

PROTOCOLO DE ESTUDIO

TITULO

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)

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

Versión del Protocolo	Versión: 4 Fecha: 21/07/2019
Acrónimo	EuroPE study
Promotor	Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau – IIB Sant Pau Hospital de la Santa Creu i Sant Pau c/ Sant Antoni Maria Claret, 167 08025 Barcelona Tel: 93 553 78 69 Fax: 93 553 78 12
Investigador Coordinador	Dra. Elisa Llurba Servicio de Ginecología y Obstetricia Hospital de la Santa Creu i Sant Pau c/ Sant Antoni Maria Claret, 167 08025 Barcelona Tel.: 93 553 70 41 E-mail: ellurba@santpau.cat
<i>Este Protocolo de Estudio es propiedad del Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau – IIB Sant Pau, y es un documento confidencial. No debe ser copiado o distribuido a otras partes sin autorización escrita previa del Institut de Recerca.</i>	

CUMPLIMIENTO DE LA BUENA PRÁCTICA CLÍNICA

Este ensayo está diseñado para cumplir el Apartado ICH E6 Directriz para la Buena Práctica Clínica, tal y como ha sido implementada en Europa, en fecha 17 de enero de 1997 (Directriz del CPMP- CPMP / ICH / 135 / 95) y en los E.E.U.U., en fecha 9 de mayo de 1997 (Guidance for the Industry E6 Note for Guidance on Good Clinical Practice: Consolidated Guidance, April 1996); los requisitos reguladores locales y la directiva en materia de ensayos clínicos 2001/20/EC del Parlamento Europeo del 4 de Abril de 2001.

1. Resumen

1.1. Identificación del Ensayo	Código de Protocolo del Promotor: IIBSP-EUR-2017-20 Versión: 4. Fecha: 21/10/2017
1.2 Título del ensayo clínico	Randomized open-label control trial to evaluate if the incorporation of sFlt1/PIGF ratio in the diagnosis and classification of PE improves maternal and perinatal outcomes in women with the suspicion of the disease (EuroPE Study)
1.3 Identificación del promotor	Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau – IIB Sant Pau c/ Sant Antoni Maria Claret, 167 08025 Barcelona Tel: 93 553 78 69 Fax: 93 553 78 12
1.4 Fuente de financiación	FIS 2016
1.5 Investigador Coordinador del Estudio	Dra. Elisa Llurba Servicio de Ginecología y Obstetricia Hospital de la Santa Creu i Sant Pau c/ Sant Antoni Maria Claret, 167 08025 Barcelona Tel.: 93 553 70 41 E-mail: ellurba@santpau.cat
1.6 CEIC de Referencia	Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.
1.7 Centros donde se prevé realizar el ensayo	HU de las Palmas (Gran Canaria) H De Cartagena H Lozano Blesa de Zaragoza HU Cruces (Bilbao) HU La Paz (Madrid) H Sant Joan de Déu (Barcelona) H Sant Joan (Reus) H Vall d'Hebron (Barcelona) H Son Llatzer (Mallorca) H Sta Caterina (Girona) H Trueta (Girona) H General de Catalunya H Joan XXIII de Tarragona H Arnau de Vilanova de Lleida H Parc Taulí de Sabadell H Trias i Pujol de Badalona H de la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona) H Bolivariano de Medellín (Colombia) H de Mataró H Son Espases (Mallorca)

	H de Santiago de Compostela
1.8 Justificación y pertinencia del estudio	<p>La preeclampsia es una de las causas más importantes de morbilidad materna y neonatal, y constituye la segunda causa de muerte materna en los países desarrollados. Uno de los principales problemas al tratar de hacer frente a la morbi/mortalidad es el hecho de que todavía estamos confiando en los signos y síntomas indirectos de la enfermedad para su diagnóstico y pronóstico, con un valor predictivo del 30%, por lo que la mayoría de complicaciones graves no se pueden evitar.</p> <p>La causa de la preeclampsia es una deficiente invasión del trofoblasto en las arterias espirales maternas que causa una hipoperfusión placentaria y se caracteriza por un desequilibrio entre la expresión de factores angiogénicos (PIGF) y antiangiogénicos (sFlt1). La relación entre los niveles de estos factores (ratio sFlt-1/ PIGF) tiene una capacidad de discriminar las pacientes con PE y las pacientes con mayor riesgo de resultados maternos o fetales adversos, que cualquiera de los síntomas o signos clínicos utilizados en la actualidad.</p> <p>A pesar de esta evidencia, la definición de la PE sigue cayendo en signos y síntomas inespecíficos, por lo que nuestra capacidad diagnóstica y pronóstica es subóptima.</p> <p>La incorporación del ratio sFlt1/PIGF en la definición de la PE permitirá discriminar mejor a las pacientes con la enfermedad y en este grupo, aquellas con mayor riesgo de complicaciones maternas y perinatales, a su vez que disminuiríamos hospitalizaciones e intervenciones innecesarias, concentrando recursos en las pacientes que de mayor riesgo.</p>
1.9 Diseño del Estudio	Estudio aleatorizado abierto con dos grupos en paralelo multicéntrico
1.10 Objetivo Principal	Demostrar que la incorporación del ratio Flt1/PIGF en el diagnóstico y clasificación de las pacientes con sospecha clínica de PE o PE establecida reduce el riesgo de complicaciones maternas y disminuye las intervenciones innecesarias.
1.11 Intervenciones a evaluar	<u>Rama estudio:</u> ratio sFlt1/PIGF incluido en la definición de PE y en el algoritmo de seguimiento y actuación clínico <u>Rama control.</u> La definición y seguimiento según la definición clásica de la PE (ACOG Practice Bulletin 2013).
1.12 Variable Principal de Valoración	Determinación de los niveles de sFlt1 y de PIGF (picogramos/mL) mediante la plataforma Elecsys mediante electroquimioluminiscencia (Cobas analyzers, Roche Diagnostcs). Niveles plasmáticos de sFlt1 y de PIGF;

	<p>continua (valores z para edad gestacional) y binaria (valores por encima o debajo del p10 según edad gestacional) Ratio sFlt1/PIGF en el momento de la inclusión en el estudio. Binaria (valores por encima o debajo del punto de corte según edad gestacional y publicados Zeisler, NEJM, 2016; Rana S; Circulation, 2012)</p>
<p>1.13 Población en estudio y número de pacientes</p>	<p>Criterios de inclusión:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Gestantes mayores de 18 años. 2. Capacidad para leer y entender consentimiento informado. 3. Gestaciones únicas. 4. >24 semanas y <41 semanas 5. Sospecha de preeclampsia <ol style="list-style-type: none"> a. 140/90 o empeoramiento de HTA crónica b. Aparición de proteinuria (Labstick + o proteinuria > 300mg / 24 horas) o empeoramiento de la misma c. Clínica prodrómica de preeclampsia como epigastralgia, cefalea, fotopsias, acúfenos y aumento de los edemas en cara manos o piernas o aumento del peso (>1 kg por semana en el tercer trimestre) d. Alteraciones analíticas: disminución de las plaquetas < 100.000. Aumento de las transaminasas. e. Alteraciones ecográficas: Feto pequeño para edad gestacional o restricción de crecimiento intrauterino f. Aumento de la resistencia de las arterias uterinas (Doppler art. uterinas primer trimestre \geq o = al percentil 95 y/o <u>Doppler art uterinas segundo trimestre \geq o = al percentil 95</u>) g. Cribado de riesgo de PE de primer trimestre >1/100 según calculadora Medicina Fetal Barcelona o ViewPoint (FMF) u otras calculadoras validadas en la población de estudio. 6. Preeclampsia (ACOG Practice Bulletin 2013) <p>Criterios de exclusión:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Gestación múltiple 2. Gestación < 24 semanas 3. Feto muerto o polimalformado. 4. Necesidad de parto inmediato (eclampsia, edema pulmonar, HTA incontrolada, alteraciones visuales severas, síndrome de HELLP severo (AST/ALT > 600, LDH > 1000, Plaquetas < 50.000, cefalea severa o sufrimiento fetal) <p>N= 2536 pacientes (1268 en el grupo experimental y 1268 en el grupo control) El reclutamiento será competitivo.</p>
<p>1.14 Análisis Estadístico</p>	<p>Análisis descriptivo, univariado y en caso de observar asociación entre factores de confusión y las principales variables a estudio, se considerarán modelos multivariados.</p>

	<p>En los contrastes de hipótesis para la inferencia poblacional se postula una significación estadística de 0,05.</p> <p>Los análisis se realizarán con el paquete estadístico IBM-SPSS 24.</p> <p>Se desarrollarán análisis con el fin de establecer el poder de asociación y predicción de las características analizadas en todos los test de forma independiente y combinada con las variables resultado mediante la implementación de estadística clásica (regresión lineal y logística).</p>
<p>1.15 Consideraciones Éticas</p>	<p>El estudio se llevará a cabo siguiendo rigurosamente las recomendaciones éticas internacionales para investigación y ensayos clínicos en humanos. Así mismo, se garantizarán las normas recogidas en la Declaración de Helsinki y se desarrollará de acuerdo con el protocolo y con los procedimientos normalizados de trabajo (PNTs) que aseguren el cumplimiento de las normas de Buena Práctica Clínica (BPC).</p> <p>El investigador deberá explicar a la paciente la naturaleza del estudio, sus propósitos, procedimientos, duración estimada, los potenciales riesgos y beneficios relacionados con la participación en el estudio, así como cualquier inconveniente que éste le pueda suponer. Cada una de las participantes debe ser advertida de que su participación en el estudio es voluntaria y de que puede abandonar el estudio en cualquier momento, sin que esto afecte a su tratamiento posterior, ni a su relación con los profesionales que le tratan.</p> <p>Para ello se ha diseñado una hoja de información /consentimiento para la paciente, que se adjunta.</p>
<p>1.16 Duración de la participación de los sujetos en el ensayo</p>	<p>La duración de la paciente en el ensayo clínico y en los distintos períodos de desarrollo (reclutamiento, periodo basal, seguimiento, cierre) será variable dependiendo de la duración de la gestación pero será de un máximo de 18 semanas durante la gestación y de 6 semanas postparto</p>
<p>1.17 Evaluación de la Seguridad</p>	<p>Se recogerán, registrarán y evaluarán todos los acontecimientos adversos que ocurran durante el desarrollo del estudio.</p> <p>Se notificará al comité ético respectivo los acontecimientos adversos graves inesperados y que se consideren que puedan estar relacionados al estudio.</p> <p>Debido a que se trata de un estudio en el que no se hará una desviación de la práctica clínica sino que se establecerán los mejores criterios para tomar decisiones clínicas, no se esperan riesgos para las gestantes ni para los recién nacidos distintos a los que pudieran ocurrir en la práctica habitual.</p>

1.18 Calendario del Estudio. Duración del estudio	Primer paciente a incluir: 1/12/2017 Inclusión del último paciente: 1/6/2019 Finalización del último paciente en el estudio: 1/12/2019 Finalización del estudio: 31/12/2019 Duración total del estudio: 3 años
--	--

2. Justificación y Objetivos

2.1. Justificación del Estudio

Importancia clínica y repercusión en la salud de la preeclampsia

El diagnóstico clínico y la definición de la PE se basa en la determinación de signos y síntomas no específicos, como la hipertensión y la proteinuria (1, 2). Se define por la aparición de hipertensión arterial (HTA) y proteinuria a partir de las 20 semanas de gestación. Recientemente, debido a la aceptación de que la medición de la proteinuria es propensa a imprecisiones y al hecho de que las complicaciones de la PE pueden producirse antes de la aparición de proteinuria, el diagnóstico de PE se ha ampliado y se define como la presencia de hipertensión conjuntamente con signos de disfunción orgánica materna independientemente de la proteinuria (3). La presentación y evolución clínica de la PE es variable y comprende desde una PE severa de inicio temprano y rápida progresión -que requiere la finalización precoz de la gestación - hasta un síndrome de inicio tardío con parto a término. Además, la PE puede estar asociada a restricción del crecimiento intrauterino (RCIU), que incrementa aún más la morbilidad y mortalidad neonatal. Las características anteriores sugieren que los estándares clásicos para el diagnóstico no son suficientes para abarcar toda la complejidad del síndrome. Para el manejo adecuado de las mujeres con un riesgo elevado de PE se requiere de una detección temprana y una derivación a centros de cuidado perinatal especializados con el fin de reducir la morbilidad maternal, fetal y neonatal (4-6).

Papel de los factores angiogénicos en la fisiopatología de la PE

La preeclampsia es un trastorno de la placenta que se caracteriza por un desequilibrio de factores angiogénicos y antiangiogénicos (7). Los niveles elevados de soluble fms tirosina quinasa 1 (sFlt-1; un inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular), la reducción de factor de crecimiento placentario (PlGF), y un aumento del ratio sFlt-1/PlGF se han reportado tanto en mujeres con establecida preeclampsia y antes del desarrollo de la preeclampsia (8). Estudios indican que el ratio sFlt-1/PlGF es el marcador más útil para el diagnóstico de preeclampsia (9,10) y lo que es más importante, determina las pacientes con mayor riesgo de resultados maternos o fetales adversos derivados de la insuficiencia placentaria, cuyos diagnósticos no solo incluyen la PE, sino también RCIU o muerte fetal (11).

Evidencia actual de la utilidad del ratio sFlt1/PIGF en la práctica clínica

Hasta la fecha, estudios observaciones han demostrado:

- El estudio de los factores angiogénicos/anti-angiogénicos se ha demostrado útil en el diagnóstico y monitorización de las pacientes con la sospecha clínica de la enfermedad, es decir, en aquellas gestantes con síntomas o signos clínicos de PE, ya que tienen un importante valor pronóstico en discriminar las pacientes de riesgo a desarrollar mal resultado materno o fetal.
- Valores del ratio sFlt-1/PIGF > 85 entre las 20 y las 33+6 semanas de gestación o bien >110 por encima de las 34 son altamente diagnósticos de PE (9) y de resultados adversos, el 85% de las pacientes con ratios elevados, requirieron la finalización del embarazo en menos de 15 días.
- En pacientes con sospecha clínica de la enfermedad, un punto de corte del ratio sFlt1/PIGF de 38 (independientemente de la edad gestacional) distinguía aquellas pacientes con mayor riesgo de desarrollar PE o complicaciones perinatales en la siguiente semana con un valor predictivo negativo del 99,3%. Por el contrario, un ratio superior a 38 tenía un valor predictivo positivo de desarrollar PE en los próximos 4 semanas del 36,7% o bien de cualquier resultado adverso materno o fetal del 66% (12)
- En pacientes con preeclampsia y sFlt-1/PIGF > 655.2 se hallan en riesgo elevado de finalización inminente de la gestación debido a complicaciones maternas y/o fetales. Tras 7 días solo el 5.9% de ellas no habían tenido que ser finalizadas electivamente (9)
- En gestantes de menos de 34 semanas, el ratio sFlt1/PIGF de aquellas que presentaron algún acontecimiento gestacional adverso relacionado con la insuficiencia placentaria, fue de 226.6 [50.4–547.3]. En aquellas que no presentaron eventos adversos, el ratio fue de 4.5 [2.0–13.5], $p < 0.0001$ (9).
- Estudios teóricos de coste efectividad sugieren que el uso del ratio como criterio de PE es costebeneficioso
- Estudio piloto de intervención sugiere que la incorporación del ratio puede disminuir ingresos innecesarios hasta en un 30%. Además el conocimiento de este test hubiese cambiado la decisión de realizar otras pruebas como analíticas, ecografías, administración de corticoides o de medicación antihipertensiva e inducciones al parto; y en cambio, dirigir recursos a las pacientes con mayor riesgo de complicaciones (13).

Situación actual del diagnóstico y tratamiento de la PE

El manejo de las mujeres que se presentan HTA o bien algún signo de PE en la segunda mitad del embarazo es extremadamente difícil. La presentación puede reflejar hipertensión gestacional, hipertensión crónica no diagnosticada previamente o una etapa temprana de la preeclampsia. Las gestantes con hipertensión gestacional y HTA crónica generalmente tienen buenos resultados del embarazo. Las mediciones de la presión arterial y la proteinuria tienen bajo valor predictivo (30%) de desarrollo de PE o de sus complicaciones (14).

Por tanto, dada la incertidumbre y los riesgos maternos y fetales graves asociados con la preeclampsia, las mujeres que presentan sospecha de PE suelen ser hospitalizadas para su evaluación y seguimiento, con los costos sustanciales que conlleva, ya que el 80% de ellas podrían manejarse de forma ambulatoria.

En los hospitales españoles, la HTA durante la gestación es la segunda causa de ingreso en las Unidades de Alto Riesgo Obstétrico después del parto prematuro. Además, estas medidas, no aseguran que se eviten complicaciones, o bien porque seleccionamos mal las pacientes que requieren este control exhaustivo, o bien porque no se diagnostican a tiempo las complicaciones graves.

Según informe de CMACE, la PE es a menudo asintomática, y a veces los síntomas (por ejemplo, dolor epigástrico y dolor de cabeza) son inespecíficos y frecuentes en el embarazo normal, con lo que muchas veces se subestima su importancia. La proteinuria se malinterpreta como una infección del tracto urinario, y el dolor epigástrico como gastritis o indigestión.

Otro problema al intentar hacer frente a estos casos es que el curso de la enfermedad es a menudo impredecible en su presentación y la velocidad de progresión (15).

En el último informe del Reino Unido de las Investigaciones Confidenciales sobre Muertes Maternas (el informe CMACE) (16), 20 de las 22 muertes relacionadas con preeclampsia involucraron una atención deficiente a diferencia de cualquier otra causa de muerte materna. La atención deficiente en el 63% de estas muertes se clasificó como importante y se les describe como "sin duda, evitables". Las mayoría de los resultados adversos ocurren en mujeres que no cumplían la definición clásica de la PE o bien, en aquellas etiquetadas de PE leve.

Las altas tasas de mortalidad y morbilidad de esta enfermedad son inaceptables, ya que se deben al hecho de que hasta ahora, no definimos a las mujeres en riesgo de resultados

adversos, ya que seguimos utilizando una definición basada en las consecuencias de la enfermedad que no siempre son constantes ni reflejan la gravedad.

La correcta identificación y el diagnóstico de las mujeres en situación de riesgo podrían evitar resultados adversos y disminuir ingresos y pruebas innecesarias al 80% de pacientes que no son de riesgo. La situación actual debe cambiar. Las muertes por preeclampsia deben ser excepcionales, sin atención deficiente, y no una causa principal de mortalidad materna. Por tanto, proponemos que volver a definir preeclampsia como una entidad causada por un desequilibrio de los factores angiogénicos y anti-angiogénicos. Estamos en el momento oportuno para demostrar la utilidad de la incorporación del ratio sFlt1 / PlGF en el diagnóstico y manejo de la enfermedad con el fin de cambiar las políticas sanitarias y hacer posible mejorar la salud materna y neonatal.

Necesidad de nuevos biomarcadores en la predicción riesgo

La PE es una enfermedad multifactorial, no solo la placenta es importante, sino que la predisposición materna es también decisiva. A pesar de la importancia de la susceptibilidad materna, no contamos con marcadores que nos indiquen aquellas pacientes que, por su condición, tienen más riesgo a una progresión y desenlace desfavorable. Nuestro grupo ha contribuido desde hace más de 10 años al concepto que la PE es más que una enfermedad, y hemos visto como el tipo de metabolismo lipídico o la susceptibilidad al estrés oxidativo son determinantes(17,18). Más recientemente, hemos descrito una nueva molécula, esfingomielinasa (19), en relación a la susceptibilidad a la PE, y especialmente a la PE tardía, la que tiene un mayor componente de susceptibilidad materna y por tanto es perceptivo intentar evaluar esta molécula en estudios prospectivos como el que se plantea en el presente proyecto. En este estudio, pretendemos explorar la utilidad de esta nuevo molécula en la detección de riesgo de complicaciones así como su correlación con los factores angiogénicos (PlGF) y antiangiogénicos (sFlt1, sEndoglin), marcadores de daño endotelial (VCAM). El estudio se llevará a cabo en sangre materna en el momento del diagnóstico y en el momento de la finalización de la gestación en las pacientes con PE establecida en el grupo control y en el grupo caso. Así mismo, en un subgrupo de pacientes provenientes del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau se tomará una muestra de placenta para evaluar la expresión de otros marcadores de lesión placentaria (apoptosis), estrés oxidativo, e hipoxia crónica (HIF-2), factores angiogénicos (PlGF, VEGF) y antiangiogénicos (sFlt1, sEnd) y esfingomielina.

Necesidad de realización del estudio

En estos momentos no existe clara recomendación de la actitud clínica a realizar ante la sospecha de PE. Tampoco está claramente establecido el momento de finalización del parto en los casos de PE grave < 34 semanas y en los casos de PE leve entre las 34 y 37 semanas.

A pesar de que sabemos que el ratio sFlt1/PIGF discrimina mejor que los métodos actuales las pacientes que van a desarrollar PE o las que padecerán complicaciones graves, aún se requieren más estudios para dar respuesta a las siguientes cuestiones clínicas:

- 1) ¿La aplicación clínica del ratio mejora el pronóstico materno y/o fetal?
- 2) ¿Qué debemos hacer con las pacientes ante un determinado valor del ratio?
- 3) ¿Disminuye la estancia hospitalaria y los costes si se aplica en la práctica clínica?
- 4) ¿Es útil realizar medidas repetidas?
- 5) ¿La progresión del ratio se correlaciona con la evolución y la gravedad de la enfermedad?
- 6) ¿Con su uso se va a mejorar los niveles de angustia de las gestantes con la enfermedad o con riesgo a padecerla?
- 7) ¿Podemos individualizar el riesgo según parámetros bioquímicos, clínicos y de imagen integrados en un algoritmo predictivo que sea útil en la práctica clínica

Para tal fin, proponemos un ensayo clínico multicéntrico, abierto, aleatorizado y controlado con un análisis por intención de tratar. El estudio es pragmático: se llevará a cabo para reflejar la práctica clínica real. El objetivo principal de este estudio es determinar el impacto de la incorporación del ratio como herramienta de diagnóstico en la definición y clasificación de la PE, en comparación con su definición habitual, para la toma de decisiones de triage y de parto. Por tanto no se hará una desviación de la práctica clínica sino que se establecerán los mejores criterios para tomar decisiones clínicas incluyendo el ratio sFlt1/PIGF.

Hipótesis principal

H: La incorporación del ratio sFlt1/PIGF en la definición de la PE permite discriminar mejor a las pacientes con riesgo a desarrollar preeclampsia disminuyendo las intervenciones innecesarias, y en las pacientes con PE establecida, clasificar aquellas con mayor riesgo de complicaciones maternas y perinatales, permitiendo aplicar las medidas terapéuticas oportunas de forma que evite el desarrollo de tales complicaciones.

Hipòtesis secundaries

- H1: La incorporació del ratio sFlt1/PlGF en el grup de pacients amb sospesa clínica de PE disminuirà estada hospitalària
- H2: L'ús del ratio sFlt1/PlGF per a la classificació dels pacients amb PE millora els resultats materns sense emperrar els resultats perinatals respecte al grup control.
- H3: L'ús del ratio sFlt1/PlGF per a la classificació dels pacients amb PE greu i precoz millora els resultats materns sense emperrar els resultats perinatals respecte al grup control.
- H4: L'integració del ratio sFlt1/PlGF amb informació clínica basada en paràmetres clínics, bioquímics i de imatge materna i fetal, permet desenvolupar algorismes predictius per individualitzar el risc de complicacions perinatals en pacients amb preeclàmpsia.
- H5: En les pacients amb PE, la combinació del ratio sFlt1/PlGF amb informació clínica, bioquímica i de imatge amb biomarcadors d'apoptosis (esfingomielinasa), antiangiogènics (sEndoglin) i de dany endotelial (VCAM) pot millorar la capacitat de detecció de complicacions.

Justificació

La preeclàmpsia és una de les causes més importants de morbiditat materna i neonatal, i constitueix la segona causa de mort materna en els països desenvolupats. Uno de els principals problemes al tractar de fer front a la morbi/mortalitat és el fet de que encara estem confiant en els signes i símptomes indirectes de la malaltia per al seu diagnòstic i pronòstic, amb un valor predictiu del 30%, per la qual cosa la majoria de complicacions greus no es poden evitar.

La causa de la preeclàmpsia és una deficient invasió del trofoblaste en les artèries espirals maternes que causa una hipoperfusió placentària i es caracteritza per un desequilibri entre l'expressió de factors angiogènics (PlGF) i antiangiogènics (sFlt1). La relació entre els nivells d'aquests factors (ratio sFlt-1/ PlGF) té una capacitat de discriminar les pacients amb PE i les pacients amb major risc de resultats materns o fetals adversos, que qualsevol dels símptomes o signes clínics emprats en l'actualitat.

A pesar d'aquesta evidència, la definició de la PE segueix recançant en signes i símptomes inespecífics, per la qual cosa la nostra capacitat diagnòstica i pronòstica és subòptima.

La incorporación del ratio sFlt1/PlGF en la definición de la PE permitirá discriminar mejor a las pacientes con la enfermedad y en este grupo, aquellas con mayor riesgo de complicaciones maternas y perinatales, a su vez que disminuirémos hospitalizaciones e intervenciones innecesarias, concentrando recursos en las pacientes que de mayor riesgo.

La finalidad principal del siguiente proyecto es demostrar que el uso de la relación sFlt1/PlGF en el diagnóstico y clasificación de PE mejora los resultados maternos y fetales y reduce las intervenciones innecesarias en las pacientes con sospecha clínica o bien, con criterios establecidos de PE.

2.2. Objetivos del Estudio

Objetivo principal

O: Demostrar que la incorporación del ratio Flt1/PlGF en el diagnóstico y clasificación de las pacientes con sospecha clínica de PE o PE establecida reduce el riesgo de complicaciones maternas y disminuye las intervenciones innecesarias.

Objetivos específicos

- O1:** Demostrar que la incorporación del ratio sFlt1/PlGF en el grupo de pacientes con sospecha clínica de PE disminuye la estancia hospitalaria respecto al grupo control.
- O2:** Demostrar que la incorporación del ratio Flt1/PlGF en la clasificación de las pacientes con PE establecida mejora los resultados maternos sin empeorar los resultados perinatales respecto al grupo control.
- O3:** Demostrar que la incorporación del ratio Flt1/PlGF en la clasificación de las pacientes con PE grave y precoz en actitud expectante mejora los resultados maternos sin empeorar los resultados perinatales respecto al grupo control.
- O4:** Desarrollar mediante estudios de regresión y data mining algoritmos que permitan seleccionar las variables con mayor capacidad de predictiva con el fin de construir algoritmos predictivos que aporten soluciones clínicas para evaluar el riesgo de mal pronóstico.
- O5:** Explorar la utilidad de la combinación de marcadores de apoptosis (esfingomielinasa), antiangiogénicos (sEndoglin) y de daño endotelial (VCAM) con el ratio sFlt1/PlGF, parámetros clínicos, bioquímicos y de imagen para la predicción de resultados adversos.

3. Tipo de Estudio y Diseño

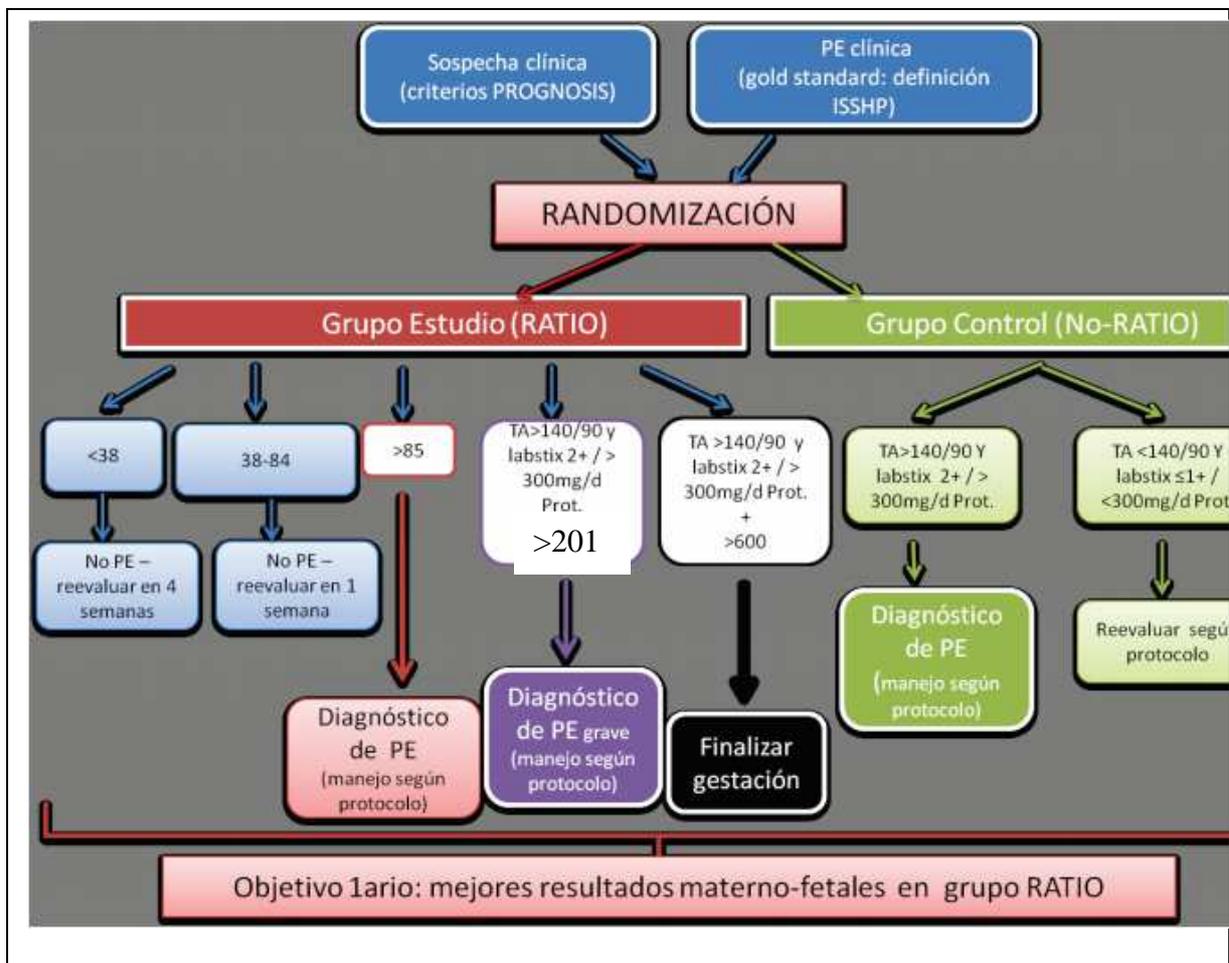
Estudio aleatorizado abierto con dos grupos en paralelo multicéntrico.

Centros participantes:

HU de las Palmas (Gran Canaria)
H Lozano Blesa de Zaragoza

HU Cruces (Bilbao)
H Sant Joan de Déu (Barcelona)
H Vall d'Hebron (Barcelona)
H Sta Caterina (Girona)
H General de Catalunya
H Arnau de Vilanova de Lleida
H Trias i Pujol de Badalona
H de Mataró
H Son Espases (Mallorca)
H de Santiago de Compostela

H De Cartagena
H. Bolivariano de Medellín (Colombia)
HU La Paz (Madrid)
H Sant Joan (Reus)
H Son Llatzer (Mallorca)
H Trueta (Girona)
H Joan XXIII Tarragona
H Parc Taulí de Sabadell
H de la Santa Creu i Sant Pau



4. Sujetos del estudio

4.1. Selección de sujetos

Criterios de inclusión:

1. Gestantes mayores de 18 años.
2. Capacidad para leer y entender consentimiento informado.
3. Gestaciones únicas.
4. >24 semanas y <41 semanas
5. Sospecha de preeclampsia
 - a. 140/90 o empeoramiento de HTA crónica
 - b. Aparición de proteinuria (Labstick + o proteinuria > 300mg / 24 horas) o empeoramiento de la misma
 - c. Clínica prodrómica de preeclampsia como epigastralgia, cefalea, fopsias, acúfenos y aumento de los edemas en cara manos o piernas o aumento del peso (>1 kg por semana en el tercer trimestre)
 - d. Alteraciones analíticas: disminución de las plaquetas < 100.000. Aumento de las transaminasas.
 - e. Alteraciones ecográficas: Feto pequeño para edad gestacional o restricción de crecimiento intrauterino.
 - f. Aumento de la resistencia de las arterias uterinas. (Doppler art. uterinas primer trimestre \geq o = al percentil 95 y/o Doppler art. uterinas segundo trimestre > o = al percentil 95)
 - g. Cribado de riesgo de PE de primer trimestre >1/100 según calculadora Medicina Fetal Barcelona o ViewPoint (FMF) u otras calculadoras validadas en la población de estudio.
6. Preeclampsia (ACOG Practice Bulletin 2013)

Criterios de exclusión:

1. Gestación múltiple
2. Gestación < 24 semanas

3. Feto muerto o polimalformado.
4. Necesidad de parto inmediato (eclampsia, edema pulmonar, HTA incontrolada, alteraciones visuales severas, síndrome de HELLP severo (AST/ALT > 600, LDH > 1000, Plaquetas < 50.000, cefalea severa o sufrimiento fetal)

4.2. Predeterminación del tamaño muestral

Dada la complejidad del estudio se han realizado tres estimaciones del cálculo de la muestra según los objetivos específicos del estudio:

-O1: Demostrar que la incorporación del ratio sFlt1/PlGF en el grupo de pacientes con sospecha clínica de PE disminuye la estancia hospitalaria respecto al grupo control. Según estudio PreOS (Hund M, Hypertension in Pregnancy, 2015) el porcentaje de ingresos es del 50%, con la incorporación del ratio para la toma de decisiones clínicas los ingresos disminuyen en un 32.5%. En base a este estudio, calculamos que un 50% de pacientes con sospecha clínica requerirán ingreso mientras que en el grupo intervención se reducirá un 30%, se requerirán 139 gestantes por grupo (total 278 pacientes), teniendo en cuenta un 20% de negación a participar en el estudio y 10% de pérdidas en el seguimiento, se requerirán 362 pacientes. La muestra de 362 pacientes permitiría rechazar con un riesgo alfa del 5% que la media de puntuación de morbilidad difiriera entre los dos grupos en más del 30% con una potencia superior al 95%. El porcentaje de pacientes con sospecha clínica es del 10% lo que supone aproximadamente 24.000 partos al año entre los centros un total esperado de 2400 casos al año, el número de pacientes sería claramente alcanzado en los primeros meses de inclusión del estudio.

-O2: Demostrar que la incorporación del ratio Flt1/PlGF en la clasificación de las pacientes con PE establecida mejora los resultados maternos sin empeorar los resultados perinatales respecto al grupo control. El riesgo de complicaciones maternas en estas pacientes es del 13% (Payne B et al, PIERS study, BJOG, 2012). Sin embargo, no existen estudios que evalúen la mejoría de resultados perinatales. La muestra de 1622 pacientes permitiría rechazar con un riesgo alfa del 5% que la media de puntuación de morbilidad difiriera entre los dos grupos en más del 30% con una

potencia superior al 95%. Teniendo en cuenta 10% de pérdidas se requieren 1784 pacientes. El porcentaje de pacientes con PE es del 3.5% lo que supone aproximadamente 24.000 partos al año entre los centros un total esperado de 840 casos al año, y un acumulado de 1890 en el periodo de 27 meses de duración de la inclusión en el estudio, por lo que se espera cubrir el tamaño requerido.

-O3: Demostrar que la incorporación del ratio Flt1/PlGF en la clasificación de las pacientes con PE grave y precoz en actitud expectante mejora los resultados maternos sin empeorar los resultados perinatales respecto al grupo control.

El riesgo de complicaciones maternas en estas pacientes es del 43% (Rana et al, Circulation 2012; Llurba et al, Fetal Growth Congres 2015). Sin embargo, no existen estudios que evalúen la mejoría de resultados perinatales, por lo tanto asumimos que una diferencia clínicamente relevante sería una reducción de dichas complicaciones en un 30%. La muestra de 355 pacientes permitiría rechazar con un riesgo alfa del 5% que la media de puntuación de morbilidad difiriera entre los dos grupos en más del 30% con una potencia superior al 95%. Teniendo en cuenta 10% de pérdidas se requieren 390 pacientes. El porcentaje de pacientes con PE grave precoz es del 0.8% lo que supone aproximadamente 24.000 partos al año entre los centros un total esperado de 192 casos al año, y un acumulado de 432 en el periodo de 27 meses de duración de la inclusión en el estudio, por lo que se espera cubrir el tamaño requerido.

-O4: Desarrollar mediante estudios de regresión y data mining algoritmos que permitan seleccionar las variables con mayor capacidad de predictiva con el fin de construir algoritmos predictivos que aporten soluciones clínicas para evaluar el riesgo de mal pronóstico mediante una aplicación móvil. Con la inclusión de las pacientes para los O1,2 y 3 se obtendrán datos de 1127 pacientes con sospecha clínica o con PE establecida en la que la decisión clínica se tomará en base a los criterios habituales y por tanto, en la que el estudio de todos estos factores será explotable a la hora de realizar algoritmos predictivos

-O5: Explorar la utilidad de la combinación de marcadores de apoptosis (esfingomielinasa), antiangiogénicos (sEndoglin) y de daño endotelial (VCAM) con el ratio sFlt1/PlGF, parámetros clínicos, bioquímicos y de imagen para la predicción de resultados adversos. Esta parte del estudio se realizará únicamente en el HUVH dado el elevado coste de los reactivos y de la técnica, en aquellas pacientes con PE grave, se

estima que en nuestro centro haya unas 50 pacientes al año (total 30m de inclusión 125 pacientes)

En resumen se estima incluir 2536 pacientes en las distintas ramas del estudio: 1268 en el grupo experimental y 1268 en el grupo control.

4.3. Criterios de retirada y análisis previstos de las retiradas y abandonos

Criterios de retirada o interrupción de los sujetos del ensayo: En los siguientes casos:

- Malformaciones fetales graves o alteraciones cromosómicas que se diagnostiquen tras la aleatorización.
- Interrupción legal de la gestación.
- Por voluntad de la paciente.

Los sujetos retirados o que abandonen el estudio no van a ser reemplazados, sino que el diseño del estudio ya se prevé un 15% de pérdidas para subsanar estas causas.

Los datos que se recogerán de los sujetos retirados o que abandonen el estudio serán los mismos que se recogerán en los casos que sigan incluidos en el estudio y siempre de forma prospectiva, excepto en los casos que el sujeto no lo desee.

5. Descripción de las Intervenciones en estudio

5.1. Intervenciones a evaluar

Las gestantes incluidas en el estudio serán aleatorizadas mediante un programa informático, la asignación será 1:1 para ambas ramas en dos grupos:

1. Rama estudio: ratio sFlt1/PIGF incluido en la definición de PE y en el algoritmo de seguimiento y actuación clínico (ver algoritmo a continuación).

Las pacientes con sospecha de preeclampsia o con preeclampsia ya diagnosticada que ingresen o se controlen los Centros participantes serán informadas de la posibilidad de participar en dicho estudio por el personal médico de urgencias del hospital y/o por los responsables médicos del estudio; asimismo se les proporcionará un documento con la información sobre el estudio y una hoja de consentimiento informado. Si aceptan participar en el mismo, deberán firmar el consentimiento informado. El personal médico rellenará el formulario electrónico de datos demográficos, obstétricos y antecedentes médicos. En las pacientes del grupo estudio se les realizará una determinación del ratio sFlt1/PIGF.

1. Ratio sFlt1/PIGF < 38 se descarta preeclampsia en el momento actual. Se realizará una nueva revaloración en 4 semanas si persiste sospecha clínica
2. Ratio sFlt1/PIGF 38 - 84 se descarta preeclampsia en el momento actual, pero se considera una paciente de alto riesgo a desarrollarla en las próximas semanas. Se realizará una nueva evaluación en 1 semana
3. Ratio sFlt1/PIGF \geq 85 o bien \geq 110 (>34 semanas) se diagnóstica de preeclampsia leve y se realizará un manejo según protocolo consensuado (basado en: E. Llurba. “Estados Hipertensivos del Embarazo”. En Ll. Cabero, MA. Ángeles. Protocolos de Medicina Materno-Fetal (Perinatología). 4ª Edición. 2012. Ediciones Argón. ISBN)
 - a. > 37 semanas: finalización gestación
 - b. 35-36.6: ingreso y control en planta de Alto riesgo Obstétrico, o control ambulatorio según protocolo.
 - c. <34.6: Maduración parenquimatosa fetal, ingreso en ARO, o control ambulatorio según protocolo de preeclampsia.

4. Si una paciente presenta TA > 140/90 con proteinuria positiva (criterios establecidos de PE) y al realizar la relación sFlt1/PIGF > 201 es diagnóstica de preeclampsia grave y se realizará un manejo según protocolo.

a. > 35 semanas: finalización gestación

b. 34-34.6: ingreso y control exhaustivo y maduración parenquimatosa fetal y finalización en el momento finalizada la maduración fetal.

c. <33.6: ingreso unidad de cuidados intensivos obstétricos, control exhaustivo y maduración parenquimatosa fetal.

5. Si una paciente presenta TA > 140/90 con proteinuria positiva y criterios de gravedad de preeclampsia y al realizar la relación sFlt1/PIGF es > 655 se diagnóstica de preeclampsia grave con riesgo materno y/o fetal inmediato que indica necesidad de parto en el momento que finaliza la maduración parenquimatosa fetal.

6. Se obtendrá muestra sanguínea para completar estudio de otros marcadores en relación a la PE: Esfingomielinasa, Endoglina soluble, VCAM.

2. Rama control. La definición y seguimiento según la definición clásica de la PE (ACOG Practice Bulletin 2013).

a. En las pacientes del grupo control se determinaran la relación sFlt1/PIGF pero los resultados no serán disponibles para el clínico ni para los investigadores. A estas pacientes se les aplicará el protocolo habitual de diagnóstico, control y tratamiento de preeclampsia.

b. Se obtendrá muestra sanguínea para completar estudio de otros marcadores en relación a la PE: Esfingomielinasa, Endoglina soluble, VCAM.

5.2. Tratamientos concomitantes. Medicamentos o tratamientos permitidos y no permitidos.

- Medicamentos o tratamientos permitidos:
 - Corticoides para maduración del pulmón fetal (dosis única) o dos dosis en caso de administración antes de las 28 semanas de gestación
 - Tocolíticos: betamiméticos, tractocile
 - Aspirina infantil (100mgr) en las pacientes con antecedentes de PE grave según criterio de su médico

- Antihipertensivos
 - Antihistamínicos
 - Antibióticos
 - Vitaminas y/o oligoelementos
 - Insulina
 - Cualquier medicamento que su médico o comadrona considere oportuno
- Medicamentos no permitidos antes de y/o durante el ensayo
 - No se prevén tratamientos no permitidos

6. Variables del estudio

Variable predictiva principal:

Determinación de los niveles de sFlt1 y de PlGF (picogramos/mL) mediante la plataforma Elecsys mediante electroquimioluminiscencia (Cobas analyzers, Roche Diagnostics). Niveles plasmáticos de sFlt1 y de PlGF; continua (valores z para edad gestacional) y binaria (valores por encima o debajo del p10 según edad gestacional)
Ratio sFlt1/PlGF en el momento de la inclusión en el estudio. Binaria (valores por encima o debajo del punto de corte según edad gestacional y publicados Zeisler, NEJM, 2016; Rana S; Circulation, 2012)

Variables predictivas secundarias:

- a) TA sistólica, TA diastólica
- b) Proteinuria en orina 24h
- c) Doppler feto materno: índice de pulsatilidad (IP) de la arteria umbilical (AU), arteria cerebral media (ACM), índice cerebro-placentario (ICP), arterias uterinas (AUt), Ductus venoso (DV)
- d) Variables bioquímicas: hb, Hto, Plaquetas, AST, ALT, Creat, Urato, LDH, Esfingomielinasa, Endoglina soluble, VCAM

Variable resultado principal

a) Variable compuesta para resultados adversos: desprendimiento prematuro de placenta, cesaría por CTG anormal, muerte fetal, necesidad de 2 o más fármacos antihipertensivos, eclampsia, coagulación intravascular diseminada, mortalidad materna, hemorragia postparto (necesidad de más de 2 concentrados hemáticos), edema agudo de pulmón, hemorragia vascular cerebral, embolia pulmonar, sepsis, ingreso en la UCI, la necesidad de segunda cirugía. Binaria Si/No

Variables resultado secundarias

- a) Días ingreso anteparto (planta de hospitalización). Continua (días)
- b) Complicaciones perinatales definidas como la presencia de cualquiera de los siguientes: parto prematuro admisión UCIN, complicaciones neonatales graves (distres respiratorio, hemorragia intraventricular grado III-IV, conducto arterioso, disfunción renal, enterocolitis necrosante, perforación intestinal, sepsis, retinopatía del prematuro, displasia broncopulmonar, leucomalacia periventricular, la administración postnatal de corticosteroides o fármacos inotrópicos y / o la muerte): Binaria Si/No
- c) Riesgo materno al ingreso (según modelo predictivo PIERS (Von dadelszen P, Lancet 2011). Continua (%)
- d) Días de ingreso anteparto (Unidad de Cuidados Intensivos Obstétricos (EUCOI)) Continua (días)
- e) Días ingreso en UCI. Continua (días)
- f) Días de ingreso en UCIN. Continua (días)
- g) Peso neonatal. Continua (g)
- h) Necesidad de inducción al parto. (Binaria Si/No)
- i) Administración de corticoides para maduración fetal. Binaria Si/No
- j) Administración de Sulfato de Mg. Binaria Si/No
- k) Niveles de sFlt1, PlGF, sEnd, VCAM, esfingomielinasa en sangre materna y cordón umbilical
- l) Progresión del ratio sFlt1/PlGF en intervalo de tiempo

7. Proceso de randomización

El reclutamiento de los casos será competitivo, por tanto, El reclutamiento de pacientes es competitivo, por tanto todos los centros reclutaran pacientes hasta que se alcance la N establecida.

Se tendrán, de forma genérica, tres tipos de hospitales en función de su frecuentación:

- Baja, para aquellos centros con un número de partos que no supere los 2000 anuales, por la prevalencia del problema (se estima en 7.5%), se podrían reclutar unos 150 casos, se preparan listados de aleatorización hasta 200 casos, puesto que se ha tomado un bloque mínimo de repetición de 50 casos, tal como se ha indicado.
- Media, frecuentación entre 2000-3000, con la prevalencia, se podrían reclutar 225 casos, se preparan listados de aleatorización hasta 300.
- Alta, frecuentación superior a 3000, se estima un reclutamiento de unos 300 casos, se preparan listados de aleatorización hasta 400.

En la actualidad se tiene confirmación de 4 centros de alta frecuentación, 8 de media y 6 de baja. La estima de casos, entre todos ellos, en un año, sería de un total de 3900 casos y para dar respuesta a un posible aumento de reclutamiento por uno u otro centro (reclutamiento competitivo) se ha preparado un listado de aleatorización para 5200 pacientes; un valor próximo al doble del número indicado en el protocolo (2536 pacientes, casi 2600).

Para la asignación de cada paciente a un grupo u otro, se tendrán tablas de asignación para cada centro, creadas mediante un programa para tal propósito, en lenguaje del SPSS.

La aleatorización se ha creado en bloques de 50 casos (todos ellos por tanto recibirán el mismo tratamiento) que se alternan según el azar del programa en sintaxis SPSS.

La randomización se hace por bloques de pacientes para facilitar el procesado de las muestras y aprovechar al máximo los kits de factores angiogénicos. Dichos kits tienen un periodo de caducidad de 3 meses y cada vez que se analiza un caso se debe de usar 3 controles. Por eso, en centros pequeños podría pasar que se usara un kit para determinar 10-15 casos desaprovechando el resto. La randomización por bloques también favorece el reclutamiento y el manejo a nivel asistencial ya que los facultativos no tienen pacientes que están en el mismo momento ante dos manejos diferentes y ayuda a que todo el equipo esté familiarizado con el manejo de estas pacientes.

La randomización por bloques es un tipo de randomización que se ha contemplado en el pasado y que tiene la misma validez metodológica que la randomización individualizada. No se esperan sesgos de realizar la randomización de esta forma.

8. Análisis Estadístico

Previa a la realización del análisis estadístico se realizará el almacenamiento de las variables en base de datos diseñada para el estudio.

Inicialmente se procederá a la descripción de las variables de interés (estadística descriptiva), así para las variables categóricas (por ejemplo grupo, resultado adverso y complicación perinatal) se facilitará el porcentaje así como el número de casos (frecuencia relativa y absoluta).

En caso de variables cuantitativas (por ejemplo diversas variables analíticas y días de ingreso) se facilitará la media aritmética con su desviación típica. Se considerará la conveniencia de añadir la mediana en las más relevantes.

Para el estudio de las posibles relaciones entre variables (estadística inferencial) se procederá según sea la naturaleza de las variables a comparar.

En caso de variables dicotómicas (categóricas con dos posibilidades) su relación con otras variables categóricas se evaluará de forma descriptiva con tablas de contingencia y la significación mediante test de chi-cuadrado o test exacto de Fisher.

Las variables dicotómicas frente a variables cuantitativas, se describirán mediante medias y desviación típica, la significación aplicando test de “t” (en aquellas variables con dos valores) o aplicando una anova (análisis de la varianza, en variables con más de dos valores).

En el caso de variables cuantitativas, su posible relación con otras variables cuantitativas se analizará tras calcular el coeficiente de correlación lineal.

En función de los resultados se procederá a una aproximación multivariante (modelo de regresión logística); así para la variable principal de valoración (Sí/No resultado adverso), además de los tests bivariantes indicados se empleará un modelo de regresión logística binario, con un sistema de elección por pasos (hacia delante), del modelo más adecuado; incluyendo aquellas variables que muestren significación en los test iniciales y/o diferencias clínicamente relevantes.

En todos los casos el nivel de significación será el habitual del 5% ($\alpha = 0.05$), aproximación bilateral. No se procederá a ninguna corrección por comparaciones múltiples.

El paquete estadístico empleado en los análisis será IBM-SPSS (v 24.0).

Se plantea la realización de un **análisis intermedio de los resultados**, una vez alcanzada la mitad de la N calculada, en base a la publicación reciente de la revista Lancet (Referencia: Placental growth factor testing to assess women with suspected pre-eclampsia: a multicentre, pragmatic, stepped-wedge cluster-randomised controlled trial. Kate E Duhig et al. Lancet, April 2019).

Se trata de un ensayo clínico aleatorizado donde se incluye la determinación del marcador PLGF en el diagnóstico de preeclampsia. El total de pacientes incluidas es de 1023. La introducción en el grupo caso de la determinación del marcador PLGF en el diagnóstico de preeclampsia demostró una reducción en la morbilidad materna.

En el estudio EUROPE se introduce la ratio sFlt-1/PLGF en la definición y en el manejo de preeclampsia. En publicaciones anteriores, esta ratio ha demostrado ser superior a la determinación única del PLGF debido a que en las etapas finales de la gestación, la alteración del marcador sFlt-1 es mayor a la del marcador PLGF. Por este motivo, si en la publicación comentada se han demostrado diferencias en la morbilidad materna solo con la introducción de un marcador, se considera que en el estudio EUROPE también se podrían demostrar estas

diferencias en la morbilidad materna incluso en la morbilidad neonatal con la introducción del ratio sFlt-1/PLGF.

Por tanto, tal como se ha justificado a tenor de la información publicada, la diferencia esperada entre ambos grupos será claramente superior a la indicada inicialmente en el protocolo. Se estima que con la realización de un análisis intermedio de los datos con la mitad de la muestra (1250 pacientes), será posible encontrar diferencias estadísticamente significativas que nos permitan demostrar la hipótesis principal del estudio y finalizar el ensayo.

Para evitar la sobre dimensión del error de tipo I, en dicho análisis se exigirá que el nivel de significación sea uno nuevo corregido [$\alpha' = \alpha / \text{número comparaciones}$] por tanto en nuestro caso, el nuevo valor de significación será de 0.025.

9. Evaluación de seguridad

Se recogerán, registrarán y evaluarán todos los acontecimientos adversos que ocurran durante el desarrollo del estudio.

9.1. Definiciones

Las definiciones que se seguirán serán las siguientes:

Acontecimiento Adverso grave (AAG) y Reacción Adversa Grave (RAG)

Cualquier acontecimiento adverso o reacción adversa que:

- provoque la muerte del paciente
- amenace la vida del paciente*
- requiera la hospitalización o prolongación de la hospitalización del paciente
- Provoque invalidez o incapacidad permanente o importante
- de lugar a una anomalía o malformación congénita

A efectos de notificación, se tratarán también como graves aquellas sospechas de acontecimiento adverso o reacción adversa que se consideren importantes desde el punto de vista médico, aunque no cumplan los criterios anteriores, incluyendo los acontecimientos médicos importantes que requieran una intervención para evitar que se produzca alguna de las consecuencias anteriormente descritas.

9.2. Manejo de los Acontecimientos Adversos

9.2.1. Recogida de acontecimientos adversos

Se recogerán todos los acontecimientos adversos notificados bien de forma espontánea por parte de la paciente o durante las entrevistas mantenidas con ésta en las visitas del estudio. Se recogerán los AA desde que la paciente firma el Consentimiento Informado (CI) hasta 30 días después de la última visita (aproximadamente en la semana 42 de gestación).

Se deberá solicitar la información relativa a los AA que se hayan producido en el período de tiempo comprendido entre la visita previa y la visita actual, teniendo en cuenta que los considerados fisiológicos no se consideraran AA.

Todos los AA deben documentarse en la historia clínica de la paciente y en el CRD, excepto aquellos AA leves (o no graves) relacionados con las condiciones fisiológicas del embarazo (náuseas, vómitos, etc..) los cuales no es necesario documentar en el CRD.

Debe realizarse un seguimiento de todos los AA hasta su resolución.

Al tratarse de pacientes embarazadas se deberá recoger información sobre:

- Nacimiento normal, aborto espontáneo o terapéutico (cualquier anomalía congénita detectada en el feto abortado debe documentarse) feto nacido muerto, anomalía congénita
- Muertes neonatales producidas en 30 días desde el nacimiento
- Muerte de un lactante después de 30 días si el investigador sospecha que pueda estar relacionada a la participación en el estudio.

9.2.2. AAG que no requieren notificación al promotor

No es necesario notificar de forma inmediata a UICEC del Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau los siguientes AA Graves:

- Hospitalización para la realización de pruebas programadas.
- Hospitalización para la maduración pulmonar fetal.
- Hospitalización para la inducción al parto, sin complicaciones.
- Hospitalización para proporcionar cuidados paliativos, cuidados terminales, para realizar intervenciones quirúrgicas programadas o para la aplicación del protocolo de

maduración fetal.

- Anomalías o malformaciones congénitas detectadas y documentadas en la Historia Clínica de la paciente antes de la firma del CI.
- Las siguientes complicaciones:
 - Desarrollo de retraso de crecimiento intrauterino (RCIU)
 - Óbito fetal
 - Desprendimiento de placenta inserta (DPPNI)
- Complicaciones maternas graves pero de leve intensidad que ocurran durante la fase de gestación, intraparto o puerperio, que el investigador considere no relacionadas con el estudio.

Todos estos AAG sí se recogerán en el CRD y en la historia clínica de la paciente.

El resto de AAGs deberán ser notificados según el procedimiento descrito en el siguiente punto.

9.2.3. Procedimiento para la notificación de AAG

En caso de que se produzca un AAG que deba notificarse al promotor, un miembro del equipo investigador cumplimentará y firmará el formulario de notificación de AAG del estudio que se enviará, por fax, inmediatamente y siempre dentro de las 24 horas posteriores a tener conocimiento del acontecimiento a:

UICEC Sant Pau

Fax: 935537812

Deberá notificarse cualquier AAG que se produzca más de 30 días después de la finalización del estudio si el investigador considera que el AAG está relacionado con el estudio.

9.2.4. Notificación expeditiva de sospecha de RAGIs al comité ético

El promotor del estudio es responsable de notificar a los CEICs las RAGIs que se recojan en el estudio.

El plazo máximo de notificación de un caso individual de sospecha de RAGI será de 15 días naturales a partir del momento en el que el promotor haya tenido conocimiento de la misma.

Cuando la sospecha de RAGI haya ocasionado la muerte del paciente, o puesto en peligro su vida, el promotor enviará la información en un plazo de 7 días naturales a partir del momento en el que tenga conocimiento de la misma. Completará dicha información, en lo posible, en los 8 días siguientes.

9.2.5. Notificación Expeditiva de otra información de seguridad relevante

El promotor notificará también, de manera expeditiva, toda aquella información que pudiera modificar el balance beneficio/riesgo del estudio.

Esta información relevante será notificada tan pronto como sea posible y no más tarde de los 15 días desde que el promotor haya tenido conocimiento de la misma. La información adicional se notificará también lo más rápido posible.

9.3. Informes anuales de seguridad

Los informes anuales de seguridad que incluirán las RAGIs y los AAGs recogidos en el estudio, serán enviados por el promotor a los CEICs como parte de los informes de seguimiento anual de la marcha del estudio.

9.4. Notificación a investigadores

El promotor comunicará, a los investigadores, cualquier información de seguridad que pueda afectar a la seguridad de los sujetos del ensayo, tan pronto como sea posible.

La información sobre las RAGI se enviará anualmente, de forma agregada, en un listado junto con un breve análisis de los datos proporcionados.

También se le informará, a lo largo de todo el estudio, de cualquier aspecto de seguridad que impacte en la realización del ensayo.

10. Aspectos Éticos

Consideraciones Generales

El estudio se llevará a cabo siguiendo rigurosamente las recomendaciones éticas internacionales para investigación y ensayos clínicos en humanos. El investigador serán

responsable de garantizar que el ensayo clínico se realice de acuerdo con las normas recogidas en la Declaración de Helsinki.

Antes de incluir algún sujeto en el estudio, los Comités Éticos de los centros participantes deben de aprobar el protocolo del estudio, la información que se dará al sujeto y el modelo de consentimiento informado que se utilizará.

El estudio deberá desarrollarse de acuerdo con el protocolo y con los Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNTs) que aseguren el cumplimiento de las normas de Buena Práctica Clínica (BPC), tal como se describe en las Normas Tripartitas Armonizadas de la ICH para Buena Práctica Clínica 1996.

Deberá informarse al comité ético de cualquier enmienda posterior al protocolo y se deberá solicitar su opinión en el caso de que fuera necesaria una nueva evaluación de los aspectos éticos del ensayo.

Hoja de información al paciente y consentimiento

Es responsabilidad de los investigadores obtener el consentimiento informado de las pacientes. La paciente no puede participar en ningún procedimiento específico del estudio antes de obtener su consentimiento.

Antes del comienzo del ensayo, y antes de la obtención del consentimiento informado, el investigador o la persona designada por el mismo, explicará al posible sujeto del ensayo los objetivos, métodos y riesgos potenciales del estudio y cualquier molestia que éste pueda ocasionar.

La explicación acerca de la naturaleza, alcance y posibles consecuencias del estudio se realizarán en un lenguaje entendible.

El posible sujeto del ensayo debe tener tiempo para meditar su participación en el estudio, y tener la oportunidad de formular preguntas. Después de esta explicación, y antes de entrar en el ensayo, el consentimiento deberá quedar adecuadamente registrado mediante la firma del sujeto.

Como Anexo se presenta el Modelo de Hoja de Información al Paciente y de Formulario de Consentimiento.

Evaluación de los beneficios y riesgos previsibles para los sujetos del ensayo y otros posibles pacientes.

En estos momentos no existe clara recomendación de la actitud clínica a realizar ante la sospecha de PE. Tampoco está claramente establecido el momento de finalización del parto en los casos de PE grave < 34 semanas y en los casos de PE leve entre las 34 y 37 semanas.

A pesar de que sabemos que el ratio sFlt1/PlGF discrimina mejor que los métodos actuales las pacientes que van a desarrollar PE o las que padecerán complicaciones graves, aún se requieren más estudios para dar respuesta a las siguientes cuestiones clínicas:

- 1) ¿La aplicación clínica del ratio mejora el pronóstico materno y/o fetal?
- 2) ¿Qué debemos hacer con las pacientes ante un determinado valor del ratio?
- 3) ¿Disminuye la estancia hospitalaria y los costes si se aplica en la práctica clínica?
- 4) ¿Es útil realizar medidas repetidas?
- 5) ¿La progresión del ratio se correlaciona con la evolución y la gravedad de la enfermedad?
- 6) ¿Con su uso se va a mejorar los niveles de angustia de las gestantes con la enfermedad o con riesgo a padecerla?
- 7) ¿Podemos individualizar el riesgo según parámetros bioquímicos, clínicos y de imagen integrados en un algoritmo predictivo que sea útil en la práctica clínica

Para tal fin, proponemos este ensayo clínico de diseño pragmático: se llevará a cabo para reflejar la práctica clínica real. La finalidad de este estudio es determinar el impacto de la incorporación del ratio como herramienta de diagnóstico en la definición y clasificación de los PE, en comparación con su definición habitual, para la toma de decisiones de triaje y de parto. Por tanto no se hará una desviación de la práctica clínica sino que se establecerán los mejores criterios para tomar decisiones clínicas incluyendo el ratio sFlt1/Plaf, por lo cual no se esperan riesgos para las gestantes ni para los recién nacidos distintos a los que pudieran ocurrir en la práctica habitual.

Consideraciones sobre el tratamiento de las muestras biológicas

En lo referente a la obtención, manejo, identificación y almacenamiento de muestras biológicas, será de aplicación lo dispuesto en la Ley de Investigación Biomédica 14/2007, de 3 de julio, específicamente en los capítulos III y IV del título V, así como lo dispuesto en el Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, específicamente en el capítulo I del título II,

por el que se establece el tratamiento de muestras biológicas de origen humano con fines de investigación biomédica.

De acuerdo con dichas normativas, la obtención de muestras biológicas con fines de investigación biomédica podrá realizarse únicamente cuando se haya obtenido previamente el consentimiento escrito del sujeto fuente y previa información de las consecuencias y los riesgos que pueda suponer tal obtención para su salud. Dicho consentimiento será revocable.

Una vez finalizado el estudio las muestras biológicas sobrantes serán guardadas en la colección C.0004338, responsable E. Llurba, tras el consentimiento específico del participante para ello.

Confidencialidad de los datos

Para preservar la confidencialidad de los datos personales de los sujetos, únicamente el investigador principal, sus colaboradores y el personal técnico que participe en el estudio tendrán acceso a la identidad de los mismos. Por el mismo motivo, los datos completos de filiación y el consentimiento por escrito se guardarán en el archivo del investigador del centro. En lo referente a la confidencialidad de los datos del estudio se seguirá lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre, de “Protección de Datos de Carácter Personal”. De acuerdo con la Ley 15/1999 de Protección de Datos de Carácter personal, los datos personales que se requieren de los pacientes son los necesarios para cubrir los objetivos de este 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 y procesada por medios informáticos en condiciones de seguridad por los investigadores del estudio. El acceso a dicha información será restringido y se realizará siempre bajo condiciones de confidencialidad. Los resultados del estudio podrán ser comunicados a las autoridades sanitarias y, eventualmente, a la comunidad científica, sin que la identidad de los sujetos participantes conste en ningún caso.

De acuerdo con la ley vigente, el sujeto participante en el estudio tiene derecho al acceso de sus datos personales y, si está justificado, tiene derecho a solicitar su rectificación o cancelación.

La información referente a la identidad de los pacientes será considerada confidencial a todos los efectos. La identidad de los pacientes no podrá ser desvelada ni divulgada. Los datos de los pacientes recogidos en el Cuaderno de Recogida de Datos durante el estudio, deberán documentarse de manera anónima y disociada, vinculándose a un código (número de paciente), de manera que únicamente el investigador podrá asociar tales datos a una persona identificada o identificable.

La base de datos que genere el estudio no contendrá identificación alguna del paciente, más que un código numérico por el que no será posible desvelar su identidad. La información recogida en el estudio, siempre se tratará como datos agrupados y nunca como datos individuales o personales, manteniendo de esta forma el anonimato y la confidencialidad.

Seguro

Debido a que no se contemplan riesgos derivados de la participación en el estudio, no se prevé la contratación de una póliza de seguros.

Limitaciones del estudio

1. Dado que no existen datos en la literatura, el tamaño muestral se ha calculado en base a una diferencia estimada que es clínicamente relevante, por tanto, existe el riesgo de sobreestimación del tamaño muestral o bien que finalmente no se alcance una muestra suficiente para demostrar el objetivo principal. Para evitar dicha limitación, programamos un análisis intermedio de los datos a los 15 meses de inclusión que permitirá evaluar la necesidad de parar el estudio en el caso que se haya alcanzado el objetivo principal, y por tanto, no sería ético continuar con el estudio, o bien para re-calcular el tamaño muestral. En este sentido, dado que se ha establecido un período de reclutamiento de 30 m, podríamos utilizar 3-4 meses más de reclutamiento sin aumentar los costes del estudio.
2. La necesidad de coordinación es muy elevada y esto representa un riesgo. La experiencia de los grupos participantes en estudios colaborativos es una garantía de que en la mayor parte de la implementación se conseguirá una buena adherencia que permitirá garantizar la inclusión de casos cerrados en el tiempo previsto.

11. Consideraciones Prácticas

Plan de trabajo

Duración total de 3 años.

- Protocolo de estudio estandarizada, registro del estudio, CEIC de cada centro
- Hoja de recogida de datos y cuaderno electrónico
- Reunión de inicio
- Selección en inclusión de pacientes
- Reunión intermedia
- Obtención y procesamiento de muestras
- Cierre de período de inclusión
- Análisis datamining y creación de modelos
- Reuniones e informes de seguimiento
- Análisis final de los datos
- Publicación y diseminación resultados

Cronograma	Primer Año				Segundo Año				Tercer Año			
	1-3m	3-6m	6-9m	9-12m	12-15m	15-18m	18-21m	21-24m	24-27m	27-30m	30-33m	33-36m
Protocolo de estudio estandarizada, registro del estudio, CEIC	■											
Reunión de inicio	■											
Hoja de recogida de datos y cuaderno electrónico	■											
Selección en inclusión de pacientes Análisis de muestras sFlt1/PIGF		■	■	■	■	■	■	■	■	■		
Análisis interino. Reunión intermedia					■							
Obtención y procesamiento de muestras (HUVH)		■	■	■	■	■	■	■	■	■		
Análisis datamining y creación de modelos									■	■	■	■
Reuniones e informes de seguimiento	■		■		■		■		■		■	
Análisis final de los datos									■	■	■	
Publicación y diseminación resultados											■	■

Responsabilidad de los Participantes en el Ensayo

El investigador principal se responsabilizará de llevar a cabo el ensayo de acuerdo con las normativas para ensayos clínicos vigentes en España, siendo el responsable único de la ejecución del ensayo. El investigador principal y sus colaboradores se comprometen a

practicar a todos los sujetos incluidos en el ensayo, todas y cada una de las exploraciones y procedimientos que se especifican en el protocolo.

Distribución de tareas

- Protocolo de estudio estandarizada, registro del estudio, CEIC de cada centro: IP de cada centro
- Hoja de recogida de datos y cuaderno electrónico: ELI
- Inclusión gestantes con sospecha clínica de PE y PE establecida: información del estudio y consentimiento informado (CI): IP de cada centro
- Recogida de variables epidemiológicas, antecedentes médicos y obstétricos, complicaciones de la gestación: IP de cada centro
- Control clínico de las pacientes: IP de cada centro
- Determinación ratio sFlt1/Plaf: laboratorio de cada centro
- Determinación de esfingomielinasa, VCAM, sEnd: laboratorio HSCSP
- Análisis de datos: En la última etapa del proyecto se procederá a la evaluación y análisis de los resultados obtenidos, mediante la ayuda y asesoramiento de la Unidad de Soporte Metodológico y Estadístico del Institut de Recerca del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau y la responsable del estudio (ELI).
- Interpretación y la explotación de los resultados se llevarán a cabo por los IP y los investigadores colaboradores.

Condiciones de Archivo de los Datos y Correcciones

Los datos obtenidos deberán transcribirse en el Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) y estos datos se considerarán la información válida para la evaluación posterior de los datos de eficacia y de seguridad de los tratamientos objeto de estudio. Los Cuadernos deberán cumplimentarse correctamente y en caso de que deban corregirse datos ya transcritos estos se tacharán anotándose al lado el valor correcto. Las correcciones deben estar siempre fechadas y validadas por la firma del investigador principal o de sus colaboradores.

Los documentos correspondientes a este ensayo se archivarán en el investigador hasta cinco años tras la finalización del ensayo clínico. En cualquier caso, siempre se mantendrá una lista de identificación de los participantes. El promotor, el Institut de Recerca, mantendrá un archivo principal del estudio durante un periodo de veinticinco años.

Monitorización, auditorias e inspecciones

a) Monitorización

Se prevé monitorizar el estudio por el monitor designado por el promotor.

La monitorización incluirá visitas en el centro y comunicación telefónica con el equipo investigador con el fin de asegurar el correcto cumplimiento del protocolo, las BPC y el reglamento de las autoridades sanitarias.

Durante las visitas de monitorización se revisarán los aspectos más relevantes del estudio, como el procedimiento seguido para la obtención del consentimiento informado, una comprobación de la documentación en el archivo del investigador y un porcentaje de los datos registrados en el CRD (estos datos han de estar correctamente completados y ser veraces con los documentos fuente), criterios de inclusión/exclusión y acontecimientos adversos ocurridos hasta la fecha.

Los hallazgos de la monitorización serán reportados al promotor o a la estructura delegada para que se puedan tomar las medidas oportunas, a través de los informes de las visitas de monitorización. Se enviará una carta de seguimiento al investigador, donde se reportarán los hallazgos más significativos y las cuestiones que hayan podido quedar pendientes.

Al finalizar el estudio se elaborará un informe con los resultados globales acerca de la calidad y fiabilidad de los datos, así como de la adherencia al protocolo y a los procedimientos de buena práctica clínica observados.

Al final del estudio, los cuadernos de recogida de datos se enviarán al Promotor del estudio o a la estructura delegada que corresponda para su archivo.

b) Auditorias

El ensayo clínico se incluirá en el Programa de Garantía de calidad del IR-HSCSP, en relación a la Investigación Clínica, analizando en cada caso la criticidad del ensayo y las auditorias a realizar.

c) Inspecciones

Tanto el Investigador como el Promotor permitirán el acceso directo a los datos o documentos fuente para la realización de la monitorización, la auditoria, la revisión por el CEIC, así como la inspección del ensayo por las autoridades sanitarias en caso de que sean requeridas.

Correcciones al Protocolo del Ensayo Clínico

Cualquier cambio realizado en el protocolo del estudio adoptará siempre la forma de enmienda o addendum por escrito. Para su formalización, se requiere la aprobación de todas las personas responsables del estudio que también firmaron el protocolo. Y si fuesen modificaciones relevantes, es necesaria la aprobación expresa del Comité Ético.

Asignación de los tratamientos en estudio

La lista de aleatorización será generada por la Unidad de Apoyo Metodológico y Estadística del Institut de Recerca de l'HSCSP. El promotor del estudio no tendrá acceso a esta lista. La lista de aleatorización se generará de tal forma que ambas intervenciones tengan igual probabilidad de ser asignadas.

Los pacientes serán incluidos en el estudio de forma consecutiva a partir de la inclusión del primer paciente elegible según los criterios de selección. Cuando se incluya un paciente en el estudio, el investigador le asignará un código de paciente, este código deberá ser consecutivo respecto al anterior código asignado, y tomando como referencia la fecha y hora en que está previsto realizar la intervención.

Los códigos de aleatorización se asignarán de forma correlativa a medida que se vayan incluyendo los pacientes en el estudio.

Se recomienda al centro, que lleve un registro, tanto de los pacientes incluidos como de los no incluidos con el fin de asegurar que no se introduzca ningún sesgo en el proceso de selección. Este registro también permitirá informar acerca de los motivos para no incluir a los pacientes que se han sometido a intervención.

Si se interrumpe la participación en el estudio, el investigador continuará el manejo de las pacientes según el criterio clínico habitual.

Interrupción del Ensayo

El ensayo clínico puede ser interrumpido por el investigador principal y/o por el promotor siempre que exista una causa mayor que lo justifique y que se informe al comité ético.

Condiciones de Publicación

Los resultados obtenidos como consecuencia de la investigación clínica con el producto objeto de estudio serán revisados y discutidos por el equipo investigador y el promotor para su posterior publicación.

Los datos obtenidos no se darán a conocer a terceras partes hasta llegar a un acuerdo con el promotor para su divulgación, bien sea en forma de conferencia, comunicación a congreso, o publicación. Como excepción al párrafo anterior, los investigadores podrán incluir el título del ensayo en sus respectivos Curriculum Vitae, siempre que no incluya ningún dato del promotor.

Elaboración del Informe Final

Tras obtener las conclusiones del estudio, se elaborará un informe final en colaboración con el promotor. Dicho informe incluirá el análisis estadístico y una valoración médica de los resultados. Este informe se basará en los objetivos señalados en el protocolo del estudio.

Bibliografia

1. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health (UK). NICE Clinical Guidelines, No. 107. Hypertension in Pregnancy: The Management of Hypertensive Disorders During Pregnancy. London: RCOG Press; 2010 Aug.
2. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee. WHO Recommendations for Prevention and Treatment of Pre-Eclampsia and Eclampsia. Geneva: World Health Organization; 2011.
3. American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2013; 122: 1122-1131
4. Sanderson M, Sappenfield WM, Jespersen KM, Liu Q, Baker SL. Association between level of delivery hospital and neonatal outcomes among South Carolina Medicaid recipients. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 1504-1511.
5. Bode MM, O'Shea TM, Metzguer KR, Stiles AD. Perinatal regionalization and neonatal mortality in North Carolina, 1968 -1994. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 1302-1307
6. Royal College of Obstetricians and Gynecologist (2006). The management of severe pre-eclampsia/ eclampsia; National Institute of health and Clinical Excellence (NICE) 2008. Antenatal care. NICE clinical guidelines 62. London; Stampalija T, Gyte GM, Alfirevic Z. Utero-placental Doppler ultrasound for improving pregnancy outcome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Sep 8;(9):CD008363
7. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VK, Karumanchi SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003; 111: 649-658.
8. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004; 350: 672-683.

9. Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, Lim KH, Wenger JB, Thadhani R, Karumanchi SA. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation* 2012; 125: 911-919.
10. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H, Calda P, Holzgreve W, Galindo A, Engels T, Denk B, Stepan H. The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 206: 58.e1-8.
11. Crispi F, Llurba E, Domínguez C, Martín-Gallán P, Cabero L, Gratacós E. Predictive value of angiogenic factors and uterine artery Doppler for early- versus late-onset preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008; 31:303-9.
12. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, et al. Predictive value of the sFlt-1:PlGF ratio in women with suspected preeclampsia. *N Engl J Med* 2016;374:13-22
13. Hund M, Verhagen-Kamerbeek W, Reim M, Messinger D, van der Does R, Stepan H. Influence of the sFlt-1/PlGF ratio on clinical decision-making in women with suspected preeclampsia-- the PreOS study protocol. *Hypertens Pregnancy.* 2015;34:102-15
14. Zhang J, Klebanoff MA, Roberts JM. Prediction of adverse outcomes by common definitions of hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2001;97:261-7.
15. Shennan, Andrew H et al. Are most maternal deaths from pre-eclampsia avoidable?. *The Lancet* , Volume 379 , Issue 9827 , 1686 - 1687
16. Cantwell, R, Clutton-Brock, T, Cooper, G et al. Saving Mothers' Lives: reviewing maternal deaths to make motherhood safer: 2006-2008. The eighth Report of the Confidential Enquiries into Maternal Deaths in The United Kingdom. *BJOG.* 2011 Mar;118 Suppl 1:1-203. doi: 10.1111/j.1471-0528.2010.02847.x. Erratum in: *BJOG.* 2015 Apr;122(5):e1.
17. A comprehensive study of oxidative stress and antioxidant status in preeclampsia and normal pregnancy. Llurba E, Gratacós E, Martín-Gallán P, Cabero L, Dominguez C. *Free Radic Biol Med.* 2004 Aug 15;37(4):557-70.
18. Smoking during pregnancy: changes in mid-gestation angiogenic factors in women at risk of developing preeclampsia according to uterine artery Doppler findings.

- Llurba E, Sánchez O, Domínguez C, Soro G, Goya M, Alijotas-Reig J, Cabero L. Hypertens Pregnancy. 2013;32(1):50-9. doi: 10.3109/10641955.2012.704107.
19. Increased secretory sphingomyelinase activity in the first trimester of pregnancy in women later developing preeclampsia: a nested case-control study. Rodríguez-Sureda V, Crovetto F, Triunfo S, Sánchez O, Crispi F, Llurba E, Gratacós E, Figueras F, Domínguez C. Biol Chem. 2016 Mar;397(3):269-79. doi: 10.1515/hsz-2015-0266.
20. Placental growth factor testing to assess women with suspected pre-eclampsia: a multicentre, pragmatic, stepped-wedge cluster-randomised controlled trial. Kate E Duhig et al. Lancet, April 2019

21.

ANEXOS:

Anexo 1: Hoja de información y formulario de consentimiento informado (se presenta como documento aparte)