasound Med.* 2019;22(4):234-244. doi:10.1002/ajum.12173
  120. O'Driscoll JM, Giorgione V, Edwards JJ, Wiles JD, Sharma R, Thilaganathan B. Myocardial Mechanics in Hypertensive Disorders of Pregnancy: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 2022;79(2):391-398. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.18123
  121. Melchiorre K, Sutherland GR, Liberati M, Thilaganathan B. Preeclampsia is associated with persistent postpartum cardiovascular impairment. *Hypertension.* 2011;58(4):709-715. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.176537
  122. Estensen ME, Remme EW, Grindheim G, Smiseth OA, Segers P, Henriksen T, Aakhus S. Increased arterial stiffness in pre-eclamptic pregnancy at term and early and late postpartum: A combined echocardiographic and tonometric study. *Am J Hypertens.* 2013;26(4):549-556. doi:10.1093/ajh/hps067
  123. Orabona R, Vizzardi E, Sciatti E, Bonadei I, Valcamonico A, Metra M, Frusca T. Insights into cardiac alterations after pre-eclampsia: an echocardiographic study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;49(1):124-133. doi:10.1002/uog.15983

124. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: A meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002;360(9349):1903-1913. doi:10.1016/S0140-6736(02)11911-8
125. Webster K, Fishburn S, Maresh M, Findlay SC, Chappell LC. Diagnosis and management of hypertension in pregnancy: Summary of updated NICE guidance. *BMJ*. 2019;366. doi:10.1136/bmj.15119
126. Levine LD, Ky B, Chirinos JA, Koshinski J, Arany Z, Riis V, Elovitz MA, Koelper N, Lewey J. Prospective Evaluation of Cardiovascular Risk 10 Years After a Hypertensive Disorder of Pregnancy. *J Am Coll Cardiol*. 2022;79(24):2401-2411. doi:10.1016/J.JACC.2022.03.383
127. Benschop L, Schalekamp-Timmermans S, Broere-Brown ZA, Roeters van Lennep JE, Jaddoe VW V, Roos-Hesselink JW, Ikram MK, Steegers EAP, Roberts JM, Gandley RE. Placental Growth Factor as an Indicator of Maternal Cardiovascular Risk After Pregnancy. *Circulation*. 2019;139(14):1698-1709. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036632
128. Neuman RI, Figaroa AMJ, Nieboer D, Saleh L, Verdonk K, Danser AHJ, Duvekot HJJ, van den Meiracker AH, Roeters van Lennep J, Visser W. Angiogenic markers during preeclampsia: Are they associated with hypertension 1 year postpartum? *Pregnancy Hypertens*. 2021;23:116-122. doi:10.1016/J.PREGHY.2020.11.011
129. Narayanan A, Aurigemma GP, Chinali M, Hill JC, Meyer TE, Tighe DA. Cardiac mechanics in mild hypertensive heart disease: a speckle-strain imaging study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2009;2(5):382-390. doi:10.1161/CIRCIMAGING.108.811620
130. Shahul S, Medvedofsky D, Wenger JB, Nizamuddin J, Brown SM, Bajracharya S, Salahuddin S, Thadhani R, Mueller A, Tung A, Lang RM, Arany Z, Talmor D, Karumanchi SA, Rana S. Circulating Antiangiogenic Factors and Myocardial Dysfunction in Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 2016;67(6):1273-1280. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07252
131. Ghossein-Doha C, Peeters L, Van Heijster S, Van Kuijk S, Spaan J, Delhaas T, Spaanderman M. Hypertension after preeclampsia is preceded by changes in cardiac structure and function. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 2013;62(2):382-390. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01319
132. Verdecchia P, Porcellati C, Reboldi G, Gattobigio R, Borgioni C, Pearson TA, Ambrosio G. Left ventricular hypertrophy as an independent predictor of acute cerebrovascular events in essential hypertension. *Circulation*. 2001;104(17):2039-2044. doi:10.1161/hc4201.097944
133. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the framingham heart study. *N Engl J Med*. 1990;322(22):1561-1566. doi:10.1056/NEJM199005313222203
134. Bokslag A, Teunissen PW, Franssen C, van Kesteren F, Kamp O, Ganzevoort W, Paulus WJ, de Groot CJM. Effect of early-onset preeclampsia on cardiovascular

- risk in the fifth decade of life. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;216(5):523.e1-523.e7. doi:10.1016/j.ajog.2017.02.015
135. Dokainish H, Sengupta R, Patel R, Lakkis N. Usefulness of right ventricular tissue Doppler imaging to predict outcome in left ventricular heart failure independent of left ventricular diastolic function. *Am J Cardiol.* 2007;99(7):961-965. doi:10.1016/J.AMJCARD.2006.11.042
  136. Al-Nashi M, Eriksson MJ, Östlund E, Bremme K, Kahan T. Cardiac structure and function, and ventricular-arterial interaction 11 years following a pregnancy with preeclampsia. *J Am Soc Hypertens.* 2016;10(4):297-306. doi:10.1016/j.jash.2016.01.012
  137. Strobl I, Windbichler G, Strasak A, Weiskopf-Schwendinger V, Schweigmann U, Ramoni A, Scheier M. Left ventricular function many years after recovery from pre-eclampsia. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2011;118(1):76-83. doi:10.1111/j.1471-0528.2010.02780.x
  138. Liu X, Yang Y, Kang F, Li J, Zhou M, Ma X, Yu T, Zhang T, Xue F. Cardiovascular Disease Risk Across a Spectrum of Adverse Plasma Lipid Combinations by Gender and Glycemic Status. *Am J Cardiol.* Published online June 6, 2019. doi:10.1016/j.amjcard.2019.05.058
  139. Sattar N, Ramsay J, Crawford L, Cheyne H, Greer IA. Classic and novel risk factor parameters in women with a history of preeclampsia. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 2003;42(1):39-42. doi:10.1161/01.HYP.0000074428.11168.EE
  140. Sharrett AR, Ballantyne CM, Coady SA, Heiss G, Sorlie PD, Catellier D, Patsch W, Atherosclerosis Risk in Communities Study Group. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein(a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation.* 2001;104(10):1108-1113. Accessed May 2, 2019. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11535564>
  141. Goncharov N V, Popova PI, Avdonin PP, Kudryavtsev I V, Serebryakova MK, Korf EA, Avdonin P V. Markers of Endothelial Cells in Normal and Pathological Conditions. *Biochem (Mosc) Suppl Ser A Membr Cell Biol.* 2020;14(3):167-183. doi:10.1134/S1990747819030140
  142. Rios DRA, Alpoim PN, Godoi LC, Perucci LO, de Sousa LP, Gomes KB, Dusse LMS. Increased Levels of sENG and sVCAM-1 and Decreased Levels of VEGF in Severe Preeclampsia. *Am J Hypertens.* 2016;29(11):1307-1310. doi:10.1093/ajh/hpv170
  143. Di Martino DD, Stampalija T, Zullino S, Fusè F, Garbin M, Parasiliti M, Sterpi V, Farina A, Ferrazzi E. Maternal hemodynamic profile during pregnancy and in the post-partum in hypertensive disorders of pregnancy and fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol MFM.* 2023;5(3). doi:10.1016/J.AJOGMF.2022.100841
  144. Jia R, Liu X, Wang X, Wu H. Relationship between cardiovascular function and fetal growth restriction in women with pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet.* 2010;110(1):61-63. doi:10.1016/j.ijgo.2010.02.007
  145. Valensise H, Farsetti D, Pometti F, Vasapollo B, Novelli GP, Lees C. The

- cardiac-fetal-placental unit: fetal umbilical vein flow rate is linked to the maternal cardiac profile in fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 2023;228(2):222.e1-222.e12. doi:10.1016/J.AJOG.2022.08.004
146. Tay J, Foo L, Masini G, Bennett PR, McEniery CM, Wilkinson IB, Lees CC. Early and late preeclampsia are characterized by high cardiac output, but in the presence of fetal growth restriction, cardiac output is low: insights from a prospective study. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218(5):517.e1-517.e12. doi:10.1016/j.ajog.2018.02.007
  147. Melchiorre K, Sutherland GR, Liberati M, Thilaganathan B. Maternal cardiovascular impairment in pregnancies complicated by severe fetal growth restriction. *Hypertension.* 2012;60(2):437-443. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.194159
  148. Kvehaugen AS, Dechend R, Ramstad HB, Troisi R, Fugelseth D, Staff AC. Endothelial function and circulating biomarkers are disturbed in women and children after preeclampsia. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 2011;58(1):63-69. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.172387
  149. Sareen N, Ananthasubramaniam K. Strain Imaging. *Cardiol Rev.* 2016;24(2):56-69. doi:10.1097/CRD.0000000000000067
  150. Lazzarin N, Desideri G, Ferri C, Valensise H, Gagliardi G, Tiralongo GM, Manfredotto D. Hypertension in pregnancy and endothelial activation: An emerging risk factor for cardiovascular disease. *Pregnancy Hypertens.* 2012;2(4):393-397. doi:10.1016/j.preghy.2012.02.002
  151. Akhter T, Wikström AK, Larsson M, Larsson A, Wikström G, Naessen T. Association between angiogenic factors and signs of arterial aging in women with pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;50(1):93-99. doi:10.1002/UOG.15981
  152. Yinon Y, Kingdom JCP, Odutayo A, Moineddin R, Drewlo S, Lai V, Cherney DZI, Hladunewich MA. Vascular dysfunction in women with a history of preeclampsia and intrauterine growth restriction: Insights into future vascular risk. *Circulation.* 2010;122(18):1846-1853. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.948455
  153. Noori M, Donald AE, Angelakopoulou A, Hingorani AD, Williams DJ. Prospective study of placental angiogenic factors and maternal vascular function before and after preeclampsia and gestational hypertension. *Circulation.* 2010;122(5):478-487. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.895458
  154. Gaugler-Senden IPM, Tamsma JT, van der Bent C, Kusters R, Steegers EAP, de Groot CJM. Angiogenic factors in women ten years after severe very early onset preeclampsia. Oudejans C, ed. *PLoS One.* 2012;7(8):e43637. doi:10.1371/journal.pone.0043637
  155. Escouto DC, Green A, Kurlak L, Walker K, Loughna P, Chappell L, Broughton Pipkin F, Bramham K. Postpartum evaluation of cardiovascular disease risk for women with pregnancies complicated by hypertension. *Pregnancy Hypertens.* 2018;13:218-224. doi:10.1016/j.preghy.2018.06.019
  156. Östlund E, Al-Nashi M, Hamad RR, Larsson A, Eriksson M, Bremme K, Kahan

- T. Normalized endothelial function but sustained cardiovascular risk profile 11 years following a pregnancy complicated by preeclampsia. *Hypertens Res.* 2013;36(12):1081-1087. doi:10.1038/hr.2013.81
157. Sattar N, Ramsay J, Crawford L, Cheyne H, Greer IA. Classic and novel risk factor parameters in women with a history of preeclampsia. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 2003;42(1):39-42. doi:10.1161/01.HYP.0000074428.11168.EE
  158. Garovic VD, Milic NM, Weissgerber TL, Mielke MM, Bailey KR, Lahr B, Jayachandran M, White WM, Hodis HN, Miller VM. Carotid Artery Intima-Media Thickness and Subclinical Atherosclerosis in Women With Remote Histories of Preeclampsia: Results From a Rochester Epidemiology Project-Based Study and Meta-analysis. *Mayo Clin Proc.* 2017;92(9):1328-1340. doi:10.1016/j.mayocp.2017.05.030
  159. Afshani N, Moustaqim-Barrette A, Biccard BM, Rodseth RN, Dyer RA. Utility of B-type natriuretic peptides in preeclampsia: A systematic review. *Int J Obstet Anesth.* 2013;22(2):96-103. doi:10.1016/j.ijoa.2012.11.001
  160. Borghi C, Esposti DD, Immordino V, Cassani A, Boschi S, Bovicelli L, Ambrosioni E. Relationship of systemic hemodynamics, left ventricular structure and function, and plasma natriuretic peptide concentrations during pregnancy complicated by preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(1):140-147. doi:10.1067/MOB.2000.105684
  161. Zhang Y, Tan X, Yu F. The diagnostic and predictive values of N-terminal pro-B-type natriuretic peptides in pregnancy complications and neonatal outcomes. *Am J Transl Res.* 2021;13(9):10372-10379.
  162. Nguyen TX, Nguyen VT, Nguyen-Phan HN, Hoang Bui B. Serum Levels of NT-Pro BNP in Patients with Preeclampsia. *Integr Blood Press Control.* 2022;Volume 15:43-51. doi:10.2147/IBPC.S360584
  163. Zheng Z, Lin X, Cheng X. Serum Levels of N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide in Gestational Hypertension, Mild Preeclampsia, and Severe Preeclampsia: A Study from a Center in Zhejiang Province, China. *Med Sci Monit.* 2021;28. doi:10.12659/MSM.934285
  164. Fleming SM, O'Byrne L, Grimes H, Daly KM, Morrison JJ, Morrison JJ. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide in normal and hypertensive pregnancy. *Hypertens Pregnancy.* 2001;20(2):169-175. doi:10.1081/PRG-100106966
  165. Verlohren S, Perschel FH, Thilaganathan B, Dröge LA, Henrich W, Busjahn A, Khalil A. Angiogenic Markers and Cardiovascular Indices in the Prediction of Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Hypertension.* 2017;69(6):1192-1197. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09256
  166. Seong WJ, Kim SC, Hong DG, Koo TB, Park S. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in hypertensive disorders complicating pregnancy. *Hypertens Pregnancy.* 2011;30(3):287-294. doi:10.3109/10641950903115046
  167. Resnik JL, Hong C, Resnik R, Kazanegra R, Beede J, Bhalla V, Maisel A. Evaluation of B-type natriuretic peptide (BNP) levels in normal and preeclamptic women. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(2):450-454. doi:10.1016/j.ajog.2004.12.006

168. Sabrià E, Lafuente-Ganuza P, Lequerica-Fernández P, Escudero AI, Martínez-Morillo E, Barceló-Vidal C, Álvarez FV. Development of a Third Trimester Contingent Prognostic Prediction Scheme for Suspected Early-Onset Pre-Eclampsia. *Fetal Diagn Ther.* 2021;48(7):517-525. doi:10.1159/000517391
169. Junus K, Wikström AK, Larsson A, Olovsson M. Placental expression of proBNP/NT-proBNP and plasma levels of NT-proBNP in early- and late-onset preeclampsia. *Am J Hypertens.* 2014;27(9):1225-1230. doi:10.1093/ajh/hpu033
170. Tihtonen KM, Kööbi T, Vuolteenaho O, Huhtala HS, Uotila JT. Natriuretic peptides and hemodynamics in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(4):328.e1-7. doi:10.1016/j.ajog.2006.11.033
171. Tanous D, Siu SC, Mason J, Greutmann M, Wald RM, Parker JD, Sermer M, Colman JM, Silversides CK. B-type natriuretic peptide in pregnant women with heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56(15):1247-1253. doi:10.1016/j.jacc.2010.02.076
172. García Iglesias D, Álvarez Velasco R, Escudero AI, Colunga S, Lequerica Fernandez P, Fernandez Bernardo A, Vigil Escalera M, Soroa M, Almendárez M, Prieto B, Calvo D, Rozado J, Álvarez F V, de la Hera JM. Left atrial strain and B-type natriuretic peptide: possible markers for diastolic dysfunction in preeclampsia patients. *Eur J Prev Cardiol.* Published online May 25, 2021. doi:10.1093/eurjpc/zwab059
173. Speksnijder L, Rutten JHW, Van Den Meiracker AH, De Bruin RJA, Lindemans J, Hop WCJ, Visser W. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) is a biomarker of cardiac filling pressures in pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2010;153(1):12-15. doi:10.1016/j.ejogrb.2010.06.011
174. Hamad RR, Larsson A, Pernow J, Bremme K, Eriksson MJ. Assessment of left ventricular structure and function in preeclampsia by echocardiography and cardiovascular biomarkers. *J Hypertens.* 2009;27(11):2257-2264. doi:10.1097/HJH.0b013e3283300541
175. Bakacak M, Serin S, Ercan O, Köstü B, Bakacak Z, Kiran H. Association of serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels with the severity of preeclampsia. *J Matern Neonatal Med.* 2016;29(17):2802-2806. doi:10.3109/14767058.2015.1104663
176. Crispi F, Bijmens B, Sepulveda-Swatson E, Cruz-Lemini M, Rojas-Benavente J, Gonzalez-Tendero A, Garcia-Posada R, Rodriguez-Lopez M, Demicheva E, Sitges M, Gratacós E. Postsystolic shortening by myocardial deformation imaging as a sign of cardiac adaptation to pressure overload in fetal growth restriction. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2014;7(5):781-787. doi:10.1161/CIRCIMAGING.113.001490
177. Kocylowski RD, Dubiel M, Gudmundsson S, Sieg I, Fritzer E, Alkasi Ö, Breborowicz GH, von Kaisenberg CS. Biochemical tissue-specific injury markers of the heart and brain in postpartum cord blood. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;200(3):273.e1-273.e25. doi:10.1016/j.ajog.2008.10.009
178. Iacovidou N, Briana DD, Boutsikou M, Gourgiotis D, Baka S, Vraila VM,

- Hassiakos D, Malamitsi-Puchner A. Perinatal changes of circulating N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) in normal and intrauterine-growth-restricted pregnancies. *Hypertens pregnancy*. 2007;26(4):463-471. doi:10.1080/10641950701548414
179. Lafuente-Ganuza P, Carretero F, Lequerica-Fernández P, Fernandez-Bernardo A, Escudero AI, De La Hera-Galarza JM, Garcia-Iglesias D, Alvarez-Velasco R, Alvarez F V. NT-proBNP levels in preeclampsia, intrauterine growth restriction as well as in the prediction on an imminent delivery. *Clin Chem Lab Med*. 2021;59(6):1077-1085. doi:10.1515/cclm-2020-1450
  180. Giannubilo SR, Pasculli A, Tidu E, Biagini A, Boscarato V, Ciavattini A. Relationship between maternal hemodynamics and plasma natriuretic peptide concentrations during pregnancy complicated by preeclampsia and fetal growth restriction. *J Perinatol*. 2017;37(5):484-487. doi:10.1038/jp.2016.264
  181. Cabo Fustaret MC, Escobar AM, Illia R, Uranga M, Rivas C, Lobenstein G, Olejnik P, Mayer H, Ramilo TP. PP113. NT-Pro-BNP: A predictor of adverse maternal outcomes in hypertensive gestational syndromes? *Pregnancy Hypertens*. 2012;2(3):301. doi:10.1016/j.preghy.2012.04.224
  182. Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, Lim KH, Wenger JB, Thadhani R, Karumanchi SA. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation*. 2012;125(7):911-919. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.054361
  183. 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(2 PART1):265-273. doi:10.1097/AOG.0000000000000367
  184. 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(2):306-316. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10182
  185. Redman C. Diagnostic and predictive accuracy of placental growth factor in suspected pre-eclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2014;4(3):241. doi:10.1016/J.PREGHY.2014.04.008
  186. Reddy M, Palmer K, Rolnik DL, Wallace EM, Mol BW, Da Silva Costa F. Role of placental, fetal and maternal cardiovascular markers in predicting adverse outcome in women with suspected or confirmed pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2022;59(5):596-605. doi:10.1002/UOG.24851
  187. Germany Paula L, Ercília Pinheiro Da Costa B, Eduardo Poli-De-Figueiredo C, Carlos Ferreira Antonello I. Does uric acid provide information about maternal condition and fetal outcome in pregnant women with hypertension? *Hypertens Pregnancy*. 2008;27(4):413-420. doi:10.1080/10641950801955709
  188. Kumar N, Singh AK. Maternal Serum Uric Acid as a Predictor of Severity of Hypertensive Disorders of Pregnancy: A Prospective Cohort Study. *Curr Hypertens Rev*. 2018;15(2):154-160. doi:10.2174/1573402114666181112141953



189. Hawkins TLA, Roberts JM, Mangos GJ, Davis GK, Roberts LM, Brown MA. Plasma uric acid remains a marker of poor outcome in hypertensive pregnancy: A retrospective cohort study. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2012;119(4):484-492. doi:10.1111/j.1471-0528.2011.03232.x
190. Thangaratinam S, Ismail KMK, Sharp S, Coomarasamy A, Khan KS. Accuracy of serum uric acid in predicting complications of pre-eclampsia: A systematic review. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2006;113(4):369-378. doi:10.1111/j.1471-0528.2006.00908.x
191. Álvarez-Fernández I, Prieto B, Rodríguez V, Ruano Y, Escudero AI, Álvarez F V. New biomarkers in diagnosis of early onset preeclampsia and imminent delivery prognosis. *Clin Chem Lab Med.* 2014;52(8):1159-1168. doi:10.1515/cclm-2013-0901
192. Zeisler H, Llorba E, Chantraine FJ, Vatish M, Staff AC, Sennström M, Olovsson M, Brennecke SP, Stepan H, Allegranza D, Schoedl M, Grill S, Hund M, Verlohren S. 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(3):367-375. doi:10.1002/uog.19178
193. Lafuente-Ganuza P, Lequerica-Fernandez P, Carretero F, Escudero AI, Martinez-Morillo E, Sabria E, Herraiz I, Galindo A, Lopez A, Martinez-Triguero ML, Alvarez F V. A more accurate prediction to rule in and rule out pre-eclampsia using the sFlt-1/PIGF ratio and NT-proBNP as biomarkers. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(3):399-407. doi:10.1515/cclm-2019-0939
194. Zeisler H, Llorba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M, Olovsson M, Brennecke SP, Stepan H, Allegranza D, Dinkel C, Schoedl M, Dilba P, Hund M, Verlohren S. Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1-to-Placental Growth Factor Ratio and Time to Delivery in Women With Suspected Preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2016;128(2):261-269. doi:10.1097/AOG.0000000000001525
195. NICE (National Institute for Health and Care Excellence). PLGF-Based Testing to help Diagnose suspected Preterm pre-eclampsia. *NICE (National Inst Heal Care Excell.* 2022;(July):27. <https://www.nice.org.uk/guidance/dg49/chapter/3-Committee-discussion>
196. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Zeisler H, Calda P, Sabria J, Markfeld-Erol F, Galindo A, Schoofs K, Denk B, Stepan H. New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 2014;63(2):346-352. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01787
197. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H, Calda P, Holzgreve W, Galindo A, Engels T, Denk B, Stepan H. The sFlt-1/PIGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206(1):58.e1-8. doi:10.1016/j.ajog.2011.07.037
198. Stolz M, Zeisler H, Heinzl F, Binder J, Farr A. An sFlt-1:PIGF ratio of 655 is not a reliable cut-off value for predicting perinatal outcomes in women with preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2018;11:54-60.

- doi:10.1016/j.preghy.2018.01.001
199. Serrano-Ripoll MJ, Ripoll J, Llobera J, Valderas JM, Pastor-Moreno G, Olry De Labry Lima A, Ricci-Cabello I. Development and evaluation of an intervention based on the provision of patient feedback to improve patient safety in Spanish primary healthcare centres: Study protocol. *BMJ Open*. 2019;9(12). doi:10.1136/bmjopen-2019-031367
  200. Hoffmann J, Ossada V, Weber M, Stepan H. An intermediate sFlt-1/PlGF ratio indicates an increased risk for adverse pregnancy outcome. *Pregnancy Hypertens*. 2017;10:165-170. doi:10.1016/j.preghy.2017.08.003
  201. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, González-Juanatey JR, Zamorano JL, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail*. 2016;18(8):891-975. doi:10.1002/ejhf.592
  202. Kampman MAM, Balci A, Van Veldhuisen DJ, Van Dijk APJ, Roos-Hesselink JW, Sollie-Szarynska KM, Ludwig-Ruitenbergh M, Van Melle JP, Mulder BJM, Pieper PG. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predicts cardiovascular complications in pregnant women with congenital heart disease. *Eur Heart J*. 2014;35(11):708-715. doi:10.1093/EURHEARTJ/EHT526
  203. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H, Calda P, Holzgreve W, Galindo A, Engels T, Denk B, Stepan H. The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;206(1):58.e1-58.e8. doi:10.1016/J.AJOG.2011.07.037
  204. Graupner O, Lobmaier SM, Ortiz JU, Karge A, Kuschel B. sFlt-1/PlGF ratio for the prediction of the time of delivery. *Arch Gynecol Obstet*. 2018;298(3):567-577. doi:10.1007/S00404-018-4840-3
  205. Attalla W, Gaber R, Bayomy S. Detection of early left ventricular dysfunction in patients with maternal placental syndrome using tissue Doppler and strain rate imaging. *Hypertens pregnancy*. 2015;34(1):80-89. doi:10.3109/10641955.2014.971961
  206. Kwiatkowski S, Dołęgowska B, Kwiatkowska E, Rzepka R, Torbè A, Bednarek-Jędrzejek M. A common profile of disordered Angiogenic factor production and the exacerbation of inflammation in early preeclampsia, late preeclampsia, and intrauterine growth restriction. *PLoS One*. 2016;11(10). doi:10.1371/journal.pone.0165060
  207. Schlembach D, Hund M, Schroer A, Wolf C. Economic assessment of the use of the sFlt-1/PlGF ratio test to predict preeclampsia in Germany. *BMC Health Serv Res*. 2018;18(1). doi:10.1186/s12913-018-3406-1
  208. Sadlecki P, Grabiec M, Walentowicz-Sadlecka M. Prenatal Clinical Assessment of NT-proBNP as a Diagnostic Tool for Preeclampsia, Gestational Hypertension and Gestational Diabetes Mellitus. *PLoS One*. 2016;11(9).

- doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0162957
209. Mayama M, Yoshihara M, Uno K, Tano S, Takeda T, Ukai M, Kishigami Y, Oguchi H. Factors influencing brain natriuretic peptide levels in healthy pregnant women. *Int J Cardiol.* 2017;228:749-753. doi:10.1016/J.IJCARD.2016.11.111
  210. Brown MC, Best KE, Pearce MS, Waugh J, Robson SC, Bell R. Cardiovascular disease risk in women with pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol.* 2013;28(1):1-19. doi:10.1007/s10654-013-9762-6
  211. Hsia J, Rodabough RJ, Manson JE, Liu S, Freiberg MS, Graettinger W, Rosal MC, Cochrane B, Lloyd-Jones D, Robinson JG, Howard B V. Evaluation of the American Heart Association cardiovascular disease prevention guideline for women. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2010;3(2):128-134. doi:10.1161/CIRCOUTCOMES.108.842385
  212. Groenhouf TKJ, Zoet GA, Franx A, Gansevoort RT, Bots ML, Groen H, Lely AT, PREVEND Group. Trajectory of Cardiovascular Risk Factors After Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 2019;73(1):171-178. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11726
  213. Bro Schmidt G, Christensen M, Breth Knudsen U. Preeclampsia and later cardiovascular disease - What do national guidelines recommend? *Pregnancy Hypertens.* 2017;10:14-17. doi:10.1016/j.preghy.2017.07.139
  214. Esteve-Valverde E, Ferrer-Oliveras R, Gil-Aliberas N, Baraldès-Farré A, Llurba E, Alijotas-Reig J. Pravastatin for Preventing and Treating Preeclampsia: A Systematic Review. *Obstet Gynecol Surv.* 2018;73(1):40-55. doi:10.1097/OGX.0000000000000522
  215. Kumasawa K, Ikawa M, Kidoya H, Hasuwa H, Saito-Fujita T, Morioka Y, Takakura N, Kimura T, Okabe M. Pravastatin induces placental growth factor (PGF) and ameliorates preeclampsia in a mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(4):1451-1455. doi:10.1073/pnas.1011293108
  216. Ramma W, Ahmed A. Therapeutic potential of statins and the induction of heme oxygenase-1 in preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2014;101-102(1):153-160. doi:10.1016/j.jri.2013.12.120
  217. Lefkou E, Mamopoulos A, Dagklis T, Vosnakis C, Roussos D, Girardi G. Pravastatin improves pregnancy outcomes in obstetric antiphospholipid syndrome refractory to antithrombotic therapy. *J Clin Invest.* 2016;126(8):2933-2940. doi:10.1172/JCI86957
  218. Satoh M, Takahashi Y, Tabuchi T, Minami Y, Tamada M, Takahashi K, Itoh T, Morino Y, Nakamura M. Cellular and molecular mechanisms of statins: an update on pleiotropic effects. *Clin Sci (Lond).* 2015;129(2):93-105. doi:10.1042/CS20150027
  219. Thadhani R, Kisner T, Hagmann H, Bossung V, Noack S, Schaarschmidt W, Jank A, Kribs A, Cornely OA, Kreyssig C, Hemphill L, Rigby AC, Khedkar S, Lindner TH, Mallmann P, Stepan H, Karumanchi SA, Benzing T. Pilot study of extracorporeal removal of soluble Fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia. *Circulation.* 2011;124(8):940-950. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.034793

220. Thadhani R, Hagmann H, Schaarschmidt W, Roth B, Cingoz T, Karumanchi SA, Wenger J, Lucchesi KJ, Tamez H, Lindner T, Fridman A, Thome U, Kribs A, Danner M, Hamacher S, Mallmann P, Stepan H, Benzing T. Removal of soluble fms-like tyrosine kinase-1 by dextran sulfate apheresis in preeclampsia. *J Am Soc Nephrol*. 2016;27(3):903-913. doi:10.1681/ASN.2015020157
221. Onda K, Tong S, Beard S, Binder N, Muto M, Senadheera SN, Parry L, Dilworth M, Renshall L, Brownfoot F, Hastie R, Tuohey L, Palmer K, Hirano T, Ikawa M, Kaitu'u-Lino T, Hannan NJ. Proton pump inhibitors decrease soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endoglin secretion, decrease hypertension, and rescue endothelial dysfunction. *Hypertension*. 2017;69(3):457-468. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08408
222. Kaitu'u-Lino TJ, Brownfoot FC, Beard S, Cannon P, Hastie R, Nguyen T V., Binder NK, Tong S, Hannan NJ. Combining metformin and esomeprazole is additive in reducing sFlt-1 secretion and decreasing endothelial dysfunction - implications for treating preeclampsia. *PLoS One*. 2018;13(2). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0188845
223. Brownfoot FC, Hastie R, Hannan NJ, Cannon P, Tuohey L, Parry LJ, Senadheera S, Illanes SE, Kaitu'U-Lino TJ, Tong S. Metformin as a prevention and treatment for preeclampsia: Effects on soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin secretion and endothelial dysfunction. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;214(3):356.e1-356.e15. doi:10.1016/j.ajog.2015.12.019
224. Negishi K, Negishi T, Haluska BA, Hare JL, Plana JC, Marwick TH. Use of speckle strain to assess left ventricular responses to cardiotoxic chemotherapy and cardioprotection. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2014;15(3):324-331. doi:10.1093/ehjci/jet159





# **ANEXOS**



## 10. ANEXOS

### 10.1 Financiación

Ambos estudios han sido financiados por becas del Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto Carlos III, España.

- Primer estudio. PI16/01997. Factores angiogénicos y riesgo cardiovascular a largo plazo de las pacientes con insuficiencia placentaria durante la gestación: abordaje clínico y experimental. IP: Lluís Cabero Roura. Cambio en 2017 al IP al Dr. Jaume Alijotas-Reig. 2016-2019. Financiado con 131.632 €.
- Segundo estudio. PI16/00375. Incorporación del ratio sFlt1/PIGF en el diagnóstico y la clasificación de preeclampsia: ensayo clínico randomizado (Estudio EuroPE). IP: Dra Elisa Llurba Olivé. 2017-2020. Financiado con 153.403 €.

El organismo de financiación no tuvo ningún papel en el diseño del estudio, recopilación, análisis de los datos ni redacción de los artículos.



## 10.2 Informe del Comité Ético de Investigación Clínica (1r estudio)



Vall d'Hebron  
Hospital

Pg. Vall d'Hebron, 119-129  
08035 Barcelona  
Tel. 93 489 38 91  
Fax 93 489 41 80  
ceic@vhir.org

ID-RTF085

### INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y COMISIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

Doña Inmaculada Fuentes Camps, Secretaria en funciones del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitari Vall d'Hebron,

#### CERTIFICA

Que el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Vall d'Hebron, en el cual la Comisión de proyectos de investigación está integrada, se reunió en sesión ordinaria nº 226 el pasado 28/11/2014 y evaluó el proyecto de investigación PR(AMI)64/2014, con fecha 01/03/2014, titulado "*La relación entre los factores anti angiogénicos con la incidencia de lesión cardiovascular tardía en pacientes que tuvieron pre eclampsia durante el embarazo*" que tiene como investigador principal a la Dra. Elisa Llubra Olivé del Servicio de Obstetricia i Ginecología de nuestro Centro.

El resultado de la evaluación fue el siguiente:

#### DICTAMEN FAVORABLE

El Comité tanto en su composición como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el Real Decreto 223/2004, y su composición actual es la siguiente:

Presidenta: Gallego Melcón, Soledad. Médico  
Vicepresidente: Segarra Sarries, Joan. Abogado  
Secretaria: Navarro Sebastián, Mireia. Química  
Vocales: Armadans Gil, Lluís. Médico  
Azpiroz Vidaur, Fernando. Médico



Corona Pérez-Cardona, Pablo. Médico  
 Cucurull Folguera, Esther. Médico Farmacóloga  
 Latorre Arteche, Francisco. Médico  
 De Torres Ramírez, Inés M. Médico  
 Fernández Liz, Eladio. Farmacéutico de Atención Primaria  
 Ferreira González, Ignacio. Médico  
 Fuentelsaz Gallego, Carmen. Diplomada Enfermería  
 Fuentes Camps, Inmaculada. Médico Farmacóloga  
 Guardia Massó, Jaume. Médico  
 Hortal Ibarra, Juan Carlos. Profesor de Universidad de Derecho  
 Montoro Ronsano, J. Bruno. Farmacéutico Hospital  
 Rodríguez Gallego, Alexis. Médico Farmacólogo  
 Sánchez Raya, Judith. Médico  
 Solé Orsola, Marta. Diplomada Enfermería  
 Suñé Martín, Pilar. Farmacéutica Hospital  
 Vargas Blasco, Víctor. Médico  
 Vilca Yengle, Luz M<sup>a</sup>. Médico

En dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

En el caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, éste se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.

Lo que firmo en Barcelona a 28 de noviembre de 2014

**NOMBRE FUENTES**  
**CAMPS**  
**INMACULADA - NIF**  
**46228895E**

Firmado digitalmente por NOMBRE  
 FUENTES CAMPS INMACULADA - NIF  
 46228895E  
 Nombre de reconocimiento (DN): c=ES,  
 o=FNMT, ou=FNMT Clase 2 CA,  
 cn=500052503, cn=NOMBRE FUENTES  
 CAMPS INMACULADA - NIF 46228895E  
 Fecha: 2014.11.03 09:21:57 +01'00'

Dra. Inmaculada Fuentes Camps  
 Secretaria del CEIC en funciones



Vall d'Hebron  
Hospital

Pg. Vall d'Hebron, 119-129  
08035 Barcelona  
Tel. 93 489 38 91  
Fax 93 489 41 80  
celc@vhir.org

ID-RTF067

## INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS Y COMISIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

Sra. Mireia Navarro Sebastián, Secretaria del COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS del Hospital Universitari Vall d'Hebron,

### CERTIFICA

Que el Comité de Ética de Investigación con Medicamentos del Hospital Universitario Vall d'Hebron, en el cual la Comisión de proyectos de investigación está integrada, se reunió en sesión ordinaria nº 354 el pasado 21/09/2018 y evaluó la enmienda por cambio de investigador principal -El Dr. Jaume Alijotas Reig sustituye a la Dra. Elisa Llurba Olivé como investigador principal-y título del estudio, del proyecto de investigación PR(AMI)64/2014 titulado "*Factores angiogénicos durante la gestación y riesgo cardiovascular a medio-largo plazo en las pacientes con preeclampsia: Abordaje clínico y experimental*" que tiene como investigador principal al Dr. Jaume Alijotas Reig del Servicio de Medicina Interna de nuestro Centro.

El resultado de la evaluación fue el siguiente:

### DICTAMEN FAVORABLE

NOTA: Un dictamen emitido como solicitud de aclaraciones, del que no se reciba ninguna comunicación escrita por parte del promotor/investigador principal en un término de 6 meses en la Secretaria del CEIm, será considerado definitivamente como denegado

El Comité tanto en su composición como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el Real Decreto 1090/2015, y su composición actual es la siguiente:



Presidenta: Gallego Melcón, Soledad. Médico  
 Vicepresidente: Segarra Sarries, Joan. Abogado  
 Secretaria: Navarro Sebastián, Mireia. Química  
 Vocales: Armadans Gil, Lluís. Médico  
 Azpiroz Vidaur, Fernando. Médico  
 Balasso, Valentina. Médico  
 Cucurull Folguera, Esther. Médico Farmacóloga  
 De Torres Ramírez, Inés M. Médico  
 Fernández Liz, Eladio. Farmacéutico de Atención Primaria  
 Fuentes Camps, Inmaculada. Médico Farmacóloga  
 Gálvez Hernando, Gloria María. Diplomada Enfermería, Unidad de  
 Atención al Paciente  
 Guardia Massó, Jaume. Médico  
 Joshi Jubert, Nayana. Médico  
 Diplomada Enfermería  
 Hortal Ibarra, Juan Carlos. Profesor de Universidad de Derecho  
 Iavecchia, María Luján. Médico Farmacólogo  
 Roca Gas, Oriol. Médico  
 Rodríguez Gallego, Alexis. Médico Farmacólogo  
 Sánchez Raya, Judith. Médico  
 Solé Orsola, Marta. Diplomada Enfermería  
 Suñé Martín, Pilar. Farmacéutica Hospital  
 Vargas Blasco, Víctor, Médico  
 Zuriguel Pérez, Esperanza. Diplomada Enfermería,

En dicha reunión del Comité de Ética de Investigación con Medicamentos se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

En el caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/ colaborador, éste se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.

Lo que firmo en Barcelona a 21 de septiembre de 2018

**MIREIA NAVARRO  
SEBASTIAN**

Firmado digitalmente por MIREIA NAVARRO SEBASTIAN  
 Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, ou=Vigeva https://  
 www.aec2.cat/CATCar/Regulacio, cn=NAVARRO SEBASTIAN,  
 givenName=MIREIA, serialNumber=381712762, cn=MIREIA  
 NAVARRO SEBASTIAN  
 Fecha: 2018.09.25 10:12:26 +02'00'

Sra. Mireia Navarro Sebastián  
 Secretaria del CEIm

### 10.3 Informe del Comité Ético de Investigación Clínica (2º estudio)



Sant Antoni Ma Claret, 167 · 08025 Barcelona  
Tel. 93 291 90 00 · Fax 93 291 94 27  
e-mail: santpau@santpau.cat  
www.santpau.cat

#### DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Doña Milagros Alonso Martínez, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica de la Fundació de Gestió Sanitària del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona,

#### CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor, para que se realice el estudio:

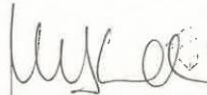

TÍTULO: Randomized open-label control trial to evaluate if the incorporation of sFlt1/PlGF ratio in the diagnosis and classification of PE improves maternal and perinatal outcomes in women with the suspicion of the disease (EuroPE Study).			
PROMOTOR: INSTITUT DE RECERCA HSCSP			
CÓDIGO	Nº EudraCT	VERSIÓN	Ref. HSCSP
IIBSP-EUR-2017-20	NO PROCEDE	2 de fecha 02/03/2017	17/185 (PS)
Hoja de información al participante y consentimiento informado, versión: 2 de fecha 02/03/2017			

Y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.
- La capacidad de los investigadores y las instalaciones y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como el plan de reclutamiento de los sujetos.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Por tanto este CEIC acepta que dicho estudio sea realizado en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona) por el investigador principal DRA. E. LLURBA OLIVE.

Lo que firmo en Barcelona, a 28 de junio de 2017.

Dra. Milagros Alonso Martínez



Sant Antoni Ma Claret, 167 · 08025 Barcelona  
 Tel. 93 291 90 00 · Fax 93 291 94 27  
 e-mail: santpau@santpau.cat  
 www.santpau.cat

<b>TÍTULO: Randomized open-label control trial to evaluate if the incorporation of sFlt1/PlGF ratio in the diagnosis and classification of PE improves maternal and perinatal outcomes in women with the suspicion of the disease (EuroPE Study).</b>			
<b>PROMOTOR: INSTITUT DE RECERCA HSCSP</b>			
<b>CÓDIGO</b>	<b>Nº EudraCT</b>	<b>VERSIÓN</b>	<b>Ref. HSCSP</b>
<b>IIBSP-EUR-2017-20</b>	<b>NO PROCEDE</b>	<b>2 de fecha 02/03/2017</b>	<b>17/185 (PS)</b>
Hoja de información al participante y consentimiento informado, versión: 2 de fecha 02/03/2017			

Dña. **MILAGROS ALONSO MARTÍNEZ**, SECRETARIA DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE LA FUNDACIÓ DE GESTIÓ SANITÀRIA DEL HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU DE BARCELONA,

HACE CONSTAR QUE:

- 1º En la reunión celebrada el día 27 de junio de 2017, se decidió emitir el informe correspondiente al estudio de referencia.
- 2º En dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente.
- 3º El CEIC del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, tanto en composición como en sus PNTs, cumple con las normas de BPC.
- 4º La composición del CEIC del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, teniendo en cuenta que en el caso de que algún miembro participe en el ensayo o declare algún conflicto de interés, no habrá participado en la evaluación ni en el dictamen de la solicitud de autorización del estudio, es la siguiente:

**Presidente:**

Dr. Antonio López Pousa. Médico. Especialista en Oncología Médica

**Vicepresidente:**

Dr. Gerard Urrútia Cuchí. Médico. Especialista en Epidemiología.

**Secretaria:**

Dra. Milagros Alonso Martínez. Médico. Especialista en Farmacología Clínica. Máster en Bioética y Derecho. Comité de Ética Asistencial.

**Vocales:**

Sra. Ester Amado Guirado. Farmacéutica de Atención Primaria.  
 Sra. M<sup>a</sup> Teresa Ricart Basagaña. Diplomada en Enfermería.  
 Dr. Josep Corbella Duch. Doctor en Derecho. Comité de Ética Asistencial.  
 Dr. Francesc Jané Carrencà. Médico. Especialista en Farmacología Clínica.  
 Dr. Xavier León Vintró. Médico. Especialista en Otorrinolaringología.  
 Dr. Jordi Mancebo Cortés. Médico. Especialista en Medicina Intensiva.  
 Sra. Estela Moreno Martínez. Farmacéutica. Especialista en Farmacia Hospitalaria.  
 Dr. Javier Pagonabarraga Mora. Médico. Especialista en Neurología.  
 Sra. M<sup>a</sup> Virtudes Pacheco. Asistente social. Unidad de Atención al Usuario.  
 Sra. Margarida Messeguer Rofes. Persona ajena a les profesiones sanitarias y a la Institución.

Barcelona, a 28 de junio de 2017.

Dra. Milagros Alonso Martínez

## 10.4 Hoja de información y consentimiento informado (1r estudio)

### Hoja de información a la posible participante

#### **FACTORES ANGIOGENICOS DURANTE LA GESTACION Y RIESGO CARDIOVASCULAR A MEDIO-LARGO PLAZO EN LAS PACIENTES CON PREECLAMPSIA y/o RETRASO DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO**

Le solicitamos su participación en este proyecto de investigación cuyo objetivo principal es conocer la influencia de los factores angiogénicos (muchas veces alterados durante los embarazos con patologías, como la preeclampsia y el retraso de crecimiento fetal intrauterino) en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

#### **Beneficios:**

Su participación y la investigación de los factores de riesgo cardiovascular permitirán la identificación de posibles factores relacionados con complicaciones cardiovasculares. Se podrá conocer los factores pronósticos después de la gestación, lo que podría abrir grandes posibilidades de prevención de estas complicaciones y beneficiar a otras mujeres embarazadas.

#### **Procedimientos:**

Se realizará una historia clínica completa mediante serie de preguntas en relación a sus hábitos de vida, una exploración física (peso, talla, tensión arterial, frecuencia cardíaca), se obtendrá una muestra de sangre para análisis marcadores bioquímicos de riesgo cardiovascular, se realizará una ecocardiografía y un electrocardiograma.

#### **Lugar de realización:**

La visita y la historia clínica, así como las muestras de sangre, serán cogidas en la visita con la equipo de alto riesgo obstétrico del Hospital Vall d'Hebron. La ecocardiografía y el electrocardiograma se realizarán en la Unidad de Cardiología.

#### **Molestias y posibles riesgos:**

La realización de la ecocardiografía no supone ninguna molestia para usted. La toma de muestras de sangre le puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y ocasionar un pequeño hematoma o una leve infección que desaparece en pocos días.

**Protección de datos personales:**

- De acuerdo con la Ley 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, los datos personales que se obtengan serán los necesarios para cubrir los fines del estudio. En ninguno de los informes del estudio aparecerá su nombre, y su identidad no será revelada a persona alguna salvo para cumplir con los fines del estudio, y en el caso de urgencia médica o requerimiento legal.
- Cualquier información de carácter personal que pueda ser identificable será conservada por métodos informáticos en condiciones de seguridad por el investigador principal (Dra. Elisa Llurba), o por una institución designada por ella. El acceso a dicha información quedará restringido al personal de la Unidad de Medicina Materno-Fetal y de Cardiología, designado al efecto o a otro personal autorizado que estará obligado a mantener la confidencialidad de la información.
- Su historial médico no será divulgado voluntariamente, ni por miembros del equipo investigador del Hospital Universitari Vall d'Hebrón.
- De acuerdo con la ley vigente, tiene usted derecho al acceso de sus datos personales; asimismo, y si está justificado, tiene derecho a su rectificación y cancelación. Si así lo desea, deberá solicitarlo al médico que le atiende en este estudio. Sin embargo, no puede conocer los resultados de las determinaciones realizadas durante el estudio.
- De acuerdo con la legislación vigente, tiene derecho a ser informado de los datos relevantes para su salud que se obtengan en el curso del estudio. Esta información se le comunicará si lo desea; en el caso de que prefiera no ser informado, su decisión se respetará.

**Uso futuro de las muestras:**

Las muestras obtenidas en cada una de las pacientes incluidas en el estudio se utilizarán directamente para realizar las valoraciones pertinentes en el marco del estudio. Además, le pedimos su consentimiento para que autorice a los investigadores del Hospital Universitari Vall d'Hebrón a almacenar el exceso de muestra no utilizado para otros estudios relacionados con preeclampsia y enfermedades cardiovasculares. Estas muestras se almacenarán en la planta 14 laboratorio CIBBIM en forma de colección con código C 003271 del Registro Nacional de Biobancos, y la persona responsable es la Dra Elisa Llurba. Si autoriza que el material biológico obtenido se utilice en estas investigaciones, sus datos se mantendrán codificados a fin de garantizar la confidencialidad en su utilización, tal como prevé la legislación vigente.

**Almacenamiento de las muestras:**

Las muestras tomadas serán almacenadas en el Laboratorio de la Unidad Materno-Fetal del Hospital Universitari Vall d'Hebrón. Las muestras se utilizarán exclusivamente para investigaciones científicas y no se podrán usar comercialmente. Se contempla la obtención, almacenamiento o el análisis de ADN, con material genético a partir de las células sanguíneas obtenidas de los pacientes incluidos en el estudio.



**Derecho de revocación del consentimiento:**

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria, y si decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que necesite y la relación con el equipo médico que le atiende no se verá afectada.

Si cambia de opinión después de dar sangre para el estudio, puede pedir que se destruya su muestra. Sin embargo, una vez se haya destruido el vínculo que une la muestra de sangre con su identificación, no será posible encontrar su muestra y, por lo tanto, tampoco podrá destruirse.

Si necesita más información sobre este estudio puede contactar con el investigador responsable, la Dra. Elisa Llurba del Servicio de Obstetricia del Hospital Vall d'Hebron. Tel. 934893108/934893185.

## Formulario de consentimiento informado

**Título del estudio:** Factores angiogénicos durante la gestación y riesgo cardiovascular a medio-largo plazo en las pacientes con Preeclampsia y/o Retraso de Crecimiento Intrauterino.

**Investigador principal:** Dr. Elisa Llurba Olivé. Unidad de Medicina Materno-Fetal. Servicio de Obstetricia.

Yo (nombre y apellidos)

.....

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.

- He podido hacer preguntas sobre el estudio.

- He recibido suficiente información sobre el estudio.

- He hablado con: .....

(nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera
2. Sin tener que dar explicaciones.
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

Punto 1:  DOY  NO DOY mi consentimiento voluntariamente para que pueda realizarse el estudio sobre la búsqueda factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares en pacientes que tuvieron preeclampsia o restricción de crecimiento intrauterino durante el embarazo.

Punto 2:  DOY  NO DOY mi consentimiento voluntariamente para que mis muestras (sangre, tejidos y ADN) se almacenen para utilizarlas en otros estudios relacionados con la preeclampsia y el riesgo cardiovascular. Mis muestras se identificarán con un número codificado, y mi identidad se mantendrá en secreto.

Firma del paciente/tutores legales:

Firma del investigador:

Nombre:

Nombre:

Fecha:

Fecha:

## 10.5 Hoja de información y consentimiento informado (2º estudio)

### Hoja de información a la posible participante

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** Incorporación del ratio sFlt1/PIGF en el diagnóstico y clasificación de preeclampsia: Ensayo clínico randomizado (estudio EuroPE)

**CÓDIGO DEL ESTUDIO:** IIBSP-EUR-2017-20

**PROMOTOR:** Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau – IIB Sant Pau

**INVESTIGADOR COORDINADOR:** Dra. Elisa Llurba. Servicio de Ginecología y Obstetricia. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Teléfono: 935537041. email:

ellurba@santpau.cat

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** .....

**CENTRO:** .....

### INTRODUCCION

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de su centro.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

### PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

### DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

El objetivo principal de este estudio es evaluar dos opciones de manejo en las pacientes con sospecha clínica o diagnóstico de preeclampsia para conocer cuál de ellas es la más conveniente.

La sospecha de preeclampsia aparece en algún momento de la gestación en un 10% de las gestantes. La preeclampsia es una enfermedad potencialmente grave para la gestante y el feto. En el momento actual el diagnóstico de preeclampsia se lleva a cabo por la presencia

de proteína en la orina así como  $TA > 140/90$ . Los síntomas asociados también ayudan al diagnóstico (dolor de cabeza, dolor en la parte alta del abdomen, edemas o hinchazón alteraciones analíticas...), aunque todos ellos son muy frecuentes en el embarazo normal. Considerando todos estos datos clásicos de manera conjunta, se consigue diagnosticar sólo el 30% de las pacientes que presentarán una preeclampsia. El ratio sFlt1/PlGF ha sido estudiado en su utilidad para el diagnóstico precoz de preeclampsia y se ha visto que consigue descartar aquellas pacientes que no presentarán preeclampsia en las siguientes semanas con una fiabilidad del 99.3%. Este ratio se obtiene mediante una analítica de sangre aprovechando una de las extracciones que se realizan en las pacientes con este tipo de síntomas.

Por este motivo, el ratio sFlt1/PlGF ayuda a clasificar y a detectar de forma más fiable las pacientes que van a desarrollar la enfermedad y así evitar ingresos e intervenciones innecesarias en aquellas pacientes que no lo requieran y ser más precisos en las que sí que lo necesitan.

Además, el ratio sFlt1/PlGF predice mejor que ningún otro dato disponible, el riesgo de complicaciones maternas y fetales ligadas a la insuficiencia placentaria (preeclampsia/retraso de crecimiento).

A pesar de estas evidencias, no se ha llevado a cabo ningún estudio que demuestre que el uso del ratio sFlt1/PlGF en un entorno clínico permita seleccionar mejor las pacientes de mayor riesgo y por tanto, evitar complicaciones maternas y/o fetales.

En este estudio pretendemos demostrar que conocer el valor del ratio sFlt1/PlGF y actuar en consecuencia, permitirá clasificar mejor las pacientes con mayor riesgo de complicaciones y actuar de forma más adecuada para mejorar los resultados tanto de las madres como de los fetos.

Este estudio se realizará en 17 centros de España y un centro en Colombia, y se incluirán un total de 2536 pacientes en las distintas ramas del estudio: 1268 en el grupo control y 1268 en el grupo control.

### **Procedimientos del estudio:**

En este estudio se pretenden comparar dos manejos clínicos en dos cohortes. La asignación a una de ellas vendrá determinada por el azar. Su médico no intervendrá en este proceso. Usted tendrá una probabilidad del 50% de ser asignada a una de las dos cohortes contempladas en este estudio. En ambas cohortes se determinará el ratio sFlt1/PlGF. La diferencia entre ambas cohortes será el uso del ratio sFlt1/PlGF

Cohorte control: El médico y usted desconocerán el valor del ratio sFlt1/PlGF y se actuará según el protocolo habitual de preeclampsia de su hospital.

Cohorte estudio: El médico conocerá el valor del ratio sFlt1/PlGF y tomará decisiones en base al resultado del ratio sFlt1/PlGF, las semanas de gestación y los datos clínicos y analíticos habituales en preeclampsia.

Si decide participar, se le realizará una historia clínica y una exploración física detallada y se le extraerá un tubo adicional de 10 cc de sangre para el análisis del ratio sFlt1/PlGF y otros marcadores de preeclampsia.

Si es posible se extraerá la muestra al mismo tiempo que se extraiga sangre por otra razón necesaria para el control normal de la gestación.

En algunas ocasiones se requerirá la extracción de muestras adicionales, dependiendo del valor del ratio, así como de las semanas de gestación.

Adicionalmente al momento del parto, se extraerá una muestra de sangre del cordón umbilical para el estudio del ratio sFlt1/PlGF. Y además a las pacientes participantes del Hospital Sant Pau se les tomará una muestra de placenta para la evaluación de marcadores de lesión placentaria.

Su participación en el estudio será desde el momento que firme este documento hasta los 40 días posparto

#### **Lugar de realización de los análisis:**

Las muestras de sangre extraídas serán analizadas en el laboratorio de cada centro participante para la determinación del ratio sFlt1/PlGF. Posteriormente, las muestras se enviarán al H.Sant Pau para completar el estudio de otros marcadores en relación a la preeclampsia.

#### **Beneficios:**

Es posible que de su participación en este estudio no obtenga un beneficio directo. Sin embargo, la evaluación de nuevas estrategias relacionadas con el tratamiento de la insuficiencia placentaria podría contribuir a mejorar el pronóstico en futuras pacientes.

#### **Molestias y posibles riesgos:**

La toma de muestras de sangre le puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y ocasionar un pequeño hematoma o una leve infección que desaparece en pocos días.

No hay otros riesgos esperables para la madre ni para el bebé.

#### **Protección de datos personales:**

- De acuerdo con la Ley 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, los datos personales que se obtengan serán los necesarios para cubrir los fines del estudio. En ninguno de los informes del estudio aparecerá su nombre, y su identidad no será revelada a persona alguna salvo para cumplir con los fines del estudio, y en el caso de urgencia médica o requerimiento legal.
- Cualquier información de carácter personal que pueda ser identificable será conservada por métodos informáticos en condiciones de seguridad por el investigador coordinador del estudio (Dra. Elisa Llurba), o por una institución designada por ella. El acceso a dicha información quedará restringido al equipo investigador designado al efecto o a otro personal autorizado que estará obligado a mantener la confidencialidad de la información.
- Su historial médico no será divulgado voluntariamente ni por miembros del equipo investigador.
- De acuerdo con la ley vigente, tiene usted derecho al acceso de sus datos personales; asimismo, y si está justificado, tiene derecho a su rectificación y cancelación. Si así lo desea, deberá solicitarlo al médico que le atiende en este

estudio. Sin embargo, no puede conocer los resultados de las determinaciones realizadas durante el estudio.

- De acuerdo con la legislación vigente, tiene derecho a ser informado de los datos relevantes para su salud que se obtengan en el curso del estudio. Esta información se le comunicará si lo desea; en el caso de que prefiera no ser informado, su decisión se
- respetará.

### **Implicaciones de la información obtenida en el estudio:**

Si decide participar en el estudio, es posible que en el análisis de sus muestras biológicas se obtenga información relevante para su salud o la de su familia. De acuerdo con la legislación vigente, tiene derecho a ser informado de los datos genéticos que se obtengan en el curso del estudio.

Si quiere conocer los datos genéticos relevantes para su salud que se obtengan, infórmese a través de su médico sobre las implicaciones que esta información puede tener para su persona y su familia. Esta información se le comunicará si lo desea; en el caso de que prefiera no ser informado, su decisión se respetará.

### **Uso futuro de las muestras:**

Las muestras de sangre materna y de cordón umbilical de las pacientes incluidas en el estudio se utilizarán directamente para realizar las valoraciones pertinentes en el marco del estudio.

Una vez finalizado el estudio las muestras biológicas sobrantes serán guardadas en la colección C.0004338, cuya responsable es la Dra. Elisa Llurba, si usted lo autoriza mediante la firma del consentimiento específico para ello (hoja de información y formulario de consentimiento aparte).

### **Compensación económica:**

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto ni compensación económica. Si necesita más información sobre este estudio puede contactar con el investigador principal de su centro o con la investigadora coordinadora Dra. Elisa Llurba.

**Recuerde que su participación en el estudio es totalmente voluntaria, y si decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que necesite y la relación con el equipo médico que le atiende no se verá afectada.**

**Muchas gracias por su colaboración**

## Formulario de consentimiento informado

**Título del estudio:** Incorporación del ratio sFlt1/PlGF en el diagnóstico y clasificación de preeclampsia: Ensayo clínico randomizado (estudio EuroPE)

Yo (nombre y apellidos) \_\_\_\_\_

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He hablado con (nombre y apellidos del investigador): \_\_\_\_\_

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera
2. Sin tener que dar explicaciones
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Doy mi consentimiento voluntariamente para que pueda realizarse el estudio sobre el uso del ratio sFlt1/PlGF en el manejo de la preeclampsia a partir de mis muestras biológicas, y la información clínica respectiva.

\_\_\_\_\_  
Firma de la paciente

\_\_\_\_\_  
Firma del investigador

Fecha:

Fecha:

De conformidad con lo dispuesto en el art. 5.1 LO 15/1999, de 13 de diciembre, la Fundació de Gestió Sanitaria de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau en cotitularidad con el Institut de Recerca pone en su conocimiento que dispone de un fichero con datos de carácter personal denominado "Investigació i Recerca".

La finalidad de su creación es la realización de estudios de investigación y ensayos clínicos. Los destinatarios de la información son todos los profesionales intervinientes en los estudios de investigación y ensayos clínicos del hospital.

En cualquier caso, puede ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición mediante comunicación escrita, adjuntando una fotocopia del DNI del participante, a la dirección del responsable del fichero: c/Sant Antoni Maria Claret, 167. 08025 Barcelona, indicando como referencia "ensayo clínico".

**Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra la paciente**

## 10.6 Perceived Stress Scale (PSS)

\*Versión española adaptada por el Dr. Eduardo Remor de la escala PSS de Cohen, S., Kamarck, T., & Mermelstein, R. (1983). Versión completa de 14 ítems.

### Escala de Estrés Percibido - Perceived Stress Scale (PSS)

Las preguntas en esta escala hacen referencia a sus sentimientos y pensamientos durante el último mes. En cada caso, por favor indique con una “X” cómo usted se ha sentido o ha pensado en cada situación.

	Nunca	Casi nunca	De vez en cuando	A menudo	Muy a menudo
1. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha estado afectado por algo que ha ocurrido inesperadamente?	0	1	2	3	4
2. En el último mes, ¿con qué frecuencia se ha sentido incapaz de controlar las cosas importantes en su vida?	0	1	2	3	4
3. En el último mes, ¿con qué frecuencia se ha sentido nervioso o estresado?	0	1	2	3	4
4. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha manejado con éxito los pequeños problemas irritantes de la vida?	0	1	2	3	4
5. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha sentido que ha afrontado efectivamente los cambios importantes que han estado ocurriendo en su vida?	0	1	2	3	4
6. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha estado seguro sobre su capacidad para manejar sus problemas personales?	0	1	2	3	4
7. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha sentido que las cosas le van bien?	0	1	2	3	4



8. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha sentido que no podía afrontar todas las cosas que tenía que hacer?	0	1	2	3	4
9. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha podido controlar las dificultades de su vida?	0	1	2	3	4
10. En el último mes, ¿con qué frecuencia se ha sentido que tenía todo bajo control?	0	1	2	3	4
11. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha estado enfadado porque las cosas que le han ocurrido estaban fuera de su control?	0	1	2	3	4
12. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha pensado sobre las cosas que le quedan por hacer?	0	1	2	3	4
13. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha podido controlar la forma de pasar el tiempo?	0	1	2	3	4
14. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha sentido que las dificultades se acumulan tanto que no puede superarlas?	0	1	2	3	4

Esta escala es un instrumento de auto informe que evalúa el nivel de estrés percibido durante el último mes, que consta de 14 ítems con un formato de respuesta de una escala de cinco puntos (0 = nunca, 1 = casi nunca, 2 = de vez en cuando, 3 = a menudo, 4 = muy a menudo). La puntuación total de la PSS se obtiene invirtiendo las puntuaciones de los ítems 4, 5, 6, 7, 9, 10 y 13 (en el sentido siguiente: 0=4, 1=3, 2=2, 3=1 y 4=0) y sumando entonces los 14 ítems. La puntuación directa obtenida indica que a una mayor puntuación corresponde un mayor nivel de estrés percibido.

Puntos de corte: valores de 0-14 indican que casi nunca o nunca está estresado; de 15-28, de vez en cuando está estresado; de 29-42, a menudo está estresado, y de 43-56, muy a menudo está estresado.

Artículos con información sobre la adaptación y validación en España. Remor E. & Carroble JA. (2001). Versión Española de la escala de estrés percibido (PSS-14): Estudio psicométrico en una muestra VIH+. *Ansiedad y Estrés*, 7 (2-3), 195-201.

Remor E. (2006). Psychometric Properties of a European Spanish Version of the Perceived Stress Scale (PSS). *The Spanish Journal of Psychology*, 9 (1), 86-93.

