

UNIVERSIDAD DE VALENCIA
FACULTAD DE MEDICINA
PROGRAMA DE DOCTORADO 3139 EN MEDICINA



Ratio sFlt-1/PIGF en semana 12, 24 y 32 en gestaciones gemelares: predictor de preeclampsia

Memoria para optar al grado de Doctor
Presentada por
Elena Satorres Pérez

Directores
Vicente Diago Almela
Alicia Martínez Varea

Valencia, Junio 2024

INFORME DIRECTORS/AS, TUTOR/A PER A DIPÒSIT DE TESI

Director (es) / Codirector (es):

1.- Apellidos y nombre: Martínez Varea, Alicia N.I.F. 33563751N, Departamento/Instituto: Ginecología y Obstetricia
Centro: Hospital La Fe, Valencia

2.- Apellidos y nombre: Vicente José Diago Almela N.I.F. 73375789Q, Departamento/Instituto Ginecología y
Obstetricia Centro: Hospital La Fe, Valencia

Como director (a) /codirector (a), tutor(a) de la tesis doctoral Ratio sFlt-PIGF en semana 12, 24 y 32 en gestaciones
gemelares: predictor de preeclampsia

de D/D^a Elena Satorres Pérez,

estudiant del programa de doctorat **3139 Medicina** (RD99/2011), de la Universitat de València, emeten informe
favorable per a la realització del dipòsit i defensa de la tesi doctoral.

Signat:

VICENTE
JOSE |
DIAGO |
ALMELA

Firmado digitalmente por
VICENTE JOSÉ (DIAGO) ALMELA
Fecha: 2024.06.19 11:03:06
+02'00'

Signat:

ALICIA
MARIA |
MARTINEZ |
VAREA

Digitally signed
by ALICIA MARIA |
MARTINEZ | VAREA
Date: 2024.06.19
00:47:45 +02'00'

Director

Directora

ESCOLA DOCTORAL

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PRESENTACIÓN

La presente Tesis Doctoral sigue el formato recomendado para la presentación de Tesis Doctorales como un compendio de publicaciones, conforme a las directrices establecidas por la Comisión de Doctorado de la Facultad de Medicina. Los tres artículos que componen esta tesis abordan una temática común y han sido publicados en revistas indexadas en bases de datos internacionales:

Artículo 1

Satorres-Pérez E, Martínez-Varea A, Diago-Almela V. sFlt-1/PIGF ratio as a predictor of pregnancy outcomes in twin pregnancies: a systematic review, *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2023; 36:2, 2230514.

Estado: publicado. Factor de impacto: 1.8 (Journal Citation Report). Posición que ocupa la revista en la categoría: 67/85.

Calidad: 1er autor

Artículo 2

Satorres-Pérez E, Martínez-Varea A, Novillo-Del Álamo B, Morales-Roselló J, Diago-Almela V. The sFlt-1/PIGF Ratio at 12, 24, and 32 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Placental Dysfunction. *Journal of Clinical Medicine*. 2024; 13(6):1784.

Estado: publicado. Factor de impacto: 3.9 (Journal Citation Report). Posición que ocupa la revista en la categoría: 58/169.

Calidad: 1er autor

Artículo 3

Satorres-Pérez E, Martínez-Varea A, Novillo-Del Álamo B, Morales-Roselló J, Diago-Almela V. The sFlt-1/PIGF Ratio at 12, 24, and 32 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Late Preterm Birth and Perinatal Event Secondary to Prematurity. *Journal of Clinical Medicine*. 2024; 13(9):2699.

Estado: publicado. Factor de impacto: 3.9 (Journal Citation Report). Posición que ocupa la revista en la categoría: 58/169.

Calidad: 1er autor

«Droit devant soi, on ne peut pas aller bien loin»

Antoine de Saint-Exupéry.

Para mis padres, Clara y Javier, que me han dado raíces y alas a la vez. Todo lo que soy lo he aprendido de vosotros.

Gracias,

A Alicia y Vicente, por creer en mí desde el primer día y guiarme en este proyecto.

A mis compañeros de La Fe, por aportarme tanto en los que han sido los cuatro años más enriquecedores de mi vida.

A todas las pacientes que cada día me enseñan a ver la vida desde miles de diferentes perspectivas, en especial a las que confiaron y participaron en este proyecto.

Índice

Resumen	21
Revisión Bibliográfica	27
Disfunción placentaria	27
Definición y factores de riesgo	
Fisiopatología	
Epidemiología	
Preeclampsia	
Restricción del crecimiento intrauterino	
Otros síndromes asociados a disfunción placentaria: HELLP y Abruption placentae	
Parto pretérmino	48
Definición y factores de riesgo	
Fisiopatología	
Prevención y tratamiento	
Ratio sFlt-1/PIGF	53
Hipótesis de trabajo	59
Objetivos	61
Objetivo principal	61
Objetivos específicos	61
Métodos para el conjunto de la investigación y análisis estadístico	63
Análisis estadístico	
Ética	
Primer artículo	67
Resumen del primer artículo	68
Objetivo	
Metodología	
Resultados	
Discusión	
Versión original del primer artículo	84
Segundo artículo	99
Resumen del segundo artículo	100
Objetivo	
Metodología	
Resultados	
Discusión	
Versión original del segundo artículo	119
Tercer artículo	139
Resumen del tercer artículo	140
Objetivo	
Metodología	

Resultados	
Discusión	
Conclusiones	167
Material Adicional	169
Material suplementario del primer artículo	169
Dictamen del comité de ética	170
Hoja de información al paciente	171
Permiso de los coautores para la utilización de los artículos	177
Primer artículo	
Segundo artículo	
Tercer artículo	
Referencias	179

LISTADO DE ABREVIATURAS

ACM:	arteria cerebral media
ACOG:	American College of Obstetrics and Gynecology
ANOVA:	análisis de varianza
AU:	arteria umbilical
CID:	coagulación intravascular diseminada
DE:	desviación estándar
DPPNI:	prematureo de placenta normoinsera
DV:	ductus venoso
EAP:	edema agudo de pulmón
FMF:	Fetal Medicine Foundation
GOT:	glutámico-oxalacético transaminasa
GPT:	glutámico-pirúvico transaminasa
HELLP:	hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets
HTA:	hipertensión arterial
IC:	intervalo de confianza
ICP:	índice cerebroplacentario
IMC:	índice de masa corporal
INE:	Instituto Nacional de Estadística
IP:	índice de pulsatilidad
IPAU:	índice de pulsatilidad de la arteria umbilical
IPAUt:	índice de pulsatilidad de las arterias uterinas
ISSHP:	International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy
LDH:	lactato deshidrogenasa
NICE:	National Institute for Health and Care Excellence
NOS:	Escala de Newcastle-Ottawa
OMS:	Organización Mundial de la Salud
OR:	razón de probabilidades u Odds Ratio
PA:	perímetro abdominal
PAD:	presión arterial diastólica
PAPP-A:	proteína A placentaria asociada al embarazo
PAS:	presión arterial sistólica

PCC: coeficiente de correlación de Pearson

PE: preeclampsia

PEG: pequeño para edad gestacional

PFE: peso fetal estimado

PICO: patient, intervention, comparison, outcome

PIGF: factor de crecimiento placentario

RCIU: Restricción del crecimiento intrauterino

RCTG: registro cardiotocográfico

RPA: resultado perinatal adverso

SEGO: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia

sFlt-1: soluble fms-like tirosina quinasa-1

SOMg₄: sulfato de magnesio

STFF: síndrome de transfusión feto fetal

TA: tensión arterial

TRA: técnica de reproducción asistida

VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular

VPN: valor predictivo negativo

VPP: valor predictivo positivo

LISTADO DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Factores de riesgo elevados (azul oscuro) y moderados (azul claro) para el desarrollo de PE.

Figura 2. Proceso normal de invasión trofoblástica vs el modelo anómalo característico de la disfunción placentaria.

Figura 3. Corte histológico de placenta con lesiones típicas por alteración de la vascularización materna (vasculopatía decidual)

Figura 4. La enfermedad de inicio precoz se caracteriza por una primera etapa prolongada y secuelas placentarias y fetales más severas. La enfermedad de inicio tardío es más difusa y afecta la salud sincitial de una manera menos focalizada.

Figura 5. Imagen macro y microscópica (x7mm) de una placenta abrupta.

Figura 6. Mecanismo de acción del sFlt-1 mediante la unión al PlGF y el VEGF, provocando así disfunción endotelial y activando factores de la coagulación.

Figura 7. Diagrama de flujo que muestra el proceso de cribado y selección de artículos.

Figura 8. Riesgo acumulado (semanas) de disfunción placentaria en gestaciones monocoriales y bicoriales.

Figura 9. Las líneas de la Figura unen los valores medios del ratio sFlt-1/PlGF en cada momento de la gestación, en pacientes diagnosticadas de disfunción placentaria vs las de curso normal.

Figura 10. Las líneas de la Figura unen los puntos que representan los valores de tensión arterial media en cada momento de la gestación, en pacientes con diagnóstico de disfunción placentaria vs aquellas con curso normal.

Figura 11. El área bajo la curva del ratio sFlt-1/PlGF ratio en la semana 12 (a), 24 (b), y 32 semanas (c) de gestación para la detección de pacientes que evolutivamente presentaron disfunción placentaria.

Figura 12. Representación de las correlaciones entre el ratio sFlt-1/PIGF a las 12, 24, y 32 semanas y la semana de diagnóstico de PE.

Figura 13. Las AUC-ROC del ratio sFlt-1/PIGF a las 24 (a) y 32 (b) semanas de gestación para la detección de recién nacidos con pesos menores a 1500 g y 2500 g.

Figura 14. Evolución de la relación hormonal basada en la presencia de parto pretérmino tardío.

Figura 15. Evolución del ratio sFlt-1/PIGF en embarazos monocoriales vs. bicoriales.

Figura 16. Curva AUC-ROC para la determinación de sFlt-1/PIGF en la semana 32 para la detección de pacientes con embarazos gemelares que posteriormente desarrollan parto pretérmino.

Figura 17. Curva AUC-ROC para la determinación de sFlt-1/PIGF en la semana 24 para la detección de pacientes con embarazos gemelares que posteriormente desarrollan eventos perinatales adversos secundarios a la prematuridad.

Figura 18. Curva AUC-ROC para la determinación de sFlt-1/PIGF en la semana 24, paridad, edad materna, método de concepción, IMC y corionicidad para detectar pacientes con embarazos gemelares que posteriormente desarrollan eventos perinatales adversos secundarios a prematuridad.

Figura 19. Ratio medio obtenido en gestaciones gemelares sin diagnóstico de PE.

Figura 20. Ratio medio obtenido en gestaciones gemelares con diagnóstico de PE.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Criterios de gravedad y finalización inmediata en pacientes con diagnóstico de PE.

Tabla 2. Estadios de la RCIU, con sus criterios diagnósticos, monitorización aconsejada y momento y vía de finalización de la gestación.

Tabla 3. Definición para RCIU precoz y tardío en ausencia de anomalía congénita.

Tabla 4. Características propias de la RCIU precoz y tardía

Tabla 5. Principales factores de riesgo para desarrollo de un feto con RCIU.

Tabla 6. Complicaciones maternas y neonatales secundarias a síndrome HELLP.

Tabla 7. Factores de riesgo obstétricos, genéticos y sociodemográficos para desprendimiento prematuro de placenta normoinsera.

Tabla 8. Categorías de prematuridad en función de edad gestacional y su incidencia expresada en %.

Tabla 9. Principales factores de riesgo conocidos de parto pretérmino.

Tabla 10. Principales agentes tocolíticos con indicaciones de elección, efectos secundarios y principales contraindicaciones.

Tabla 11. Interpretación y manejo ante resultados del ratio sFlt-1/PIGF. Umbrales propuestos por H Stephan *et al.*

Tabla 12. Artículos incluidos en la revisión sistemática y sus características básicas.

Tabla 13. Evaluación detallada de calidad de los artículos de la revisión sistemática, utilizando la escala NOS.

Tabla 14. Puntos de corte evaluados en los diferentes estudios, con datos acerca de sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos (VPP, VPN) para el diagnóstico de preeclampsia en la semana y dos semanas siguientes a la determinación del ratio sFlt-1/PIGF.

Tabla 15. Descripción de las características basales maternas de las pacientes incluidas con embarazos gemelares, comparando a las mujeres que no desarrollaron disfunción placentaria con aquellas que sí lo hicieron.

Tabla 16. Valores medios (rango intercuartílico) para el ratio sFlt-1/PIGF y los valores intermedios de sFlt-1 y PIGF en mujeres con embarazos gemelares, con y sin disfunción placentaria, en los tres trimestres del embarazo.

Tabla 17. Características neonatales, comparando aquellas de recién nacidos de gestaciones con diagnóstico de disfunción placentaria con aquellas sin dicho diagnóstico. Los datos se aportan mediante medias (desviación estándar) para las variables continuas.

Tabla 18. Rendimiento para los puntos de corte del ratio sFlt-1/PIGF en cada edad gestacional para la predicción de disfunción placentaria y peso al nacer.

Tabla 19. Correlaciones estadísticamente significativas para los valores aislados de sFlt-1, PIGF, y el ratio sFlt-1/PIGF y el evento estudiado (semana de diagnóstico de PE y RCIU, días de ingreso en unidad de neonatos y peso al nacer).

Tabla 20. Características basales comparando mujeres y recién nacidos que presentan parto prematuro vs. parto a término.

Tabla 21. Niveles de la razón hormonal a lo largo de las tres determinaciones, en función de la presencia de parto prematuro tardío. Los datos se presentan como media y DE.

Tabla 22. Niveles de la relación hormonal a lo largo de las tres determinaciones, basados en la corionicidad.

Resumen

Introducción: Los síndromes por disfunción placentaria engloban una serie de condiciones propias de la mujer gestante, causados por una placenta con función anómala. Entre ellos se incluyen principalmente el retraso de crecimiento intrauterino (RCIU), la preeclampsia (PE), el síndrome de HELLP y el abrupcio placentae o desprendimiento prematuro de placenta normoinserta (DPPNI). El uso clínico del ratio sFlt-1/PIGF como marcador para estratificación de riesgo, diagnóstico y manejo en embarazos únicos está validada en estos síndromes, con altos valores predictivos. A diferencia de las gestaciones únicas, la aplicabilidad del ratio sFlt-1/PIGF en embarazos gemelares, en los que la masa placentaria, el volumen sanguíneo materno y la respuesta inflamatoria son mayores que en los embarazos únicos, es actualmente muy limitada.

Objetivo:

- **Primer artículo:** el objetivo fue recopilar, a través de una revisión sistemática según las guías PRISMA, los datos existentes acerca del uso del ratio sFlt-1/PIGF para detectar disfunción placentaria y otros eventos obstétricos desfavorables en embarazos gemelares.
- **Segundo artículo:** Este estudio prospectivo tuvo como objetivo evaluar la curva de normalidad del ratio sFlt-1/PIGF en gestaciones gemelares sanas, medido en las semanas 12, 24 y 32 de gestación, así como su capacidad para predecir disfunción placentaria y resultado neonatal al nacimiento.
- **Tercer artículo:** este estudio prospectivo tuvo como objetivo evaluar si el ratio sFlt-1/PIGF medido en las semanas 12, 24 y 32 de gestación podría predecir el riesgo de parto prematuro espontáneo y el resultado neonatal adverso asociado a prematuridad en embarazos gemelares.

Material y métodos:

- **Primer artículo:** Se realizó una revisión sistemática en Pubmed-Medline, la Base de Datos de Revisiones Sistemáticas de Cochrane, el Registro Central de Ensayos Controlados de Cochrane, Web of Science e

International Guidelines. Se seleccionaron estudios publicados en los últimos 10 años que incluyeran un tamaño muestral igual o mayor a 10 gestaciones gemelares, determinaran el ratio sFlt-1/PIGF y revelaran el resultado materno-fetal de las pacientes incluidas.

- **Segundo y tercer artículo:** Estudio prospectivo en un hospital terciario. Se incluyeron todas las mujeres embarazadas con gestación gemelar que firmaron el consentimiento informado. El ratio sFlt-1/PIGF se midió a las 12, 24 y 32 semanas de gestación.

Resultados:

- **Primer artículo:** Se seleccionaron un total de 11 estudios. Se recopilaban datos acerca de la asociación entre los niveles del ratio sFlt-1/PIGF a lo largo del embarazo y el resultado perinatal, particularmente aquellos relacionados con la disfunción placentaria. La gran mayoría de los estudios mostraron un ratio sFlt-1/PIGF aumentado en embarazos gemelares complicados con PE u otros resultados perinatales adversos, en comparación con embarazos no complicados. Los artículos incluidos proponen el ratio como una herramienta prometedora a la hora de diagnosticar y especialmente descartar PE en gestaciones gemelares. Los estudios disponibles acerca de la aplicabilidad en la RCIU son escasos, pero orientan a que su determinación pueda orientar el diagnóstico y pronóstico fetal. Otros aspectos, como su evolución en función de la corionicidad, son limitados.
- **Segundo artículo:** El análisis revela que un ratio sFlt-1/PIGF ≥ 32.5 en el primer trimestre está asociado a un aumento significativo en la frecuencia de disfunción placentaria. La capacidad predictiva de esta herramienta a las 12 semanas, en comparación con los métodos tradicionales basados en características demográficas maternas y antecedentes médicos, muestra una sensibilidad (66.7%), especificidad (61.2%), VPN (42.4%) y VPP (81.1%) superior para detectar la disfunción placentaria. Los hallazgos también resaltan los potenciales beneficios de las evaluaciones secuenciales del ratio sFlt-1/PIGF para

mejorar la precisión predictiva, ya que puntos de corte de ≥ 8.5 a las 24 semanas y ≥ 30.5 a las 32 semanas están asociados con un aumento en la incidencia tanto de PE como de RCIU en embarazos gemelares. Ratios más bajos a las 12, 24 y 32 semanas de gestación se asocian con una mayor edad gestacional y peso al nacimiento, y reducen la necesidad de ingreso en una unidad de cuidados intensivos neonatales. Por tanto, esta investigación proporciona evidencia valiosa sobre la utilidad del ratio sFlt-1/PIGF a las 12, 24 y 32 semanas como herramienta predictiva para la disfunción placentaria y resultados neonatales en embarazos gemelares.

- **Tercer artículo:** Se incluyeron setenta pacientes, de las cuales el 54.3% sufrieron un parto prematuro tardío. Los resultados revelan una diferencia estadísticamente significativa en los niveles del ratio sFlt-1/PIGF en la semana 32 entre los grupos a término y pretérmino, con un aumento de 1.11 veces en la probabilidad de presentar un parto prematuro por cada unidad incrementada en el ratio. Además, la determinación aislada en semana 32 presentó considerables capacidades predictivas (sensibilidad del 71%, especificidad del 72%, VPP del 75% y VPN del 68%). De manera similar, en la semana 24, un aumento de una unidad en el ratio sFlt-1/PIGF estuvo asociado con un incremento de 1.24 veces en la probabilidad de presentar un evento perinatal adverso debido a prematuridad. Además, al añadir datos sobre paridad, edad materna, método de concepción, IMC y corionicidad, el modelo mejoró sus capacidades predictivas (sensibilidad del 82%, especificidad del 80%, VPP del 58%, VPN del 93%).

Conclusiones:

- **Primer artículo:** A pesar de la escasa evidencia publicada, el ratio sFlt-1/PIGF en embarazos gemelares es una herramienta prometedora para detectar, y particularmente para descartar, resultados adversos del embarazo relacionados con la disfunción placentaria, como la PE o el CIR.

- **Segundo artículo:** En este estudio, el ratio sFlt-1/PIGF en embarazos gemelares emerge como una herramienta predictiva potencial para resultados feto-maternos adversos, incluyendo la PE, la restricción del crecimiento fetal, el parto prematuro y el resultado perinatal
- **Tercer artículo:** Los hallazgos principales de este estudio sugieren una fuerte asociación entre los niveles séricos maternos del ratio sFlt-1/PIGF en la semana 32 y la incidencia de parto prematuro. Además, se observó una correlación notable en la semana 24, específicamente en relación con resultados neonatales adversos relacionados con la prematuridad. Las diferencias en el ratio sFlt-1/PIGF en la semana 32 entre los nacimientos a término y los nacimientos prematuros fueron significativas, con un aumento en esta relación correlacionado con un mayor riesgo de parto prematuro. Sin embargo, la incorporación de variables adicionales como la paridad, la edad materna, el método de concepción, el IMC y la corionicidad no mejoró el poder predictivo, lo que sugiere que utilizar el ratio sFlt-1/PIGF solo en la semana 32 podría ser el enfoque más efectivo. Por el contrario, se encontraron asociaciones entre los niveles del ratio sFlt-1/PIGF en la semana 24 y eventos perinatales adversos, con mayor poder predictivo cuando se asociaron con otros datos del embarazo. Si bien este estudio proporciona información valiosa sobre la utilidad de los biomarcadores placentarios para predecir el parto prematuro y los resultados neonatales adversos en embarazos gemelares, se requiere investigación adicional con cohortes más grandes para validar estos hallazgos y mejorar su fiabilidad.

Revisión Bibliográfica

Durante las últimas décadas, la tasa de embarazo múltiple ha crecido notablemente, con un aumento del 76% en los países desarrollados entre 1980 y 2009, según estudios epidemiológicos (1–4). Los tratamientos de reproducción asistida son sin duda la causa principal de esta tendencia, ya que actualmente justifican hasta el 29% de todos los embarazos múltiples (5). Sin embargo, existen otros factores responsables, como el aumento en la edad materna o la obesidad (6,7).

En comparación con las gestaciones únicas, los embarazos gemelares se asocian a un mayor riesgo de complicaciones obstétricas y neonatales, como el parto prematuro, la muerte fetal intraútero, la hemorragia posparto o los trastornos asociados a disfunción placentaria como la preeclampsia (PE) o la restricción de crecimiento intrauterino (RCIU) (8–10). Además, los recién nacidos pretérmino de gestaciones gemelares tienen un pronóstico más desfavorable tanto a nivel de mortalidad como morbilidad, en comparación con los recién nacidos de gestaciones únicas (11).

Disfunción placentaria

Definición y factores de riesgo

Los síndromes por disfunción placentaria engloban una serie de condiciones propias de la mujer gestante, causados por una placenta con función insuficiente. Entre ellos se incluyen principalmente la RCIU, la PE, el síndrome de HELLP y el abruptio placentae o DPPNI.

Tanto la PE como la RCIU pueden considerarse de inicio precoz cuando el diagnóstico se realiza antes de las 34 semanas, o de inicio tardío si se determina a partir de dicha semana (12,13). Como es de suponer, el diagnóstico en edades gestacionales tempranas conlleva un peor pronóstico (14,15). Asimismo, el resultado materno-fetal suele ser más grave cuando el feto presenta ambas condiciones de forma simultánea, lo que sucede en hasta el 50% de los casos (16). Ambas condiciones comparten fisiopatología y, por tanto, gran parte de sus factores de riesgo, que están bien estudiados, y engloban condiciones tanto

modificables como no modificables. La Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) realizó una clasificación entre aquellos de alto y moderado riesgo (Figura 1). El Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos (ACOG), el Instituto Nacional para la Excelencia en Salud y Cuidado (NICE) y la Sociedad Internacional para el Estudio de la Hipertensión en el Embarazo (ISSHP) recomiendan realizar pruebas de detección de PE en mujeres embarazadas durante el primer trimestre considerando dichos factores de riesgo (17–19).

Antecedente de trastorno hipertensivo del embarazo	Hipertensión crónica	Diabetes mellitus	Patología renal
Síndrome antifosfolípido	Lupus eritematoso sistémico	Edad materna >40 años	Nuliparidad
Periodo intergenésico > 10 años	IMC >35	Gestación múltiple	Historia familiar de preeclampsia

Figura 1 Factores de riesgo elevados (azul oscuro) y moderados (azul claro) para el desarrollo de PE.

Fisiopatología

La etiopatogenia de la disfunción placentaria se ha relacionado clásicamente con múltiples factores de origen fetal y uteroplacentario, y se ha dividido en dos fases o estadios en su desarrollo. La primera fase se centra en el daño endotelial placentario, lo que lleva a una situación de isquemia local (20,21). Esta hipoxia de origen vascular provoca una liberación de factores antiangiogénicos al torrente sanguíneo materno, lo que activa la segunda fase, que consiste en una situación clínica de disfunción endotelial materna sistémica.

Clásicamente, la fisiopatología se ha atribuido a un modelo de mala placentación como justificación de la PE. Durante la placentación normal, los citotrofoblastos migran hasta la profundidad de las arterias espirales maternas, hasta el nivel miometrial, donde forman senos vasculares en la interfase maternofetal (22). Esta

invasión provoca una remodelación de las arteriolas espirales maternas, convirtiéndolas en vasos de alta capacitancia y baja resistencia, lo que permite un mayor paso de los nutrientes al feto. Según múltiples estudios, en placentas con desarrollo posterior de PE, esta migración y transformación secundaria de las arteriolas no ocurre, por lo que los vasos maternos quedan estrechos y con tendencia a la isquemia. Además, se ha demostrado que secundario al estado de hipoxia, los vasos placentarios presentan una predisposición a la aterosclerosis, con invasión local de macrófagos y fibrina, lo que determina un mayor compromiso del flujo (21–23). Estos fenómenos también se han observado en las arterias radiales maternas que nutren la decidua, en las que histológicamente se objetiva un endotelio edematoso, una hipertrofia de la capa media y un aumento relativo de la capa muscular (24,25). Es lógico pensar que, dado que estos fenómenos suceden en las primeras etapas del embarazo y persisten durante semanas, es típica la asociación con fetos con desarrollo de restricción del crecimiento intrauterino precoz. El flujo anómalo de la circulación placentaria puede ser detectado a través del estudio Doppler materno a lo largo de la gestación, reflejado en el IP de las arterias uterinas (26).

La Figura 2 representa el proceso normal de invasión trofoblástica vs el modelo anómalo característico de la disfunción placentaria.

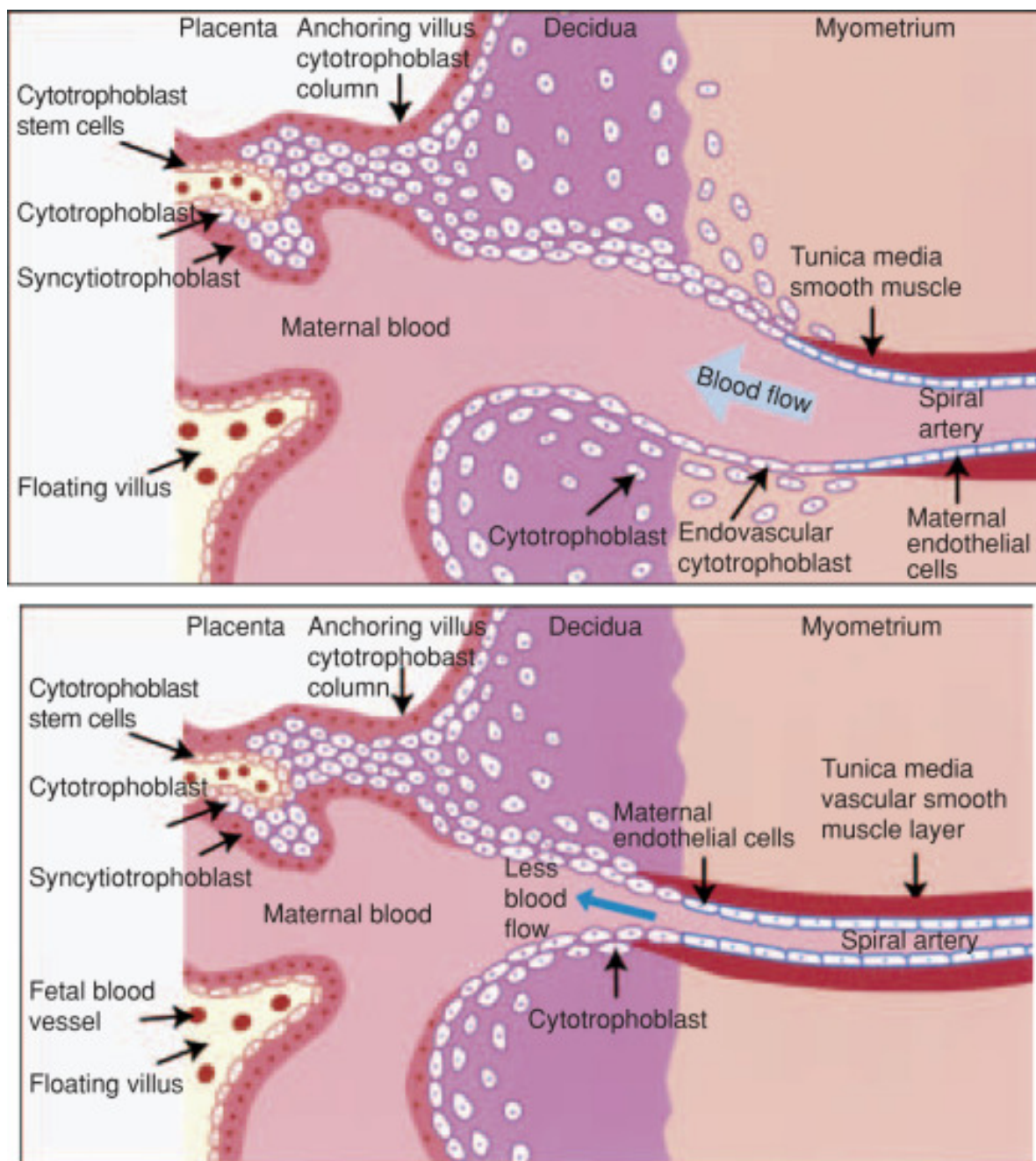


Figura 2. Durante el proceso de invasión de los citotrofoblastos de origen fetal penetran en las arterias espirales maternas. En este proceso de invasión vascular, los citotrofoblastos se diferencian de un fenotipo epitelial a un fenotipo endotelial, en un proceso conocido como "pseudoangiogénesis" (imagen superior). En la PE, los citotrofoblastos invaden las arterias espirales de forma superficial y permanecen como vasos de resistencia de pequeño calibre (imagen inferior). Karumanchi, S. A., Maynard, S. E., Stillman, I. E., Epstein, F. H., & Sukhatme, V. P. (2005). PE: a renal perspective. *Kidney international*, 67(6), 2101–2113. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00316.x>

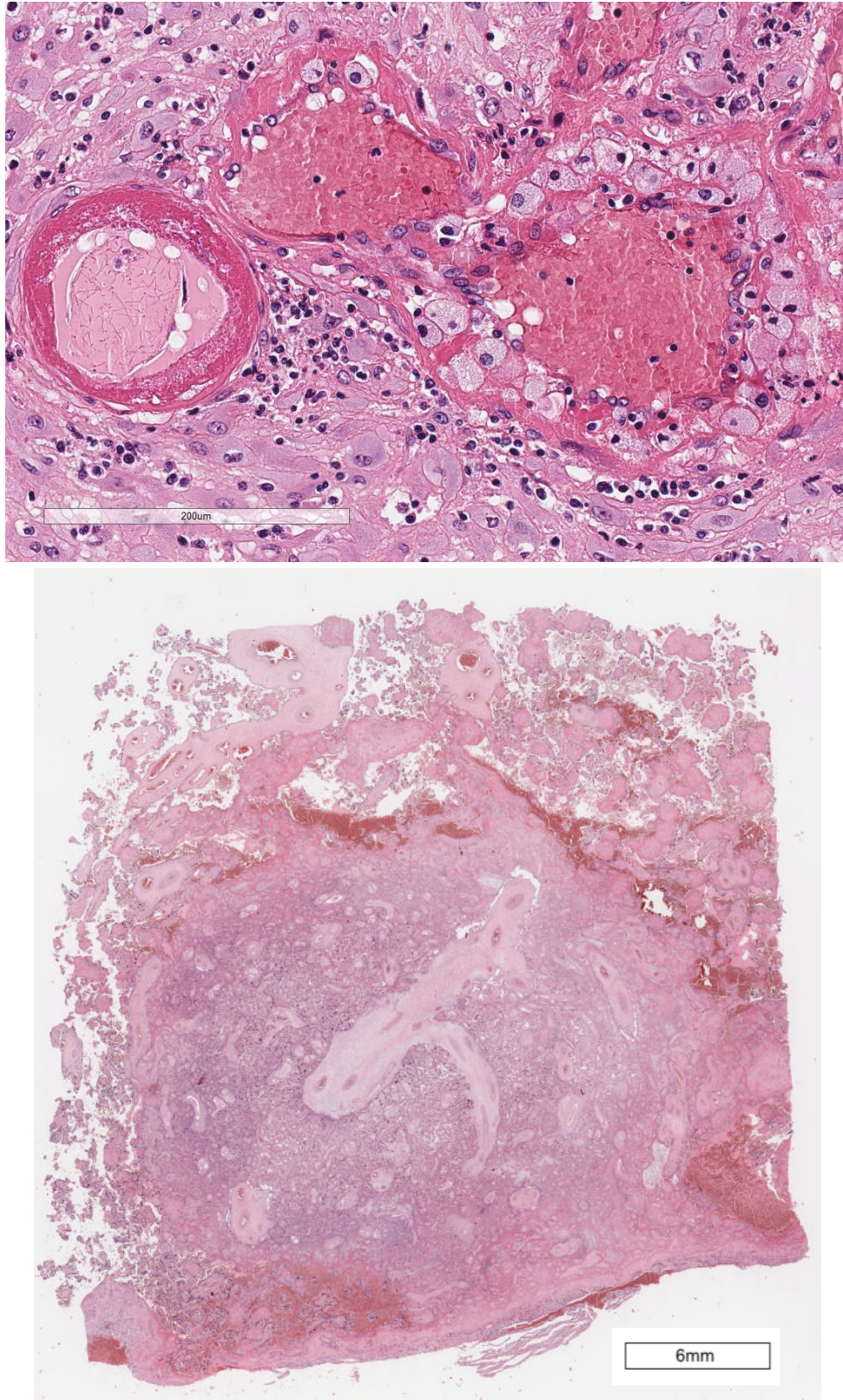


Figura 3. Corte histológico de placenta con lesiones típicas por alteración de la vascularización materna (vasculopatía decidual): aterosclerosis + necrosis fibrinoide de la pared arterial y fallo de la transformación fisiológica arterial (ausencia de decidualización), con hipertrofia muscular de la túnica media. Imágenes cedidas por el Dr Jaime Ferrer, Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario y Politécnico La Fe.

Cabe destacar que en los últimos años se ha cuestionado el origen placentario como único causante de la PE, ya que a pesar de la mayor probabilidad de encontrar patrones histológicos placentarios anormales en embarazos con PE, estas lesiones no son específicas de dicho síndrome (27). Además, esta primera teoría no justificaría los casos de PE de aparición tardía, que típicamente se caracterizan por un Doppler uteroplacentario normal o ligeramente alterado, la ausencia de asociación con RCIU, la asociación a gestaciones con masa placentaria aumentada (diabetes, embarazos múltiples, anemia, alta altitud, etc.) y a factores de riesgo cardiovascular maternos (28–31). Como respuesta a esta cuestión, nuevos estudios sugieren un posible origen materno como causante del síndrome (32–35). Postulan que, a medida que la gestación evoluciona, la función placentaria sufre un proceso de senescencia en el que se objetiva una compresión de los vellos coriónicos, así como la disminución del espacio intervelloso, con la subsecuente hipoxia local. Estos fenómenos constituirían la base fisiopatológica de la primera fase de la PE de inicio tardío.

Se ha propuesto que las segundas etapas de la PE de inicio precoz y tardío comparten el estrés del sincitiotrofoblasto como la característica más relevante causante de la clínica materna. Las señales de estrés liberadas por el sincitiotrofoblasto a la circulación probablemente sean los biomarcadores más específicos para la PE, como es la tirosina cinasa-1 similar al receptor de factores de crecimiento del endotelio, conocida como sFlt-1 por sus siglas en inglés (27,36).

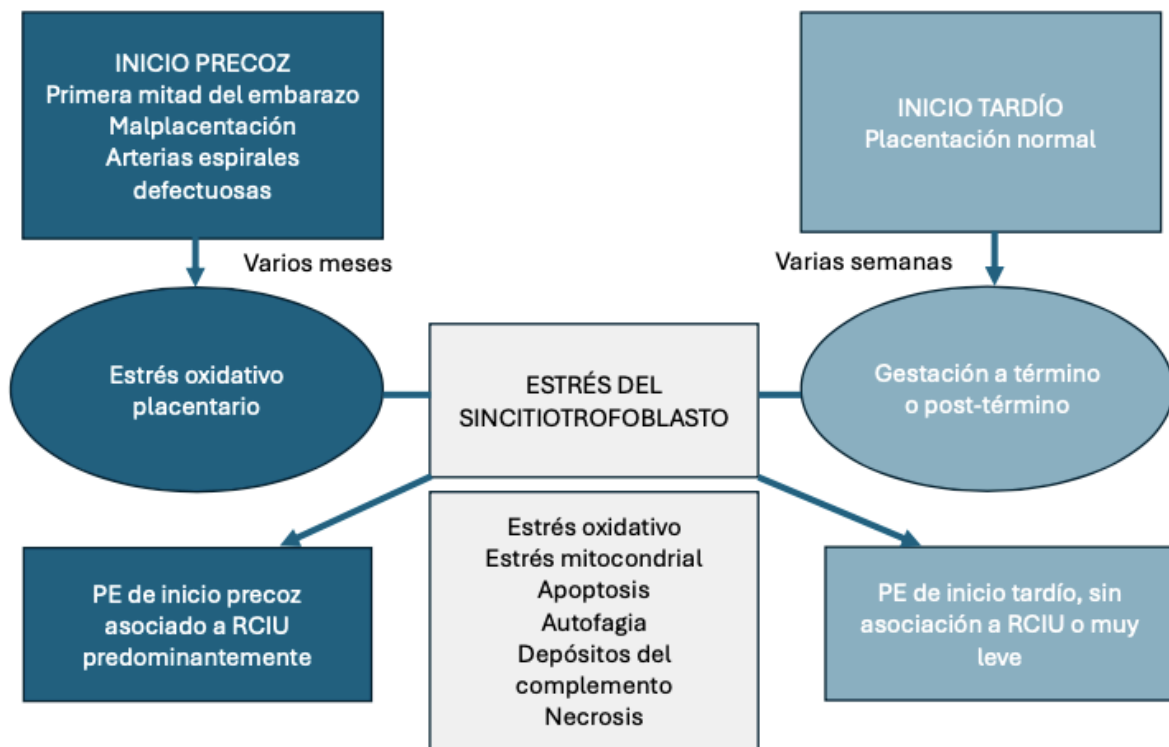


Figura 4. La enfermedad de inicio precoz se caracteriza por una primera etapa prolongada y secuelas placentarias y fetales más severas. La PE de inicio precoz se basa predominantemente en la disfunción de las arterias espirales que causa estrés oxidativo local. La enfermedad de inicio tardío es más difusa y afecta la salud sincitial de una manera menos focalizada. Imagen adaptada de Redman CWG, Staff AC, Roberts JM. Syncytiotrophoblast stress in PE: the convergence point for multiple pathways. Am J Obstet Gynecol. 2022 Feb;226(2S):S907-S927. doi: 10.1016/j.ajog.2020.09.047. Epub 2021 Feb 2. PMID: 33546842.

Epidemiología

Se conoce que las complicaciones del embarazo relacionadas con la disfunción placentaria, como la PE o la RCIU, son más prevalentes en embarazos múltiples que en embarazos únicos (37,38). De hecho, la hipertensión gestacional y la PE afectan al 5-6% de los embarazos únicos y hasta el 13% de las gestaciones gemelares, de los cuales se estima que hasta un 25% son casos severos (39,40). Esta incidencia varía según factores de riesgo previamente mencionados, como la concepción a través de TRA, la edad materna avanzada, la nuliparidad u otras comorbilidades, que paradójicamente están en aumento y en su mayoría no son modificables (41–43).

Los trastornos hipertensivos del embarazo son causa clave de morbilidad y mortalidad materno-fetal, siendo responsables de más de 70,000 muertes maternas y 500,000 muertes fetales cada año (44). En países desarrollados, la PE es la segunda causa de muerte materna (45). Afortunadamente, la PE de inicio tardío, que afecta a mujeres embarazadas después de las 34 semanas de gestación, es más común que la PE de inicio precoz (90 vs 10% de los casos, respectivamente) (19,46).

En cuanto a la RCIU, su prevalencia en embarazos gemelares es especialmente mayor que en embarazos únicos, alcanzando porcentajes de hasta el 47% frente al 8%, especialmente en gemelos monocoriales en comparación con gemelos bicoriales (11 y 24%, respectivamente) (38,47,48).

Preeclampsia

La PE es un trastorno progresivo y multisistémico provocado por una disfunción endotelial placentaria y materna. Clásicamente se ha definido por la aparición de hipertensión arterial (HTA) (determinada como mediciones repetidas de presión arterial sistólica [PAS] ≥ 140 mm Hg y presión arterial diastólica [PAD] ≥ 90 mm Hg) que ocurre después de la semana 20 de embarazo, simultáneamente con una o ambas de las siguientes condiciones surgidas de novo: proteinuria (relación proteína/creatinina en orina ≥ 30 mg/mmol o relación albúmina/creatinina en orina ≥ 8 mg/mmol o ≥ 1 g/L [2+] en pruebas de tira reactiva o 300 mg de proteína en una colección de orina de 24 horas) u otra disfunción orgánica materna, incluyendo:

- Insuficiencia renal (creatinina >90 $\mu\text{mol/L}$ o 1 mg/dL) u oliguria
- Disfunción hepática analítica (enzimas hepáticas > 40 UI/L) o clínica (dolor en hipocondrio derecho o epigastrio)
- Deterioro neurológico (eclampsia, alteraciones visuales, accidente cerebrovascular, cefalea, etc.)
- Edema agudo de pulmón (EAP)
- Trombocitopenia (plaquetas <100.000 uL)

- Disfunción uteroplacentaria (19,49)

En ocasiones, puede originarse secundaria a un estado de HTA crónica. En este caso, se diagnosticará a la paciente en caso de presentar un empeoramiento brusco de la TA (por encima del 20%) o asociar afectación de órgano diana no atribuible a otros diagnósticos (19). Por consiguiente, a pesar de que tradicionalmente se ha conceptualizado la PE como un trastorno hipertensivo durante el embarazo, en la actualidad se la considera más bien como un trastorno multiorgánico, un síndrome obstétrico complejo y heterogéneo, con un amplio espectro de manifestaciones clínicas que trascienden el concepto clásico. Además, en caso de diagnóstico de HTA a lo largo de la gestación, se debe realizar diagnóstico diferencial con otras condiciones, principalmente las citadas a continuación (17,49):

- Hipertensión crónica: HTA previa a la gestación o diagnosticada antes de semana 20.
- Hipertensión gestacional: HTA que aparece tras la 20 semana de gestación, pero que a diferencia de la PE no presenta lesión de órgano diana ni otros criterios de PE.
- Eclampsia: estado convulsivo o coma no atribuible a otra causa.
- Síndrome HELLP.

Desde la demostración de la eficacia preventiva de la aspirina (ácido acetil salicílico) para el desarrollo de PE precoz, su cribado sistemático en el primer trimestre de gestación está justificado. En gestaciones únicas se han probado diferentes calculadoras multivariantes que combinan datos maternos y analíticos para estimar el riesgo de desarrollar la enfermedad, con diferentes capacidades (49–53). Sin embargo, aunque dichos modelos son teóricamente extrapolables a embarazos gemelares, la evidencia en cuanto a su poder predictivo en dichas gestaciones es mucho más limitada y no existen recomendaciones claras. En cualquier caso, la administración de aspirina debe iniciarse antes de la semana 16 de gestación, a dosis de 100-150mg diarios, preferiblemente nocturna (54). Se deberá mantener el fármaco hasta semana 36 de gestación. Dicha pauta ha

demostrado una disminución estadísticamente significativa tanto en el diagnóstico de PE como de RCIU precoz (55).

Ante la sospecha clínica de PE, el manejo de la paciente estará condicionado, fundamentalmente, por la gravedad del cuadro y la edad gestacional al diagnóstico. Ante ausencia de criterios de gravedad, las guías recomiendan la monitorización de la TA cada 8 horas y controles semanales en consultas externas (con valoración del bienestar fetal mediante registro cardiotocográfico (RCTG), peso fetal estimado, estudio de líquido amniótico y estudio Doppler uteroplacentario). En caso de precisar tratamiento hipotensor, el objetivo será conseguir tensiones entorno a 140-145/90-95mmHg, y la vía oral será de elección inicialmente. En estos casos, y en ausencia de escalada a estadios más graves, se aconseja la finalización del embarazo en semana 37 (56,57). En caso de pacientes con diagnóstico de PE con criterios de gravedad, el manejo debe ser intrahospitalario, con control de constantes cada 4-6 horas, control de diuresis, peso y sintomatología materna (Tabla 1.). Además, se deberá monitorizar los órganos diana mediante analíticas seriadas. En cuanto al control de bienestar fetal, se recomienda el estudio mediante ecografía con Doppler fetoplacentario y RCTG cada 12 horas. La finalización de la gestación estará indicada a partir de semana 34, previa maduración pulmonar si la estabilidad clínica lo permite (58). En caso de existir criterios de finalización inmediata, se deberá llevar a cabo independientemente de la edad gestacional (Tabla 1.).

Tabla 1. Criterios de gravedad y finalización inmediata en pacientes con diagnóstico de PE.
SOMg₄: Sulfato de magnesio; DPPNI: desprendimiento prematuro de placenta normoinserta; EAP: edema agudo de pulmón.

Criterios de gravedad	Criterios de finalización inmediata
Alteraciones neurológicas (alteraciones visuales persistentes, estupor, cefalea o clonus)	Pródromos de eclampsia que no ceden con SOMg ₄ : cefalea intensa, alteraciones de la visión, hiperreflexia con clonus, epigastralgia, dolor de hipocondrio derecho.
Epigastralgia o dolor en hipocondrio derecho	Hipertensión grave que no se controla con el tratamiento (a pesar de la combinación de 2 fármacos hipotensores a dosis máxima).
Oliguria (< 30-35 ml/h o < 500 ml/24 h)	Fallo multiorgánico: deterioro de la función renal (creatinina $\geq$ 1 mg/dl respecto a la basal) con oliguria persistente (< 500 ml durante 12 horas que no responde a una sobrecarga de 500 ml de suero repetido en dos ocasiones) y/o de la función hepática.
Insuficiencia renal (creatinina en sangre $\geq$ 90 μ mol/l o 1 mg/dl)	Complicaciones graves: EAP, hemorragia cerebral, ruptura hepática, coagulación intravascular diseminada (CID), eclampsia.
Elevación de las transaminasas	Pérdida de bienestar fetal.
Trombocitopenia (< 100.000/ μ dl)	DPPNI.
Hemólisis (esquistocitosis, elevación LDH > 600 UI/l, aumento de la bilirrubina o disminución de la haptoglobina)	
CID (aumento TP o del dímero-D, disminución del fibrinógeno)	

Restricción del crecimiento intrauterino

La RCIU se define como un crecimiento fetal alcanzado menor al determinado por su potencial genético (59). Los fetos con restricción del crecimiento presentan un mayor riesgo de deterioro fetal intrauterino, muerte fetal y resultados perinatales más pobres en comparación con fetos de crecimiento normal. La etiología más prevalente es la disfunción placentaria (60%), aunque son múltiples las causas descritas: cromosomopatías (5-20%), infecciones congénitas (5-10%), malformaciones (2%), etc (60,61). Es frecuente que estos fetos, en un intento de garantizar el desarrollo de órganos vitales ante la situación de déficit e hipoxia, desarrollen fenómenos de redistribución hemodinámica que se vean reflejados en el estudio del Doppler fetoplacentario (62). Cuando la hipoxia alcanza niveles severos, el feto redistribuye el flujo sanguíneo a los órganos vitales como el corazón, cerebro, glándulas suprarrenales y la placenta. La RCIU es una de las principales causas de mortinatalidad, parto prematuro, ingreso en cuidados intensivos y resultado neonatal adverso (63–66). Además, se ha relacionado la RCIU con el desarrollo posterior de problemas del neurodesarrollo, en especial los trastornos del espectro de atención-hiperactividad (67). Estos resultados desfavorables afectan especialmente a embarazos gemelares en comparación con embarazos únicos (66).

El estudio del Doppler fetal permite evaluar la situación hemodinámica y ha demostrado ser útil en el diagnóstico y seguimiento de la RCIU, por lo que lógicamente forma parte de los criterios diagnósticos para su estadiaje. La definición de RCIU se establece mediante la combinación de un peso fetal estimado (PFE) por debajo del percentil 10, junto con un Doppler anormal de la arteria umbilical (AU) (>percentil 95), índice cerebroplacentario (ICP) (<percentil 5), arterias uterinas (>percentil 95), o un PFE por debajo del percentil 3 (68). Como queda reflejado en la Tabla 2, en función de la afectación de los parámetros descritos, se clasifica la RCIU en 4 estadios evolutivos propuestos por Figueras *et al.*, que determinan su seguimiento, así como el momento y vía de finalización de la gestación (69).

Tabla 2. Estadios de la RCIU, con sus criterios diagnósticos, monitorización aconsejada y momento y vía de finalización de la gestación. ICP: índice cerebroplacentario; IPAU: índice de pulsatilidad de la arteria umbilical; IPAUt: índice de pulsatilidad de las arterias uterinas; AU: arteria umbilical; DV: ductus venoso; RCTG: registro cardiotocográfico.

Estadio	Criterios diagnósticos	Monitorización	Finalización
I	PFE < percentil 3 ICP < percentil 5 IPAU > percentil 95 ACM < percentil 5 IPAUt > percentil 95	Semanal	Semana 37. Posibilidad de PV.
II	AU con flujo diastólico ausente >50%	Bisemanal	34 semanas. Cesárea.
III	AU con flujo diastólico revertido IP DV > percentil 95	Cada 24-48 horas	30 semanas. Cesárea.
IV	IP DV onda a reversa RCTG patológico	Cada 12 horas	26 semanas. Cesárea.

De forma similar a la PE, existe una distinción entre la RCIU precoz y tardía, que suele basarse en el momento del diagnóstico (antes o después de las 32-34 semanas de gestación), y cuyos criterios diagnósticos, recogidos en la Tabla 3 quedaron definidos en el consenso Delphi (70). Como queda reflejado en la Tabla 4, estos dos fenotipos presentan diferencias importantes en cuanto a su prevalencia, severidad, afectación materna asociada y por tanto pronóstico fetal y materno (59).

Tabla 3. Definición para RCIU precoz y tardío en ausencia de anomalía congénita. PA: perímetro abdominal; PFE: peso fetal estimado; IPAU: índice de pulsatilidad de arteria umbilical; IPAUt: índice de pulsatilidad de arterias uterinas.

RCIU precoz (<32 semanas)	RCIU tardío (>=32 semanas)
PA/PFE < percentil 3	PA/PFE < percentil 3
o	o al menos dos de los siguientes:
1. PA/PFE < percentil 10 combinado con	1. PA/PFE < percentil 10 combinado con
2. IPAUt > percentil 95 y/o	2. IPAUt > percentil 95 y/o
3. IPAU > percentil 95	3. IPAU > percentil 95

Tabla 4. Características propias de la RCIU precoz y tardía. PE: preeclampsia; RCIU: restricción del crecimiento intrauterino; IPAU: índice de pulsatilidad de arteria umbilical; ACM: arteria cerebral media; DV: ductus venoso.

	RCIU precoz (<32 semanas)	RCIU tardía (>=32 semanas)
Prevalencia	30%	70%
Disfunción placentaria y adaptación cardiovascular	Frecuente asociación a PE. Alteraciones del IPAU, ACM y DV (adaptación sistémica).	Infrecuente asociación a PE. Redistribución cerebral (adaptación central).
Hallazgos histopatológicos placentarios	Implantación anómala o pobre, alteraciones del cordón umbilical, hipoperfusión materna.	Alteraciones inespecíficas, sobre todo difusión alterada.
Tolerancia a la hipoxia	Alta	Baja
Morbimortalidad	Alta (20%)	Baja
Reto	Manejo	Diagnóstico

Hasta un 30% de los casos de restricción del crecimiento se producen en estadio precoz de la gestación. Como ha sido mencionado previamente, su base está

estrechamente asociada a la disfunción placentaria, por lo que comparte fisiopatología con la PE de inicio precoz (71,72). Es más, hasta un 50% de los casos estarán asociados a un diagnóstico establecido de PE (36,73). En este subtipo de RCIU encontraremos típicamente un aumento de los factores angiogénicos, así como una afectación precoz del Doppler uteroplacentario (74–76). Si esta disfunción persiste y progresa, condicionará un deterioro cardiovascular y acidosis fetal secundarias al estado de hipoxemia severa (77). Este deterioro cardiovascular final suele reflejarse en la reversión del flujo diastólico en la AU y ausencia o inversión de la onda a del ductus venoso (DV), así como en el RCTG como una pérdida de la variabilidad y aparición de deceleraciones recurrentes (78–80). En la actualidad no existe tratamiento para la RCIU precoz. La actitud ante este diagnóstico estará centrada, por tanto, en el manejo de las complicaciones asociadas y la preparación fetal ante la posible indicación de finalización inminente, con la intención de reducir la morbilidad y mortalidad perinatal (81). El traslado a un centro con unidad neonatal, así como el uso oportuno de corticoides para la maduración pulmonar y sulfato de magnesio (SOMg₄) como neuroprotector son las únicas herramientas actuales para mejorar el resultado obstétrico (59,82). Ante la sospecha de pérdida de bienestar fetal o deterioro materno, la decisión de inducir el parto debe equilibrarse con las secuelas secundarias a la prematuridad, que son especialmente prevalentes en recién nacidos con RCIU precoz (83–85). La probabilidad de finalización mediante cesárea por intolerancia fetal al trabajo de parto y los resultados obstétricos desfavorables en cuanto a test Apgar, pH de cordón y necesidad de ingreso en unidad neonatal son altas (86,87).

La RCIU tardía constituye el 70% de los casos totales de restricción de crecimiento. La fisiopatología difiere de la del RCIU precoz dado que las lesiones placentarias son menores e inespecíficas, por lo que en la mayoría de los casos el Doppler fetoplacentario será normal (88). Dado que en los fetos con RCIU tardío el deterioro hemodinámico no sigue la cascada gradual, el empeoramiento fetal puede evolucionar rápidamente y suponer un reto diagnóstico. Además, el perfil biofísico parece alterarse cuando la muerte fetal es inminente, por lo que tampoco resulta útil en su seguimiento (74). Sin embargo, se ha descrito una asociación

entre la vasodilatación de la arteria cerebral media (ACM) con alteración del IP en hasta el 25% de los casos, así como la alteración de su relación con el IP de la AU y un peor resultado perinatal (88,89). La monitorización de estos parámetros es la única herramienta que ha demostrado mejorar, por lo tanto, la predicción de deterioro fetal en casos de RCIU tardío (90,91). A pesar de presentar una forma clínica más leve que la RCIU precoz, la RCIU tardía también está asociada a un peor resultado perinatal e infantil a largo plazo (57,85,89).

En la actualidad no existe tratamiento preventivo para las mujeres con alto riesgo de feto con RCIU. La mayoría de las sociedades recomiendan clasificar a las gestantes en función de sus factores previos, de modo que se programe una ecografía de crecimiento en aquellas que los presenten (92–94). Los principales factores de riesgo quedan recogidos en la tabla Tabla 5 (94–99).

Tabla 5. Principales factores de riesgo para desarrollo de un feto con RCIU. RCIU: restricción de crecimiento intrauterino IMC: índice de masa corporal.

Factores de riesgo	
Consumo de tabaco, drogas y alcohol	Drogas
Historia previa de fetos con RCIU	IMC<19
Malformaciones uterinas	Miomas
Edad materna avanzada (<40 años)	Enfermedades maternas (renales, hematológicas, vasculares e inmunológicas especialmente)
Trastornos hipertensivos de la gestación	Altitudes elevadas

La RCIU en la gestación gemelar conlleva una serie de peculiaridades, como la existencia del fenómeno de restricción de crecimiento selectivo (RCIUs). Este diagnóstico puede establecerse cuando uno de ambos gemelos presenta un PFE en percentil menor que 10 y la discordancia de PFE entre gemelos es de >25% (100–103). Este fenómeno puede explicarse por la existencia de patrones anómalos de anastomosis vasculares y una distribución desigual de la placenta, lo que lleva a un acceso desequilibrado a los nutrientes (104).

El manejo de la RCIU de ambos gemelos en gestaciones bicoriales, sigue unas indicaciones similares a las de gestaciones únicas en la mayoría de protocolos nacionales e internacionales, con controles cada 2 semanas y la finalización recomendada cuando la gestación alcanza el término (105–107). En cuanto a la RCIUs, existen una serie de criterios que modifican el momento indicado para la finalización de la gestación:

- Feto pequeño para edad gestacional (PEG) o RCIUs I: finalización en semana 37. No contraindicado un parto vaginal per se.
- RCIUs II: finalización en semana 34 mediante cesárea.
- RCIUs III: finalización en semana 30 mediante cesárea.
- RCIUs IV: finalización en semana 28 mediante cesárea.

Por el contrario, la RCIUs afecta hasta un 20% de las gestaciones monocoriales, y determina un seguimiento y manejo de mayor complejidad. En estas gestaciones, el pronóstico vendrá asociado al número de anastomosis presentes entre ambos fetos, ya que, a mayor número de vasos comunicantes, mayor cantidad de sangre facilitada al feto pequeño (108). Sin embargo, estas comunicaciones presentan otra serie de riesgos para el conjunto de la gestación. En hasta un 25-40% de los casos las presiones desiguales entre las circulaciones de provocar un fenómeno hipóxico en el gemelo de mayor tamaño en un intento de compensar la hipovolemia secundaria a episodios de bradicardia o hipotensión en el gemelo de menor tamaño (109,110). Para establecer un diagnóstico de RCIU en gestaciones monocoriales, deberá estar excluido cualquier criterio de síndrome de transfusión feto fetal (STFF), por lo que es esencial comprobar la normalidad en los niveles de líquido amniótico y los tamaños de las vejigas (102). En gestaciones con RCIU, se recomienda realizar un control semanal y finalizar mediante cesárea en función de la amnionicidad y el grado de afectación, a partir de semana 32 de gestación (111,112).

Otros síndromes asociados a disfunción placentaria: HELLP y Abruption placentae

El síndrome de HELLP se ha clasificado clásicamente como una variante infrecuente de la PE grave, con una prevalencia inferior al 1% de las gestaciones.

Sucede más frecuentemente en el tercer trimestre de gestación, aunque algunos casos también se desencadenan en el puerperio (113). Se caracteriza por hemólisis (concentraciones elevadas de lactato deshidrogenasa [LDH] que superan el umbral superior de referencia), niveles elevados de enzimas hepáticas (concentraciones de alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa que exceden el umbral superior de referencia) y recuento reducido de plaquetas ($<100,000/\mu\text{L}$) (114,115). Cuando solo uno o dos criterios se cumplen, queda clasificado como HELLP incompleto. Recientemente se ha cuestionado que realmente constituya una forma de PE, ya que hasta un 20% de las pacientes con diagnóstico de HELLP no sufren de hipertensión, proteinuria ni otros criterios típicos (116). Los principales factores de riesgo reconocidos para el HELLP son la nuliparidad, edad materna avanzada, los síndromes hipertensivos gestacionales y la gestación múltiple (117).

Parece que su fisiopatología comparte origen con la disfunción placentaria, pero que a través de alguna vía aún desconocida, desencadena una respuesta del sistema del complemento generando inflamación hepática y hemólisis. La hemólisis se produce por una anemia hemolítica microangiopática, en la que los glóbulos rojos se destruyen al pasar por el endotelio materno dañado. Este fenómeno produce secundariamente un aumento de los niveles de LDH asociado a anemia con esquistocitos en frotis periférico, así como un descenso en los niveles de haptoglobina (118,119). La elevación de enzimas hepáticas (GOT y GPT) reflejan el daño hepático. Por último, el descenso en los niveles de plaquetas se debe a la activación de las mismas para adherirse al endotelio vascular dañado (114,120,121).

Las pacientes pueden sufrir presentaciones clínicas muy variadas, aunque es típica la tríada de dolor epigástrico o en hipocondrio derecho, náuseas y vómitos, y pueden asociarse otros como fatiga, ictericia, edemas, síntomas visuales, etc. (115,116,122). Ante sospecha clínica, se deberá realizar una exploración física con monitorización de las constantes, analítica con perfil hepático y renal y frotis periférico. Para confirmar el diagnóstico, es interesante obtener los niveles de haptoglobina, LDH, y coagulación básica. Se debe realizar diagnóstico diferencial con PE, el hígado graso, hepatitis de otra etiología y otras microangiopatías como

el síndrome hemolítico urémico y la púrpura trombótica trombocitopénica (116,121,123).

Las complicaciones maternas y neonatales pueden ser graves. La Tabla 6 resume las principales descritas, así como su incidencia.

Tabla 6. Complicaciones maternas y neonatales secundarias a síndrome HELLP. CID: Coagulación intravascular diseminada; EAP: edema agudo de pulmón. Adaptado de Haram K, Svendsen E, Abildgaard U. The HELLP syndrome: clinical issues and management. A Review. BMC Pregnancy Childbirth. 2009 Feb 26;9:8. doi: 10.1186/1471-2393-9-8. PMID: 19245695; PMCID: PMC2654858.

Complicaciones maternas	Incidencia (%)
Eclampsia	4-9
Abruptio placentae	9-20
CID	5-56
Fallo renal agudo	7-36
Ascitis severa	4-11
Edema cerebral	1-8
EAP	3-10
Hematoma hepático subcapsular	0.9-2
Rotura hepática	1.8
Desprendimiento de retina	1
Ictus cerebral	Casos aislados reportados
Hemorragia cerebral	1.5-40
Muerte materna	1-25
Complicaciones neonatales	
Muerte perinatal	7.4-34
RCUI	38-61
Parto pretérmino	70
Trombocitopenia neonatal	15-50
Síndrome de distrés respiratorio	5.7-40

El manejo de las pacientes con diagnóstico de HELLP depende de la edad gestacional y la severidad del cuadro (117,121,124). Generalmente, por encima de

las 34 semanas, estará indicada la finalización de la gestación. En prematuros por encima de las 27 semanas, se procurará completar la pauta de maduración pulmonar si la clínica materna lo permite, tras lo que estará indicado finalizar. Por el contrario, por debajo de las 27 semanas, se puede considerar demorar la finalización con un control materno estrecho (125–127). Las potenciales complicaciones deben barajarse frente a la gravedad de las secuelas por prematuridad en estas edades gestacionales (128,129). La vía del parto dependerá de la existencia de complicaciones asociadas, ya que la imposibilidad de controlar la tensión arterial materna, o el diagnóstico de cuadros como el abruptio, EAP, eclampsia, etc. condicionará la indicación de una cesárea urgente (126).

El abruptio placentae o DPPNI es la separación parcial o total de la placenta del útero antes del nacimiento del feto. Su incidencia varía entre un 0.4-1% en función de la población y la presencia de diversos factores de riesgo reconocidos (130–132):

Tabla 7. Factores de riesgo obstétricos, genéticos y sociodemográficos para desprendimiento prematuro de placenta normoinsera.

Factores de riesgo	
Estados hipertensivos del embarazo	Poli u oligohidramnios
Edad materna < 20 o > 35 años	Paridad ≥ 3
Corioamnionitis	Diabetes gestacional y pregestacional
Raza negra	Rotura prematura de membranas pretérmino
Mutación del gen MTHFR	Trombofilia
Hiperhomocisteinemia	Historia previa de disfunción placentaria
Hábito tabáquico	Consumo de alcohol
Consumo de cocaína	Infertilidad de origen desconocido
Déficit de hierro o folato	Familia monoparental

Los posibles desencadenantes del DPPNI incluyen procesos crónicos y agudos, como traumatismos abdominales, hematomas disecantes, coagulopatías, situaciones de hipoxia o vasculopatías (133). En pacientes con hipertensión crónica o estados hipertensivos del embarazo, el riesgo de DPPNI aumenta hasta

6 veces con respecto a la población sana, en especial en aquellas con diagnóstico de preeclampsia o preeclampsia sobreañadida a hipertensión crónica (134–136). Esto parece deberse a la expresión anómala del VEGF y otros factores angiogénicos, secundaria a los cambios histológicos e hipoxia local típica de la disfunción endotelial, que podría predisponer a la ruptura arterial, hemorragia retroplacentaria y separación de la placenta de la pared uterina (133,137).

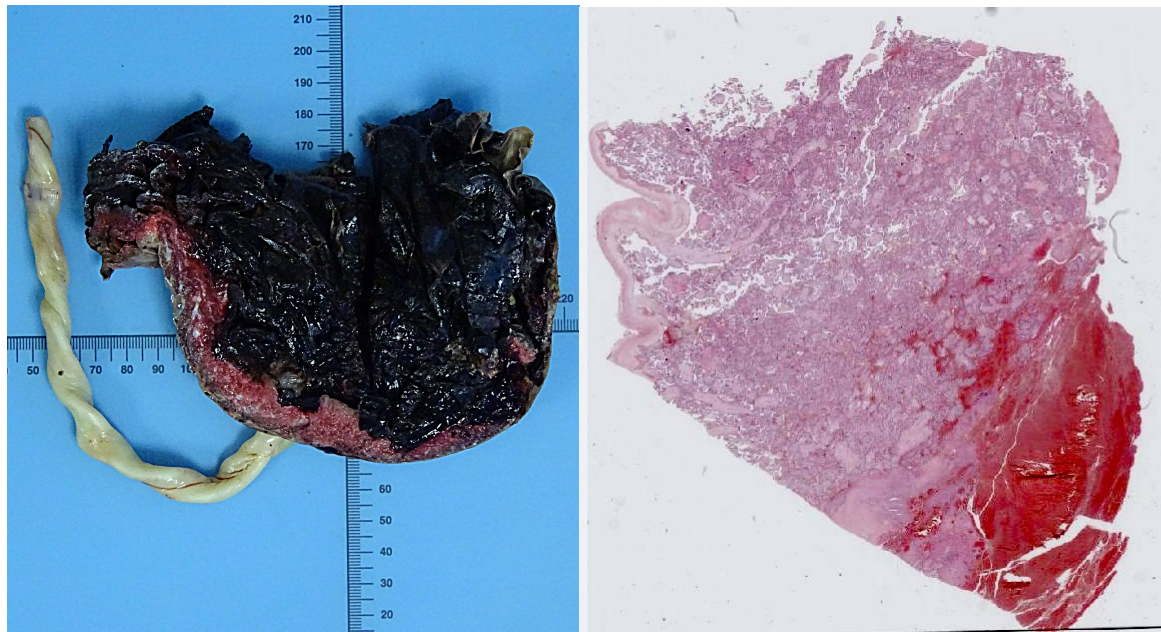


Figura 5. Imagen macro y microscópica (x7mm) de una placenta abrupta. Imágenes cedidas por el Dr Jaime Ferrer, Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario y Politécnico La Fe.

El deterioro fetal y materno puede ser rápido y severo, por lo que el manejo clínico supone un reto para los obstetras. En el periodo agudo, las complicaciones maternas son aquellas secundarias a la hemorragia, e incluyen shock hipovolémico, CID, necesidad de recurrir a una histerectomía urgente y muerte materna (138,139). Los principales riesgos fetales incluyen aquellos derivados de la prematuridad y la hipoxia aguda con secuelas neurológicas, además de la anemia fetal y la muerte neonatal (140–142).

Parto pretérmino

Definición y factores de riesgo

El parto pretérmino queda definido como el parto que sucede antes de la semana 36+6 según la Organización Mundial de la Salud (OMS) (143). Según estudios epidemiológicos, hasta el 45% de los partos pretérmino son de inicio espontáneo, mientras que el resto son inducidos por patología materna o fetal (144,145). En función de la edad gestacional al parto, y como figura en la Tabla 8, el parto prematuro se puede dividir en diferentes categorías (145):

Tabla 8. Categorías de prematuridad en función de edad gestacional y su incidencia expresada en %.

	Edad gestacional	Incidencia (%)
Prematuro extremo	Hasta semana 28+0	5
Prematuro grave	Desde 28+0 a 31+6	15
Prematuro moderado	Desde 32+0 a 33+6	20
Prematuro leve	Desde 34+0 a 36+6	60

La prematuridad es la principal causa de mortalidad neonatal y la razón más común de hospitalización neonatal (146,147). Además, es la primera causa de daño neurológico en la infancia (148). En los Estados Unidos, aproximadamente el 12% de todos los nacimientos vivos ocurren antes del término, mientras que el Instituto Nacional de Estadística (INE) afirma que en España estos partos representan un 6,5-9% del total en nuestro medio, alcanzando hasta un 12,5% en centros de referencia (144,145,149). Los prematuros leves o tardíos pueden ser similares en tamaño y peso a aquellos nacidos a término, sin embargo, sus características fisiológicas a nivel de madurez pueden ser muy diferentes, lo que les genera una mayor vulnerabilidad (150,151).

Los factores de riesgo para el evento de parto pretérmino espontáneo son bien conocidos y multifactoriales. En 2020, nuestra sociedad publicó una Guía de Asistencia Práctica en la que recomienda un cribado mediante anamnesis que incluya los siguientes factores de riesgo (152):

Tabla 9. Principales factores de riesgo conocidos de parto pretérmino.

Naturaleza	Factores de riesgo
Obstétricos	1. Historia previa de parto pretérmino 2. Antecedente de aborto del segundo trimestre (> 16 semanas) 3. Gestación múltiple 4. Sobredistensión uterina 5. Alteraciones vasculares
Maternos	1. Cirugía sobre el cérvix: conización, LLETZ 2. Malformación uterina 3. Antecedente de procedimiento con dilatación cervical o legrado uterino 4. Antecedente de cesárea en dilatación completa prolongada
Sociodemográficos	1. Hábito tabáquico 2. IMC materno pregestacional < 19,8 3. Periodo intergenésico corto (< 18 meses) 4. Raza negra 5. Estrés materno
Otros mecanismos	1. Infección intraamniótica 2. Infecciones extrauterinas 3. Senescencia celular 4. Disminución de la acción de la progesterona

Los embarazos gemelares representan entre el 15% y el 20% de todos los nacimientos prematuros (145,153). Alrededor del 60% de los embarazos gemelares finalizan antes de las 37 semanas, con un riesgo relativo hasta nueve veces mayor que en los embarazos únicos (1,144,146). El mecanismo

fisiopatológico más probable en este tipo de gestación es la sobredistensión uterina, que secundariamente provoca contracciones y la ruptura prematura de las membranas amnióticas (145,154).

Fisiopatología

Independientemente de la causa subyacente, todos los casos de trabajo de parto pretérmino convergen en los mismos acontecimientos: aumento de la contractilidad uterina, dilatación cervical y ruptura de las membranas corioamnióticas (153,154). Según diversos estudios, el cambio del estado miometrial de reposo a contráctil se debe a la alteración de diversas vías antiinflamatorias y proinflamatorias y proteínas asociadas a la contracción miometrial, que normalmente se encuentran quiescentes gracias a la acción de la progesterona (155,156). Las modificaciones cervicales están mediadas por cambios en las proteínas de la matriz extracelular, que incluyen una pérdida en la reticulación del colágeno, un aumento en los glucosaminoglicanos, así como cambios en las propiedades de la barrera epitelial y la vigilancia inmunológica (157). Esto disminuye la fuerza del cuello uterino, clave para la dilatación cervical. Finalmente, una serie de cambios anatómicos y bioquímicos alteran el soporte decidual de la gestación, lo que lleva a la separación de las membranas corioamnióticas de la decidua y, eventualmente, a su ruptura. Se ha implicado en este proceso la mayor expresión de citoquinas inflamatorias (TNF- α e IL-1) y quimiocinas, el aumento de la actividad de diversas proteasas, la disolución de moléculas de adhesión celular como la fibronectina y la activación de la apoptosis (158,159).

La infección es la causa más prevalente y mejor estudiada como origen del parto pretérmino, ya que justifica hasta un tercio de los casos (160,161). La vía de diseminación más frecuente es la ascendente desde la vagina, con microorganismos típicos del área genital. Sin embargo, se han descrito casos de corioamnionitis secundarias a focos a distancia, como en el caso de infecciones periodontales, pielonefritis o neumonía (162). Otras causas importantes desencadenantes del parto pretérmino son la insuficiencia cervical, los trastornos vasculares, la sobredistensión uterina o las alteraciones inmunológicas (163).

El parto prematuro inducido suele estar justificado por condiciones obstétricas o maternas (164,165). En la actualidad, estos casos se encuentran en aumento, probablemente debido a las características sociodemográficas maternas: aumento en la edad y secundariamente comorbilidades asociadas, las TRA y gestaciones gemelares, así como el aumento de obesidad materna (166). En estudios recientes, entre las causas más frecuentes de inducción del parto pretérmino se encuentran la sospecha de pérdida de bienestar fetal, la RCIU, los estados hipertensivos del embarazo y la diabetes gestacional (167).

Prevención y tratamiento

La detección de mujeres susceptibles a presentar parto pretérmino es un tema controvertido. La principal herramienta empleada hasta ahora es la medición de la longitud del cérvix uterino, sin embargo, las sociedades internacionales muestran opiniones contradictorias con respecto a su aplicación universal (161,168,169). Nuestra sociedad recomienda la medición de la longitud del cérvix en casos de amenaza de parto pretérmino como ayuda a la hora de decidir la posibilidad de ingreso e intervención en la paciente (152). Otras herramientas de cribado bioquímico como la fibronectina fetal cuantitativa no están validadas en la actualidad, por lo que su aplicabilidad clínica es limitada (170,171).

El tratamiento de la amenaza de parto pretérmino consiste en la administración de agentes tocolíticos con la finalidad de retrasar el parto y así administrar corticoides y SOMg₄ para favorecer la maduración pulmonar y protección neurológica fetal (172–175). La tocolisis de mantenimiento, es decir, más allá de 48 horas, no ha demostrado mejorar los resultados neonatales, por lo que actualmente no está recomendada (176). Existen diferentes opciones de agentes tocolíticos a escoger en función de las comorbilidades, edad gestacional y características de la gestación (177–179). La tabla 10 recoge los principales agentes tocolíticos empleados.

Tabla 10. Principales agentes tocolíticos con indicaciones de elección, efectos secundarios y principales contraindicaciones.

	Elección	Efectos secundarios	Contraindicaciones
Nifedipino		Disminución del reflejo osteotendinoso paterno, depresión respiratoria, oligouria.	Defectos de la conducción cardíaca, con enfermedad hepática e hipotensión. Evitar combinación con SOMg ₄ (riesgo de hipocalcemia, bloqueo neuromuscular y
Antagonistas de receptores de la oxitocina	Gestaciones múltiples, cardiopatía materna, uso concomitante de antihipertensivos.	Reacción en el sitio de inyección, cefalea, náusea, dolor torácico e hipotensión.	No hay contraindicaciones absolutas.
Indometacina	Edad gestacional < 24 semanas e incompetencia cervical	Cefalea, náuseas, vómitos, diarrea, esterñimiento, irritación rectal, plaquetopenia.	Hipersensibilidad a antiinflamatorios no esteroideos, alteraciones de la coagulación, función hepática o renal, úlcera gastrointestinal y asma.

El uso de progesterona o pesarios vaginales está actualmente cuestionada, dada la falta de evidencia firme que justifique el beneficio de su aplicación (180–182). Como medidas adicionales, nuestra sociedad recomienda el traslado a un centro

terciario con disponibilidad de unidad de cuidados intensivos neonatales, y la consideración de una adecuada vía del parto (152).

Ratio sFlt-1/PIGF

Como se ha explicado previamente, la disfunción placentaria se caracteriza por una invasión trofoblástica anómala de las arterias espirales del segmento miometrial, lo que lleva a una isquemia placentaria y crea un entorno hipóxico. Este ambiente promueve la liberación de factores antiangiogénicos en la circulación materna, como el soluble fms-like tirosina quinasa-1 (sFlt-1), y reduce la disponibilidad de factores proangiogénicos, como el factor de crecimiento placentario (PIGF) (21,183,184). El ratio sFlt-1/PIGF ha sido ampliamente estudiado durante la última década no solo como marcador de disfunción placentaria, sino como predictor de resultado perinatal adverso (RPA) y parto pretérmino (185–190). Es más, son numerosas las sociedades nacionales e internacionales que ya lo incluyen en sus protocolos ante diagnósticos asociados a disfunción placentaria (49,92,191,192).

El factor antiangiogénico sFlt-1 es una proteína soluble que produce vasoconstricción periférica con el objetivo de reclutar volumen sanguíneo adicional y, secundariamente, reducir la isquemia local (193,194). Dado que el sFlt-1 actúa adheriéndose a los dominios de unión a receptores de proteínas proangiogénicas como el factor de crecimiento placentario (PIGF) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), su aumento conduce a una disminución en los niveles libres de estos (195,196). Dicho desbalance hormonal contribuye a las manifestaciones maternas propias de la PE, y sus variaciones pueden detectarse hasta 5 semanas antes del inicio de los síntomas (185,186,194,197–199). Asimismo, el PIGF ha demostrado ser útil en la predicción de PE pretérmino en el cribado del primer trimestre, por lo que la Fetal Medicine Foundation (FMF) desarrolló un algoritmo validado en el que se emplea dicha hormona combinada con otros datos maternos (200).

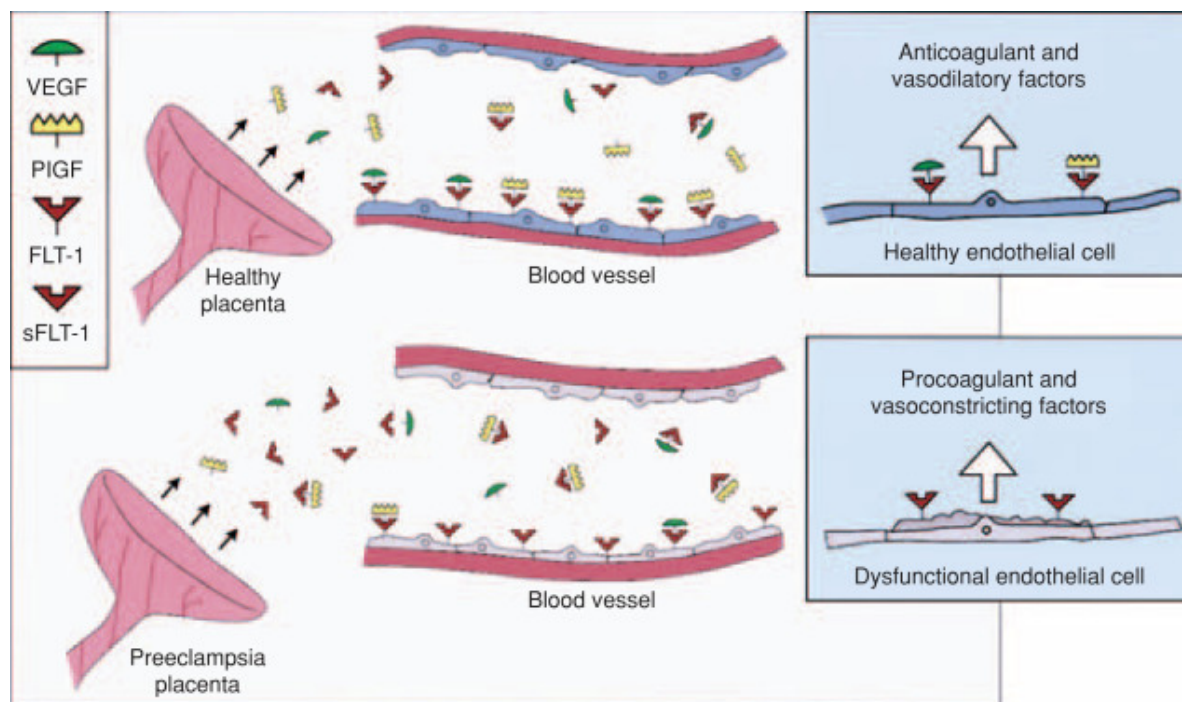


Figura 6. Mecanismo de acción del sFlt-1 mediante la unión al PlGF y el VEGF, provocando así disfunción endotelial y activando factores de la coagulación. Karumanchi SA, Maynard SE, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP. PE: a renal perspective. Kidney Int. 2005 Jun;67(6):2101-13. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.00316.x.

A pesar de su reciente descubrimiento y validación (las primeras menciones en la literatura científica se remontan a 2004), en poco menos de una década se ha convertido en una herramienta fundamental para el diagnóstico y exclusión de la PE (201–207). Su aplicación como marcador para diagnóstico, estratificación de riesgo y manejo en embarazos únicos está validada y se aplica en la práctica clínica diaria, ya que se han propuesto los umbrales óptimos para diagnosticar y descartar la PE con altos valores predictivos (208).

Tabla 11. Interpretación y manejo ante resultados del ratio sFlt-1/PlGF. Umbrales propuestos por H Stephan et al. (208)

Ratio sFlt-1/PlGF			Interpretación	Manejo
Bajo	<38		Bajo riesgo de desarrollar PE en las 4 semanas sucesiva	No precisa más determinaciones
Intermedio	38-85	<34 semanas	Alto riesgo de desarrollar PE en las 4 semanas sucesivas	Reevaluación del cociente en 1-2 semanas y control de síntomas/signos
	30-110	≥ 34 semanas		
Elevado	>85	<34 semanas	Probable diagnóstico de PE	Reevaluación en <1 semana y control de síntomas/signos. Si ≥34 semanas considerar finalizar gestación.
	≥110	≥ 34 semanas		
Muy elevado	>655	<34 semanas	Alto riesgo de complicaciones asociadas a corto plazo	Valorar hospitalización y maduración pulmonar fetal.
	>201	≥34 semanas		

Sin embargo, su aplicación en la detección y pronóstico de la RCIU es más limitada. El único método diagnóstico validado actualmente se basa en la estimación del peso fetal y el estudio del Doppler fetoplacentario mediante ecografía, como se ha detallado previamente (59). A pesar de que se han desarrollado varias fórmulas para estimar el peso fetal (209–211), no se deben pasar por alto sus limitaciones, ya que numerosos estudios reflejan una precisión variable que depende esencialmente del operador (212,213). Es más, la predicción actual de la morbilidad y supervivencia de fetos prematuros depende de

herramientas ajustadas para edad gestacional, peso y sexo fetal, de forma que no se tiene en cuenta el estado asociado de restricción de crecimiento (214,215). Es por ello que recientemente se han lanzado estudios para evaluar el rendimiento diagnóstico y pronóstico del ratio sFlt-1/PIGF en fetos prematuros con RCIU, con resultados prometedores (76,185,216,217). Asimismo, trabajos recientes han apreciado la capacidad del ratio sFlt-1/PIGF para predecir parto prematuro no solo en fetos afectados de RCIU, sino también en aquellos normopeso (218). Esto también es aplicable en gestaciones con DPPNI, en las que se han detectado niveles alterados de factores angiogénicos a lo largo de la gestación (219).

A diferencia de las gestaciones únicas, la aplicación del ratio sFlt-1/PIGF en embarazos gemelares, en los que la masa placentaria, el volumen sanguíneo materno y la respuesta inflamatoria son mayores que en los embarazos únicos, es actualmente muy limitada (220,221). Los escasos estudios que evalúan su utilidad sugieren que, en gestaciones no complicadas, los embarazos gemelares tienen ratios más altos en comparación a gestaciones únicas (222–226). Parece que esto también es aplicable en embarazos gemelares complicados por PE y RCIU (226–228). Además, ciertos estudios centrados en gestaciones gemelares, ratios más altos por si solos o en combinación con otros biomarcadores placentarios como el índice de pulsatilidad de la arteria umbilical (IPAU) o los niveles de PAPP-A han demostrado predecir resultados adversos durante el embarazo (229–233).

Hipótesis de trabajo

Las complicaciones del embarazo relacionadas con disfunción placentaria, como PE o restricción del crecimiento, son más frecuentes en embarazos múltiples que en únicos. Además, en las últimas décadas, la tasa de embarazos múltiples ha crecido notoriamente. La disfunción placentaria se caracteriza por un trofoblasto que invade anormalmente el segmento miometrial con sus arterias espirales, lo que conlleva a la isquemia placentaria. En consecuencia, este ambiente hipóxico favorece la descarga de factores antiangiogénicos en la circulación materna, como la tirosina quinasa-1 similar a fms soluble (sFlt-1), y reduce la biodisponibilidad de factores proangiogénicos, como el factor de crecimiento placentario (PIGF). El ratio sFlt-1/PIGF ha sido ampliamente estudiada durante la última década como indicador de disfunción placentaria. Sin embargo, no se han establecido claramente los niveles del ratio sFlt-1/PIGF durante gestaciones gemelares sanas y con PE.

La determinación en suero materno del ratio sFlt-1/PIGF en gestaciones gemelares, es capaz de predecir su aparición de disfunción placentaria en forma de PE y retraso del crecimiento intrauterino, además de aportar información sobre posibles resultados materno-fetales adversos y el riesgo de finalización pretérmino.

Objetivos

Objetivo principal

El objetivo de este trabajo es proporcionar información actualizada y relevante sobre la evolución del ratio de PE en gestaciones gemelares, así como determinar su capacidad predictiva y diagnóstica en aquellas que desarrollen complicaciones, especialmente las asociadas a disfunción placentaria.

Objetivos específicos

1. Determinar los valores del ratio sFtl-1/PIGF a lo largo de la gestación gemelar (12, 24 y 32 semanas) sin patologías.
2. Determinar si los valores de ratio sFtl-1/PIGF en semana 12, 24 y/o 32 pueden ayudar a seleccionar gestantes con elevado riesgo de aparición de enfermedades asociadas a disfunción placentaria, como RCIU o PE, así como de parto prematuro y resultado perinatal adverso.
3. Establecer valores diagnósticos del ratio sFtl-1/PIGF a lo largo de gestaciones gemelares con patología asociada a enfermedades por disfunción placentaria como RCIU y PE.
4. Determinar si la adición de características maternas y gestacionales como IMC, TRA o edad además del IP de arterias uterinas al ratio de PE mejora la identificación de pacientes en riesgo de desarrollar enfermedades asociadas a disfunción placentaria, así como parto prematuro y resultado perinatal adverso.

Además, se espera que este trabajo sirva como punto de partida para futuras investigaciones sobre este tema.

Métodos para el conjunto de la investigación y análisis estadístico

Los datos de las pacientes durante el embarazo y el parto se recopilaron de la historia clínica digital del hospital: edad materna, índice de masa corporal (IMC), paridad, hábitos tóxicos, enfermedades crónicas, tratamientos crónicos, método de concepción, corionicidad, amnionicidad, aumento de peso durante el embarazo, diagnóstico de enfermedades gestacionales (diabetes e hipotiroidismo), PAPP-A, IPAU, riesgo de preeclampsia precoz calculado en el primer trimestre, peso fetal estimado en las semanas 24 y 32, niveles de presión arterial en las semanas 12, 24 y 32, edad gestacional en el momento del parto, modo e inicio del parto, resultado neonatal (peso, prueba de Apgar, pH arterial y venoso, admisión a la unidad neonatal) y patología puerperal.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando la aplicación informática Rstudio (Versión 2023.09.1+494). Las variables cuantitativas se describieron utilizando medidas estándar de tendencia central y variabilidad: media, desviación estándar (DE), mediana, rango intercuartílico, máximo y mínimo. Las variables categóricas se describieron utilizando frecuencia y proporción con respecto al número total de casos. El análisis estadístico bivariado se realizó utilizando una prueba t de Student para los casos en que se cumplía la normalidad de la variable, y una prueba de Mann-Whitney no paramétrica para los casos en que no se cumplía la suposición de normalidad. Las curvas de supervivencia se obtuvieron mediante análisis de supervivencia, y las curvas de corte diagnóstico se determinaron utilizando curvas ROC. El análisis multivariante se realizó utilizando regresión lineal para los días totales de gestación y regresión logística para la disfunción placentaria. Asimismo, se utilizaron modelos de regresión logística multivariante para evaluar la relación entre las diferentes variables y la ocurrencia de parto prematuro y resultados perinatales adversos. Para cada modelo, se asoció la Razón de Probabilidades (OR) con el intervalo de confianza al 95% (IC del 95%) con cada variable, y se informó su significancia estadística. También se determinaron las capacidades predictivas de cada uno de estos modelos

relacionados con la ocurrencia de cada evento. En cada análisis, se reportaron la precisión, la sensibilidad, la especificidad, así como la curva AUC-ROC. En todos los casos, la significancia estadística se estableció en $p < 0.05$.

Ética

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto de Investigación en Salud del Hospital La Fe (IIS La Fe). Todas las mujeres embarazadas firmaron el formulario de consentimiento informado antes de participar en el estudio.

Primer artículo

El ratio sFlt-1/PIGF como predictor de resultados del embarazo en embarazos gemelares: una revisión sistemática.

Referencia: Elena Satorres, Alicia Martínez-Varea & Vicente Diago-Almela (2023) sFlt-1/PIGF ratio as a predictor of pregnancy outcomes in twin pregnancies: a systematic review, The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 36:2, 2230514. DOI: 10.1080/14767058.2023.2230514

Tipo de estudio: revisión sistemática

Estado: publicado

Factor de impacto: 1.8 (2022)

Categoría: Obstetrics and Gynecology

Posición: Q2, posición 67/85

Resumen del primer artículo

Objetivo

La evidencia publicada relacionada con el ratio sFlt-1/PIGF en gestaciones gemelares es escasa. Su desarrollo y validación en gestaciones únicas es bastante reciente, ya que los primeros artículos publicados datan de 2004. Sin embargo, en menos de una década, se ha convertido en una herramienta fundamental para el diagnóstico y exclusión de la PE. Hasta donde sabemos, esta es la primera revisión sistemática que evalúa la evidencia actual sobre el ratio sFlt-1/PIGF de forma exclusiva en embarazos gemelares. El objetivo de esta revisión fue recopilar los datos existentes y resumir la evidencia respecto al uso del ratio sFlt-1/PIGF para detectar disfunción placentaria y resultado neonatal en dichas gestaciones.

Metodología

Esta revisión sistemática se desarrolló siguiendo la guía PRISMA. Se incluyeron publicaciones de las siguientes fuentes: Pubmed-Medline, Base de Datos Cochrane, Registro Central Cochrane para Ensayos Controlados, Web of Science y National Guidelines. Además, se consultaron las listas de referencias de los artículos seleccionados. Todos los artículos que cumplían con los criterios de inclusión y no tenían criterios de exclusión, publicados desde enero de 2012 hasta noviembre de 2022, fueron elegidos para inclusión en el estudio.

Se consideraron adecuados para esta revisión todos los estudios que comprendieran la determinación del ratio sFlt-1/PIGF en gestaciones gemelares con el fin de predecir los resultados fetales y maternos. Posteriormente, se definieron criterios de exclusión: (1) muestras con menos de 10 gestaciones gemelares o que no involucraran gestaciones gemelares, (2) publicados antes de 2012, (3) que no evaluaran resultados maternos-fetales, (4) que no midieran la relación sFlt-1/PIGF, (5) estudios sin texto completo disponible.

Para definir nuestra búsqueda, se formuló una pregunta PICO: P (paciente = gestaciones gemelares), I (intervención = medición del ratio sFlt-1/PIGF), C (comparación = gestaciones únicas o ausencia de medición del ratio), O (resultado

= resultado fetal y materno). Finalmente, se describieron los términos MeSH: preeclampsia, twin, pregnancy, ratio, sFlt-1/PIGF, biomarkers, fetal growth restriction, abruptio placentae, and placental abruption.

La búsqueda bibliográfica fue realizada por un autor. Posteriormente, los títulos y resúmenes de todos los artículos fueron evaluados de manera independiente por dos autores. Ambos autores seleccionaron cuidadosamente los artículos que cumplían con los criterios de inclusión y exclusión establecidos previamente. Finalmente, se llevó a cabo una discusión entre los colaboradores y se realizó una selección final por consenso. El proceso de selección se muestra en el siguiente diagrama de flujo (Figura 7).

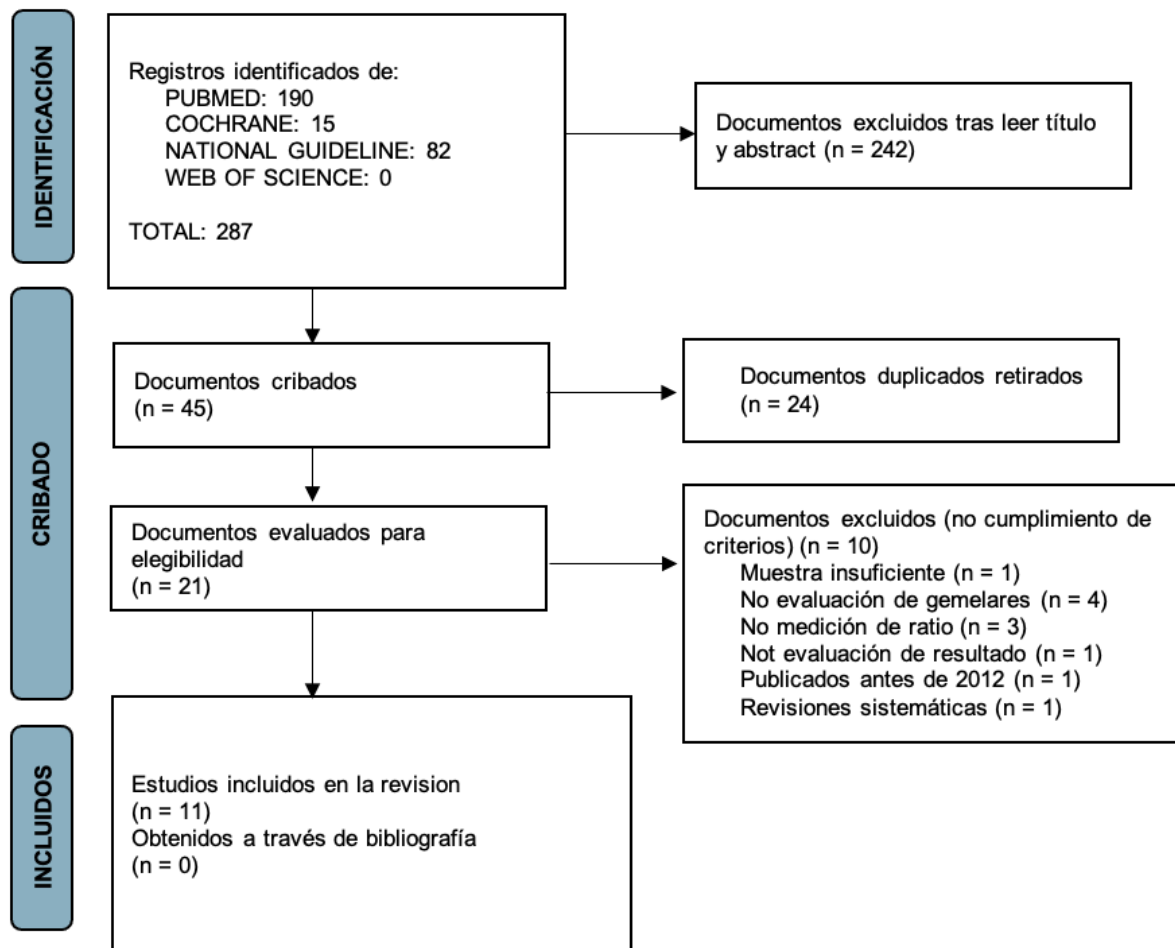


Figura 7. Diagrama de flujo que muestra el proceso de cribado y selección de artículos.

Debido a la heterogeneidad de los datos reportados, no se consideró apropiado realizar un metaanálisis. En caso de que los estudios reportaran medidas de significancia estadística, se recogieron en tablas. Sin embargo, dada la ausencia

de datos numéricos en la mayoría de los estudios, la mayoría de resultados se reflejan a modo de discusión. Dado que los estudios incluidos fueron escasos y la relación se midió en diferentes edades gestacionales, las determinaciones no se consideraron estadísticamente comparables y no se realizó un metaanálisis.

Con el fin de reducir el riesgo de sesgos en esta revisión sistemática, los criterios de elegibilidad se definieron y aplicaron estrictamente. Se lanzó una búsqueda extensa en múltiples fuentes de información incluyendo artículos en inglés, francés y español. El proceso de selección y escrutinio se realizó de forma objetiva y reproducible. Además, y como se detalló anteriormente, dos autores independientes analizaron y evaluaron los artículos seleccionados con el objetivo de contrastar y refinar la selección final. Una vez seleccionados los artículos, se utilizó la Escala de Newcastle-Ottawa (NOS) para evaluar su calidad. Esta escala es óptima para estudios no aleatorizados, incluidos estudios de casos y controles y de cohortes, y establece un sistema de estrellas basado en tres perspectivas generales: la selección de los grupos de estudio, la comparabilidad de los grupos y la determinación tanto de la exposición como del resultado de interés para estudios de casos y controles o de cohortes, respectivamente.

Resultados

Como se observa en la Figura 7, se recopilaron 287 artículos en cuatro bases de datos diferentes. Finalmente, se seleccionaron 11 documentos para constituir nuestra revisión. Dicha Figura detalla las justificaciones para la exclusión de artículos.

En total, se recopilaron y analizaron 994 embarazos gemelares. Un total de 5 estudios compararon embarazos gemelares con una cohorte de embarazos únicos, por lo que se reclutaron hasta 3009 embarazos únicos. La mayoría de los estudios fueron diseños de cohorte retrospectivos. El tamaño medio total de la muestra fue de 90.36 embarazos gemelares por artículo, pero cabe destacar que el tamaño de la muestra fue bastante discordante (desde 21 hasta 269). Todos los artículos seleccionados incluyeron la medición del ratio sFlt-1/PIGF. Sin embargo, 5 artículos incluyeron a madres sanas sin sospecha de PE, 3 de ellos exclusivamente (35.85% del total de la muestra de gemelos), mientras que el resto

de las muestras incluyeron a pacientes con sospecha o confirmación de PE. La edad gestacional establecida para medir la relación sFlt-1/PIGF fue heterogénea entre estudios, ya que se realizaron determinaciones desde la semana 10 hasta la semana 41, aunque solo 2 artículos registraron mediciones durante el primer trimestre del embarazo (234,235). Además, 4 artículos distinguieron entre PE de inicio precoz y tardío, mientras que solo 6 consideraron el diagnóstico de RCIU o PEG (225–228). Las características detalladas de los estudios se describen en la Tabla 12.

En cuanto a la calidad de los estudios incluidos, se utilizó la Escala de Newcastle-Ottawa (NOS). Puntuaciones de 9-7, 6-4, por debajo de 4 se consideran riesgo bajo, intermedio y alto, respectivamente. La Tabla 13 recopila información detallada sobre los estudios incluidos y su puntuación individual en cada elemento de la NOS.

Tabla 12. Artículos incluidos en la revisión sistemática y sus características básicas. PE: preeclampsia; LOPE: PE tardía; EOPE: preeclampsia precoz; RCIU: restricción del crecimiento intrauterino; PEG: feto pequeño para edad gestacional.

Estudio	M de la Calle et al., 2021	J. Hoffman et al., 2017	A Martínez Varela et al., 2022	J Binder et al., 2020	JM Faupel-Badget et al., 2015	S Rana et al., 2012	A Karge et al., 2021	L Saleh et al., 2018	L Dröge et al., 2022	R Choi et al., 2020	S Shinohara et al., 2021
Diseño	Datos a partir de 3 estudios prospectivos	Estudio de cohortes retrospectivo	Estudio de cohortes retrospectivo	Estudio de cohortes retrospectivo	Estudio de cohortes prospectivo	Estudio de cohortes prospectivo	Estudio de cohortes prospectivo	Secundario a partir de estudio de cohortes prospectivo	Estudio caso control	Estudio de cohortes retrospectivo	Estudio de cohortes retrospectivo
Muestra	269 gemelos	16 gemelos – 67 únicos	108 twin	164 gemelos	132 gemelos – 2265 únicos	79 gemelos	48 gemelos	21 twin - 21 únicos	49 gemelos – 292 únicos	374 single - 29 twin	78 twin
PE sospechada o diagnosticada vs sanos	Sanos + 62 con sospecha de PE	Con sospecha de PE	Sanos	Con sospecha de PE	Sanos	Con sospecha de PE	Con sospecha de PE	Con sospecha de PE	18 PE (13 grave + 5 leve) + 31 sanos	24 sanos + 5 con sospecha de PE	Sanos
Edad gestacional en el momento del examen	10 a >37 (7 ventanas)	<34 = 13, <37 = 29, ≥37 = 41	24s	33.6s (rango intercuartilico: 30.0–35.2)	10, 18, 26, y 35 (n 91) – tercer trimestre (31-39) y al parto (33-41) (n = 35)	33.9 (31.9–36.0)	No especificado	30 (mediana)	33+3 a 33+5	31.1 (28.8–32.8)	28 + 0 to 30 + 6
Mono o bicoriales	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	No	No	No
Ratio y punto de corte	Sí (>38)	Sí (85 (< 34w) y 110 (≥34 w))	Sí (>17)	Sí (>38)	Sí (No cut-off)	Sí (85)	Sí (> 53)	Sí (>38)	Sí (>53)	Sí (>53)	Sí (22)
PIGF	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	No	No
sFlt-1	Sí	No	Sí	No	Sí	Sí	No	Sí	Sí	No	No
Comparación con únicas	Sí	Sí	No	Sí	Sí	No	No	Sí	Sí	Sí	No
PE (%)	Sí	Sí (12.5)	Sí	Sí (71 (43)	No	Sí (46 (58)	34 (69)	Sí (13 (62)	Sí (18 (36.7)	No	Sí
EO PE vs LOPE	No	Sí	Sí	No	No	Sí	Sí	No	No	No	No
RCIU o PEG	Sí	Sí	Sí	Sí	No	No	Sí	No	Sí	No	No
Combinación con otros factores	No	No	Sí	Sí	No	Sí	No	No	No	No	No

Tabla 13. Evaluación detallada de calidad de los artículos de la revisión sistemática, utilizando la escala NOS. *1 las diferencias no fueron estadísticamente significativas; *2 la diferencia de edad no fue estadísticamente significativa; *3 los clínicos que evaluaron a las mujeres con sospecha de PE no estaban cegados para la relación sFlt-1/PlGF; *4 hubo algunos casos atípicos con valores altos de sFlt-1/PlGF en el grupo de parto sin PE. Algunos de estos pacientes tuvieron un intervalo de evaluación hasta el parto menor a una semana; *5 *ajustado por edad gestacional, edad materna y tecnologías de reproducción asistida utilizadas (todos $p < 0.001$); *6 la diferencia de edad no fue estadísticamente significativa; *7 los clínicos no estaban cegados para la relación sFlt-1/PlGF.

Estudio	Selección				Comparabilidad		Resultado		Estrellas totales (máximo 9)	Riesgo de sesgo
	Representabilidad de la cohorte expuesta	Selección de los no expuestos	Establecimiento de la exposición	Demostración de que la variable a estudio no estaba presente al inicio del estudio	Comparabilidad de los casos y controles basado en el diseño	Análisis de los resultados	Duración del seguimiento	Adecuación del seguimiento de las cohortes		
M de la Calle et al., 2021	b (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	a (1)	a (1)	7	Bajo
J. Hoffman et al., 2017	c (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	a (1)	a (1)	7	Bajo
A Martínez Varela et al., 2022	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0 *	a (1)	a (1)	a (1)	7	Bajo
J Binder et al., 2020	c (0)	a (1)	a (1)	a (1)	0 *	0 *	b (0) *	a (1)	4	Intermedio
JM Faupel-Badget et al., 2015	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0 *	a (1)	a (1)	a (1)	7	Bajo
S Rana et al., 2012	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0 *	a (1)	a (1)	a (1)	7	Bajo
A Karge et al., 2021	b (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	0 *	a (1)	a (1)	7	Bajo
L Saleh et al., 2018	b (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	a (1)	b (1)	7	Bajo
L Dröge et al., 2022	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	a (1)	a (1)	7	Bajo
R Choi et al., 2020	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	a (1)	b (1)	7	Bajo
S Shinohara et al., 2021	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	a (1)	a (1)	7	Bajo

Como se ha mencionado previamente, cuatro grupos estudiaron los niveles del ratio sFlt-1/PIGF a lo largo de gestaciones gemelares y compararon su evolución con gestaciones únicas (223,234–236). En uno de los estudios, al analizar una muestra de 269 embarazos gemelares antes de las 29 semanas, la mediana, el percentil 5 y el percentil 95 no difirieron entre las gestaciones gemelares y las únicas sanas. Sin embargo, a partir de la semana 29 y hasta el parto, la mediana, el percentil 5 y el percentil 95 fueron más altos en los embarazos gemelares (10.2, 38.7 y 38.7) en comparación con los embarazos únicos (3.75, 9.03 y 19.6) (235). Por el contrario, los otros tres estudios de cohorte prospectivos reportan niveles más altos del ratio sFlt-1/PIGF durante todo el embarazo en gemelos sanos (26 vs. 3; $p = 0.361$) (236), con las mayores diferencias en la semana 35 (168.4 vs. 29.0; $p < 0.0001$) (223,234). Cuando se compararon gestaciones gemelares y únicas con diagnóstico de disfunción placentaria, los hallazgos son contradictorios, ya que algunos grupos encuentran valores más bajos del ratio en gestaciones gemelares y otros no encuentran diferencias estadísticamente significativas (224,236).

Siete de los artículos incluidos compararon los niveles del ratio sFlt-1/PIGF en embarazos gemelares sanos con aquellos con diagnóstico confirmado de PE. La mayoría de los autores (71,4%) coinciden en que los pacientes que desarrollaron PE tuvieron niveles significativamente más altos del ratio sFlt-1/PIGF (222–226,228). Por ejemplo, J Binder *et al.* estudiaron la probabilidad de un parto prematuro debido a la PE y detectaron niveles significativamente más altos de la relación en los embarazos que terminaron dentro de 1 semana en comparación con aquellos que no lo hicieron (98,9 vs. 27,6) y dentro de 2 semanas en comparación con aquellos que no lo hicieron (84,2 vs. 23,5; $p < 0,001$) (224). De acuerdo con estos hallazgos, un estudio europeo de caso-control no solo describe niveles más elevados en los embarazos con PE [64,22 vs. 13,29 ($p = 0,001$)], sino que también reporta diferencias estadísticamente significativas entre PE severa y leve (168,67 vs. 145,5; $p = 0,037$). No obstante, otros dos artículos (28,5%) no encontraron diferencias significativas entre pacientes con sospecha y PE confirmada.

La evidencia publicada referente al diagnóstico de la PE de inicio precoz vs de inicio tardío es bastante escasa. Solo tres de los artículos incluidos hacen esta

diferenciación, y todos ellos obtuvieron resultados similares, con niveles más altos entre las mujeres que presentaron PE antes de las 34 semanas (225,226,228).

Seis grupos recopilaron resultados relacionados con el crecimiento fetal, aunque solo tres interpretaron los resultados de manera independiente para gemelos. En ellos se objetivó que un mayor nivel del ratio se asociaba con un aumento significativo en la frecuencia de RCIU, por lo que respaldan su capacidad predictiva en este diagnóstico (226,227). Además, se evaluó cada biomarcador de forma independiente, hallando valores medianos más bajos de sFlt-1 en fetos PEG (14 714,0 [8096,0–18 205,0]) que en aquellos normopeso (7495,0 [3498,0–10 482,0]). Adicionalmente, la mediana del valor de PIGF hallada para casos sin resultado adverso fue de 224,0 (156,0–449,0), mientras que para los fetos PEG o RCIU fue de 104,0 (96,0–187,0).

En cuanto a la evaluación del sFlt-1/PIGF como detector de RPA, comparar la evidencia recopilada resulta complicado, ya que cada artículo define dicho evento de manera dispar. J. Hoffman *et al.* clasificaron los resultados adversos graves como el diagnóstico de PE grave/síndrome HELLP/eclampsia, cualquier enfermedad obstétrica que ponga en riesgo la vida materna, parto extremadamente prematuro (<1000 g/32 semanas de gestación), restricción severa del crecimiento neonatal (peso al nacer <percentil 5) y ocurrencia de muerte materna o fetal. Se debe considerar que los autores no realizaron distinción entre embarazos gemelares y únicos cuando analizaron los resultados. Los resultados adversos graves complicaron el 36,1% de sus casos. La eclampsia y la muerte materna no ocurrieron en su grupo de pacientes. El ratio sFlt-1/PIGF no fue diferente en pacientes con o sin resultados adversos (54,4 [IC 37,0] vs. 66,2 [IC 20,8]; $p = 0,204$). Sin embargo, en pacientes con un ratio sFlt-1/PIGF intermedio [33–85 (<34 semanas) o 33–110 (>34 semanas)], la tasa de parto prematuro fue del 27,7%, con una tasa de parto prematuro precoz (<34 semanas) del 8,4% y una tasa de parto prematuro extremo (<32 semanas) del 6,0% (5/83). Por lo tanto, concluyen que un ratio sFlt-1/PIGF intermedio indica un riesgo mayor de parto prematuro, independientemente de la ocurrencia de PE (225).

J. Binder *et al.* estudiaron el desenlace de indicación de finalizar por PE o el diagnóstico de resultado adverso (morbilidad materna que incluye ingreso en la unidad de cuidados intensivos, EAP, hemorragia posparto o eclampsia) dentro de 1 o 2 semanas después de la determinación de la muestra. El área bajo la curva del ratio sFlt-1/PIGF fue significativamente mayor que para cada biomarcador independiente (224).

Por otra parte, S. Rana *et al.* definieron los resultados adversos como síndrome HELLP, CID, DPPNI, EAP, hemorragia cerebral, muerte materna, fetal o neonatal, eclampsia, insuficiencia renal aguda, feto PEG y finalización de la gestación por complicación obstétrica. Al comparar a las mujeres que experimentaron RPA en las 2 semanas siguientes a la determinación, la mediana del sFlt-1 fue significativamente más elevada ($p = 0,0004$). Se indicó una finalización en el 90,4% de las mujeres, entre las cuales el 27,7% ocurrió antes de la semana 34. Un ratio sFlt-1/PIGF más elevado se asoció con un menor tiempo hasta el momento de la finalización en ambos grupos (228).

El grupo liderado por A. Karge *et al.* definió como RPA la presencia de al menos uno de los siguientes resultados: síndrome de dificultad respiratoria, intubación, ingreso a la unidad de cuidados intensivos neonatales y valor de pH arterial del cordón umbilical $<7,10$. El diagnóstico de RPA se aplicó en al menos uno de los dos gemelos en 10 de 49 embarazos (20,4%). La mediana del ratio sFlt-1/PIGF no fue significativamente diferente en pacientes con RPA en comparación con aquellas sin él (89,45 vs. 62,00; $p = 0,669$). El tiempo medio hasta el parto se correlacionó negativamente de manera significativa en aquellas gestaciones finalizadas antes de las 34 semanas, mientras que en por encima de esa edad gestacional no se encontraron diferencias significativas (227).

L. Saleh y su grupo definieron a pacientes con RPA en caso de diagnóstico materno de PE, síndrome HELLP, eclampsia, hematoma subcapsular del hígado, EAP, DPPNI, insuficiencia renal, edema cerebral, hemorragia cerebral y trastornos de la visión. Complicaciones fetales y neonatales como ingreso a la unidad neonatal, necesidad de intubación, percentil de peso al nacer <10 , síndrome de dificultad respiratoria, displasia broncopulmonar, sepsis, hemorragia intracraneal y

muerte fetal o neonatal también se incluyeron en el grupo de RPA. Las complicaciones maternas ocurrieron en el 33% de las pacientes, sin hallarse diferencias entre aquellas con ratios mayores o menores a 38 o >38. Tampoco hubo diferencias al analizar la edad gestacional al parto (236)

Finalmente, S. Shinohara *et al.* evalúan el tiempo hasta el parto, y puntualizan que las mujeres con un ratio sFlt-1/PIGF <22,2 dieron a luz más tarde que aquellas con una relación sFlt-1/PIGF >22,2 (4,7 vs. 7,3 semanas tras la medición; $p < 0,001$). Además, el 38,9% de las mujeres con un ratio >22,2 dieron a luz dentro de las 4 semanas posteriores al inicio de la PE, frente a ninguna en el grupo <22,2 (222).

La mayoría de los artículos incluidos tienen como objetivo establecer un valor de corte con valores predictivos óptimos para embarazos gemelares. Sin embargo, cada autor considera diferentes umbrales debido a la escasa evidencia publicada hasta la fecha (todas las sensibilidades y especificidades se detallan en la Tabla 14 a continuación).

Table 14. Puntos de corte evaluados en los diferentes estudios, con datos acerca de sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos (VPP, VPN) para el diagnóstico de preeclampsia en la semana y dos semanas siguientes a la determinación del ratio sFlt-1/PIGF. s: semana; E: especificidad; S: sensibilidad.

	Punto de corte	Semana	VPN 1s	VPN 2s	VPP 1s	VPP 2s	E	S
M de la Calle	38	Múltiples momentos de la gestación	91.9	83.8		44		
J Binder	38	33+6	98.8	96.4				
J Hoffman	33							
A Martinez-Varea	17	24	98.0		42.9		96	60
S Shinohara	22	28-30	100		58.8		88.2	100
S Rana	85	33+6					90.9	61.1
	75						86.4	77.8
L Dröge	53						74.2	94.4
	53						67.7	100
	85						80.6	83.3
A Karge	Valores predictivos no significativos para RPA (AUC 1/4 0.618, 95% CI: 0.387–0.849, p 1/4 .254).							
R Choi	Valor predictivo no significativo							
L Saleh	38	30	Concluye que el ratio no es aplicable en gestaciones gemelares.					

Tres estudios realizaron un análisis de AUC para establecer el punto de corte óptimo para los embarazos gemelares (222,223,226). Al comparar 49 embarazos gemelares y 292 embarazos únicos emparejados, se estableció 53 como un punto de corte óptimo en un estudio multicéntrico de casos y controles (223), mientras que otros autores fijan un valor de corte de 22,2 como el mejor para predecir PE dentro de las siguientes 4 semanas (222). Por otra parte, los niveles determinados en 108 embarazos gemelares en semana 24 demostraron que las mujeres en

riesgo de desarrollar PE podrían ser identificadas precozmente mediante la detección de cifras por encima de 17 (226).

Otros autores examinan los rangos previamente establecidos para gestaciones únicas. Los datos de tres estudios prospectivos previos con un total de 269 embarazos gemelares sugieren que los puntos de corte clásicos utilizados con embarazos únicos podrían ser transferidos (235). En la misma línea, al evaluar 164 embarazos gemelares con sospecha de PE, otro grupo concluye que un punto de corte de 38 podría usarse para descartar la necesidad de finalización debido a la disfunción placentaria en la semana sucesiva (224). Asimismo, las especificidades y sensibilidades con un resultado de 85 fueron evaluadas siguiendo a 79 mujeres con sospecha de PE en el tercer trimestre, obteniendo resultados estadísticos significativos y prometedores (228). Sin embargo, otro estudio multicéntrico que comparó 21 embarazos gemelares y 21 embarazos únicos concluye que un punto de corte de relación de 38 no es aplicable (236).

Los artículos seleccionados también evalúan los valores de normalidad y la capacidad predictiva independiente de los niveles de sFlt-1 y PIGF. Tres autores estudiaron la evolución del PIGF en embarazos gemelares sanos. En uno de los estudios, los niveles de PIGF se midieron a lo largo de 269 embarazos gemelares (más del 75% sanos, el resto con sospecha de PE). Los niveles en las gestaciones gemelares aumentaron desde la semana 10-15 hasta la semana 29, y posteriormente disminuyeron hasta semana 37 antes de aumentar bruscamente hasta el parto. Sin embargo, en mujeres con embarazos únicos, los valores de PIGF se mantuvieron estables a partir de semana 29 antes de disminuir cerca al momento del parto (235). Otro estudio de cohortes prospectivo publicado en 2015 comparó 132 gemelos con 2255 embarazos únicos desde la semana 10 hasta el parto y concluyó que las concentraciones maternas de PIGF fueron más bajas en embarazos gemelares que en embarazos únicos solo en la semana 35 (219.2 vs 350.2 pg/ml; $p < 0.0001$) (234). Por el contrario, otros autores no encuentran diferencias en la mediana de los niveles séricos de PIGF cuando compararon embarazos gemelares con únicos (403.00 pg/ml vs 346.50 pg/ml, $p = 0.095$) (223). Por otra parte, seis artículos exploran la progresión y el valor predictivo del PIGF en embarazos gemelares con resultados desfavorables. Un autor encuentra

valores más altos de PIGF en embarazos gemelares con PE en comparación con los embarazos únicos (185 vs. 33 pg/ml, $p < 0.001$) (236). Al comparar los niveles en gestaciones gemelares con PE con controles sanos, tres estudios reportaron niveles significativamente más bajos en aquellos con resultados adversos (138.80 vs. 403.00 pg/ml; $p = 0.001$) (223,228,234).

Se detectaron concentraciones más altas de sFlt-1 en embarazos gemelares versus únicos en todas las ventanas de edad gestacional, con un aumento más pronunciado después de la semana 29. A partir de entonces, los niveles se describen hasta 2-3 veces más altos (6377 vs. 1732 pg/ml, $p = 0.008$) (237). En embarazos gemelares con resultados adversos y PE, la mediana de sFlt-1 estaba elevada con respecto a sanos (11,461.5 pg/ml vs. 7495.0 pg/ml, $p = 0.0004$ y 11.50 pg/ml vs. 4503.00 pg/ml; $p = 0.001$) (228,237). Estos hallazgos fueron corroborados por otros autores, con niveles más elevados especialmente durante el tercer trimestre y cerca del parto (234). Por último, un estudio encontró valores más altos de sFlt-1 sin diferencias estadísticamente significativas con respecto a gestaciones únicas con PE (9134 vs. 8625 pg/ml) (236).

Adicionalmente, se recopiló la información publicada acerca de la capacidad predictiva del ratio sFlt-1/PIGF asociado a otros marcadores. Martínez-Varea *et al.* sostienen que, aunque la adición del IPAUt no mejoró la identificación de pacientes con PE, sí mejoró ligeramente la selección de pacientes que desarrollaron RCIU. La adición de características maternas y el IPAUt también mejoró la identificación de pacientes que desarrollan disfunción placentaria en otros estudios (224,226). El grupo de J Binder encontró en su muestra que la precisión predictiva del PIGF aislado para determinar la necesidad de finalización por PE mejoraba al agregar características basales (presión arterial media y edad gestacional) (224). Finalmente, S Rana *et al.* concluyen que los resultados más favorables se obtienen con la combinación del cociente sFlt-1/PIGF, edad gestacional (AUC 0.83), presión arterial sistólica y presencia de proteinuria (AUC 0.85) (228).

Cinco estudios consideraron la corionicidad en su muestra. Al menos 66 embarazos monocoriales y 271 embarazos bicoriales fueron analizados de forma independiente. La mayoría de los investigadores coinciden en que las

concentraciones maternas del ratio sFlt-1/PIGF fueron independientes de la corionicidad, lo que corrobora su precisión predictiva en ambos grupos (224,226,227,235). Por el contrario, un grupo encontró que las concentraciones prenatales maternas de sFlt-1 (10,721 vs 6169 pg/ml; $p = 0.03$) y del ratio sFlt-1/PIGF (47.0 vs 15.7 pg/ml; $p = 0.03$) fueron más altas en los embarazos monocoriales que en los bicoriales después de ajustar por edad gestacional. Además, apuntan que el peso placentario se correlacionó inversamente con el ratio sFlt-1/PIGF al final del embarazo, positivamente con el PIGF y no tuvo asociación con el sFlt-1 (234).

Discusión

Esta revisión sistemática sugiere un papel sólido y prometedor del ratio sFlt-1/PIGF como herramienta predictiva para resultados maternos y perinatales en embarazos gemelares. La disfunción placentaria y sus síndromes asociados, como la PE o la RCIU, son dos veces más frecuentes en gestaciones gemelares frente a únicas. Además, a menudo se presenta en formas más graves, atípicas, y con un debut más temprano. Es por ello que el desarrollo y validación de herramientas diagnósticas que faciliten la detección de dichos síndromes en gestaciones gemelares es crucial.

Cuatro de los estudios incluidos intentan determinar la evolución fisiológica del ratio sFlt-1/PIGF a lo largo del embarazo en gestaciones gemelares (223,234–236), ya que las teorías más recientes postulan que una masa placentaria más grande, una mayor respuesta inflamatoria y el antecedente frecuente de TRA pueden determinar niveles diferentes a los encontrados en gestaciones únicas (238). Uno de los estudio encuentra niveles más altos a partir de la semana 29 de gestación (235), mientras que los demás reportan niveles aumentados durante todo el embarazo, con las mayores diferencias en semana 35 (223,234,236). Sin embargo, cuando se comparan gestaciones gemelares y únicas con diagnóstico de disfunción placentaria, los hallazgos son contradictorios, ya que algunos grupos encuentran valores más bajos del ratio en gestaciones gemelares y otros no encuentran diferencias estadísticamente significativas (224,236).

La mayoría de los autores (71.4%) coinciden en que las pacientes que desarrollan PE tienen ratios sFlt-1/PIGF más altos, con diferencias estadísticamente significativas (222–226). Desafortunadamente, solo cuatro estudios evalúan los casos de PE precoz y tardía de forma independiente. A pesar de ello, todos ellos encuentran relaciones medias más altas en la PE precoz, y solo uno no alcanza significación estadística (225–228). Otro de los objetivos principales en la mayoría de los estudios incluidos fue definir un punto de corte eficaz para descartar o diagnosticar la PE. La mayoría de los autores evalúan los puntos de corte existentes para embarazos únicos con resultados prometedores, ya que el 80% de los resultados publicados informan un elevado valor predictivo positivo (222,223,226).

En cuanto a la restricción del crecimiento fetal, supone una de las principales causas de tasas de morbilidad y mortalidad en embarazos gemelares. Se han descrito tasas de crecimiento más lentas en comparación con los embarazos únicos, especialmente desde las semanas 30-32, probablemente debido a la afectación de la placenta y el cordón umbilical (239). Se encontraron niveles del ratio significativamente más elevados en 3 de los estudios incluidos al evaluar fetos con RCIU, lo que sugiere que su determinación podría ser de ayuda en el diagnóstico de este síndrome (226–228). Aunque otros dos estudios no encontraron resultados estadísticamente significativos, podría deberse a que no se realizó un análisis independiente para embarazos gemelares (224,225).

En cuanto a la variable parto prematuro o indicación de finalización secundaria al diagnóstico de PE, se encontró un ratio asociado más elevado, aunque significativo en solo cinco estudios (222,224,225,227,228). Asimismo, dos grupos relacionan un ratio mayor con mayores tasas de resultados maternos-fetales adversos (224,228).

Este resumen exhaustivo destaca los desafíos y las oportunidades relacionadas con el uso del ratio sFlt-1/PIGF en embarazos gemelares. Se resalta la necesidad de realizar investigaciones adicionales para dilucidar su papel en diversos aspectos, como la corionicidad, la función placentaria y complicaciones como el DPPNI y el síndrome HELLP(238,240). Las principales áreas de mejora detectadas

en los estudios recogidos subyacen en la escasa consistencia en cuanto a la comparabilidad de los grupos y la heterogeneidad en las definiciones (por ejemplo, en el caso de resultado perinatal adverso). Además, las ventanas temporales de medición del ratio fueron heterogéneas entre estudios, y en muchos casos definidas aleatoriamente, lo que dificulta notablemente la interpretabilidad de los resultados e imposibilita la realización de un metaanálisis. Por último, destacar la escasa evidencia acerca del rendimiento de la determinación del ratio durante el primer trimestre de gestación, ya que tan solo un estudio incluyó este periodo en su muestra.

La principal limitación para la realización de la revisión sistemática fue la escasa evidencia publicada acerca del tema. Solo se encontraron 11 publicaciones que cumplieran los criterios de inclusión, la mayoría de ellos retrospectivos, y una sola revisión sistemática (202). Asimismo, es llamativo que ciertos aspectos propios de la gestación gemelar y la disfunción placentaria están escasamente evaluados, como el potencial papel de la corionicidad o el síndrome de HELLP y el DPPNI.

Es necesario realizar más estudios para comprender los embarazos gemelares y sus complicaciones. Los síndromes asociados con la disfunción placentaria representan una alta proporción de estas complicaciones, con consecuencias potencialmente graves tanto para los recién nacidos como para las madres. La posibilidad de mejorar la toma de decisiones en el diagnóstico, tratamiento y prevención de resultados adversos materno-fetales a través de herramientas útiles debe motivar nuevos estudios a establecer valores de referencia del ratio sFlt-1/PIGF.

Versión original del primer artículo



The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine



ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/ijmf20>

sFlt-1/PIGF ratio as a predictor of pregnancy outcomes in twin pregnancies: a systematic review

Elena Satorres, Alicia Martínez-Varea & Vicente Diago-Almela

To cite this article: Elena Satorres, Alicia Martínez-Varea & Vicente Diago-Almela (2023) sFlt-1/PIGF ratio as a predictor of pregnancy outcomes in twin pregnancies: a systematic review, The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 36:2, 2230514, DOI: 10.1080/14767058.2023.2230514

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14767058.2023.2230514>



© 2023 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group



[View supplementary material](#)



Published online: 05 Jul 2023.



[Submit your article to this journal](#)



Article views: 43



[View related articles](#)



[View Crossmark data](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ijmf20>

sFlt-1/PlGF ratio as a predictor of pregnancy outcomes in twin pregnancies: a systematic review

Elena Satorres, Alicia Martínez-Varea  and Vicente Diago-Almela 

Department of Obstetrics and Gynaecology, La Fe University and Polytechnic Hospital, Valencia, Spain

ABSTRACT

Objective: To review the usefulness of the sFlt-1/PlGF ratio to detect adverse pregnancy outcomes related to placental dysfunction in twin pregnancies.

Methods: A systematic review in PubMed-Medline, Cochrane Database of Systematic Reviews, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Web of Science, and National Guideline was performed. Studies were selected if they were published in the last 10 years, included a sample size equal to or greater than 10 twin gestations, determined the sFlt-1/PlGF ratio, and revealed the pregnancy outcome of the included patients.

Results: A total of 11 studies were selected. Outcomes related to the association between sFlt-1/PlGF ratio throughout pregnancy and perinatal outcome, particularly related to placental dysfunction (early and late-onset preeclampsia and FGR), were collected. The vast majority of studies showed an increased sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies complicated with preeclampsia or other adverse perinatal outcomes compared with uneventful pregnancies. The included articles revealed promising results when evaluating the usefulness of the sFlt-1/PlGF ratio to rule out preeclampsia. The scarce available data regarding FGR suggests that the sFlt-1/PlGF ratio is a promising tool for detecting this pregnancy complication. Data concerning other aspects of the sFlt-1/PlGF ratio, such as its evolution during healthy twin pregnancies or variations according to chorionicity, is limited.

Conclusion: The sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies is useful to detect, and particularly to rule out adverse pregnancy outcomes related to placental dysfunction, such as preeclampsia or FGR.

ARTICLE HISTORY

Received 20 February 2023

Revised 18 May 2023

Accepted 23 June 2023

KEYWORDS

Twin pregnancy; sFlt-1/PlGF ratio; placental dysfunction; preeclampsia; fetal growth restriction; adverse outcome

Introduction

Over the past decades, the rate of multiple pregnancies has grown notoriously [1–3]. Although it is mainly due to fertility treatments, the increase in multiple pregnancies has also been influenced by other factors, such as the increase in maternal age [4] or obesity [5]. Twin pregnancies associate a higher risk of preterm delivery [6], infant mortality [7], postpartum hemorrhage, hypertensive disorders of pregnancy [8], or the need for a cesarean section [9], compared to singleton pregnancies.

Pregnancy complications related to placental dysfunction, such as preeclampsia or fetal growth restriction (FGR), are widely known to be more prevalent in multiple pregnancies than in singletons [10,11]. Indeed, gestational hypertension and preeclampsia affect 5–6% of singleton pregnancies and up to 13%

of twin gestations [12,13]. This incidence varies according to risk factors such as assisted reproductive technology, maternal age, nulliparity, or associated comorbidities [14–16]. Hypertensive disorders of pregnancy are key causes of maternal-fetal morbidity and mortality, being responsible for more than 70,000 maternal deaths and 500,000 fetal deaths every year [17]. Fortunately, late-onset preeclampsia, which affects pregnant women over 34 weeks of gestation, is more common than early-onset preeclampsia [18]. According to most authors, FGR is defined as an estimated fetal weight by ultrasound below the 10th percentile [19]. Its prevalence in twin pregnancies is higher than in singletons, reaching percentages up to 47% vs 8% respectively [11,19,20], especially in monochorionic (20–45%) compared to dichorionic twins (11–24%) [21]. Impaired Doppler study suggests

CONTACT Alicia Martínez-Varea  martinez.alicia.v@gmail.com  Department of Obstetrics and Gynaecology, La Fe University and Polytechnic Hospital, Avenida Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain

 Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/14767058.2023.2230514>.

© 2023 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. The terms on which this article has been published allow the posting of the Accepted Manuscript in a repository by the author(s) or with their consent.

severity, defines staging, and therefore contributes to select the optimal time of delivery [19].

Furthermore, twin pregnancies entail specific complications related to growth restriction: selective growth restriction and growth discordance [22,23]. In almost 60% of discordant twins, the smaller fetus is under the 10th percentile [24]. This may be explained by anomalous patterns of vascular anastomoses and unequal placental sharing, leading to unbalanced access to nutrients [23].

Placental dysfunction is characterized by an anomalous trophoblastic invasion of the myometrial segment of the spiral arteries, leading to placental ischemia [25,26]. Consequently, this hypoxic environment promotes the discharge of antiangiogenic factors into the maternal circulation, such as soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1), and reduces the bioavailability of proangiogenic factors, such as placental growth factor (PlGF) [26]. The sFlt-1/PlGF as an indicator of placental dysfunction has been widely studied during the last decade [26–30].

Abnormal levels of sFlt-1 and PlGF can be detected in maternal blood secondary to placental release in cases of placental dysfunction [26,29]. Antiangiogenic factor sFlt-1 leads to peripheral vasoconstriction with the aim of recruiting extra blood volume and, secondarily, reducing ischemia [31]. Considering sFlt-1 acts by adhering to the receptor-binding domains of PlGF and vascular endothelial growth factor (VEGF), it is logical that it leads to decreased levels of free PlGF [32–35]. Variations of these angiogenic markers can be detected before the clinical manifestations appear. Some studies report an increase in maternal sFlt-1 levels 5 weeks before the onset of symptoms [29,30,36].

Scarce published evidence can be found related to the sFlt-1/PlGF ratio in twin gestations. Its development and validation are rather recent, as the first published articles mentioning its relevance go back to 2004. Nevertheless, in just less than a decade, it has become a fundamental tool for preeclampsia diagnosis and exclusion. To the best of our knowledge, this is the first systematic review regarding the sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies. For this reason, the aim was to collect the existing data and summarize the evidence respecting the use of sFlt-1/PlGF ratio to detect placental dysfunction in twin pregnancies.

Methods

Information sources

This systematic review was developed following the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guide. Publications on the

following sources were included: Pubmed-Medline, Cochrane Database of Systematic Reviews, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Web of Science, and National Guideline. Plus, reference lists from the selected articles were also consulted. All articles following the inclusion criteria and no excluding criteria, published from 2012 to November 2022, were submitted to our study selection.

Eligibility criteria

All studies comprehending sFlt-1/PlGF ratio determination in twin gestations in order to predict fetal and maternal outcomes were considered adequate for this review. Subsequently, exclusive criteria were defined: (1) sample under 10 twin gestations or not involving twin gestations, (2) published before 2012, (3) not evaluating maternal-fetal outcomes, (4) not measuring sFlt-1/PlGF ratio, (5) studies with no full text available.

Search strategy

In order to define our search, a PICO question was defined: P (patient = twin gestations), I (intervention = sFlt-1/PlGF ratio measurement), C (comparison = singleton or no intervention), O (outcome = fetal and maternal outcome). Then, MeSH terms were defined: preeclampsia, twin, pregnancy, ratio, sFlt-1/PlGF, biomarkers, fetal growth restriction (FGR), abruptio placentae, and placental abruption.

Data collection process

The literature search was executed by one author (E.S.P). Formerly, titles and abstracts of all articles were screened independently by two authors (E.S.P and A.M.V). Both authors carefully selected articles that accomplished the criteria established previously. Finally, a discussion was performed between collaborators, and a final selection was made by consensus. The selection process is shown in the following flow diagram, Figure 1.

Data synthesis

Given the heterogeneity of the data reported meta-analysis was not appropriate. Measures of statistical significance, if reported, are recorded in the tables. Nevertheless, most results are reflected in the discussion.

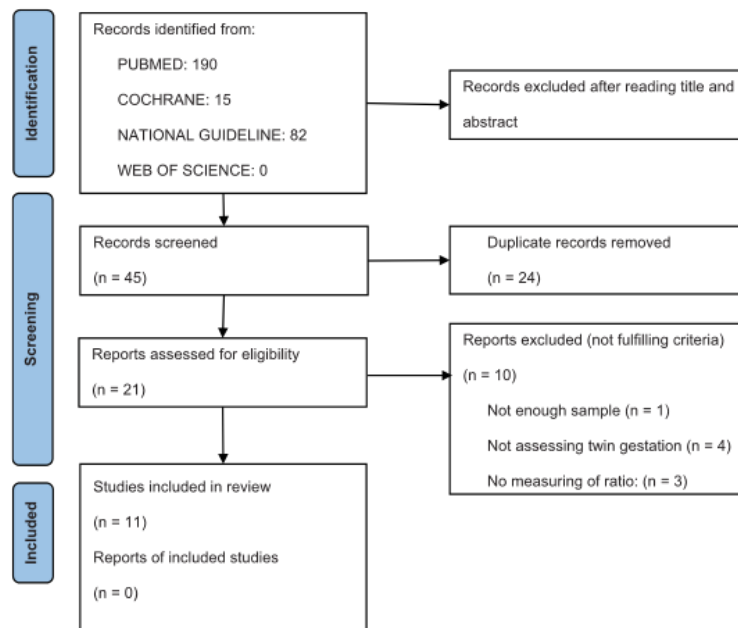


Figure 1. PRISMA diagram Reflecting the selection process.

Bias assessment

In order to reduce the risk of bias in this systematic review, the described eligibility criteria were strictly defined and applied. An extensive research was launched in multiple information sources and including articles in English, French, and Spanish. This scrutiny was performed in an objective and reproducible process. Furthermore, and as previously detailed, two independent authors analyzed and screened the selected articles with the aim of contrasting and refining the final selection.

Once the articles were selected, the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) was used to assess their quality. This scale is optimal for nonrandomized studies, including case-control and cohort studies, and establishes a star system judged on three broad perspectives: the selection of the study groups, the comparability of the groups, and the ascertainment of either the exposure or outcome of interest for case-control or cohort studies respectively.

Referring to the existence of missing data from studies, the NOS scale includes a specific category that assesses the follow-up of the exposed and non-exposed cohorts to ensure that losses are not related to either the exposure or the outcome. Our evaluation

was limited by the statements and information given by the authors of each publication. Table 2 details the scores given to all articles in each category.

In the furtherance of reducing heterogeneity between samples, the inclusion criteria were strict. Only studies regarding the usefulness of the ratio in twin pregnancies to detect or to rule out placental dysfunction, and with information regarding perinatal outcomes, were included. It is essential to recognize that the objective was to launch a qualitative systematic review regarding the usefulness of the ratio in detecting placental dysfunction in twin pregnancies. The included studies do not comprise an intervention, yet consist of descriptive evaluations. Therefore, the available data from each study regarding the usefulness of sFlt-1/PlGF for the diagnosis of placental dysfunction in twin pregnancies were collected. Given that the included studies were scarce, and the ratio was measured at different gestational ages, a meta-analysis was not performed.

Results

Search results

As seen in Figure 1, 287 articles were collected in four different databases. A total of 242 records were

excluded after reading the title and abstract, as the main subject was not related to the investigated matter. A total of 21 reports were assessed for eligibility and submitted to an intense evaluation after dismissing duplicates. Finally, 11 documents were selected to constitute our review. Figure 1 details justifications for article exclusion.

Characteristics of included studies

Altogether, 994 twin pregnancies were gathered and analyzed. A total of 5 studies compared twin pregnancies to a singleton cohort, and so up to 3009 singleton pregnancies were recruited. Most studies had retrospective cohort designs. One systematic review was found, but it was not included in the final selection of articles as it coincided with most of the included articles and therefore didn't provide additional data. Nevertheless, the information recruited was included in the discussion. The mean total sample size was 90.36 twin pregnancies per article, but it should be highlighted that the sample size was rather discordant (from 21 up to 269).

All the selected articles include sFlt-1/PIGF ratio measurement. Nevertheless, 5 articles include healthy mothers with no suspected preeclampsia, 3 of them exclusively (35.85% of the total twin sample) [37,38], while the rest of the recruited samples include patients with suspected or confirmed preeclampsia.

The gestational age established to measure the sFlt-1/PIGF ratio is heterogeneous, and so determinations from week 10 to week 41 are analyzed. However, only 2 articles record measurements during the first trimester of pregnancy [38,39]. Moreover, 4 articles distinguish between early and late-onset preeclampsia [37,40–42], while just 6 consider fetal growth restriction or small for gestational age. Detailed study characteristics are described in Table 1.

Quality of included studies

The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) was used. Table 2 gathers detailed information concerning the included studies and their individual score on each element of the NOS.

Evolution of sFlt-1/PIGF ratio in twin pregnancies Compared to singleton pregnancies. Four groups studied sFlt-1/PIGF ratio levels along twin pregnancies and compared their evolution with singleton gestations [38,39,43,45]. When analyzing a sample of 269 twin pregnancies before 29 weeks, median, 5th, and

95th percentiles did not differ between healthy twin and singleton mothers. Nevertheless, from 29 weeks to delivery, median, 5th, and 95th percentiles were higher in twin (10.2, 38.7, and 38.7) versus singleton (3.75, 9.03, and 19.6) pregnancies [39].

On the contrary, other prospective cohort studies report higher sFlt-1/PIGF ratio levels during the entire pregnancy in healthy twins (26 vs. 3; $p=.361$) [43] with the greatest differences at week 35 (168.4 vs 29.0; $p < .0001$) [38]. In the same line, a reviewed case-control study also describes higher median ratio levels in twins vs singles with normal outcomes (13.29 vs 4.94; $p \leq .001$) [45]. Nevertheless, when studying women with diagnosed placental dysfunction, these same authors find unmatching results: one obtains lower ratio values than in singletons (49 vs. 158; $p=.002$) [43], while the other does not report differences between both groups [44].

Comparing healthy twin pregnancies with those with preeclampsia. Seven of the included articles compare levels of sFlt-1/PIGF ratio in healthy twin pregnancies to those with a confirmed diagnosis of preeclampsia. Most authors (71.4%) agree that patients who developed preeclampsia had statistically significantly higher sFlt-1/PIGF ratios [37,40,44,45,47].

An article published in 2017 describes a slight but notable difference between both groups, achieving median levels of 69.8 (IQR 24.7) in preeclamptic pregnancies compared to 54.4 (IQR 30.9, $p=.005$) in healthy ones [41]. A later publication released in 2022 agreed with this finding by associating sFlt-1/PIGF ratios over 17 on week 24 to an increase in preeclampsia diagnosis (odds ratio, 37.13 [95% CI 4.78–288.25]; $p=.002$) and higher mean values compared to healthy pregnancies at this week (20.3 vs. 4.3, $p=.002$) [37].

J Binder et al. studied the probability of prompt delivery due to preeclampsia and detected significantly higher ratio levels in pregnancies ending within 1 week compared with those who did not (98.9 vs 27.6) and within 2 weeks compared with those who did not (84.2 vs 23.5; $p < .001$) [44]. These findings are in concordance with the exposed by other authors [48]: after analyzing 10 twin women with preeclampsia diagnosed in a 78-sample-sized retrospective study, a higher mean ratio was found compared to healthy twins (46.2 [22.2–64.6] vs 4.0 [0.5–70.7]; $p < .001$).

Ultimately, a European case-control study published in the past year not only describes increased levels in preeclamptic pregnancies compared with those with an uneventful pregnancy 164.22 vs 13.29 ($p \leq .001$),

Table 1. Included articles and their basic characteristics.

Study	Design	Sample	Suspected or confirmed vs healthy	Gestational age measurement	Monochorionic vs dichorionic	Ratio and cutoff	PIGF	Sft-1	Compared to singleton	PE (%)	EO PE vs LOPE	FGR or SGA	Combined to other factors
M de la Calle et al. 2021 [40]	Data analyzed from 3 prospective studies	269 twin	Healthy + 62 suspected PE	10 to >37 (7 windows)	Yes	Yes (>38)	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No
J. Hoffman et al. 2017 [41]	Retrospective cohort study	16 twin – 67 singleton	Suspected PE	< 34 = 13, < 37 = 29, > 37 = 41	No	Yes (< 34w) and 110 (> 34 w)	No	No	Yes	Yes 2 (12.5)	Yes	Yes	No
A Martínez Vives et al. 2022 [38]	Prospective cohort study	108 twin	Healthy	24w	Yes	Yes (>17)	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes
J Binder et al. 2020 [43]	Retrospective cohort study	164 twins	Suspected PE	33.6 weeks (interquartile range: 30.0–35.2)	Yes	Yes (>38)	Yes	No	Yes	Yes 71 (43)	No	Yes	Yes
JM Faupel-Badgett et al. 2015 [39]	Prospective cohort study	132 twins – 2255 singleton	Healthy	10, 18, 26, and 35 (n 91) - third trimester (31–39) and at delivery (33–41) (n = 41).	Yes	Yes (No cutoff)	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No
S Rana et al. 2012 [42]	Prospective cohort study	79 twins	Suspected PE	33.9 (31.9–36.0)	No	Yes (85)	Yes	Yes	No	Yes 46 (58)	Yes	No	Yes
A Karge et al. 2021 [44]	Prospective cohort study	49 twins	Suspected PE	Not detailed	Yes	Yes (> 53)	No	No	No	Yes 34 (69)	Yes	Yes	?
L Saleh et al. 2018 [45]	Secondary analysis of prospective cohort study	21 twin – 21 singletons	Suspected PE	30 (median)	No	Yes (> 38)	Yes	Yes	Yes	Yes 13 (62)	No	No	No
L Drogge et al. 2022 [46]	Case control study	49 twins – 292 singletons	49 twins: 18 PE (13 severe + 5 mild) + 31 healthy and 292 single: 45 PE (27 severe + 27 mild) + 238 healthy	33 + 3 to 33 + 5	No	Yes (> 53)	Yes	Yes	Yes	Yes 18 (36.7)	No	Yes	No
R Choi et al. 2020 [47]	Retrospective cohort study	374 single – 29 twin	21 healthy + 3 healthy in initial assessment but finally suspected + 5 suspected	31.1 (28.8–32.8)	No	Yes (> 53)	No	No	Yes	No	No	No	No
S Shinohara et al. 2021 [48]	Retrospective cohort study	78 twin	Healthy	28 + 0 to 30 + 6	No	Yes (22)	No	No	No	Yes 10 (12.9)	No	No	No

*PE: preeclampsia; LOPE: late-onset preeclampsia; EOPE: early-onset preeclampsia; FGR: fetal growth restriction; SGA: small for gestational age.

Table 2. Detailed quality assessment using NOS schedule. Scores 9–7, 6–4, under 4 are considered low, intermediate and high risk, respectively.

Study	Selection			Outcome			Total stars (maximum 9)	Risk of bias
	Representativeness of the exposed cohort	Selection of the non exposed cohort	Ascertainment of exposure	Demonstration that outcome of interest was not present at start of study	Comparability of cases and controls on the basis of the design or analysis	Assessment of outcome		
M de la Calle et al. 2021	b (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	7	Low
J. Hoffman et al. 2017	c (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	7	Low
A. Martinez Varea et al. 2022	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0 ^{a1}	a (1)	7	Low
J. Binder et al. 2020	c (0)	a (1)	a (1)	a (1)	0 ^{a2}	b (0) ^{a4}	4	Intermediate
JM Faupel-Badget et al. 2015	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0 ^{a5}	a (1)	7	Low
S Rana et al. 2012	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0 ^{a6}	a (1)	7	Low
A Karge et al. 2021	b (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	7	Low
L Saleh et al. 2018	b (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	7	Low
L. Droge et al. 2022	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	7	Low
R Choi et al. 2020	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	7	Low
S Shinohara et al. 2021	a (1)	a (1)	a (1)	a (1)	0	a (1)	7	Low

^{a1} differences were not statistically significant; ^{a2} age difference was not statistically significant; ^{a3} clinicians evaluating women with suspected preeclampsia were not blinded for the sFlt-1/PlGF ratio; ^{a4} there were some outlier cases with high sFlt-1/PlGF values in the delivery without pre-eclampsia group. A few of these patients had an assessment to delivery interval shorter than a week; ^{a5} adjusted for gestational age, maternal age and artificial reproductive technologies used (all $p < .001$); ^{a6} age difference was not statistically significant; ^{a7} clinicians were not blinded for the sFlt-1/PlGF ratio.

but it also subdivides between severe and mild cases, reporting statistically significant differences in both groups (168.67 and 145.58 vs 13.29; $p \leq .001$ and $p = .037$, respectively). Nonetheless, two other articles (28,5%) did not find significant differences between patients with suspected and proven preeclampsia [41,42].

Early onset vs late-onset preeclampsia

The evidence published referring to the diagnosis of early onset (EOPE) vs late-onset preeclampsia (LOPE) is rather scarce. Only three of the included articles make differentiation in this sense when analyzing preeclamptic cohorts, all of them obtaining similar results [37,40,41].

In their retrospective cohort study, including 16 twin pregnancies and 67 singletons with suspected preeclampsia, J Hoffman et al. detail that 13 women developed EOPE and 70 LOPE. In their investigation, the sFlt-1/PlGF ratio increased significantly in women with LOPE diagnosis who were suspected before 34 weeks (77.5 [71.3–79.1] vs. 181.0 [163.6–464.5]). Compared to this group, the sFlt-1/PlGF ratio at the last measurement was significantly lower in patients with suspected LOPE, tested over week 34. These results go in line with the observations made by S Rana et al. who found that differences in sFlt-1/PlGF ratio levels were more striking among women presenting preeclampsia prior to 34 weeks ($n = 40$), (97.7 [76.6–178.1] vs 31.7 [6.5–48.7] $p = .001$).

In a prospective cohort study, A Martinez-Varea et al. eventually detected 2 cases of EOPE (one of them associated with FGR) and 3 cases of LOPE (one of them with a prior diagnosis of early FGR) among the 108 healthy twin pregnancies analyzed in week 24. The mean ratio at 24 weeks was not statistically different between EOPE and LOPE (61 vs. 9, $p = .11$), probably due to the small sample size.

Fetal growth restriction (FGR)

Six groups collected results concerning fetal growth, although only three interpret results independently for twins.

Among a group of pregnant women composed of 16 twins and 67 singletons, 10 developed FGR. The sFlt-1/PlGF ratio did not differ in growth restricted (64.1 [IQR 21.3] and normal weighty neonates (61.4 [IQR 35.4]; $p = .527$), although no analysis was made independently for twins [40].

A similar limitation happens with a bigger sample-sized group, as patients suffering from fetal growth restriction are analyzed altogether with those suffering

from preeclampsia or any other kind of fetal compromise (such as birthweight discordance, selective fetal growth restriction, and neonatal care unit admission). Even so, results display significantly lower mean ratios in FGR-diagnosed pregnancies than in those with indicated delivery after 1 week and 2 weeks of assessment due to preeclampsia (mean of 23.5 [5.6–49.7] vs 98.9 [63.4–171.6] and 84.2 [59.7–132.2], respectively) [44].

Other articles do independently analyze twin pregnancies. They conclude that a sFlt-1/PIGF ratio ≥ 17 at 24 weeks is associated with a significant increase in the frequency of FGR (OR 39.58 [95% CI, 6.31–248.17]; $p < .001$) [37], and support its predictive value for FGR (AUC = 0.755) [42].

Furthermore, information related to each biomarker's independent use has also been evaluated in a prospective cohort study including 79 twin pregnancies. Lower sFlt-1 median values in small for gestational age (SGA) (14 714.0 [8096.0–18 205.0]) than in those with no adverse outcome (7495.0 [3498.0–10482.0]) were determined. Moreover, the median PIGF for no adverse outcome was 224.0 (156.0–449.0), while SGA grounded up to 104.0 (96.0–187.0). Median sFlt-1/PIGF levels for no adverse outcome were also significantly lower (36.2 [7.1–71.3]) compared to SGA (105.1 [67.5–233.6]) [41].

Predicting adverse perinatal outcome and time until delivery

Comparing the evidence collected is fairly complicated, as each article defines adverse perinatal outcome (APO) disparately. Hence, the preceding results for each author are exposed.

J Hoffman et al. classify severe adverse outcomes as the diagnosis of severe preeclampsia/HELLP syndrome/eclampsia, any severe, life-threatening maternal or fetal disease, extremely preterm birth (<1000 g/32 gestational week), severe neonatal growth restriction (birth weight <5 th percentile) and maternal or fetal death occurrence. It should be considered that no difference is made between twin and singleton pregnancies when results are analyzed. Severe adverse outcomes complicated 30/83 (36.1%) of their cases. Eclampsia and maternal death did not occur in their patient group. sFlt-1/PIGF ratio was not different in patients with or without adverse outcomes (54.4 (IQR 37.0) vs. 66.2 (IQR 20.8); $p = .204$). Nevertheless, in patients with an intermediate sFlt-1/PIGF ratio (33–85 [< 34 weeks] or 33–110 [> 34 weeks]), the overall preterm birth rate (< 37 weeks) was 27.7% (23/83), with an early preterm delivery rate (< 34 weeks) of 8.4% (7/83) and an extreme preterm birth rate (< 32 weeks)

of 5/83 (6.0%). Plus, the median pregnancy duration after the first sFlt-1/PIGF ratio measurement was 5 (IQR 14) days and correlated negatively with the gestational age ($r = 0.424$; $p < .001$). Therefore, they conclude that an intermediate sFlt-1/PIGF ratio indicates a risk for preterm birth, independent of the occurrence of preeclampsia [40].

J Binder et al. study the event of delivery due to preeclampsia or adverse outcome (defined as maternal morbidity including intensive care unit admission, pulmonary edema, postpartum hemorrhage, or eclampsia) within 1 or 2 weeks of blood sampling. The area under the curve of sFlt-1/PIGF was significantly higher than for PIGF alone (mean 0.88 and 0.88 versus 0.81 and 0.80) for predicting delivery because of preeclampsia within 1 and 2 weeks of blood sampling ($p = .055$ and $.001$, respectively). Standalone predictive accuracy of angiogenic markers for maternal adverse outcomes was suboptimal with AUC values below 0.70 [44].

On their behalf, S Rana et al. define adverse outcomes as hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome; disseminated intravascular coagulation; abruption; pulmonary edema; cerebral hemorrhage; maternal, fetal, and neonatal death; eclampsia; acute renal failure; small for gestational age; and indicated delivery. Comparing women who experimented with adverse outcomes in 2 weeks, the median sFlt-1 level was significantly elevated ($p = .0004$). Indicated delivery occurred in 47 women (90.4%), 27.7% occurred before week 34, and 39 deliveries before week 37. A higher sFlt-1/PIGF ratio was associated with a shorter duration of pregnancy ($p = .03$) for the full cohort and ($p = .03$) for < 34 weeks [41].

Adverse perinatal outcome was defined by A Karge et al. as the presence of at least one of the following outcomes: respiratory distress syndrome, intubation, admission to neonatal intensive care unit, and arterial umbilical cord pH value < 7.10 . APO occurred in 10 of 49 pregnancies in at least one of two twins (20.4%). The median sFlt-1/PIGF ratio was not significantly different in patients with APO compared to those without (89.45 vs. 62.00, $p = .669$) [42]. Mean time until delivery was significantly negatively correlated with the ratio in < 34 weeks, while in ≥ 34 weeks, no significant differences were found.

L Saleh and his group defined maternal complications as the occurrence after admission of preeclampsia, HELLP, eclampsia, subcapsular hematoma of the liver, pulmonary edema, placental abruption, renal insufficiency, cerebral edema, cerebral hemorrhage, and vision disorders. Fetal and neonatal complications

consisted of admission to the Neonatal Intensive Care Unit, treatment with an endotracheal tube, a birth weight percentile <10 , respiratory distress syndrome, bronchopulmonary dysplasia, sepsis, an intracerebral abnormality such as bleeding, and fetal and neonatal death. In twin pregnancies, maternal complications occurred in 4 of the 12 patients (33%) with a ratio >38 at inclusion, but no difference in adverse fetal/neonatal outcomes was observed between patients with a ratio ≤ 38 or >38 . No significant difference in gestational age at delivery was observed in twin pregnancies with a ratio ≤ 38 or >38 [43].

Finally, S Shinohara et al. describe that women with an sFlt-1/PlGF ratio of <22.2 delivered later than those with an sFlt-1/PlGF ratio of ≥ 22.2 (median duration of pregnancy after measuring serum angiogenic markers (4.7 vs. 7.3 weeks; $p < .001$). Moreover, 38.9% of women with an sFlt-1/PlGF ratio of ≥ 22.2 and 0.0% of women with an sFlt-1/PlGF ratio of <22.2 ($p < .001$) delivered within 4 weeks of preeclampsia onset [47].

Establishing an optimal cutoff: predictive values, sensitivity, and specificity

Most articles included aim to establish a cutoff value with optimal predictive values for twin pregnancies (83%). However, each author considers diverse thresholds due to the scarce evidence published until the date.

Three studies perform ROC analysis to establish the optimal cutoff for twin pregnancies (all sensitivities and specificities are detailed in Table 3 below). By comparing 49 twin pregnancies and 292 matched singleton pregnancies, 53 were established as an optimal cutoff in a multicenter case-control study [46], while other authors fix a cutoff value of 22.2 to be the best to predict preeclampsia onset within 4 weeks [48]. Moreover, determined levels of sFlt-1/PlGF ratio on 108 twin pregnancies on week 24 proved that women at risk of developing preeclampsia could be early identified by detecting ratio figures over 17 [37].

The other five publishers examine sFlt-1/PlGF ratio ranges previously established in singletons with contradictory results. Data from three prospective studies (PROGNOSIS, STEPS, and a multicenter case-control study), with a total sample of 269 twin pregnancies, demonstrates that classic cutoffs used with single pregnancies can be transferred to twin pregnancies [39]. On the same line, by evaluating 164 twin pregnancies with suspected preeclampsia, another group concludes that an sFlt-1/PlGF ratio cutoff of 38 can be used to rule out delivery due to placental dysfunction in 1 week [44]. Likewise, the specificities and

sensitivities of using a cutoff of 85 were evaluated by following 79 women with suspected preeclampsia in the 3rd trimester, obtaining significant and promising ciphers [41].

A retrospective analysis of 83 pregnant women with intermediate values for the sFlt-1/PlGF ratio verified its capacity to exclude or diagnose preeclampsia. The diagnosis was ruled out if the sFlt-1/PlGF ratio was < 33 and confirmed if the sFlt-1/PlGF ratio was 85 with < 34 weeks or 110 with 34 weeks, respectively. Nevertheless, there no independent evaluation for their twin sample ($n = 16$) was made, nor did they calculate predictive values for each cutoff [46].

Aversely, other publishers investigate ratio evolution and screen-positive rates for preeclampsia risk assessment with a cutoff of 58, but no screening positive worth was identified in twin pregnancies [41]. Similar results are found in a multicenter study that compared 21 twin and 21 singleton pregnancies: it is concluded that a cutoff ratio of 38 is not applicable to twin pregnancies [43].

Use of PlGF or sFlt-1 value as independent markers

The selected articles also independently evaluate sFlt-1 and PlGF levels to describe their normal evolution in healthy twin pregnancies. Additionally, some authors examine the biomarkers' capacity to predict placental dysfunction.

PlGF. Three authors study its evolution in healthy twin pregnancies. In one study, PlGF levels were measured along 269 twin pregnancies (over 75% are healthy, the rest with suspected preeclampsia). Both groups' concentration increased from 10 to 15 weeks until 29 weeks. Nevertheless, in women with singleton pregnancies, PlGF values then plateaued before decreasing until delivery. By contrast, in women with twin pregnancies, it decreased until 37 weeks before increasing sharply from 37 weeks until delivery [39]. Moreover, a prospective cohort study published in 2015 compared 132 twins to 2255 singletons by measuring biomarkers from week 10 to delivery and concluded that maternal PlGF concentrations were lower in twin than singleton pregnancies at week 35 only (219.2 vs 350.2 pg/ml; $p < .0001$) [38], with similar results than those published by others published in 2018 (228 vs. 440 pg/ml $p = .479$). Contrarily, other authors do not find differences in median PlGF serum levels when comparing twin with singleton pregnancies with a normal outcome (403.00 pg/ml vs 346.50 pg/ml ($p = .095$) [45].

Additionally, six articles explore PlGF's progression and predictive value in twin pregnancies with poor

Table 3. Negative predictive values and positive predictive values for one week and two weeks after sFlt-1/PlGF ratio determination, specificity, and sensibility for the diagnosis of preeclampsia event.

%	Cutoff	Week	NPV 1w	NPV 2w	PPV 1w	PPV 2w	Spec	Sens
<i>M de la Calle</i>	38	Throughout pregnancy	91.9	83.8	20.0	44.	–	–
<i>J Binder</i>	38	33.6	98.8	96.4	–	–	–	–
<i>J Hoffman</i>	33		–					
<i>A Martinez Varea</i>	17	24	98.0		42.9		96	60
<i>S Shinohara</i>	22	28–30	100		58.8		88.2	100
<i>S Rana</i>	85	33.9	–	–	–	–	90.9	61.1
	75		–	–	–	–	86.4	77.8
<i>L Dröge</i>	53		–	–	–	–	74.2	94.4
	33		–	–	–	–	67.7	100
	85		–	–	–	–	80.6	83.3
<i>A Karge</i> No predictive value for sflt-1/PlGF and APO (AUC = 0.618, 95% CI: 0.387–0.849, $p = .254$).								
<i>R Choi</i> No predictive value for sflt-1/PlGF								
<i>L Saleh</i> 38 30 Concludes sflt-1/PlGF ratio not applicable to twin pregnancies								

NPV: negative predictive value; PPV: positive predictive value; Spec: specificity; Sens: sensibility.

outcomes. One author finds higher PlGF values in pre-eclamptic twin pregnancies compared to those in singleton (185 vs. 33 pg/ml, $p < .001$) and ($p < .001$ Wilcoxon rank-sum test), respectively [43]. When comparing levels in twin gestations with preeclampsia to twin controls, three studies discover significantly lower levels in those with adverse outcomes (138.80 vs 403.00 pg/ml ($p \leq .001$) [38,41,45]. One of the mentioned studies, however, finds lower but not statistically significant differences in women with preeclampsia diagnosis (162.5 pg/ml [98.0–226.5] vs 224.0 pg/ml [156.0–449.0], $p = .005$), ($p = .23$) [41]. No significant predictive power is found when sFlt-1 or PlGF values are tested at 24 weeks gestation [37].

sFlt-1. Across all gestational age windows, higher sFlt-1 concentrations are detected in twin versus singleton, with a steeper increase after week 29. From then onward, levels are described up to 2–3 times higher (6377 vs 1732 pg/ml, $p = .008$) [38,39,45].

In twin pregnancies with adverse outcomes, median sFlt-1 was elevated (11,461.5 pg/ml vs 7495.0 pg/ml, $p = .0004$ [41] and 20 011.50 pg/ml vs 4503.00 pg/ml; $p \leq .001$ [46]) and those with preeclampsia diagnose had a significantly higher median sFlt-1 level ($p = .01$) [41]. These findings were corroborated by other authors who found similar results, especially in the third trimester and around the delivery [38]. One study found higher but not statistically different values of sFlt-1 (9134 vs 8625 pg/ml) than singleton preeclamptic pregnancies [43].

Association to other parameters

Martinez-Varea et al. hold that although the addition of the mean pulsatility index of uterine arteries to the ratio does not improve the identification of patients that develop preeclampsia, it slightly enhances the selection of patients who develop FGR. Adding

maternal characteristics and mean pulsatility index ratio enhances the identification of patients who develop preeclampsia or FGR [37].

J Binder's group exposes that the predictive accuracy of PlGF for delivery within one week because of preeclampsia is improved by adding baseline characteristics. On the contrary, the addition of baseline characteristics (mean arterial pressure and gestational age at assessment) did not significantly improve the AUC values of 1- or 2-week models ($p = .540$ and $.222$, respectively) [44].

Finally, S Rana et al. concludes that the most favorable results are obtained with the combination of the sFlt-1/PlGF ratio and gestational age (AUC 0.83), as well as the model that included these two predictors along with the highest systolic blood pressure and proteinuria (AUC 0.85) [41].

Chorionicity

Five studies considered chorionicity in their twin sample. At least 66 monochorionic pregnancies and 271 dichorionic pregnancies were independently analyzed. However, two of the mentioned studies did not specify the number of patients in each group.

Most investigators agree that maternal concentrations of the sFlt-1/PlGF ratio are independent of chorionicity, corroborating its predictive accuracy in both groups [37,39,42,44].

On the contrary, one group found that maternal prenatal concentrations of sFlt-1 (10,721 vs 6169 pg/ml; $p = .03$) and the sFlt-1/PlGF ratio (47.0 vs 15.7 pg/ml; $p = .03$) were higher in monochorionic than dichorionic after adjustment for gestational age. Furthermore, placental weight was inversely correlated with the sFlt-1/PlGF ratio at the end of pregnancy, positively with PlGF, and had no association with sFlt-1 [38].

Discussion

In this systematic review concerning predicting maternal and perinatal outcomes associated with placental dysfunction in twin pregnancies, the sFlt-1/PlGF ratio appears to have a solid and promising role.

Preeclampsia syndrome is as twice as frequent in twin gestations. Additionally, it often occurs in more severe forms, present atypically, and its onset is usually earlier than in singleton pregnancies [16;50]. Thus, developing diagnostic tests to help obstetricians detect this syndrome in twin pregnancies is crucial.

Four of the included studies try to determine the physiological evolution of sFlt-1/PlGF ratio along pregnancy in twin pregnancies [38,39,43,45], as recent theories postulate that larger placental mass, higher inflammatory response, and association with ART procedures may determine different levels than those found in singletons [49]. Two of these studies find higher levels (one from week 29 onwards, the other during the whole pregnancy). However, the two groups obtained unclear and unmatching results when comparing pregnancies complicated with placental dysfunction, with lower levels found in twin pregnancies vs no significant differences compared to singletons. This aspect remains unclear and further investigations must be conducted.

Although significant in only five studies [40–42,44,47], an elevated ratio was found in groups of women who suffered preterm or indicated delivery secondary to preeclampsia diagnosis. Furthermore, two groups related an elevated ratio to greater rates of severe adverse maternal-fetal outcomes [41,44]. Along with these findings, most publishers (71.4%) agree that patients developing preeclampsia have statistically significantly higher sFlt-1/PlGF ratios [37,40,44,45,47]. Two other publishers describe higher mean ratios in their series, although not statistically significant. Unfortunately, only four studies consider EOPE and LOPE cases independently. Nevertheless, all of them find higher mean ratios in EOPE, and only one does not achieve statistical significance (probably due to the small sample included) [37].

One of the principal objectives in most of the included studies was to define an effective cutoff to rule out or diagnose preeclampsia in twins. Most authors evaluate the existing cutoffs for singletons (particularly 38 and 85). This finding should be considered promising, as 80% of the published results report a positive predictive value.

Fetal growth restriction is one of the significant causes of morbidity and mortality rates in twin pregnancies. Slower growth rates have been described

compared to singletons, especially from weeks 30–32, probably due to placental and umbilical cord affection [50].

Significantly elevated ratios were found in 3 studies when evaluating fetal growth restriction [37,41,42], suggesting its determination could also be a compelling tool in the diagnosis of this syndrome. Although two other studies did not find significant results, this may be because no independent analysis was made for twin pregnancies [40,44].

Isolated information about abruptio placentae and HELLP syndrome was assembled, mainly considered adverse maternal outcomes, but with no independent evaluation. As both phenomena constitute complications secondary to placental dysfunction and are more frequent in twin pregnancies, further investigations should consider them separately [49,51].

The major area for improvement in most studies was the consistency of comparison groups. Although most claim no existing differences between groups or that differences were not statistically significant, this is not sufficient for establishing comparability, as most evaluation scales request matched characteristics in the design and adjusted confounders in the analysis. Thus, most results are of limited clinical value due to the described variation in comparison groups. Also, the definition of fetal-maternal outcome was considerably heterogeneous (as detailed along the collected results, each group considered diverse adverse events), just as the study design (especially gestational age chosen to determine sFlt-1/PlGF ratio). For this reason, no metaanalysis could be made. Furthermore, many studies did not give independent results for twin populations but included them in the same groups as singletons. In addition, we were unable to evaluate the role of sFlt-1/PlGF ratio in the first trimester of pregnancy, as only one study includes determinations in this period.

The most significant limitation when evaluating evidence concerning sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies was the scarce number of scientific publications regarding the topic. Only the twelve included articles, mostly retrospective, and one single systematic review [52] that discussed the subject were found. Also, no metaanalysis could be completed due to the high heterogeneity between each study concerning design, gestational age for ratio measurement, the definition of the fetal-maternal outcome, and every other parameter.

Finally, it must be highlighted that certain potential aspects and uses of the sFlt-1/PlGF ratio are scantily explored, such as its role in chorionicity and

placentation during the first months of pregnancy, as just a few investigators have determined its levels along these stages.

Further investigations must be made in the interest of understanding twin pregnancies and their complications. Placental dysfunction-associated syndromes entail a high proportion of the potential complications in twin pregnancies, some leading to severe consequences in both newborns and mothers. The pursuance of developing effective tools to diagnose and therefore treat and prevent adverse outcomes must motivate new investigations, as well as the aim to establish reference values of the sFlt-1/PIGF to help obstetricians make clinical decisions.

In conclusion, the results of this systematic review are promising, though limited. A scarce number of publications were finally found to accomplish inclusion criteria, and therefore the studies included in this systematic review were scarce. Nonetheless, most studies agree on the existing differences between sFlt-1/PIGF ratio levels between twins and singletons, healthy twins vs those diagnosed with placental dysfunction-related syndromes, mainly preeclampsia and FGR, as well as recognizing the predictive capability of the sFlt-1/PIGF. Statistically significant numbers are scarce due to the mentioned limitations, but it should be highlighted that all results point in the same direction: sFlt-1/PIGF ratio in twin gestation is a promising tool to select pregnancies with placental dysfunction. Additionally, the sFlt-1/PIGF ratio has demonstrated great clinical utility in singleton gestations, and it should encourage investigators to find evidence that supports its application and usefulness in twins. Interestingly, the findings of this systematic review are consistent with the results of the only existing systematic review contemplating this topic [52], which was expected, as some of the included studies are in common [39,44,45].

Acknowledgments

Not applicable.

Ethical approval

The present is a non-interventional, retrospective review study and does not need ethics approval.

Disclosure statement

The authors report there are no competing interests to declare.

Funding

No funding was needed.

ORCID

Alicia Martínez-Varea  <http://orcid.org/0000-0002-7600-4281>

Vicente Diago-Almela  <http://orcid.org/0000-0003-1882-1176>

Data availability statement

The authors confirm that the data supporting the findings of this study are available within the article [and/or] its supplementary materials.

References

- [1] Osterman MJK, Hamilton BE, Martin JA, et al. Births: final data for 2020. *Natl Vital Stat Rep.* 2021;70(17):1–50.
- [2] Fell DB, Joseph K. Temporal trends in the frequency of twins and higher-order multiple births in Canada and the United States. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2012;12:103. doi:10.1186/1471-2393-12-103.
- [3] Kulkarni AD, Jamieson DJ, Jones HW, et al. Fertility treatments and multiple births in the United States. *N Engl J Med.* 2013;369(23):2218–2225. doi:10.1056/NEJMoa1301467.
- [4] Adashi EY, Gutman R. Delayed childbearing as a growing, previously unrecognized contributor to the national plural birth excess. *Obstet Gynecol.* 2018; 132(4):999–1006. doi:10.1097/AOG.0000000000002853.
- [5] Nylander PP. The factors that influence twinning rates. *Acta Genet Med Gemellol.* 1981;30(3):189–202. doi:10.1017/s0001566000007650.
- [6] Martin JA, Hamilton BE, Osterman MJK, et al. Births: final data for 2019. *Natl Vital Stat Rep.* 2021;70(2):1–51.
- [7] Misra DP, Ananth CV. Infant mortality among singletons and twins in the United States during 2 decades: effects of maternal age so pediatrics. *Pediatrics.* 2002; 110(6):1163–1168. doi:10.1542/peds.110.6.1163.
- [8] Madar H, Goffinet F, Seco A, et al. Severe acute maternal morbidity in twin compared with singleton pregnancies. *Obstet Gynecol.* 2019;133(6):1141–1150. doi:10.1097/AOG.0000000000003261.
- [9] Barrett JF, Hannah ME, Hutton EK, et al. A randomized trial of planned cesarean or vaginal delivery for twin pregnancy. *N Engl J Med.* 2013;369(14):1295–1305. doi:10.1056/NEJMoa1214939.
- [10] Gezer A, Rashidova M, Güralp O, et al. Perinatal mortality and morbidity in twin pregnancies: the relation between chorionicity and gestational age at birth. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(2):353–360. doi:10.1007/s00404-011-1973-z.
- [11] Fox NS, Rebarber A, Klauser CK, et al. Intrauterine growth restriction in twin pregnancies: incidence and associated risk factors. *Am J Perinatol.* 2011;28(4):267–272. doi:10.1055/s-0030-1270116.

- [12] Benkő Z, Syngelaki A, Nicolaides KH, et al. Hidden high rate of pre-eclampsia in twin compared with singleton pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;50(1):88–92. doi:10.1002/uog.17470.
- [13] Sibai BM, Hauth J, Caritis S, et al. Hypertensive disorders in twin versus singleton gestations. National institute of child health and human development network of maternal-fetal medicine units. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(4):938–942. doi:10.1016/S0002-9378(00)70350-4.
- [14] Brown MA, Hall DR, Gupta S, et al. The 2021 international society for the study of hypertension in pregnancy classification, diagnosis & management recommendations for international practice. *Pregnancy Hypertens.* 2022;27:148–169. doi:10.1016/j.preghy.2021.09.008.
- [15] Romero R, Lockwood C, Oyarzun E, et al. Toxemia: new concepts in an old disease. *Semin Perinatol.* 1988;12(4):302–323.
- [16] B, Dekker G, Kupferminc M, et al. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2005;365(9461):785–799. doi:10.1016/S0140-6736(05)71003-5.
- [17] Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol.* 2009;33(3):130–137. doi:10.1053/j.semperi.2009.02.010.
- [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. e1doi:10.1016/j.ajog.2013.08.019.
- [19] ACOG practice bulletin no. 204: fetal growth restriction. Medicine. American college of obstetricians and gynecologists' committee on practice bulletins – obstetrics and the society for maternal-fetal. *Obstet Gynecol.* 2019;133(2):e97–109.
- [20] Liu J, Wang XF, Wang Y, et al. The incidence rate, high-risk factors, and short- and long-term adverse outcomes of fetal growth restriction: a report from Mainland China. *Medicine.* 2014;93(27):e210. doi:10.1097/MD.0000000000000210.
- [21] Chauhan SP, Shields D, Parker D, et al. Detecting fetal growth restriction or discordant growth in twin gestations stratified by placental chorionicity. *J Reprod Med.* 2004;49(4):279–284.
- [22] Curado J, Sileo F, Bhide A, et al. Early- and late-onset selective fetal growth restriction in monochorionic diamniotic twin pregnancy: natural history and diagnostic criteria. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2020;55(5):661–666. doi:10.1002/uog.20849.
- [23] Fick AL, Feldstein VA, Norton ME, et al. Unequal placental sharing and birth weight discordance in monochorionic diamniotic twins. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(1):178–183. doi:10.1016/j.ajog.2006.01.015.
- [24] Chauhan SP, Scardo JA, Hayes E, et al. Twins: prevalence, problems, and preterm births. *T Am J Obstet Gynecol.* s.l.: Epub. 2010;203(4):305–315. doi:10.1016/j.ajog.2010.04.031.
- [25] Chaiworapongsa T, Chaemsaitong P, Yeo L, et al. Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10(8):466–480. doi:10.1038/nrneph.2014.102.
- [26] Herraiz I, Llurba E, Verlohren S, 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(2):81–89. doi:10.1159/000477903.
- [27] Sovio U, Gaccioli F, Cook E, et al. Slowing of fetal growth and elevated maternal serum sFLT1: PlGF are associated with early term spontaneous labor. *Am J Obstet Gynecol.* 2021;225(5):520.e1–520.e10. e1doi:10.1016/j.ajog.2021.04.232.
- [28] Barton JR, Woelkers DA, Newman RB, et al. Placental growth factor predicts time to delivery in women with signs or symptoms of early preterm preeclampsia: a prospective multicenter study. *Am J Obstet Gynecol.* 2020;222(3):259.e1–259.e11. doi:10.1016/j.ajog.2019.09.003.
- [29] Herraiz I, Quezada MS, Rodríguez-Calvo J, et al. Longitudinal change of sFlt-1/PlGF ratio in singleton pregnancy with early-onset fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;52(5):631–638. doi:10.1002/uog.18894.
- [30] Allen RE, Rogozinska E, Cleverly K, et al. Abnormal blood biomarkers in early pregnancy are associated with preeclampsia: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;182:194–201. doi:10.1016/j.ejogrb.2014.09.027.
- [31] Gaccioli F, Aye ILMH, Sovio U, et al. Screening for fetal growth restriction using fetal biometry combined with maternal biomarkers. *Am J Obstet Gynecol.* 2018; 218(2S):S725–S737. doi:10.1016/j.ajog.2017.12.002.
- [32] Friedman AM, Cleary KL. Prediction and prevention of ischemic placental disease. *Semin Perinatol.* 2014; 38(3):177–182. doi:10.1053/j.semperi.2014.03.002.
- [33] Levine RJ, Maynard SE, Qian C, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med.* 2004;350(7):672–683. doi:10.1056/NEJMoa031884.
- [34] Maynard SE, Min JY, Merchan J, 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(5):649–658. doi:10.1172/JCI17189.
- [35] Maynard SE, Venkatesha S, Thadhani R, et al. Soluble fms-like tyrosine kinase 1 and endothelial dysfunction in the pathogenesis of preeclampsia. *Pediatr Res.* 2005;57(5 Pt 2):1R–7R. doi:10.1203/01.PDR.0000159567.85157.B7.
- [36] Agrawal S, Shinar S, Cerdeira AS, et al. Predictive performance of PlGF (placental growth factor) for screening preeclampsia in asymptomatic women: a systematic review and meta-analysis. *Hypertension.* 2019;74(5):1124–1135. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.13360.
- [37] Martínez-Varea A, Martínez-Sáez C, Domenech J, et al. sFlt-1/PlGF ratio at 24 weeks gestation in twin pregnancies as a predictor of preeclampsia or fetal growth restriction. *Fetal Diagn Ther.* 2022;49(4):206–214. doi:10.1159/000525169.
- [38] Faupel-Badger JM, McElrath TF, Lauria M, et al. Maternal circulating angiogenic factors in twin and singleton pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2015; 212(5):636.e1–636.e8. doi:10.1016/j.ajog.2014.11.035.
- [39] De La Calle M, Delgado JL, Verlohren S, et al. Gestational age-specific reference ranges for the sFlt-

- 1/PIGF immunoassay ratio in twin pregnancies. *Fetal Diagn Ther.* 2021;48(4):288–296. doi:10.1159/000514378.
- [40] Hoffmann J, Ossada V, Weber M, et al. An intermediate sFlt-1/PIGF ratio indicates an increased risk for adverse pregnancy outcome. *Pregnancy Hypertens.* 2017;10:165–170. doi:10.1016/j.preghy.2017.08.003.
- [41] Rana S, Hacker MR, Modest AM, et al. Circulating angiogenic factors and risk of adverse maternal and perinatal outcomes in twin pregnancies with suspected preeclampsia. *Hypertension.* 2012;60(2):451–458. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.195065.
- [42] Karge A, Seiler A, Flechsenhar S, et al. Prediction of adverse perinatal outcome and the mean time until delivery in twin pregnancies with suspected preeclampsia using sFlt-1/PIGF ratio. *Pregnancy Hypertens.* 2021;24:37–43. doi:10.1016/j.preghy.2021.02.003.
- [43] Saleh L, Tahitu SIM, Danser AHJ, et al. The predictive value of the sFlt-1/PIGF ratio on short-term absence of preeclampsia and maternal and fetal or neonatal complications in twin pregnancies. *Pregnancy Hypertens.* 2018;14:222–227. doi:10.1016/j.preghy.2018.03.014.
- [44] Binder J, Palmrich P, Pateisky P, et al. The prognostic value of angiogenic markers in twin pregnancies to predict delivery due to maternal complications of preeclampsia. *Hypertension.* 2020;76(1):176–183. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14957.
- [45] Dröge L, Herraiz I, Zeisler H, et al. Maternal serum sFlt-1/PIGF ratio in twin pregnancies with and without pre-eclampsia in comparison with singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(3):286–293. doi:10.1002/uog.14760.
- [46] Choi R, Park M, Oh Y, et al. Preeclampsia screening using the ratio of soluble FMS-like tyrosine kinase-1 to placental growth factor during pregnancy in pregnant Korean women. *Clin Lab.* 2020;66(09/2020):1893–1898. doi:10.7754/Clin.Lab.2020.200117.
- [47] Shinohara S, Sunami R, Kasai M, et al. Predictive value of the sFlt-1/PIGF ratio for preeclampsia in twin pregnancies: a retrospective study. *Hypertens Pregnancy.* 2021;40(4):330–335. doi:10.1080/10641955.2021.1987455.
- [48] Krotz S, Fajardo J, Ghandi S, et al. Hypertensive disease in twin pregnancies: a review. *Twin Res.* 2002; 5(1):8–14. doi:10.1375/twin.5.1.8.
- [49] Narang K, Szymanski LM. Multiple gestations and hypertensive disorders of pregnancy: what do we know? *Curr Hypertens Rep.* 2020;23(1):1. doi:10.1007/s11906-020-01107-4.
- [50] Grantz KL, Grewal J, Albert PS, et al. Dichorionic twin trajectories: the NICHD fetal growth studies. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(2):221.e1–221.e16. e1doi:10.1016/j.ajog.2016.04.044.
- [51] Rao A, Sairam S, Shehata H. Obstetric complications of twin pregnancies. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004;18(4):557–576. doi:10.1016/j.bpobgyn.2004.04.007.
- [52] Stepan H, Galindo A, Hund M, et al. Clinical utility of sFlt-1 and PIGF in screening, prediction, diagnosis and monitoring of pre-eclampsia and fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2023;61(2):168–180. doi:10.1002/uog.26032.

Segundo artículo

El ratio sFlt-1/PIGF a las 12, 24 y 32 semanas de gestación en embarazos gemelares como predictor de disfunción placentaria.

Referencia: Satorres-Pérez E, Martínez-Varea A, Novillo-Del Álamo B, Morales-Roselló J, Diago-Almela V. The sFlt-1/PIGF Ratio at 12, 24, and 32 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Placental Dysfunction. *Journal of Clinical Medicine*. 2024; 13(6):1784. <https://doi.org/10.3390/jcm13061784> DOI: 10.3390/jcm13061784

Tipo de estudio: prospectivo de cohortes

Estado: publicado

Factor de impacto: 3.9 (2022); 5-Year Impact Factor: 4.1 (2022) (Journal Citation Report)

Posición: 58/169. Q2 (Medicine, General & Internal) / CiteScore - Q1 (General Medicine) (Journal Citation Report)

Resumen del segundo artículo

Objetivo

Este estudio tiene como objetivo evaluar la capacidad del ratio sFlt-1/PIGF determinado en diversas etapas del embarazo para predecir disfunción placentaria (PE y RCIU) en embarazos gemelares, así como el peso fetal al nacimiento y la necesidad de ingreso en unidad de neonatos.

Metodología

Estudio prospectivo realizado en embarazos gemelares monocoriales y bicoriales que fueron seguidos en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe (Valencia, España), desde febrero de 2021 hasta septiembre de 2023. El ratio sFlt-1/PIGF se determinó de forma ambulatoria a las 12, 24 y 32 semanas de gestación mediante inmunoensayo Elecsys® (Roche Diagnostics, Basilea, Suiza). Las muestras de suero se analizaron inmediatamente (<6 h) después de la recolección. Los resultados registrados se recopilaron a través de la historia clínica digital y completada mediante entrevista personal en caso las pacientes hubieran dado a luz en un hospital diferente.

Para el estudio de la relación entre los niveles del ratio sFlt-1/PIGF y la disfunción placentaria, se definió dicho diagnóstico como resultado principal, mientras que los resultados secundarios incluyeron la edad gestacional al parto y el resultado neonatal (peso al nacer y necesidad de admisión en la unidad neonatal). Además, cuando significativa, se evaluó la fuerza de la correlación entre el nivel de sFlt-1/PIGF y cada resultado.

La disfunción placentaria se definió como el evento de PE, RCIU, síndrome de HELLP o DPPNI (135,241,242). La PE quedó definida por la aparición de hipertensión de nuevo inicio (mediciones repetidas de PAS $\geq$ 140 mm Hg y PAD $\geq$ 90 mm Hg) después de la semana 20 de embarazo, concurrente con una o varias de las siguientes condiciones de novo: proteinuria (relación proteína/creatinina en orina $\geq$ 30 mg/mmol o una relación albúmina/creatinina $\geq$ 8 mg/mmol o $\geq$ 1 g/L [2+] en pruebas de tira reactiva o 300 mg de proteína en una colección de orina de 24 h) u otra disfunción orgánica materna, incluidas complicaciones en los dominios

renal, hepático, neurológico o hematológico, o disfunción uteroplacentaria asociada (18,20). El diagnóstico de PE precoz o tardía se consideró en función de si realizado antes o después de semana 34 de gestación (15). El síndrome HELLP se determinó por sus criterios clásicos: hemólisis (concentraciones elevadas de lactato deshidrogenasa que superan el umbral de referencia superior), niveles elevados de enzimas hepáticas (concentraciones de alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa) y recuento reducido de plaquetas ($<100,000/\mu\text{L}$) (121).

El diagnóstico de RCIU se estableció por la combinación de un peso fetal estimado (PFE) por debajo del percentil 10, junto con un Doppler anormal de la AU ($>$ percentil 95), ICP ($<$ percentil 5), arterias uterinas ($>$ percentil 95) o un PFE por debajo del percentil 3, ya fuera en uno o ambos gemelos (68). El PFE se calculó mediante medidas de circunferencia cefálica, perímetro abdominal (PA) y longitud femoral, siguiendo la fórmula reportada por Hadlock *et al* (209). El estadio de la RCIU se estableció siguiendo las pautas de la ISUOG para embarazos gemelares (59,105).

El percentil 95 del IPAU medio a las 24 semanas se definió como ≥ 1.35 , según descripciones previas (243). Todos los cálculos relacionados con los niveles de presión arterial se realizaron con la fórmula estandarizada ($\text{PAD} + 1/3 [\text{PAS} - \text{PAD}]$) (244). Los niveles séricos de la hormona PAPP-A se determinaron en la semana 10 de embarazo.

El riesgo de preeclampsia precoz se calculó en la semana 11–14 de embarazo según el algoritmo de la FMF, considerando a las mujeres con valores por debajo del corte de 1 en 100 como de alto riesgo.

Se definieron los siguientes criterios de inclusión:

- mujeres mayores de 18 años
- embarazadas con un embarazo gemelar
- ausencia de diagnóstico de anomalías fetales

- con consentimiento informado firmado

Los criterios de exclusión incluyeron:

- embarazos múltiples con tres o más fetos
- abandono voluntario del estudio antes de su finalización
- terminación del embarazo antes de completar la recolección de muestras, ya fuera mediante el parto o la muerte fetal.

No se excluyeron a las pacientes con antecedentes de disfunción placentaria.

Resultados

Un total de 70 pacientes con embarazo gemelar fueron incluidas en nuestro estudio, tanto monocoriales (14.29%) como bicoriales (85.71%). En todos estos embarazos gemelares recogidos, el ratio sFlt-1/PIGF se determinó a las 12, 24 y 32 semanas de gestación. Los datos sobre las características basales, comparando a las mujeres embarazadas que no desarrollaron disfunción placentaria con aquellas que sí lo hicieron, se muestran en la Tabla 15. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

Tabla 15. Descripción de las características basales maternas de las pacientes incluidas con embarazos gemelares, comparando a las mujeres que no desarrollaron disfunción placentaria con aquellas que sí lo hicieron. Los datos se presentan como media (desviación estándar) para variables continuas y n (%) para variables categóricas. Se realizó un análisis estadístico comparando casos y controles. IMC, índice de masa corporal; TRA, técnicas de reproducción asistida; PE, preeclampsia.

	Gestación gemelar sin disfunción placentaria (n = 49)	Gestación gemelar con disfunción placentaria (n = 21)	P valor
IMC	23.7 (4.0)	24.1 (4.3)	0.776
Edad	35.0 (4.6)	35.8 (4.5)	0.512
TRA	26 (53.06%)	14 (66.67%)	0.172
Nuliparas	35 (71.42%)	17 (80.95%)	
Hábito tabáquico	6 (12.24%)	1 (4.76%)	
Etnia caucásica	46 (93.88%)	20 (95.24%)	
Etnia afroamericana	1 (2.04%)		
Etnia asiática	2 (4.08%)	1 (4.76%)	
Bicorial	44 (89.80%)	16 (76.19%)	0.154
Monocorial	5 (10.20%)	5 (23.81%)	
Alto riesgo de PE precoz	4 (19.05%)	5 (10.20%)	
Bajo riesgo de PE precoz	43 (87.76%)	16 (76.19%)	
Presión arterial en semana 12	85.7 (9.3)	90.1 (11.2)	0.069
Presión arterial en semana 24	85.7 (8.4)	88.6 (10.9)	0.238
Presión arterial en semana 32	87.0 (9.2)	98.2 (10.9)	<0.001

De las 70 pacientes finales incluidas en nuestra muestra, 21 desarrollaron disfunción placentaria (30%). Once mujeres sufrieron PE, 3 desarrollaron PE de inicio precoz, y 6 tuvieron PE de inicio tardío. Tres de estas pacientes desarrollaron PE grave, una de ellas con síndrome de HELLP asociado. Además, dos pacientes manifestaron PE durante el período postparto. En cuanto al RCIU, 10 pacientes

recibieron el diagnóstico, 7 de ellas antes de las 34 semanas de embarazo. Todos los casos excepto uno sufrieron de RCIU de grado I, siendo el caso restante diagnosticado con RCIU de grado III y asociado a evento de DPPNI. La corionicidad no impactó estadísticamente la edad gestacional en la que se diagnosticó la disfunción placentaria. La Figura 8 muestra el riesgo acumulado de disfunción placentaria para embarazos monocoriales y bicoriales.

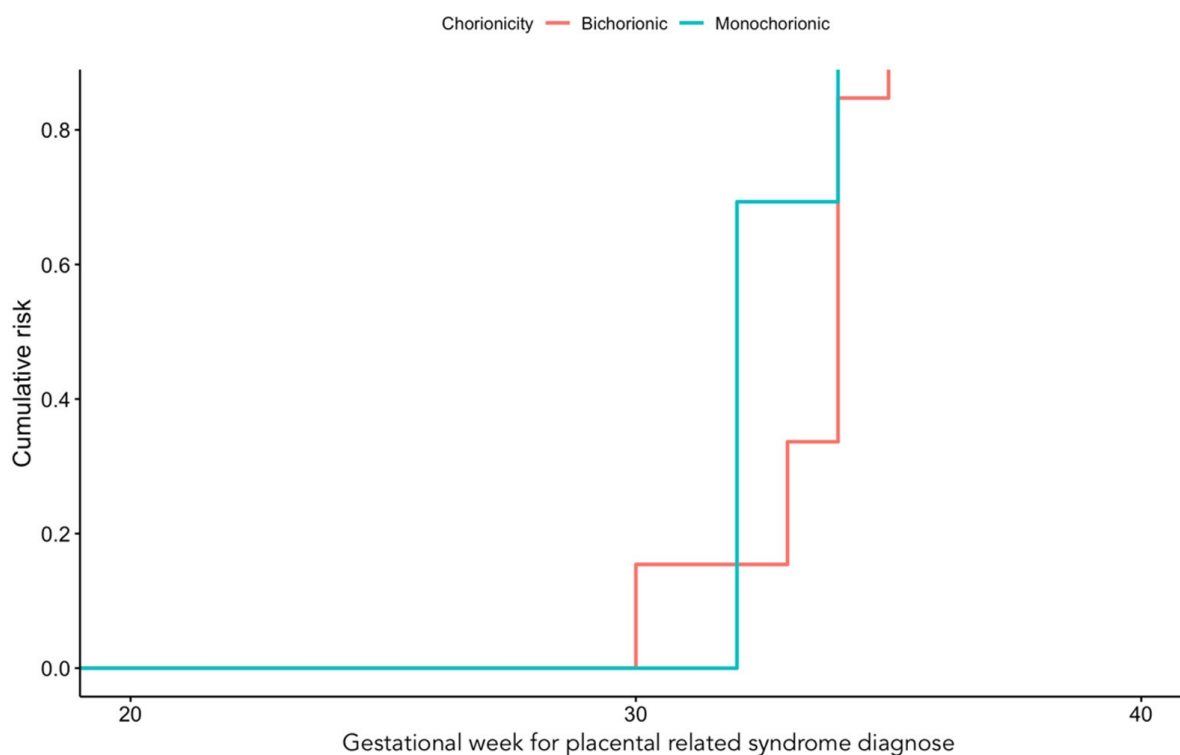


Figura 8. Riesgo acumulado (semanas) de disfunción placentaria en gestaciones monocoriales y bicoriales.

La media del ratio sFlt-1/PIGF se calculó en tres los trimestres de embarazo. Como se observa en la Figura 9 y la Tabla 16, mientras las medias fueron más altas en embarazos complicados con disfunción placentaria (33.03 vs. 4.64; $p = 0.16$), la diferencia solo fue estadísticamente significativa en la semana 32 ($p = 0.007$). Además, los medios del ratio fueron significativamente más altos en la semana 32 para mujeres que desarrollaron PE de inicio precoz en comparación con la PE de inicio tardío (33.9 vs. 12.0; $p = 0.046$).

Tabla 16. Valores medios (rango intercuartílico) para el ratio sFlt-1/PIGF y los valores independientes de sFlt-1 y PIGF en mujeres con embarazos gemelares, con y sin disfunción placentaria, en los tres trimestres del embarazo.

	Gestación gemelar sin disfunción placentaria (n = 49)	Gestación gemelar con disfunción placentaria (n = 21)	P valor
sFlt-1/PIGF ratio— week 12	33.0 (19.2)	46.0 (36.0)	0.109
sFlt-1/PIGF ratio— week 24	4.0 (2.9)	6.1 (5.7)	0.496
sFlt-1/PIGF ratio— week 32	13.6 (12.0)	31.6 (32.8)	0.007
sFlt-1—week 12	2541.4 (918)	2350.3 (902.7)	0.19
sFlt-1—week 24	3258.5 (1585)	3513.8 (1636.5)	0.31
sFlt-1—week 32	5917.4 (4318)	6975.7 (4644.5)	0.14
PIGF—week 12	106.2 (73.3)	69.4 (34.1)	0.021
PIGF—week 24	1184.7 (577)	854.4 (702.7)	0.11
PIGF—week 32	852.6 (619)	386.6 (343.7)	0.02

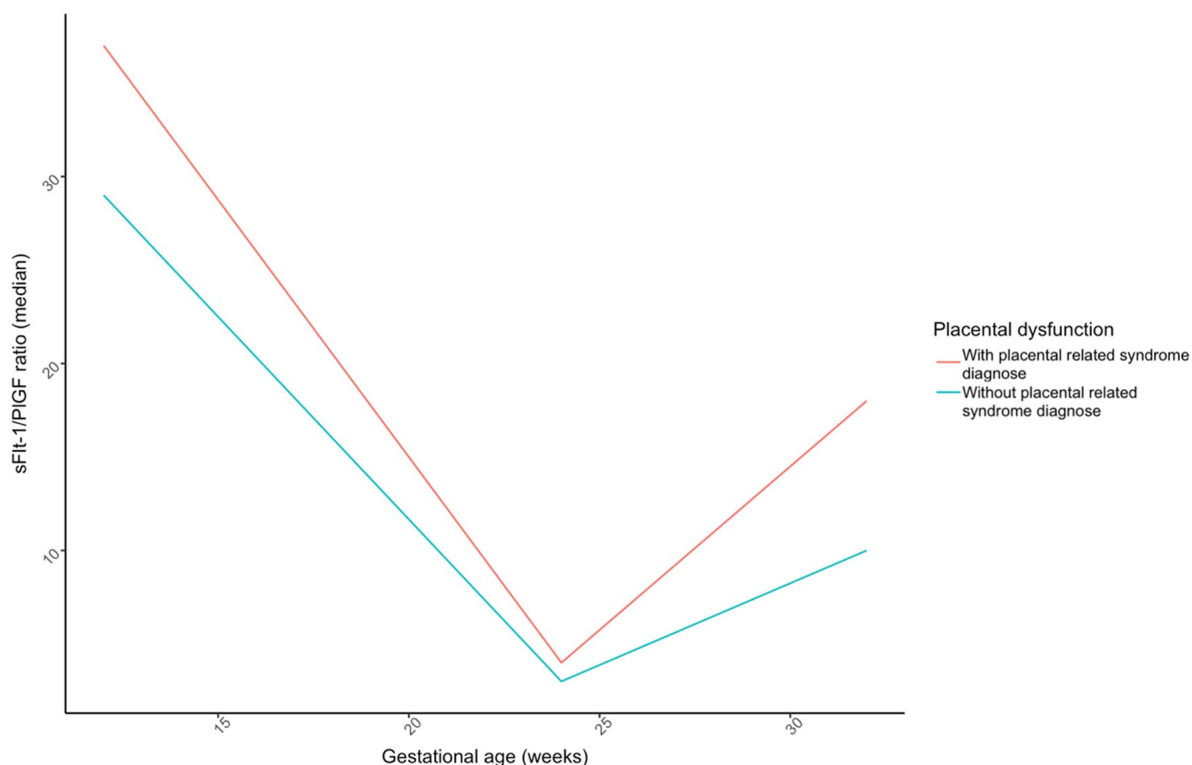


Figura 9. Las líneas de la Figura unen los valores medios del ratio sFlt-1/PlGF en cada momento de la gestación, en pacientes diagnosticadas de disfunción placentaria vs las de curso normal.

Asimismo, se consideraron los niveles medios de presión arterial en los tres momentos en que se evaluaron los niveles de la relación. Como se observa en la Figura 10, los niveles aumentaron a lo largo del embarazo tanto en mujeres que desarrollaron disfunción placentaria como en pacientes sanas. Aunque los niveles medios fueron más altos en las semanas 12, 24 y 32 para pacientes que desarrollaron disfunción placentaria (85.7 vs. 90.1; 85.7 vs. 88.6; 87.0 vs. 98.2), solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la semana 32 ($p < 0.001$).

Al evaluar la edad gestacional al nacer, nuestra muestra tuvo un valor medio de 36.0 semanas y una mediana de 36.8 semanas. La edad gestacional media al nacer fue de 35.0 semanas para pacientes con disfunción placentaria, en comparación con 36.4 semanas sin disfunción placentaria. Los niveles de relación más bajos en la semana 32 se asociaron con una mayor edad gestacional al nacer, ya que un aumento de 1 unidad en la relación en la semana 32 implicaba 0.278 días menos de embarazo ($p < 0.005$). La Tabla 17 resume los resultados neonatales.

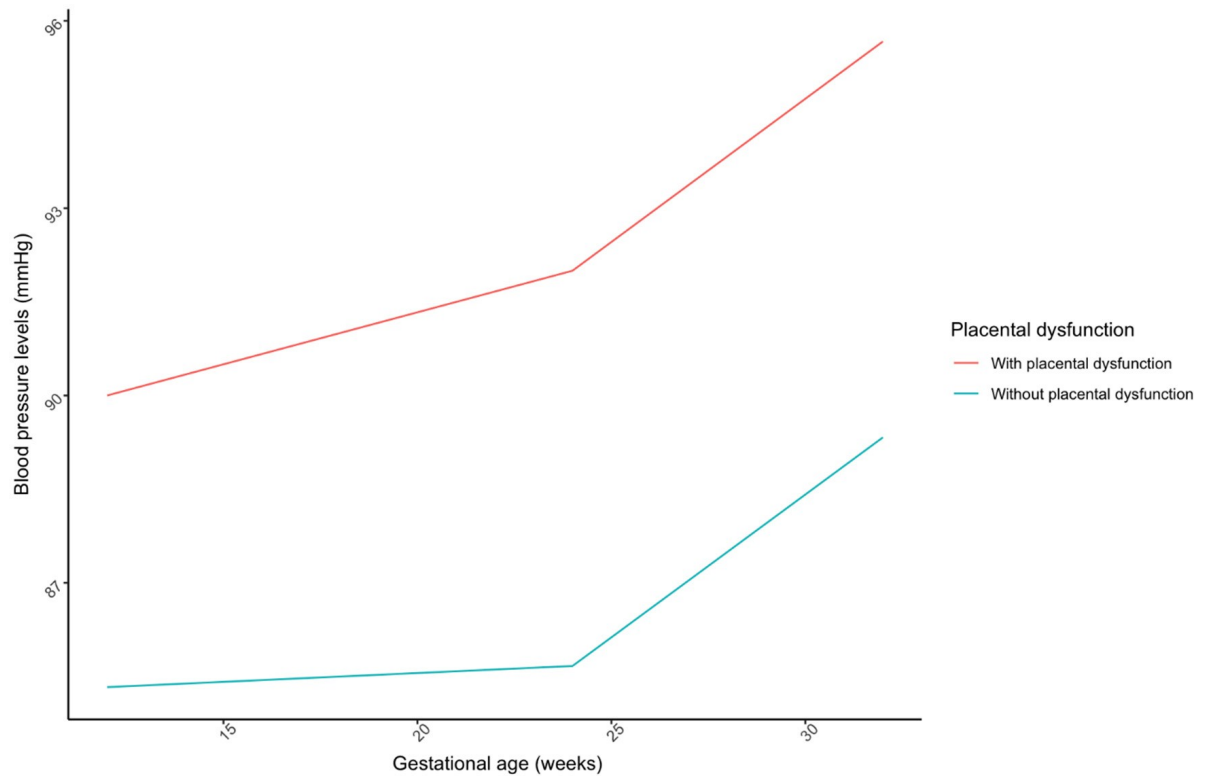


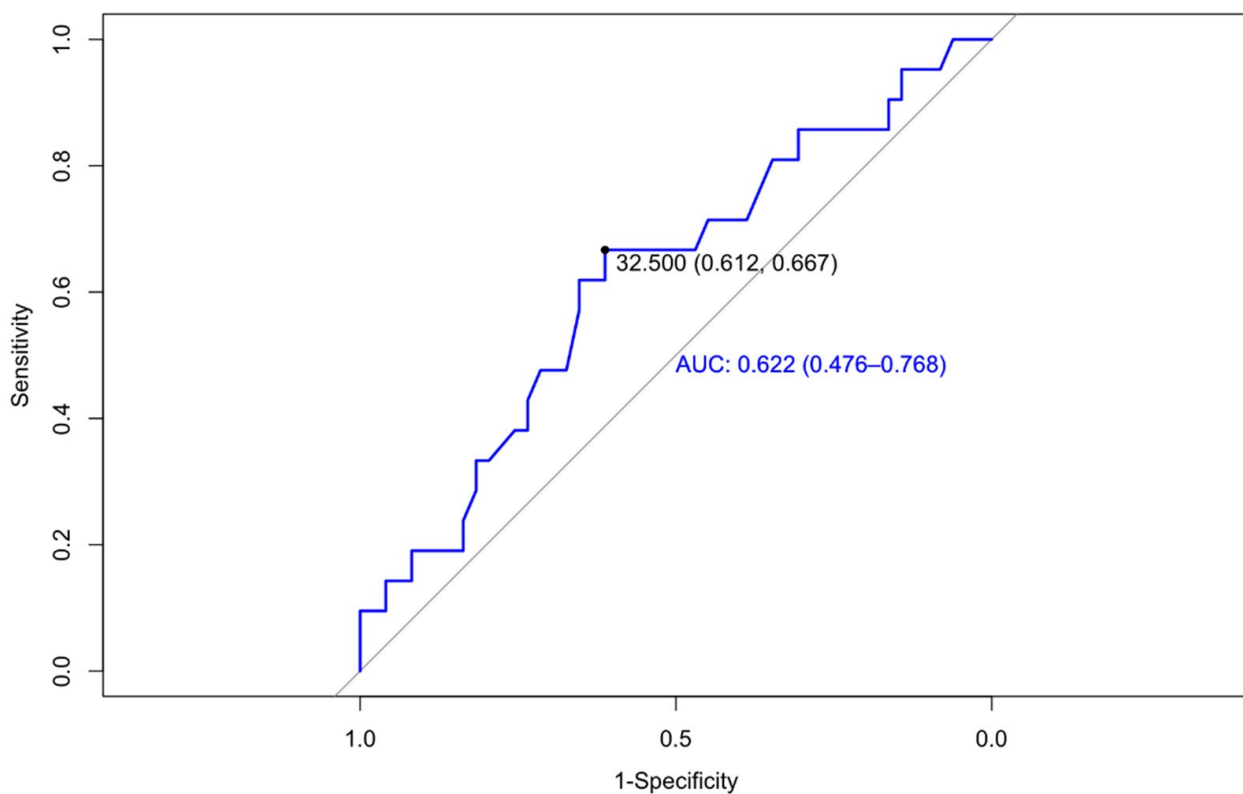
Figura 10. Las líneas de la Figura unen los puntos que representan los valores de tensión arterial media en cada momento de la gestación, en pacientes con diagnóstico de disfunción placentaria vs aquellas con curso normal.

Tabla 17. Características neonatales, comparando aquellas de recién nacidos de gestaciones con diagnóstico de disfunción placentaria con aquellas sin dicho diagnóstico. Los datos se aportan mediante medias (desviación estandar) para las variables continuas.

	Gestaciones gemelares sin disfunción placentaria	Gestaciones gemelares con disfunción placentaria	P valor
Edad gestacional al nacimiento	254.9 (8.4)	245.2 (16.2)	0.004
Peso del primer recién nacido	2451.7 (420)	2072 (450.7)	0.002
Peso del segundo recién nacido	2373.7 (444.8)	2015.2 (507.1)	0.007
Apgar a los 5 minutos para el primer recién nacido	9.9	9.6	0.389
Apgar a los 5 minutos para el segundo recién nacido	9.8	9.6	0.256
pH de arteria para el primer recién nacido	7.3 (0.1)	7.3 (0.1)	0.317
pH de arteria para el segundo recién nacido	7.3 (0.1)	7.3 (0.1)	0.989
Días de ingreso	2.5 (6.4)	13.4 (21.3)	0.001

Para calcular el mejor punto de corte para la predicción de disfunción placentaria, se diseñaron diferentes AUC-ROC para cada determinación. Como se observa en la Figura 11, un punto de corte del ratio sFlt-1/PIGF ≥ 32.5 a las 12 semanas de embarazo se asoció con una sensibilidad del 66.7%, una especificidad del 61.2%, un valor predictivo positivo (VPP) del 42.4% y un valor predictivo negativo (VPN) del 81.1% para la identificación de pacientes con un embarazo gemelar que desarrollaron disfunción placentaria, con un AUC-ROC de 0.622 (0.476–0.768). La OR fue de 4.25 (1.13–20.69 95% IC; $p = 0.044$). Igualmente, un punto de corte del

ratio sFlt-1/PIGF ≥ 8.5 a las 24 semanas se asoció con una sensibilidad del 33.3% y una especificidad del 93.9%, un VPP del 70% y un VPN del 76.7% para la identificación de pacientes con un embarazo gemelar que desarrollan disfunción placentaria, con un AUC-ROC de 0.552 (0.384–0.719) y una OR de 13.5 (3.07–67.90 95% IC; $p = 0.001$). Además, un punto de corte del ratio sFlt-1/PIGF ≥ 30.5 a las 32 semanas se relacionó con una sensibilidad del 45%, una especificidad del 87.8%, un VPP del 60% y un VPN del 79.6% para la identificación de pacientes que desarrollaron disfunción placentaria, con un AUC-ROC de 0.709 (0.570–0.849) y una OR de 14.29 (3.59–66.84 95% IC; $p < 0.001$).



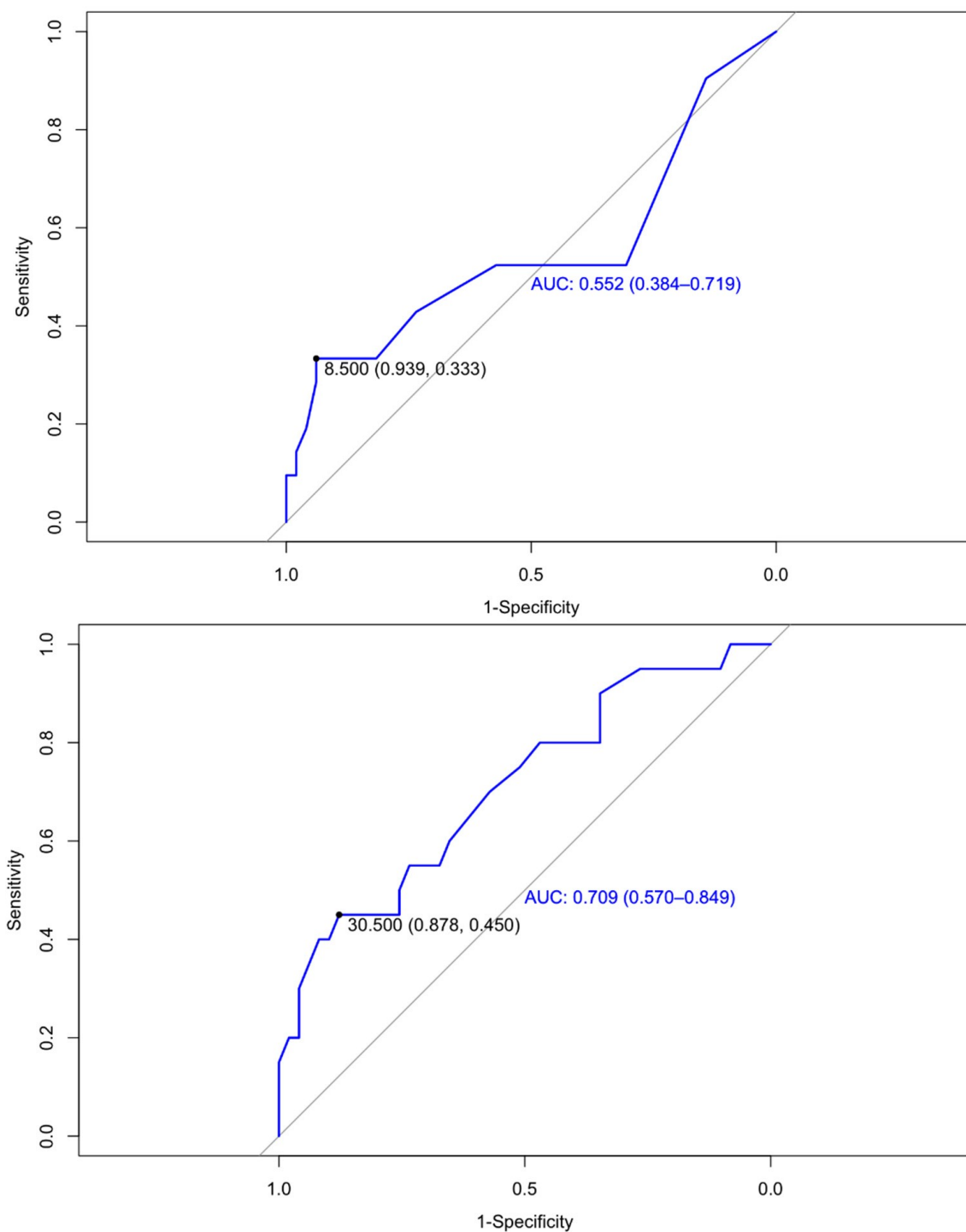


Figura 11. El área bajo la curva del ratio sFlt-1/PIGF ratio en la semana 12 (a), 24 (b), y 32 semanas (c) de gestación para la detección de pacientes que evolutivamente presentaron disfunción placentaria.

Hubo una asociación significativa y consistente entre el nivel del cociente sFlt-1/PIGF en la semana 12 del embarazo y la aparición de PE, lo cual se demostró en el aumento de la eficiencia de la correlación de Pearson (PCC) a -0.81 ($p < 0.05$).

Esta asociación se mantuvo incluso después de evaluar los niveles aislados de PIGF. Además, se observó un aumento casi significativo en el valor aislado de sFLT-1 en la semana de diagnóstico de RCIU (PCC -0.38; $p < 0.10$).

Del mismo modo, al evaluar los niveles del ratio en la semana 24 y el momento del diagnóstico de disfunción placentaria, solo se encontraron diferencias entre la semana de diagnóstico de RCIU y el valor de PIGF. La intensidad de esta relación fue baja y positiva, lo que significa que una disminución en los valores de PIGF implica una disminución en la semana de diagnóstico (0.43; $p < 0.05$). Estas asociaciones se representan en la Figura 12.

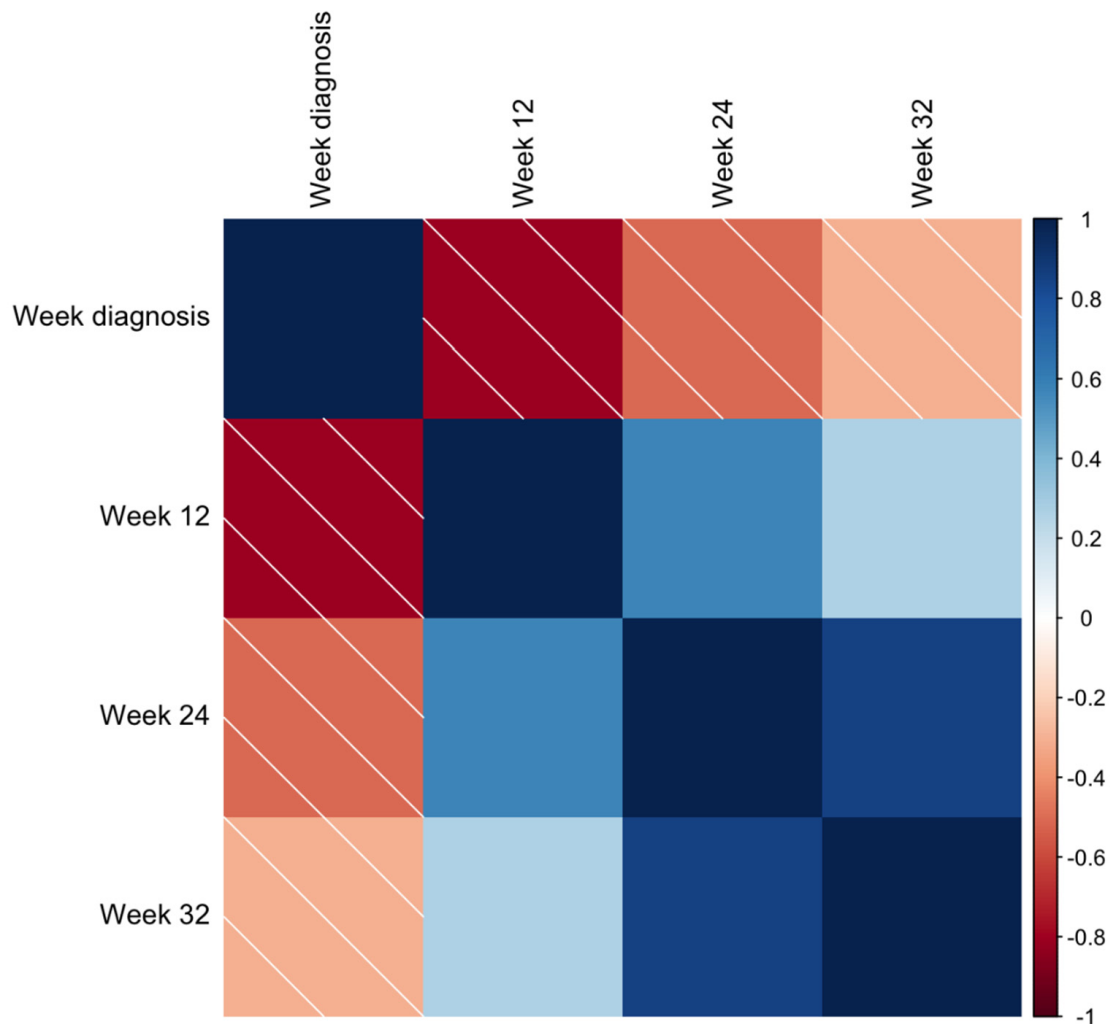
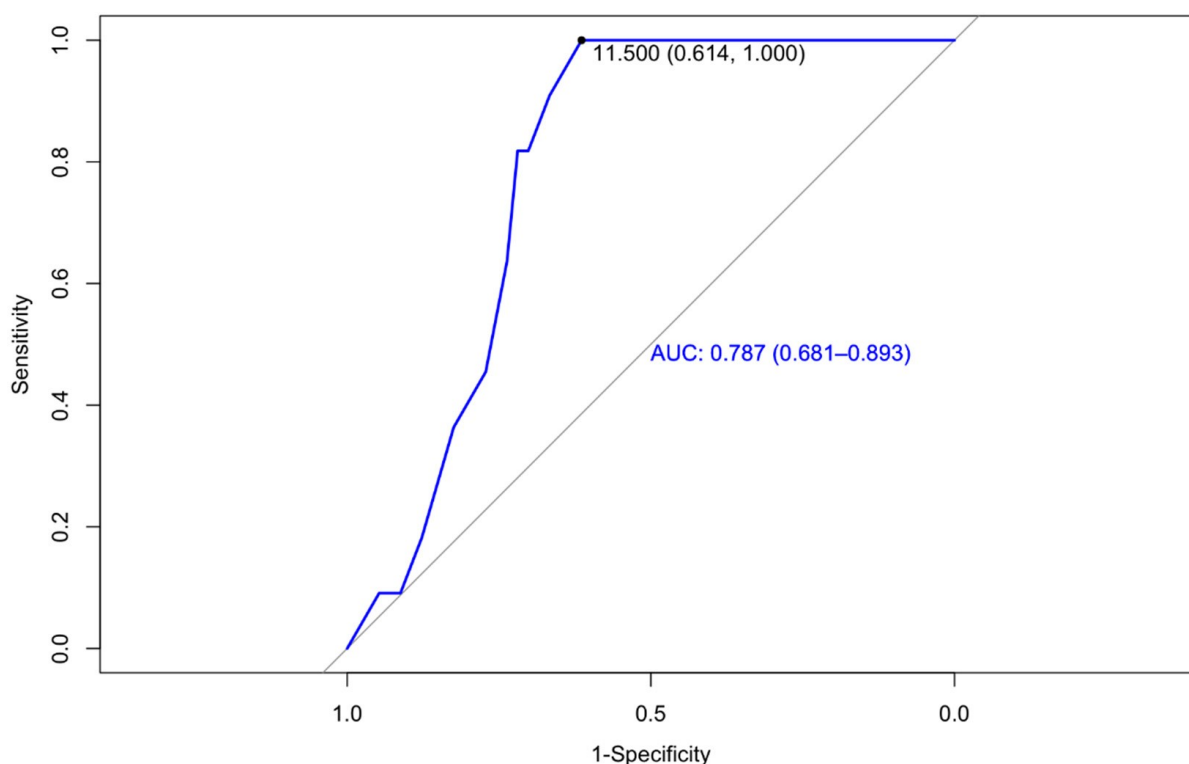


Figura 12. Representación de las correlaciones entre el ratio sFlt-1/PlGF a las 12, 24, y 32 semanas y la semana de diagnóstico de PE. La intensidad de la correlación entre dichas variables está representada por la intensidad del color, como queda reflejado en la leyenda.

No se encontró correlación entre los niveles medios de presión arterial en los tres trimestres o los niveles medios del IPAUt en el primer trimestre con la semana de diagnóstico de disfunción placentaria. Con respecto al percentil del peso al nacer, los niveles del ratio en las semanas 24 y 32 tuvieron una correlación negativa y estadísticamente significativa, lo que significa que un cociente más alto implicaba un peso al nacer más bajo en ambos recién nacidos (PCC -0.29 y -0.36; -0.41 y -0.33, $p < 0.005$, respectivamente).

Como se observa en la Figura 13, un cociente sFlt-1/PIGF superior a 33.5 a las 24 semanas tuvo una sensibilidad del 66.7% y una especificidad del 84.6%, con un VPP del 98.21% y un VPN del 16.67%, y un AUC-ROC de 0.679 (0.240–1.00) para predecir un peso inferior a 1500 g, con una OR de 0.09 (0.00–1.03 95% IC; $p = 0.059$). Además, un cociente sFlt-1/PIGF superior a 11.5 a las 32 semanas tuvo una sensibilidad del 61.4% y una especificidad del 100% con un VPP del 33.33, un VPN del 100%, y un AUC-ROC de 0.787 (0.681–0.893) para predecir un peso inferior a 2500 g en uno o ambos recién nacidos.



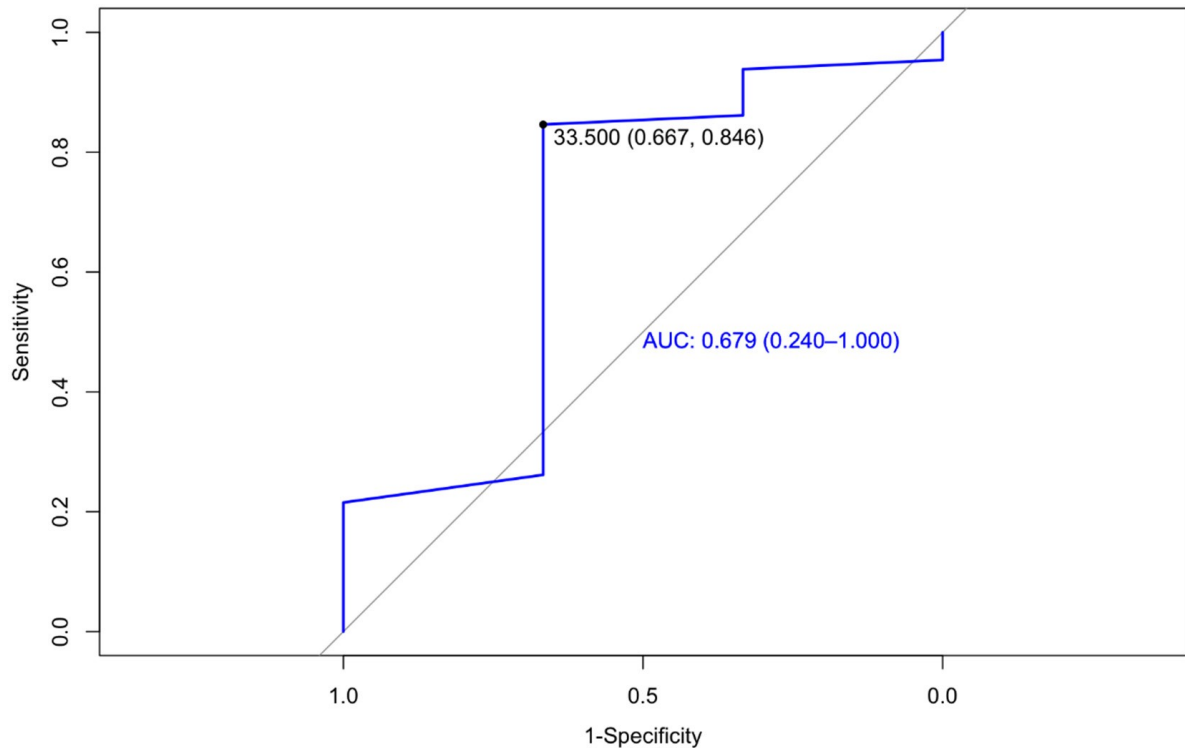


Figura 13. Las AUC-ROC del ratio sFlt-1/PlGF a las 24 (a) y 32 (b) semanas de gestación para la detección de recién nacidos con pesos menores a 1500 g y 2500 g.

En cuanto a los días de ingreso a la unidad neonatal, se observó una asociación significativa y positiva con los niveles del ratio sFlt-1/PlGF en las semanas 12, 24 y 32 (PCC 0.36, 0.50 y 0.62, respectivamente). Por lo tanto, los niveles del cociente parecen tener una capacidad creciente para predecir el ingreso a la unidad neonatal a lo largo del embarazo. Además, el valor medio del ratio sFlt-1/PlGF en la semana 12 fue de 36.5 en el grupo que requirió ingreso en comparación con 27.5 en el grupo sin ingreso a la unidad neonatal, con una diferencia estadísticamente casi significativa ($p < 0.10$). Es más, los cocientes en las semanas 24 y 32 tuvieron valores medios de 3.0 y 10.0 entre los casos sin ingreso versus 4.0 y 23.5 entre aquellos que sí lo hicieron, respectivamente, en ambos casos, con diferencias significativas ($p < 0.05$).

Las Tablas 18 y 19 resumen el desempeño del cociente sFlt-1/PlGF para la disfunción placentaria y el resultado neonatal.

Tabla 18. Rendimiento para los puntos de corte del ratio sFlt-1/PIGF en cada edad gestacional para la predicción de disfunción placentaria y peso al nacer. AUC: área bajo la curva; S: sensibilidad; E: especificidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo.

Variable		Predicción	AUC	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Semana 12	Disfunción placentaria	32.5	0.622 (0.476-0.768)	66.7	61.2	42.4	81.1
	Peso al nacer <1500g	33.5	0.679 (0.240-1.00)	66.7	84.6	98.21	16.67
Semana 24	Disfunción placentaria	8.5	0.552 (0.384-0.719)	33.33	93.88	70.00	76.67
	Peso al nacer <2500g	11.5	61.4	100	33.33	100	0.787 (0.681-0.893)
Semana 32	Disfunción placentaria	30.5	0.709 (0.570-0.849)	45	87.8	60	79.6
	Peso al nacer <2500g	11.5	61.4	100	33.33	100	0.787 (0.681-0.893)

Tabla 19. Correlaciones estadísticamente significativas para los valores aislados de sFlt-1, PlGF, y el ratio sFlt-1/PlGF y el evento estudiado (semana de diagnóstico de PE y RCIU, días de ingreso en unidad de neonatos y peso al nacer) determinados por el coeficiente de correlación de Pearson (PCC).

	Medición	Evento	PCC
Semana 12	Ratio sFlt-1/ PlGF	Semana de diagnóstico de PE	-0.81; $p < 0.05$
		Días de ingreso en unidad neonatal	0.36; $p < 0.05$
	PlGF	Semana de diagnóstico de PE	0.77; $p < 0.05$
	sFlt-1	Semana de diagnóstico de PE	-0.38; $p < 0.10$
Semana 24	Ratio sFlt-1/ PlGF	Peso al nacer	-0.29 and -0.36; $p < 0.05$
		Días de ingreso en unidad neonatal	0.50; $p < 0.05$
	sFlt-1	Semana de diagnóstico de PE	-0.38; $p < 0.10$
Semana 32	Ratio sFlt-1/ PlGF	Peso al nacer	0.41 and -0.33; $p < 0.05$
		Días de ingreso en unidad neonatal	0.62; $p < 0.05$

Discusión

El presente estudio revela el potencial valor predictivo del ratio sFlt-1/PlGF en embarazos gemelares para predecir PE, RCIU, bajo peso al nacer y necesidad de ingreso en neonatos. En nuestra muestra, los niveles del ratio sFlt-1/PlGF fueron más altos durante los tres trimestres en los embarazos gemelares que desarrollaron disfunción placentaria en comparación con aquellos que no lo hicieron, con diferencias estadísticamente significativas en la semana 32.

Un punto de corte del ratio sFlt-1/PlGF ≥ 32.5 a las 12 semanas se asoció con un aumento significativo en la frecuencia de disfunción placentaria (OR, 4.25 [1.13–20.69 95% IC]; $p = 0.044$). Además, el presente estudio revela que dicho punto de

corte a las 12 semanas se asocia con una sensibilidad del 66.7%, una especificidad del 61.2%, un VPP del 42.4% y un VPN del 81.1% para detectar pacientes que desarrollarán disfunción placentaria a lo largo de la gestación. Estas cifras superan aquellas del método tradicional basado en características demográficas maternas e historia clínica (sensibilidad del 40% de los casos de preeclampsia prematura con una tasa de falsos positivos del 10%(245,246). Sin embargo, en la actualidad la mayoría de centros utilizan el algoritmo de la FMF para estimar el riesgo de PE en el primer trimestre, el cual integra calidad de perfusión placentaria (evaluada a través del IPAUt y la presión arterial media), características clínicas (factores maternos y antecedentes médicos) y niveles de biomarcadores (PIGF) (200). Este cribado combinado ha demostrado detectar el 75% de la PE pre-término (<37 semanas) y el 41% de la PE a término (≥ 37 semanas) con una tasa de falsos positivos del 10%. Sin embargo, estas tasas de detección se han calculado únicamente en base a embarazos únicos. Una investigación publicada en 2020 evaluó el rendimiento del cribado del primer trimestre para la PE en embarazos gemelares. Los mejores resultados se obtuvieron al combinar factores maternos, presión arterial media, el IPAUt y los valores séricos de PIGF, con una sensibilidad del 86.4% y 41.1% para la PE a <32 semanas y <37 semanas, respectivamente, con una tasa de falsos positivos del 10%(247). Otro estudio mostró un AUC-ROC de 0.647 (0.604–0.690; IC del 95%) para detectar PE en embarazos gemelares al combinar características demográficas maternas y antecedentes médicos, lo cual es muy similar a nuestro AUC de 0.622 (0.476–0.768) solo con el ratio sFlt-1/PIGF (248).

En embarazos únicos caracterizados por un mayor riesgo de PE o RCIU por historia materna y la evaluación del IPAUt, el ratio sFlt-1/PIGF medido a las 24–28 semanas ha surgido como un indicador pronóstico válido para la ocurrencia de PE o RCIU con un área bajo la curva (AUC) de 0.98 (0.97–1.00; IC del 95%) (217). En nuestro estudio, un punto de corte del ratio sFlt-1/PIGF de 8.5 a las 24 semanas mostró un aumento significativo en la frecuencia de disfunción placentaria, al igual que en la semana 32, donde un punto de corte de 30.5 tuvo un aumento aún mayor tanto para PE como RCIU. Además, este punto de corte a las 24 semanas se asoció con una sensibilidad del 33.3% y una especificidad del

93.4%, un VPP del 70% y un VPN del 76.7%. Estos hallazgos sugieren que la evaluación sucesiva del ratio sFlt-1/PIGF tiene el potencial de aumentar la precisión predictiva para los diagnósticos de disfunción placentaria en embarazos gemelares.

Además, el ratio sFlt-1/PIGF ha demostrado un nivel notablemente elevado en embarazos únicos que desarrollan PE o RCIU precoz en comparación con aquellos que manifiestan un inicio posterior(249). En el presente estudio, se observó que la media del ratio sFlt-1/PIGF a las 32 semanas de gestación era más alto en individuos con embarazos gemelares que posteriormente experimentaron el desarrollo de PE o RCIU precoz, en contraste con aquellos que encontraron PE o RCIU tardío (33.9 vs. 12.0; $p = 0.046$). Estos resultados concuerdan con las observaciones realizadas por S Rana *et al.*, quienes encontraron que los niveles del ratio sFlt-1/PIGF eran más altos entre las mujeres que presentaban PE antes de las 34 semanas en comparación con aquellas que manifestaban un inicio posterior (97.7 [76.6–178.1] vs. 31.7 [6.5–48.7]; $p = 0.001$) (228). Por lo tanto, los pacientes en riesgo de desarrollar estas enfermedades en una etapa temprana del embarazo podrían beneficiarse especialmente de un seguimiento cercano con determinación del ratio. Los niveles aislados de PIGF han demostrado tener una capacidad para predecir PE y parto pretérmino en embarazos únicos, y los embarazos con RCIU han demostrado tener niveles de PIGF menores a lo largo de todo el embarazo, especialmente durante el primer trimestre (199,250,251). Al evaluar los niveles de sFlt-1 y PIGF de forma aislada en nuestra muestra, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la semana de diagnóstico del RCIU y el valor de PIGF en las semanas 12 y 24. Esto está en concordancia con un estudio observacional prospectivo y multicéntrico publicado en 2018, donde la medición de PIGF en embarazos únicos se mostró como un complemento valioso para identificar a aquellos con alto riesgo de dar a luz a un recién nacido pequeño para la edad gestacional, facilitando una vigilancia óptima y una intervención médica oportuna (252). Otros estudios, incluyendo una serie prospectiva publicada por nuestro grupo, tienen resultados similares, con mayores relaciones sFlt-1/PIGF, y niveles aislados más bajos de PIGF y niveles más altos de sFlt-1 en embarazos gemelares que

desarrollan RCIU(226,228). Por lo tanto, la medición de los niveles maternos de PIGF puede ayudar a anticipar embarazos con complicaciones asociadas a la RCIU.

Existe una correlación positiva entre el ratio sFlt-1/PIGF y la probabilidad de complicaciones del embarazo, como el parto pretérmino, según se ha descrito previamente (187,253,254). En nuestro estudio, niveles bajos del ratio estuvieron asociados con una mayor edad gestacional al nacimiento (un aumento de 1 unidad en la relación implicaba 0.278 días menos de embarazo [$p < 0.005$]). Además, nuestro estudio también ha demostrado que los niveles de la relación en las semanas 24 y 32 muestran una correlación negativa y estadísticamente significativa con el percentil de peso al nacer, ya que una relación sFlt-1/PIGF superior a 33.5 en la semana 24 tuvo una sensibilidad del 66.7% y una especificidad del 84.6% para predecir un peso inferior a 1500 g. En cuanto a la necesidad de ingreso neonatal en una unidad específica, se encontraron diferencias en los niveles medios del ratio en las semanas 24 y 32 (3.0 vs. 4.0 y 10.0 vs. 23.5, respectivamente). Además, se determinó una asociación significativa, positiva y progresiva entre los niveles del ratio en los tres trimestres y el número de días de ingreso (PCCs 0.36, 0.50 y 0.62, respectivamente).

En cuanto a la corionicidad, algunos estudios previos han defendido que los niveles del ratio sFlt-1/PIGF son independientes de esta variable, corroborando su precisión predictiva en ambos grupos (9,224,226,227), aunque existe bibliografía contradictoria (234). En nuestra muestra, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la incidencia de disfunción placentaria entre los embarazos monocoriales y bicoriales ($p > 0.05$), ni en los niveles del ratio sFlt-1/PIGF en las semanas 12, 24 y 32 ($p = 0.154$; 0.633; 0.828, respectivamente). Esto se debió probablemente al número relativamente bajo de embarazos gemelares incluidos, especialmente los monocoriales.

Versión original del segundo artículo



Article

The sFlt-1/PlGF Ratio at 12, 24, and 32 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Placental Dysfunction

Elena Satorres-Pérez ¹, Alicia Martínez-Varea ^{1,2,3,*}, Blanca Novillo-Del Álamo ¹, José Morales-Roselló ^{1,2} and Vicente Diago-Almela ¹

¹ Department of Gynecology and Obstetrics, La Fe University and Polytechnic Hospital, 46026 Valencia, Spain; elenasatorres@gmail.com (E.S.-P.); bnalamo@gmail.com (B.N.-D.Á.); cm@comv.es (J.M.-R.); diago_vicalm@gva.es (V.D.-A.)

² Department of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, University of Valencia, 46010 Valencia, Spain

³ Department of Medicine, CEU Cardenal Herrera University, 12006 Castellón de la Plana, Spain

* Correspondence: martinez.alicia.v@gmail.com; Tel.: +34-(66)-0287640

Abstract: Background: This study aims to assess the utility of the sFlt-1/PlGF ratio throughout pregnancy in predicting placental dysfunction and neonatal outcomes in twin pregnancies. **Methods:** Prospective study at a tertiary hospital. All pregnant women with a twin pregnancy who signed the informed consent were included. The sFlt-1/PlGF ratio was measured at 12, 24, and 32 weeks' gestation. **Results:** Seventy patients were included, and 30% developed placental dysfunction. Differences were found in the mean sFlt-1/PlGF ratios at week 32 (13.6 vs. 31.8, $p = 0.007$). Optimal cutoffs at 12, 24, and 32 weeks to identify patients who develop placental dysfunction were 32.5, 8.5, and 30.5, respectively, with ORs of 4.25 (1.13–20.69 95% IC; $p = 0.044$), 13.5 (3.07–67.90 95% IC; $p = 0.001$), 14.29 (3.59–66.84 95% IC; $p < 0.001$). The sFlt-1/PlGF ratio at 32 weeks was associated with gestational age at birth. The sFlt-1/PlGF ratio in weeks 24 and 32 had a statistically significant negative correlation with the birth weight percentile in both twins. **Conclusions:** The potential of the sFlt-1/PlGF ratio as a predictive tool for placental dysfunction in twin pregnancies is underscored.

Keywords: twin pregnancy; sFlt-1/PlGF ratio; pre-eclampsia; fetal growth restriction; placental dysfunction



Citation: Satorres-Pérez, E.; Martínez-Varea, A.; Novillo-Del Álamo, B.; Morales-Roselló, J.; Diago-Almela, V. The sFlt-1/PlGF Ratio at 12, 24, and 32 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Placental Dysfunction. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 1784. <https://doi.org/10.3390/jcm13061784>

Academic Editor: Michal Kovo

Received: 14 February 2024

Revised: 4 March 2024

Accepted: 14 March 2024

Published: 20 March 2024



Copyright: © 2024 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/>).

1. Introduction

Complications associated with placental dysfunction, known as placental-related syndromes, are known to have a higher incidence in multiple pregnancies compared to singleton pregnancies [1,2]. The incidence of this condition varies in accordance with risk factors such as assisted reproductive technology, maternal age, parity, or associated comorbidities [3–5].

Notably, hypertensive disorders of pregnancy affect 5–6% of singleton pregnancies and 13% of multiple pregnancies [6]. Furthermore, these complications in multiple pregnancies often manifest in more severe forms, demonstrate atypical presentations, and classically manifest earlier than in singleton pregnancies [7]. When the diagnosis is made before 34 weeks, it is defined as early-onset pre-eclampsia (EOPE), compared to later diagnoses, when it is named late-onset pre-eclampsia (LOPE) [8,9]. This distinction must be made, as EOPE carries a heightened risk of life-threatening maternal complications and fetal compromise [10,11].

Fetal growth restriction can be defined as at least one twin with isolated birth weight under the 3rd percentile, or 10th percentile associated with an abnormal Doppler, or, rather, a birth weight discrepancy $\geq 20\%$, with a reported incidence of 27% and 16%, respectively [12,13]. It is a major cause of stillbirth, preterm birth, admission to intensive

care, and poor neonatal outcome [14–16], especially in twin pregnancies compared to singletons [17].

In pregnancies characterized by placental dysfunction, specific pro-angiogenic and anti-angiogenic factors present in maternal circulation, namely placental growth factor (PlGF) and soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1), respectively, undergo alterations, with an altered ratio in favor of anti-angiogenic factors [18–22]. Over the past decade, the sFlt-1/PlGF ratio, serving as an indicator of placental dysfunction and adverse fetomaternal outcomes, has undergone extensive investigation [21,23–25]. Its application as a marker for diagnosis, risk stratification, and management in singleton pregnancies is in clinical use, as optimal cutoffs have been established to diagnose and rule out pre-eclampsia with high predictive values [26,27]. Regarding FGR, the only current diagnostic method relies on fetal weight estimation through ultrasound. Although several formulas have been developed to estimate fetal weight [28–31], their limitations must not be overlooked, as numerous studies reflect a variable accuracy, mostly operator-dependent [32,33]. Developing complementary tools to strengthen sFlt-1/PlGF predictive values could improve the detection of vulnerable cases.

On the contrary, its application in twin pregnancies, in which placental mass, maternal blood volume, and inflammatory response are higher than singletons, is limited [34,35]. Studies evaluating the utility of the sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies have demonstrated that compared to singleton pregnancies, uncomplicated twin pregnancies have higher sFlt-1/PlGF ratios [36–40]. This is also true in twin pregnancies complicated by pre-eclampsia and FGR [40–42]. In addition, in twin pregnancies, higher ratios alone or in combination with other placental biomarkers such as UAPI or PAPP-A can predict [27,36,38,39,41,42] adverse pregnancy outcomes [43–47].

This study aims to assess the ability of sFlt-1/PlGF evaluated at various stages in pregnancy to predict placental dysfunction in twin pregnancies, as well as timing of delivery and neonatal outcomes.

2. Materials and Methods

This was a prospective study among mono and dichorionic twin pregnancies that were followed up at the University and Polytechnic Hospital La Fe (Valencia, Spain), from February 2021 to September 2023. The sFlt-1/PlGF ratio was determined at 12, 24, and 32 weeks' gestation in an outpatient setting through Elecsys[®] immunoassay of the sFlt-1/PlGF ratio (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). Serum samples were immediately analyzed (<6 h) after the collection. Inclusion criteria were defined: women over 18 years old, pregnant with a twin pregnancy, with no fetal abnormalities, and with signed informed consent. Exclusion criteria included triplets or high-order pregnancies, voluntary abandonment of the study prior to completion, and termination of pregnancy prior to complete sample collection, through birth or stillbirth. Data on patients during pregnancy and delivery were collected from the digital clinical history of the hospital: maternal age, body mass index, parity, toxic habits, chronic diseases, chronic treatments, conception method, chorionicity, amnionicity, weight gain along the pregnancy, diagnosis of gestational diseases (diabetes and hypothyroidism), PAPP-A, UAPI, risk of EOPE calculated in the first trimester, estimated fetal weight in weeks 24 and 32, blood pressure levels at weeks 12, 24, and 32, gestational age at birth, mode and onset of delivery, neonatal outcome (weight, Apgar test, arterial and venous pH, admission to neonatal unit), and puerperal pathology. All these parameters were compared between patients developing placental dysfunction and those who did not. Patients with a previous history of placental dysfunction were not excluded. Registered outcomes were collected through online clinical history and personal interviews if patients gave birth in a different hospital. The primary outcome was defined as placental dysfunction, while secondary outcomes included delivery time and neonatal outcome (birth weight and admission to the neonatal unit). Furthermore, the strength of sFlt-1/PlGF and each outcome correlation, when found significant, was evaluated. All twin pregnancies with the sFlt-1/PlGF ratio measured at 12, 24, and 32 weeks were included in

the final analysis. The study group was then split into those who did and did not develop placental dysfunction.

Placental dysfunction was defined as the event of pre-eclampsia, fetal growth restriction, HELLP syndrome, or abruptio placentae [48–50].

Pre-eclampsia was defined by the emergence of new-onset hypertension (defined as repeated measurements of systolic blood pressure ≥ 140 mm Hg and diastolic blood pressure ≥ 90 mm Hg) occurring after the 20th week of pregnancy, concomitant with one or both of the following newly arisen conditions: proteinuria (indicated by a urine protein/creatinine ratio ≥ 30 mg/mmol or an albumin/creatinine ratio ≥ 8 mg/mmol or ≥ 1 g/L [2+] on dipstick testing or 300 mg protein in a 24 h urine collection) or other maternal organ dysfunction, including complications in renal, hepatic, neurological, or hematological domains, or uteroplacental dysfunction (such as fetal growth restriction (FGR), abnormal umbilical artery Doppler waveform analysis, or stillbirth) [37,51–53]. The diagnosis of early-onset pre-eclampsia was considered when made prior to 34 weeks, while late-onset pre-eclampsia diagnosis occurred thereafter [11].

HELLP syndrome was characterized by hemolysis (elevated lactate dehydrogenase concentrations surpassing the upper reference threshold), heightened levels of liver enzymes (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase concentrations exceeding the upper reference threshold), and reduced platelet counts ($<100,000/\mu\text{L}$) [37,51].

Fetal growth restriction (FGR) was established by the combination of an estimated fetal weight (EFW) below the 10th percentile, coupled with either an abnormal Doppler of the umbilical artery (>95 th percentile), cerebroplacental ratio (<5 th percentile), uterine arteries (>95 th percentile), or an EFW below the 3rd percentile [54], in either one or both twins. The EFW was calculated by measurements of head circumference, abdominal circumference, and femoral length, adhering to the formula reported by Hadlock et al. [28]. FGR stages were defined following ISUOG guidelines for twin pregnancies [55].

The 95th percentile of the mean UAPI at 24 weeks was defined as ≥ 1.35 , by prior descriptions [56]. All calculations regarding blood pressure levels were made with the standardized formula (diastolic blood pressure (DBP) + $1/3$ [systolic blood pressure (SBP) – DBP]) [57]. Serum PAPP-A hormone levels were determined in the 10th week of pregnancy.

The risk of EOPE was calculated at 11–14 weeks of pregnancy based on the Fetal Medicine Foundation (FMF) algorithm, considering women with values under the 1 in 100 cutoff as high risk [58].

2.1. Statistics

The statistical analysis has been carried out using the computer application Rstudio (Version 2023.09.1+494). Quantitative variables were described using standard measures of central tendency and variability: mean, standard deviation, median, interquartile range, maximum, and minimum. Categorical variables were described using frequency and proportion relative to the total number of cases. Bivariate statistical analysis was conducted using a Student's *t*-test for cases where the normality of the variable was met, and a non-parametric Mann–Whitney test for cases where the assumption of normality was not met. Survival curves were obtained through survival analysis, and diagnostic cutoff curves were determined using ROC curves. Multivariate analysis was performed using linear regression for total gestation days and logistic regression for placental dysfunction.

2.2. Ethics

The study was approved by the Ethics Committee of the Health Research Institute Hospital La Fe (IIS La Fe). All pregnant women signed the informed consent form before participating.

3. Results

A total of 70 patients with a twin pregnancy were included in our study, both mono-chorionic (14.29%) and dichorionic (85.71%). In all these collected twin pregnancies, the sFlt-1/PlGF ratio was determined at 12, 24, and 32 weeks of gestation. Data regarding baseline characteristics, comparing pregnant women who did not develop placental dysfunction with those who did, are displayed in Table 1. No significant differences were found between groups.

Table 1. Description of maternal baseline characteristics of the included patients with twin pregnancies, comparing women who did not develop placental dysfunction with those who did. Data are given as mean (standard deviation) for continuous variables and n (%) for categorical variables. Statistical analysis was made comparing cases and controls. BMI, body mass index; ART, artificial reproduction techniques; PE, pre-eclampsia.

	Twin Pregnancies without Placental Dysfunction (n = 49)	Twin Pregnancies with Placental Dysfunction (n = 21)	p Value
BMI	23.7 (4.0)	24.1 (4.3)	0.776
Age	35.0 (4.6)	35.8 (4.5)	0.512
ART	26 (53.06%)	14 (66.67%)	0.172
Nulliparous	35 (71.42%)	17 (80.95%)	
Smoking	6 (12.24%)	1 (4.76%)	
Ethnicity: Caucasian	46 (93.88%)	20 (95.24%)	
Ethnicity: Black	1 (2.04%)		
Ethnicity: Asian	2 (4.08%)	1 (4.76%)	
Dichorionic	44 (89.80%)	16 (76.19%)	0.154
Monochorionic	5 (10.20%)	5 (23.81%)	
High-risk of early-onset PE in first trimester	5 (10.20%)	4 (19.05%)	
Low-risk of early-onset PE in first trimester	43 (87.76%)	16 (76.19%)	
PAPP-A levels, week 10	6.6 (9.2)	3.4 (2.6)	0.044
Mean uterine artery pulsatility index	1.2 (0.4)	1.4 (0.5)	0.134
Blood pressure, week 12	85.7 (9.3)	90.1 (11.2)	0.069
Blood pressure, week 24	85.7 (8.4)	88.6 (10.9)	0.238
Blood pressure, week 32	87.0 (9.2)	98.2 (10.9)	<0.001

From the final 70 patients included in our sample, 21 developed placental dysfunction (30%). Eleven women suffered from pre-eclampsia, 3 developed early-onset pre-eclampsia, and 6 had late-onset pre-eclampsia (<34 or >34 weeks, respectively). Three of these patients developed severe pre-eclampsia, one of them with associated HELLP syndrome. Furthermore, two patients manifested pre-eclampsia during the postpartum period. Regarding FGR, 10 patients received the diagnosis, 7 of them before 34 weeks of pregnancy. All cases but one suffered from stage I FGR, with the remaining one being diagnosed with stage III FGR and, subsequently, with abruptio placentae. Chorionicity did not statistically impact the gestational age at which placental dysfunction was diagnosed. Figure 1 shows the cumulative risk of placental dysfunction for mono- and dichorionic pregnancies.

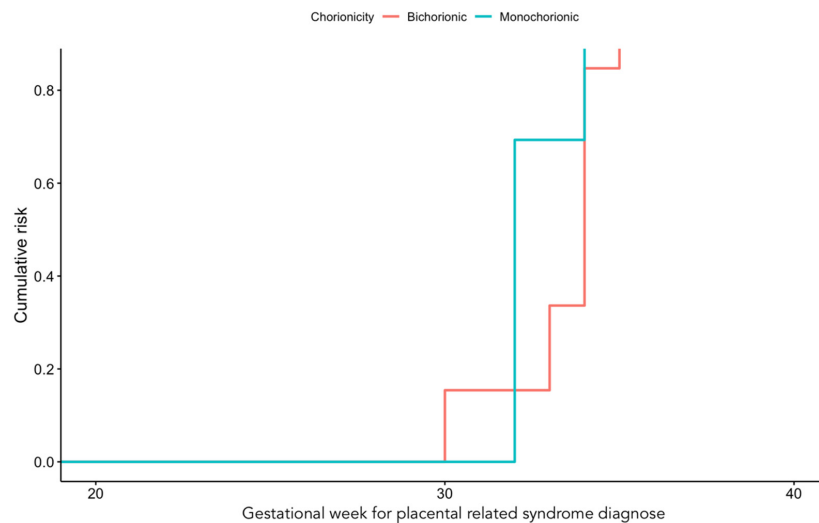


Figure 1. Cumulative risk (weeks) of placental dysfunction in dichorionic and monochorionic pregnancies.

The mean maternal serum sFlt-1/PIGF ratio was calculated in three trimesters. As seen in Figure 2 and Table 2, while mean ratios were higher in pregnancies complicated with placental dysfunction (33.0 vs. 46; 4.0 vs. 6.1; 13.6 vs. 31.8, respectively), this difference was only statistically significant at 32 weeks ($p = 0.007$). Furthermore, mean ratio levels were significantly higher in week 32 for women developing early-onset pre-eclampsia compared to late-onset pre-eclampsia (33.9 vs. 12.0; $p = 0.046$).

Table 2. Mean values (interquartile range) for the sFlt-1/PIGF ratio and sFlt-1 and PlGF immunoassay values in women with twin pregnancies, with and without placental dysfunction, in the three trimesters of pregnancy.

	Twin Pregnancies without Placental Dysfunction (n = 49)	Twin Pregnancies with Placental Dysfunction (n = 21)	p Value
sFlt-1/PIGF ratio—week 12	33.0 (19.2)	46.0 (36.0)	0.109
sFlt-1/PIGF ratio—week 24	4.0 (2.9)	6.1 (5.7)	0.496
sFlt-1/PIGF ratio—week 32	13.6 (12.0)	31.6 (32.8)	0.007
sFlt-1—week 12	2541.4 (918)	2350.3 (902.7)	0.19
sFlt-1—week 24	3258.5 (1585)	3513.8 (1636.5)	0.31
sFlt-1—week 32	5917.4 (4318)	6975.7 (4644.5)	0.14
PIGF—week 12	106.2 (73.3)	69.4 (34.1)	0.021
PIGF—week 24	1184.7 (577)	854.4 (702.7)	0.11
PIGF—week 32	852.6 (619)	386.6 (343.7)	0.02

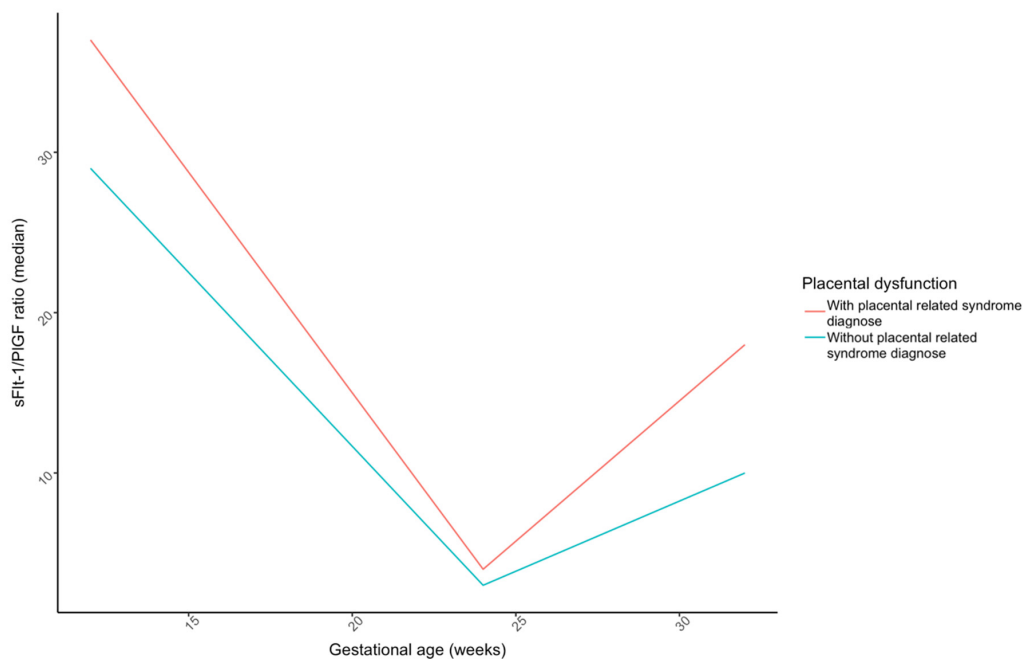


Figure 2. The lines in the figure link the median sFlt-1/PlGF values at each gestational age window for patients diagnosed with placental dysfunction vs. those without. PlGF, placental growth factor; sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase 1.

Likewise, mean blood pressure levels were considered in the three moments when ratio levels were evaluated. As seen in Figure 3, levels grew throughout pregnancy in both women developing placental dysfunction and healthy patients. Although mean levels were higher in weeks 12, 24, and 32 for patients developing placental dysfunction (85.7 vs. 90.1; 85.7 vs. 88.6; 87.0 vs. 98.2), statistically significant differences were only found in week 32 ($p < 0.001$).

PAPP-A hormone levels at 10 weeks of pregnancy were found to be statistically decreased in twin gestations that developed placental dysfunction compared to those which did not ($p = 0.044$). No statistical differences were found between groups when assessing mean UAPI.

When evaluating gestational age at birth, our sample had a mean value of 36.0 weeks and a median of 36.8 weeks. The mean gestational age at birth was 35.0 for patients with placental dysfunction, compared to 36.4 days without placental dysfunction. Lower ratio levels at week 32 were associated with higher gestational age at birth, as an increase of 1 unit in the ratio at week 32 implied 0.278 days fewer of pregnancy ($p < 0.005$). Table 3 summarizes neonatal outcomes.

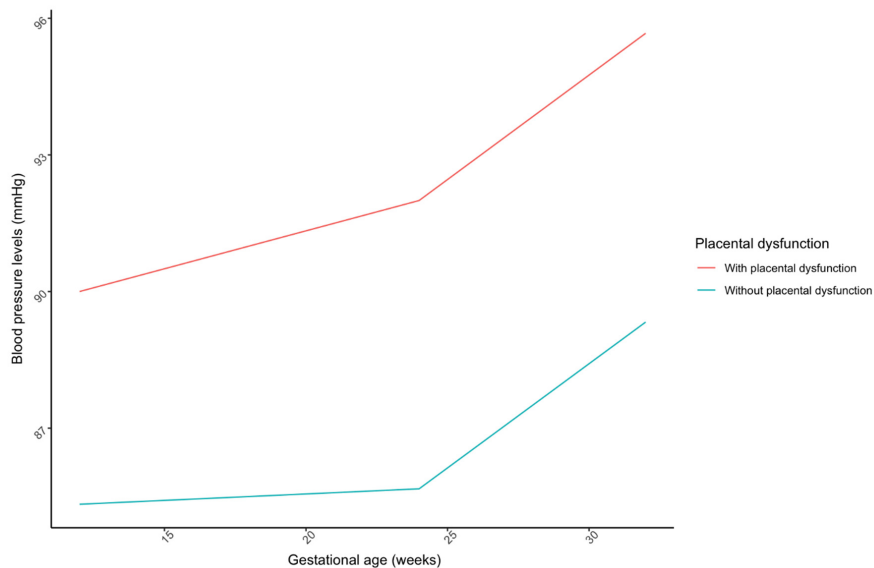


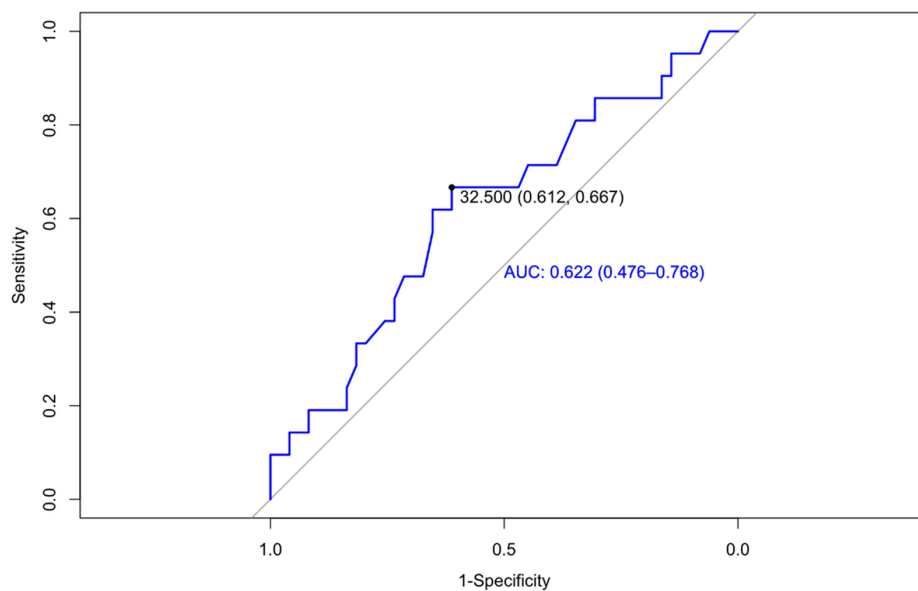
Figure 3. The lines in the figure link the mean blood pressure values at each gestational age window for patients diagnosed with placental dysfunction vs. those without.

Table 3. Description of neonatal characteristics, comparing those born after placental dysfunction with those without the diagnosis. Data are given as mean (standard deviation) for continuous variables.

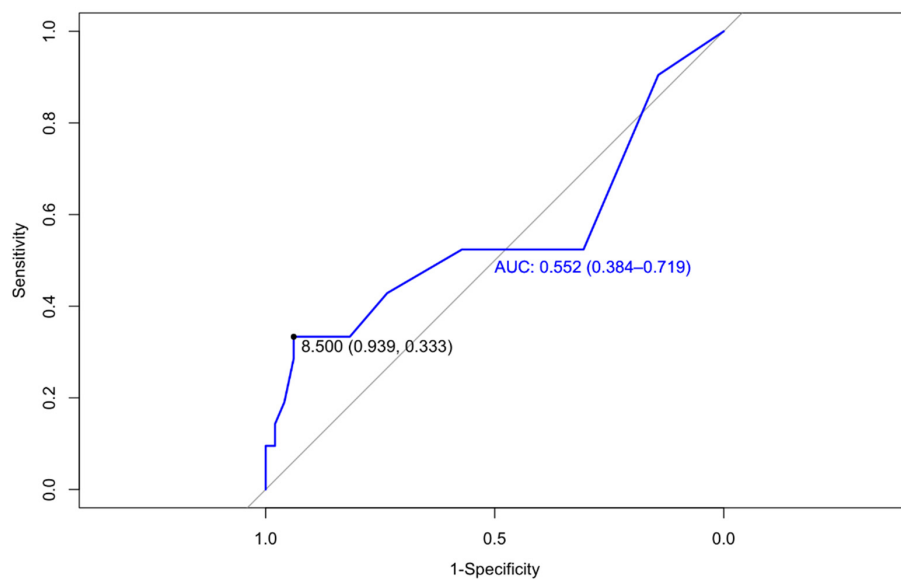
	Twin Pregnancies without Placental Dysfunction (n = 49)	Twin Pregnancies with Placental Dysfunction (n = 21)	p Value
Gestational age at birth (days)	254.9 (8.4)	245.2 (16.2)	0.004
Weight first newborn	2451.7 (420)	2072 (450.7)	0.002
Weight second newborn	2373.7 (444.8)	2015.2 (507.1)	0.007
Apgar 5' for first newborn	9.9	9.6	0.389
Apgar 5' for second newborn	9.8	9.6	0.256
Arterial pH first newborn	7.3 (0.1)	7.3 (0.1)	0.317
Arterial pH second newborn	7.3 (0.1)	7.3 (0.1)	0.989
Admission days	2.5 (6.4)	13.4 (21.3)	0.001

In order to calculate the best cutoff for placental dysfunction prediction, AUCs were designed for each determination. As seen in Figure 4, a cutoff sFlt-1/PlGF ratio ≥ 32.5 at 12 weeks of pregnancy was associated with a sensitivity of 66.7%, a specificity of 61.2%, a PPV of 42.4%, and an NPV of 81.1% for the identification of patients with a twin pregnancy who developed placental dysfunction, with an AUC of 0.622 (0.476–0.768). The OR was 4.25 (1.13–20.69 95% IC; $p = 0.044$). Equally, a cutoff sFlt-1/PlGF ratio ≥ 8.5 at 24 weeks was associated with a sensitivity of 33.3% and a specificity of 93.9%, a PPV of 70%, and an NPV of 76.7% for the identification of patients with a twin pregnancy who develop placental dysfunction, with an AUC 0.552 (0.384–0.719) and an OR of 13.5 (3.07–67.90 95% IC; $p = 0.001$). Furthermore, cutoff sFlt-1/PlGF ratio ≥ 30.5 at 32 weeks was related

with a sensitivity of 45%, a specificity of 87.8%, a PPV of 60%, and an NPV of 79.6% for the identification of patients who developed placental dysfunction, with an AUC 0.709 (0.570–0.849) and an OR of 14.29 (3.59–66.84 95% IC; $p < 0.001$).



(a)



(b)

Figure 4. Cont.

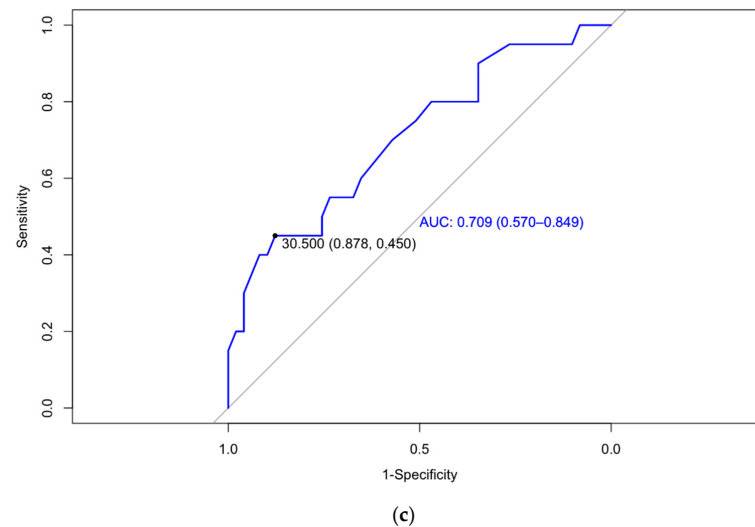


Figure 4. The area under the curve of the sFlt-1/PlGF ratio at 12 (a), 24 (b), and 32 weeks' (c) gestation for the detection of patients with twin pregnancies who subsequently develop placental dysfunction.

There was a significant and strong association between the week in which pre-eclampsia was diagnosed and the ratio level in week 12 (Pearson correlation coefficient [PCC] -0.81 ; $p < 0.05$). This association was negative, meaning that an increase in the values of the ratio at week 12 implied an earlier development of pre-eclampsia. This association was maintained when assessing PlGF levels only, but with a moderate-to-high and positive correlation: an increase in the values of PlGF in week 12 implied a later development of the disease (PCC 0.77 ; $p < 0.05$). The sFlt-1 isolated value showed an almost significant increase in the diagnosis week for FGR only (PCC -0.38 ; $p < 0.10$).

Similarly, when assessing ratio levels in week 24 and the time of placental dysfunction diagnosis, differences were only found between the week of FGR diagnosis and the PlGF value. The intensity of this relationship was not very high and positive, meaning that a decrease in PlGF values implied a decrease in the week of diagnosis (0.43 ; $p < 0.05$). These associations are represented in Figure 5.

No correlation was found between mean blood pressure levels in the three trimesters or mean UAPI levels in the first trimester with the week of placental dysfunction diagnosis.

Regarding birth weight percentile, ratio levels at weeks 24 and 32 had a statistically significant negative correlation, meaning a higher ratio implied a lower birth weight in both newborns (PCC -0.29 and -0.36 ; -0.41 and -0.33 , $p < 0.005$, respectively).

As seen in Figure 6, an sFlt-1/PlGF ratio over 33.5 at 24 weeks had a sensitivity of 66.7% and specificity of 84.6%, with a PPV of 98.21% and NPV of 16.67%, and an AUC of 0.679 (0.240–1.00) to predict a weight under 1500 g, with an OR of 0.09 (0.00–1.03 95% IC; $p = 0.059$). Moreover, an sFlt-1/PlGF ratio over 11.5 at 32 weeks had a sensitivity of 61.4% and specificity of 100% with a PPV of 33.33, an NPV of 100%, and an AUC of 0.787 (0.681–0.893) to predict a weight under 2500 g in one or both newborns.

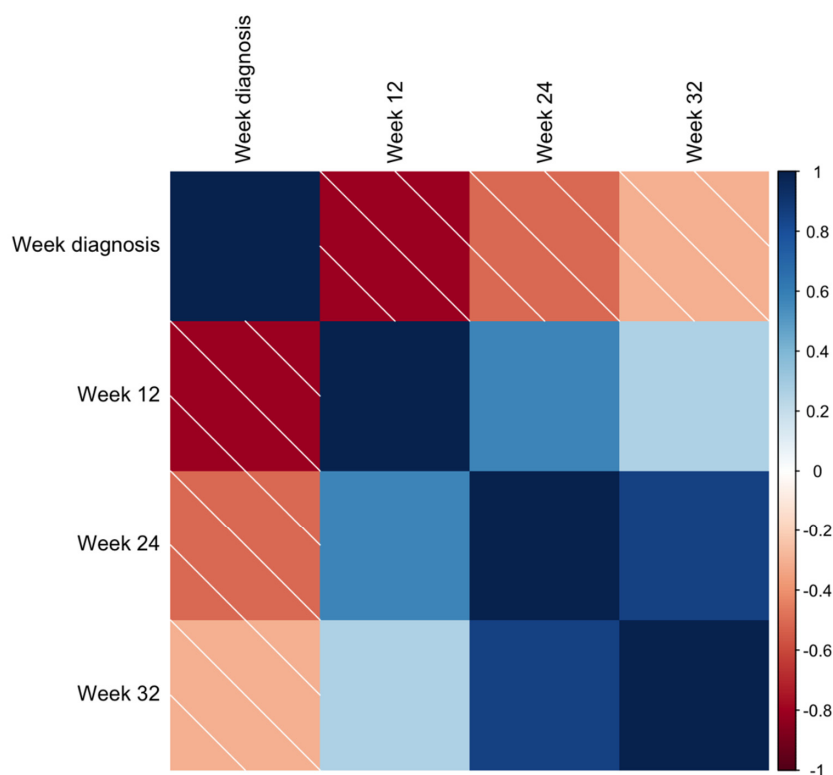


Figure 5. Representation of correlations between sFlt-1/PIGF ratio at 12, 24, and 32 weeks and the week of pre-eclampsia diagnosis. The intensity of the correlation between such variables is represented by the intensity of the color code, as explained in the legend.

As for the days of admission to the neonatal unit, there was a significant and positive association with ratio levels at 12, 24, and 32 weeks (PCC 0.36, 0.50, and 0.62, respectively). Hence, the ratio level appears to have an increasing capacity to predict neonatal unit admission throughout pregnancy. Additionally, the median value of the sFlt-1/PIGF ratio at week 12 was 36.5 in the group with admission required compared to 27.5 in the group without admission to the neonatal unit, with an almost significant statistical difference ($p < 0.10$). Noticeably, the ratios at weeks 24 and 32 had median values of 3.0 and 10.0 among cases without admission versus 4.0 and 23.5 among those who did, respectively, in both cases, with significant differences ($p < 0.05$).

Tables 4 and 5 summarize the sFlt-1/PIGF ratio's performance for placental dysfunction and neonatal outcome.

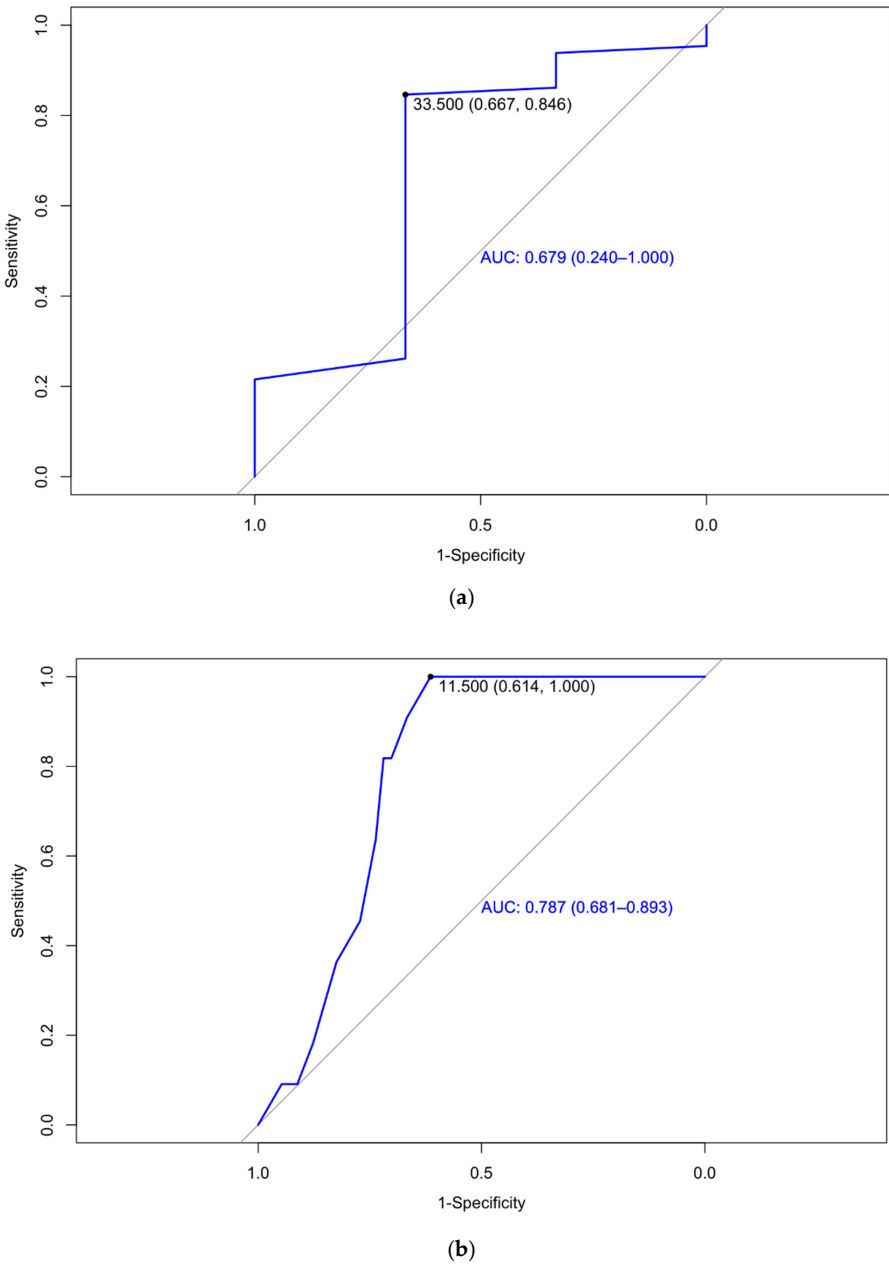


Figure 6. The areas under the curve of the sFlt-1/PlGF ratio at 24 (a) and 32 weeks' gestation (b) for the detection of newborns from twin pregnancies with birth weights under 1500 g and 2500 g.

Table 4. sFlt-1/PlGF ratio cutoff performance in each gestational week for placental dysfunction and birth weight prediction.

	Prediction	Cutoff	AUC	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Week 12	Placental dysfunction	32.5	0.622 (0.476–0.768)	66.7	61.2	42.4	81.1
Week 24	Placental dysfunction	8.5	0.552 (0.384–0.719)	33.33	93.88	70.00	76.67
	Birth weight under 1500 g	33.5	0.679 (0.240–1.00)	66.7	84.6	98.21	16.67
Week 32	Placental dysfunction	30.5	0.709 (0.570–0.849)	45	87.8	60	79.6
	Birth weight under 2500 g	11.5	61.4	100	33.33	100	0.787 (0.681–0.893)

Table 5. Statistically significant correlations of isolated sFlt-1, PlGF, and sFlt-1/PlGF and studied event (week of pre-eclampsia and fetal growth restriction [FGR] diagnosis, days of neonatal admission and birth weight) determined by Pearson correlation coefficient (PCC).

	Measurement	Event	PCC
Week 12	sFlt-1/PlGF ratio	Week of pre-eclampsia diagnosis	−0.81; $p < 0.05$
		Days of neonatal admission	0.36; $p < 0.05$
	PlGF	Week of pre-eclampsia diagnosis	0.77; $p < 0.05$
	sFlt-1	Week of pre-eclampsia diagnosis	−0.38; $p < 0.10$
Week 24	sFlt-1/PlGF ratio	Birth weight (both newborns)	−0.29 and −0.36; $p < 0.05$
		Days of neonatal admission	0.50; $p < 0.05$
	PlGF	Week of FGR diagnosis	0.43; $p < 0.05$
Week 32	sFlt-1/PlGF ratio	Birth weight (both newborns)	0.41 and −0.33; $p < 0.05$
		Days of neonatal admission	0.62; $p < 0.05$

4. Discussion

The present study reveals the potential predictive value of the sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies for predicting pre-eclampsia and fetal growth restriction, preterm delivery, and adverse perinatal outcomes. In our sample, sFlt-1/PlGF ratio levels were higher during the three trimesters in twin pregnancies which develop placental dysfunction compared with those who do not, with statistical differences found at week 32.

An sFlt-1/PlGF cutoff ratio ≥ 32.5 at 12 weeks was associated with a significant increase in the frequency of placental dysfunction (odds ratio [OR], 4.25 [1.13–20.69 95% IC]; $p = 0.044$). Additionally, the present study reveals that such a cutoff at 12 weeks is associated with a sensitivity of 66.7%, a specificity of 61.2%, a PPV of 42.4%, and an NPV of 81.1% to detect placental dysfunction (Table 4). These figures surpass the effectiveness of the traditional method for identifying high-risk patients for pre-eclampsia based on maternal demographic characteristics and medical history, as this approach can only identify approximately 40% of preterm cases with a false positive rate of 10% [59,60]. Nevertheless, currently, most centers use the Fetal Medicine Foundation algorithm to evaluate the risk of pre-eclampsia throughout the pregnancy, integrating information on various risk factors, including placental perfusion (assessed through UAPI and mean arterial pressure), clinical characteristics (maternal factors and medical history), and biomarker levels (PlGF). This

combined screening has been shown to detect 75% of preterm pre-eclampsia (<37 weeks) and 41% of term pre-eclampsia (≥ 37 weeks) with a 10% false positive rate [61]. Nevertheless, these detection rates have been calculated based on single pregnancies. An investigation published in 2020 evaluated the best performance of first-trimester screening for pre-eclampsia in twin pregnancies by collecting 3938 twin pregnancies with 339 (8.6%) cases of pre-eclampsia. The best results were achieved by combining maternal factors, MAP, UtA-PI, and PlGF, with a sensitivity of 86.4% and 41.1% for PE at <32 weeks and <37 weeks, respectively, vs. 30.6% and 24.9% by maternal factors alone, with a 10% false positive ratio [62]. Another study showed an AUC of 0.647 (0.604–0.690; 95% CI) for detecting pre-eclampsia in twin pregnancies by combining maternal demographic characteristics and medical history [63], which is very similar to our AUC of 0.622 (0.476–0.768) with only the sFlt-1/PlGF ratio.

In singleton pregnancies characterized by a heightened risk of pre-eclampsia or fetal growth restriction (FGR), as defined by maternal history and second-trimester uterine artery Doppler assessment, the sFlt-1/PlGF ratio at 24–28 weeks has emerged as a precise prognostic indicator for the occurrence of pre-eclampsia or FGR with an area under the curve (AUC) of 0.98 (0.97–1.00; 95% CI) [64]. Individuals with twin pregnancies have revealed a twofold increased likelihood of developing pre-eclampsia when compared to women with singleton pregnancies [1,2,65]. In our study, a cutoff sFlt-1/PlGF ratio ≥ 8.5 at 24 weeks showed a significant increase in the frequency of placental dysfunction (OR, 13.5 [3.07–67.90; 95% CI]; $p = 0.001$), just as for week 32, where a cutoff sFlt-1/PlGF ratio ≥ 30.5 had an even higher rise in both pre-eclampsia and FGR (OR, 14.29 [3.59–66.84 95% CI]; $p < 0.001$). Furthermore, this cutoff at 24 weeks is associated with a sensitivity of 33.3% and a specificity of 93.4%, a PPV of 70%, and an NPV of 76.7%. This finding is in line with our recently published studies, as an sFlt-1/PlGF ratio ≥ 17 at 24 weeks in twin pregnancies has been described as associated with a significant increase in the frequency of pre-eclampsia (OR, 37.13 [4.78–288.25; 95% CI]; $p = 0.002$) and FGR (OR, 39.58 [6.31–248.17; 95% CI]; $p < 0.001$) [40], and the 5th percentile, median, and 95th percentile of the sFlt-1/PlGF ratio in uneventful twin pregnancies at 24 plus 0–28 plus 6 weeks' gestation has been labeled 1.33, 3.88, and 19.0, respectively [66]. For week 32, a ratio determination ≥ 30.5 was associated with a sensitivity of 45%, a specificity of 87.8%, a PPV of 60%, and an NPV of 79.6% for identifying patients with a twin pregnancy who develop pre-eclampsia or FGR. Consequently, these findings suggest that the successive assessment of the sFlt-1/PlGF ratio holds the potential to increase the predictive accuracy for placental dysfunction diagnoses in twin pregnancies.

Furthermore, the sFlt-1/PlGF ratio has demonstrated a markedly elevated level in singleton pregnancies developing early-onset pre-eclampsia or fetal growth restriction (FGR) when compared to those manifesting a later onset [67]. In the current study, the average sFlt-1/PlGF ratio at 32 weeks of gestation was equally observed to be higher in individuals with twin pregnancies who subsequently experienced the development of early-onset pre-eclampsia or FGR, in contrast to those who encountered late-onset pre-eclampsia or FGR (33.9 vs. 12.0; $p = 0.046$). These results are in line with the observations made by S Rana et al., who found sFlt-1/PlGF ratio levels were higher among women presenting pre-eclampsia prior to 34 weeks compared to those manifesting a later onset (97.7 [76.6–178.1] vs. 31.7 [6.5–48.7]; $p = 0.001$) [42]. Therefore, patients at risk of developing these diseases in an early stage of pregnancy could especially benefit from a close follow-up.

Isolated PlGF levels have a proven capability of predicting pre-eclampsia and preterm delivery for single pregnancies, and fetal growth-restricted pregnancies have been described as exhibiting diminished PlGF levels across the entire pregnancy, especially during the first trimester [20,24,68]. When assessing sFlt-1 and PlGF alone in our sample, statistically significant differences were found between the week of FGR diagnosis and PlGF value in weeks 12 and 24. This is in accordance with a prospective, multicenter observational study published in 2018, where measurement of PlGF in singleton pregnancies was shown to be a valuable adjunct for identifying those at high risk of delivering an SGA

infant (with a sensitivity of 93% [95% CI, 84–98%] and an NPV of 90% [76–97; 95% CI], allowing appropriate surveillance and timely intervention [69]. Other studies, including a prospective series published by our group, have similar results, with higher sFlt-1/PlGF ratios [40,42], and lower isolated PlGF and higher sFlt-1 levels in twin pregnancies developing FGR [42]. Consequently, understanding the maternal levels of PlGF may aid in anticipating pregnancies at risk of fetal growth restriction (FGR) complications.

A positive correlation between the sFlt-1/PlGF ratio and the likelihood of pregnancy complications, such as preterm delivery, has been described [70–72]. In our study, low levels of the sFlt-1/PlGF ratio were associated with higher gestational age at birth (an increase of 1 unit in the ratio implied 0.278 days fewer of pregnancy [$p < 0.005$]). Noticeably, our study has also shown that ratio levels at weeks 24 and 32 show a statistically significant negative correlation with birth weight percentile, as an sFlt-1/PlGF ratio over 33.5 at week 24 had a sensitivity of 66.7% and specificity of 84.6% to predict a weight under 1500 g. An sFlt-1/PlGF ratio over 11.5 had a sensitivity of 61.4% and specificity of 100% to predict a weight under 2500 g. Regarding the requirement of neonatal admission in a specific unit, differences were found in mean ratio levels at weeks 24 and 32 (3.0 vs. 4.0 and 10.0 vs. 23.5, respectively). Plus, a significant, positive, and progressive association between the ratio levels in the three trimesters and the number of days of admission was determined (PCCs 0.36, 0.50, and 0.62, respectively).

Concerning chorionicity, some previous studies have defended the assertion that sFlt-1/PlGF ratio levels are independent of this variable, corroborating its predictive accuracy in both groups [38,40,41,66]. Nevertheless, another study did find maternal sFlt-1/PlGF ratio higher in monochorionic than in dichorionic patients after adjustment for gestational age [73]. In our sample, no statistical differences were found regarding placental dysfunction incidence between monochorionic and dichorionic pregnancies ($p > 0.05$), nor in sFlt-1/PlGF ratio levels in weeks 12, 24, and 32 ($p = 0.154$; 0.633; 0.828, respectively). This was probably due to the relatively low number of twin pregnancies included, especially monochorionic ones.

5. Strengths and Limitations

The main limitation of the present study resides in its constrained sample size, a factor that influenced several variables such that they demonstrate a discernible trend without achieving statistical significance. The limited statistical power stemming from the sample size constrains the ability to draw definitive conclusions and underscores the need for caution in generalizing the findings. Future research with larger cohorts is imperative to corroborate and strengthen the observed trends, thereby enhancing the overall robustness and validity of the study outcomes.

On the other hand, the current study also delineates sFlt-1/PlGF ratio levels in healthy twin pregnancies and those developing placental dysfunction. It proves the sFlt-1/PlGF ratio correlates with gestational age at delivery, birth weight, neonatal outcome, and neonatal admission in an intensive care unit. These associations underscore the potential impact of monitoring the sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies, as it could provide clinicians with valuable information for managing a condition with a considerable impact on perinatal and neonatal health.

6. Conclusions

In this study, the sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies emerges as a potential predictive tool for adverse fetomaternal outcomes, including pre-eclampsia, fetal growth restriction, preterm delivery, and perinatal outcome. The analysis reveals that an sFlt-1/PlGF ratio ≥ 32.5 in the first trimester is associated with a significant increase in the frequency of placental dysfunction. The predictive capacity of this tool at 12 weeks, compared to traditional methods based on maternal demographic characteristics and medical history, shows a superior sensitivity (66.7%), specificity (61.2%), PPV (42.4%), and NPV (81.1%) for detecting placental dysfunction. Our findings also highlight the potential bene-

fits of sequential assessments of the sFlt-1/PlGF ratio in enhancing predictive accuracy, as cutoffs of ≥ 8.5 at 24 weeks and ≥ 30.5 at 32 weeks are associated with increased incidence of both pre-eclampsia and FGR in twin pregnancies. Furthermore, lower ratios at 12, 24, and 32 weeks of pregnancy are associated with other neonatal outcomes such as higher gestational age at birth, higher birth weight percentiles, and the need for admission to a neonatal intensive care unit. This investigation provides valuable evidence regarding the utility of the sFlt-1/PlGF ratios at 12, 24, and 32 weeks as a predictive tool for placental dysfunction and neonatal outcomes in twin pregnancies.

Author Contributions: A.M.-V. and V.D.-A. performed the work's conceptualization. A.M.-V. and V.D.-A. carried out the methodology and study design. A.M.-V., E.S.-P., B.N.-D.Á. and V.D.-A. performed the research work. A.M.-V. and V.D.-A. supervised the research. A.M.-V., E.S.-P. and B.N.-D.Á. wrote the original draft. J.M.-R. and V.D.-A. revised the final manuscript, adding valuable input to the text. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: This study's protocol was reviewed and approved by the Ethics Committee of the Health Research Institute Hospital La Fe (IIS La Fe), approval Ref: 2018/0164, P.I. Exp. 2018_0164_PP_DE_DIA-GO, 1 April 2018.

Informed Consent Statement: Written informed consent was obtained from each patient before her inclusion in the study.

Data Availability Statement: The data in this study were obtained from the clinical program of La Fe University and Polytechnic Hospital. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

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

References

1. Fox, N.S.; Rebarber, A.; Klauser, C.K.; Roman, A.S.; Saltzman, D.H. Intrauterine growth restriction in twin pregnancies: Incidence and associated risk factors. *Am. J. Perinatol.* **2011**, *28*, 267–272. [\[CrossRef\]](#)
2. Gezer, A.; Rashidova, M.; Güralp, O.; Öger, F. Perinatal mortality and morbidity in twin pregnancies: The relation between chorionicity and gestational age at birth. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2012**, *285*, 353–360. [\[CrossRef\]](#)
3. Romero, R.; Lockwood, C.; Oyarzun, E.; Hobbins, J.C. Toxemia: New concepts in an old disease. *Semin. Perinatol.* **1988**, *12*, 302–323.
4. Magee, L.A.; Brown, M.A.; Hall, D.R.; Gupta, S.; Hennessy, A.; Karumanchi, S.A.; Kenny, L.C.; McCarthy, F.; Myers, J.; Poon, L.C.; et al. The 2021 International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy classification, diagnosis & management recommendations for international practice. *Pregnancy Hypertens.* **2022**, *27*, 148–169. [\[CrossRef\]](#)
5. Sibai, B.; Dekker, G.; Kupferminc, M. Pre-eclampsia. *Lancet* **2005**, *365*, 785–799. [\[CrossRef\]](#)
6. Francisco, C.; Wright, D.; Benkő, Z.; Syngelaki, A.; Nicolaides, K.H. Hidden high rate of pre-eclampsia in twin compared with singleton pregnancy. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2017**, *50*, 88–92. [\[CrossRef\]](#)
7. Sibai, B.M.; Hauth, J.; Caritis, S.; Lindheimer, M.D.; MacPherson, C.; Klebanoff, M.; VanDorsten, J.; Landon, M.; Miodovnik, M.; Paul, R.; et al. Hypertensive disorders in twin versus singleton gestations. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2000**, *182*, 938–942. [\[CrossRef\]](#)
8. Roberts, J.M.; Hubel, C.A. The two stage model of preeclampsia: Variations on the theme. *Placenta* **2009**, *30*, 32–37. [\[CrossRef\]](#)
9. Ness, R.B.; Roberts, J.M. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: A hypothesis and its implications. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1996**, *175*, 1365–1370. [\[CrossRef\]](#)
10. Bombrys, A.E.; Barton, J.R.; Nowacki, E.A.; Habli, M.; Pinder, L.; How, H.; Sibai, B.M. Expectant management of severe preeclampsia at less than 27 weeks' gestation: Maternal and perinatal outcomes according to gestational age by weeks at onset of expectant management. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2008**, *199*, 247.e1–247.e6. [\[CrossRef\]](#)
11. Von Dadelszen, P.; Magee, L.A.; Roberts, J.M. Subclassification of preeclampsia. *Hypertens. Pregnancy* **2003**, *22*, 143–148. [\[CrossRef\]](#)
12. Townsend, R.; Khalil, A. Fetal growth restriction in twins. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* **2018**, *49*, 79–88. [\[CrossRef\]](#)
13. Chervenak, F.A.; Skupski, D.W.; Romero, R.; Myers, M.K.; Smith-Levitin, M.; Rosenwaks, Z.; Thaler, H.T. How accurate is fetal biometry in the assessment of fetal age? *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1998**, *178*, 678–687. [\[CrossRef\]](#)
14. Reforma, L.G.; Febres-Cordero, D.; Trochtenberg, A.; Modest, A.M.; Collier, A.-R.Y.; Spiel, M.H. Incidence of small-for-gestational-age infant birthweight following early intertwin fetal growth discordance in dichorionic and monochorionic twin pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2022**, *226*, 726.e1–726.e9. [\[CrossRef\]](#)
15. Hirsch, L.; Barrett, J.; Aviram, A.; Mei-Dan, E.; Yoon, E.W.; Zaltz, A.; Kingdom, J.; Melamed, N. Patterns of discordant growth and adverse neonatal outcomes in twins. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2021**, *225*, 187.e1–187.e14. [\[CrossRef\]](#)

16. D'Antonio, F.; Odibo, A.O.; Prefumo, F.; Khalil, A.; Buca, D.; Flacco, M.E.; Liberati, M.; Manzoli, L.; Acharya, G. Weight discordance and perinatal mortality in twin pregnancy: Systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2018**, *52*, 11–23. [\[CrossRef\]](#)
17. Dekalo, A.; Kogan, Z.; Herman, H.G.; Marelly, C.; Yaka, C.; Schreiber, L.; Weiner, E.; Miremborg, H. Fetal growth restriction, neonatal morbidity and placental pathology in dichorionic twins—a comparison of twin-specific versus singleton growth charts. *Placenta* **2023**, *140*, 6–10. [\[CrossRef\]](#)
18. Herraiz, I.; Llurba, E.; Verlohren, 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. [\[CrossRef\]](#)
19. Alahakoon, T.I.; Zhang, W.; Trudinger, B.J.; Lee, V.W. Discordant clinical presentations of preeclampsia and intrauterine fetal growth restriction with similar pro- and anti-angiogenic profiles. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2014**, *27*, 1854–1859. [\[CrossRef\]](#)
20. Agrawal, S.; Shinar, S.; Cerdeira, A.S.; Redman, C.; Vathish, M. Predictive Performance of PlGF (Placental Growth Factor) for Screening Preeclampsia in Asymptomatic Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Hypertension* **2019**, *74*, 1124–1135. [\[CrossRef\]](#)
21. Herraiz, I.; Quezada, M.S.; Rodríguez-Calvo, J.; Gómez-Montes, E.; Villalain, C.; Galindo, A. Longitudinal change of sFlt-1/PlGF ratio in singleton pregnancy with early-onset fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2018**, *52*, 631–638. [\[CrossRef\]](#)
22. 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. [\[CrossRef\]](#)
23. Allen, R.E.; Rogozinska, E.; Cleverly, K.; Aquilina, J.; Thangaratnam, S. Abnormal blood biomarkers in early pregnancy are associated with preeclampsia: A meta-analysis. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **2014**, *182*, 194–201. [\[CrossRef\]](#)
24. Barton, J.R.; Woelkers, D.A.; Newman, R.B.; Combs, C.A.; How, H.Y.; Boggess, K.A.; Martin, J.N., Jr.; Kupfer, K.; Sibai, B.M. Placental growth factor predicts time to delivery in women with signs or symptoms of early preterm preeclampsia: A prospective multicenter study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2020**, *222*, 259.e1–259.e11. [\[CrossRef\]](#)
25. Sovio, U.; Gaccioli, F.; Cook, E.; Charnock-Jones, D.S.; Smith, G.C.S. Slowing of fetal growth and elevated maternal serum sFLT1:PlGF are associated with early term spontaneous labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2021**, *225*, 520.e1–520.e10. [\[CrossRef\]](#)
26. Satorres, E.; Martínez-Varea, A.; Diago-Almela, V. sFlt-1/PlGF ratio as a predictor of pregnancy outcomes in twin pregnancies: A systematic review. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2023**, *36*, 2230514. [\[CrossRef\]](#)
27. Stepan, H.; Galindo, A.; Hund, M.; Schlembach, D.; Sillman, J.; Surbek, D.; Vathish, M. Clinical utility of sFlt-1 and PlGF in screening, prediction, diagnosis and monitoring of pre-eclampsia and fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2023**, *61*, 168–180. [\[CrossRef\]](#)
28. Hadlock, F.P.; Harrist, R.B.; Sharman, R.S.; Deter, R.L.; Park, S.K. Estimation of fetal weight with the use of head, body, and femur measurements—A prospective study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1985**, *151*, 333–337. [\[CrossRef\]](#)
29. Ferrero, A.; Maggi, E.; Giancotti, A.; Torcia, F.; Pachi, A. Regression formula for estimation of fetal weight with use of abdominal circumference and femur length: A prospective study. *J. Ultrasound Med.* **1994**, *13*, 823–833. [\[CrossRef\]](#)
30. Schild, R.L.; Fell, K.; Fimmers, R.; Gembruch, U.; Hansmann, M. A new formula for calculating weight in the fetus of ≤ 1600 g. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2004**, *24*, 775–780. [\[CrossRef\]](#)
31. Woo, J.S.K.; Wan, C.W.; Cho, K.M. Computer-assisted evaluation of ultrasonic fetal weight prediction using multiple regression equations with and without the fetal femur length. *J. Ultrasound Med.* **1985**, *4*, 65–67. [\[CrossRef\]](#)
32. Milner, J.; Arezina, J. The accuracy of ultrasound estimation of fetal weight in comparison to birth weight: A systematic review. *Ultrasound* **2018**, *26*, 32–41. [\[CrossRef\]](#)
33. Geerts, L.; Widmer, T. Which is the most accurate formula to estimate fetal weight in women with severe preterm preeclampsia? *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2011**, *24*, 271–279. [\[CrossRef\]](#)
34. Bdolah, Y.; Lam, C.; Rajakumar, A.; Shivalingappa, V.; Mutter, W.; Sachs, B.P.; Lim, K.H.; Bdolah-Abram, T.; Epstein, F.H.; Karumanchi, S.A. Twin pregnancy and the risk of preeclampsia: Bigger placenta or relative ischemia? *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2008**, *198*, 428.e1–428.e6. [\[CrossRef\]](#)
35. Hytten, F. Blood volume changes in normal pregnancy. *Clin. Haematol.* **1985**, *14*, 601–612. [\[CrossRef\]](#)
36. Shinohara, S.; Sunami, R.; Kasai, M.; Yasuda, G.; Uchida, Y. Predictive value of the sFlt-1/PlGF ratio for preeclampsia in twin pregnancies: A retrospective study. *Hypertens. Pregnancy* **2021**, *40*, 330–335. [\[CrossRef\]](#)
37. Dröge, L.; Herraiz, I.; Zeisler, H.; Schlembach, D.; Stepan, H.; Küssel, L.; Henrich, W.; Galindo, A.; Verlohren, S. Maternal serum sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies with and without pre-eclampsia in comparison with singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2015**, *45*, 286–293. [\[CrossRef\]](#)
38. Binder, J.; Palmrich, P.; Pateisky, P.; Kalafat, E.; Kuessel, L.; Zeisler, H.; Munkhbaatar, M.; Windsperger, K.; Thilaganathan, B.; Khalil, A. The Prognostic Value of Angiogenic Markers in Twin Pregnancies to Predict Delivery due to Maternal Complications of Preeclampsia. *Hypertension* **2020**, *76*, 176–183. [\[CrossRef\]](#)
39. 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. [\[CrossRef\]](#)

40. Martínez-Varea, A.; Martínez-Sáez, C.; Domenech, J.; Desco-Blay, J.; Monfort-Pitarch, S.; Hueso, M.; Diago-Almela, V. sFlt-1/PlGF Ratio at 24 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Preeclampsia or Fetal Growth Restriction. *Fetal Diagn. Ther.* **2022**, *49*, 206–214. [\[CrossRef\]](#)
41. Karge, A.; Seiler, A.; Flechsenhar, S.; Haller, B.; Ortiz, J.U.; Lobmaier, S.M.; Axt-Fliedner, R.; Enzensberger, C.; Abel, K.; Kuschel, B.; et al. Prediction of adverse perinatal outcome and the mean time until delivery in twin pregnancies with suspected pre-eclampsia using sFlt-1/PlGF ratio. *Pregnancy Hypertens.* **2021**, *24*, 37–43. [\[CrossRef\]](#)
42. Rana, S.; Hacker, M.R.; Modest, A.M.; Salahuddin, S.; Lim, K.H.; Verlohren, S.; Perschel, F.H.; Karumanchi, S.A. Circulating angiogenic factors and risk of adverse maternal and perinatal outcomes in twin pregnancies with suspected preeclampsia. *Hypertension* **2012**, *60*, 451–458. [\[CrossRef\]](#)
43. Ong, C.Y.T.; Liao, A.W.; Spencer, K.; Munim, S.; Nicolaides, K.H. First trimester maternal serum free beta human chorionic gonadotrophin and pregnancy associated plasma protein A as predictors of pregnancy complications. *BJOG* **2000**, *107*, 1265–1270. [\[CrossRef\]](#)
44. Smith, G.C.S.; Stenhouse, E.J.; Crossley, J.A.; Aitken, D.A.; Cameron, A.D.; Michael Connor, J. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein a and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2002**, *87*, 1762–1767. [\[CrossRef\]](#)
45. Dugoff, L.; Hobbins, J.C.; Malone, F.D.; Porter, T.F.; Luthy, D.; Comstock, C.H.; Hankins, G.; Berkowitz, R.L.; Merkatz, I.; Craigo, S.D.; et al. First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: A population-based screening study (The FASTER Trial). *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2004**, *191*, 1446–1451. [\[CrossRef\]](#)
46. Melchiorre, K.; Wormald, B.; Leslie, K.; Bhide, A.; Thilaganathan, B. First-trimester uterine artery Doppler indices in term and preterm pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2008**, *32*, 133–137. [\[CrossRef\]](#)
47. Martin, A.M.; Bindra, R.; Curcio, P.; Cicero, S.; Nicolaides, K.H. Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler at 11–14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2001**, *18*, 583–586. [\[CrossRef\]](#)
48. Ananth, C.V.; Peltier, M.R.; Chavez, M.R.; Kirby, R.S.; Getahun, D.; Vintzileos, A.M. Recurrence of ischemic placental disease. *Obstet. Gynecol.* **2007**, *110*, 128–133. [\[CrossRef\]](#)
49. Ananth, C.V.; Vintzileos, A.M. Ischemic placental disease: Epidemiology and risk factors. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **2011**, *159*, 77–82. [\[CrossRef\]](#)
50. Ananth, C.V.; Peltier, M.R.; Kinzler, W.L.; Smulian, J.C.; Vintzileos, A.M. Chronic hypertension and risk of placental abruption: Is the association modified by ischemic placental disease? *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2007**, *197*, 273.e1–273.e7. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
51. Zeisler, H.; Llurba, 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. [\[CrossRef\]](#)
52. Webster, K.; Fishburn, S.; Maresh, M.; Findlay, S.C.; Chappell, L.C. Diagnosis and management of hypertension in pregnancy: Summary of updated NICE guidance. *BMJ* **2019**, *366*, 15119. [\[CrossRef\]](#)
53. Chaiworapongsa, T.; Chaemsaitong, P.; Yeo, L.; Romero, R. Pre-eclampsia part I: Current understanding of its pathophysiology. *Nat. Rev. Nephrol.* **2014**, *10*, 466–480. [\[CrossRef\]](#)
54. Figueras, F.; Gratacos, E. An integrated approach to fetal growth restriction. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* **2017**, *38*, 48–58. [\[CrossRef\]](#)
55. Khalil, A.; Rodgers, M.; Baschat, A.; Bhide, A.; Gratacos, E.; Hecher, K.; Kilby, M.D.; Lewi, L.; Nicolaides, K.H.; Oepkes, D.; et al. ISUOG Practice Guidelines: Role of ultrasound in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2016**, *47*, 247–263. [\[CrossRef\]](#)
56. Gómez, O.; Figueras, F.; Fernández, S.; Bennasar, M.; Martínez, J.M.; Puerto, B.; Gratacos, E. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11–41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2008**, *32*, 128–132. [\[CrossRef\]](#)
57. DeMers, D.; Wachs, D. Physiology, Mean Arterial Pressure. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2023. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538226/> (accessed on 5 December 2023).
58. The Fetal Medicine Foundation. Available online: <https://fetalmedicine.org/research/assess/preeclampsia/background> (accessed on 5 December 2023).
59. Tan, M.Y.; Wright, D.; Syngelaki, A.; Akolekar, R.; Cicero, S.; Janga, D.; Singh, M.; Greco, E.; Wright, A.; Maclagan, K.; et al. Comparison of diagnostic accuracy of early screening for pre-eclampsia by NICE guidelines and a method combining maternal factors and biomarkers: Results of SPREE. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2018**, *51*, 743–750. [\[CrossRef\]](#)
60. Wright, D.; Syngelaki, A.; Akolekar, R.; Poon, L.C.; Nicolaides, K.H. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal characteristics and medical history. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2015**, *213*, 62.e1–62.e10. [\[CrossRef\]](#)
61. Stepan, H.; Hund, M.; Andrzejczak, T. Combining Biomarkers to Predict Pregnancy Complications and Redefine Preeclampsia: The Angiogenic-Placental Syndrome. *Hypertension* **2020**, *75*, 918. [\[CrossRef\]](#)
62. Benkő, Z.; Wright, A.; Rehal, A.; Cimpoca, B.; Syngelaki, A.; Delgado, J.L.; Tsokaki, T.; De Alvarado, M.; Vojtassakova, D.; Ntalianis, K.M.; et al. Prediction of pre-eclampsia in twin pregnancy by maternal factors and biomarkers at 11–13 weeks' gestation: Data from EVENTS trial. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2021**, *57*, 257–265. [\[CrossRef\]](#)
63. Benkő, Z.; Chaveeva, P.; de Paco Matallana, C.; Zingler, E.; Wright, D.; Nicolaides, K.H. Revised competing-risks model in screening for pre-eclampsia in twin pregnancy by maternal characteristics and medical history. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2019**, *54*, 617–624. [\[CrossRef\]](#)

64. Herraiz, I.; Simón, E.; Gómez-Arriaga, P.I.; Quezada, M.S.; García-Burguillo, A.; López-Jiménez, E.A.; Galindo, A. Clinical implementation of the sFlt-1/PlGF ratio to identify preeclampsia and fetal growth restriction: A prospective cohort study. *Pregnancy Hypertens.* **2018**, *13*, 279–285. [\[CrossRef\]](#)
65. Madar, H.; Goffinet, F.; Seco, A.; Rozenberg, P.; Dupont, C.; Deneux-Tharaux, C. Severe Acute Maternal Morbidity in Twin Compared with Singleton Pregnancies. *Obstet. Gynecol.* **2019**, *133*, 1141–1150. [\[CrossRef\]](#)
66. De La Calle, M.; Delgado, J.L.; Verlohren, S.; Escudero, A.I.; Bartha, J.L.; Campillos, J.M.; De La Cruz, A.A.; Chantraine, F.; Hernández, J.G.; Herraiz, I.; et al. Gestational Age-Specific Reference Ranges for the sFlt-1/PlGF Immunoassay Ratio in Twin Pregnancies. *Fetal Diagn. Ther.* **2021**, *48*, 288–296. [\[CrossRef\]](#)
67. Perales, A.; Delgado, J.L.; de la Calle, M.; García-Hernández, J.A.; Escudero, A.I.; Campillos, J.M.; Sarabia, M.D.; Laiz, B.; Duque, M.; Navarro, M.; et al. sFlt-1/PlGF for prediction of early-onset pre-eclampsia: STEPS (Study of Early Pre-eclampsia in Spain). *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2017**, *50*, 373–382. [\[CrossRef\]](#)
68. Chappell, L.C.; Duckworth, S.; Seed, P.T.; Griffin, M.; Myers, J.; Mackillop, L.; Simpson, N.; Waugh, J.; Anumba, D.; Kenny, L.C.; et al. Diagnostic accuracy of placental growth factor in women with suspected preeclampsia: A prospective multicenter study. *Circulation* **2013**, *128*, 2121–2131. [\[CrossRef\]](#)
69. Griffin, M.; Seed, P.T.; Duckworth, S.; North, R.; Myers, J.; Mackillop, L.; Simpson, N.; Waugh, J.; Anumba, D.; Kenny, L.C.; et al. Predicting delivery of a small-for-gestational-age infant and adverse perinatal outcome in women with suspected pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2018**, *51*, 387–395. [\[CrossRef\]](#)
70. Rana, S.; Schnettler, W.T.; Powe, C.; Wenger, J.; Salahuddin, S.; Cerdeira, A.S.; Verlohren, S.; Perschel, F.H.; Arany, Z.; Lim, K.-H.; et al. Clinical characterization and outcomes of preeclampsia with normal angiogenic profile. *Hypertens. Pregnancy* **2013**, *32*, 189–201. [\[CrossRef\]](#)
71. Rana, S.; Powe, C.E.; Salahuddin, S.; Verlohren, S.; Perschel, F.H.; Levine, R.J.; Lim, K.-H.; Wenger, J.B.; Thadhani, R.; Karumanchi, S.A. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation* **2012**, *125*, 911–919. [\[CrossRef\]](#)
72. Heimberger, S.; Mueller, A.; Ratnaparkhi, R.; Perdigao, J.L.; Rana, S. Angiogenic factor abnormalities and risk of peripartum complications and prematurity among urban predominantly obese parturients with chronic hypertension. *Pregnancy Hypertens.* **2020**, *20*, 124–130. [\[CrossRef\]](#)
73. Faupel-Badger, J.M.; McElrath, T.F.; Lauria, M.; Houghton, L.C.; Lim, K.H.; Parry, S.; Cantonwine, D.; Lai, G.; Karumanchi, S.A.; Hoover, R.N.; et al. Maternal circulating angiogenic factors in twin and singleton pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2015**, *212*, 636.e1–636.e8. [\[CrossRef\]](#)

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.

Tercer artículo

El ratio sFlt-1/PIGF a las 12, 24 y 32 semanas de gestación en embarazos gemelares como predictor del parto pretérmino tardío y eventos perinatales secundarios a la prematuridad.

Referencia: Satorres-Pérez E, Martínez-Varea A, Novillo-Del Álamo B, Morales-Roselló J, Diago-Almela V. The sFlt-1/PIGF Ratio at 12, 24, and 32 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Late Preterm Birth and Perinatal Event Secondary to Prematurity. *Journal of Clinical Medicine*. 2024; 13(9):2699.

DOI: 10.3390/jcm13092699

Tipo de estudio: prospectivo de cohortes

Estado: publicado

Factor de impacto: 3.9 (2022); 5-Year Impact Factor: 4.1 (2022) (Journal Citation Report)

Posición: Q2 (Medicine, General & Internal) / CiteScore - Q1 (General Medicine) (Journal Citation Report)

Resumen del tercer artículo

Objetivo

Este estudio tuvo como objetivo evaluar si el ratio sFlt-1/PIGF medido en las semanas 12, 24 o 32 de gestación podría predecir el riesgo de parto pretérmino espontáneo en embarazos gemelares, así como el diagnóstico de condición neonatal secundaria a prematuridad.

Metodología

Estudio prospectivo realizado en embarazos gemelares monocoriales y bicoriales que fueron seguidos en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe (Valencia, España), desde febrero de 2021 hasta septiembre de 2023. El ratio sFlt-1/PIGF se determinó de forma ambulatoria a las 12, 24 y 32 semanas de gestación mediante inmunoensayo Elecsys® del ratio sFlt-1/PIGF (Roche Diagnostics, Basilea, Suiza). Las muestras de suero se analizaron inmediatamente (<6 h) después de la recolección. Los resultados registrados se recopilaron a través de la historia clínica digital y entrevistas personal en caso de que las pacientes hubieran dado a luz en un hospital diferente.

Se definió como resultado primario el evento de parto prematuro tardío, definido como el parto sucedido entre las semanas 32+0 y las 36+6. El grupo de comparación se determinó como gestantes con parto a término, definido como aquel que ocurrió después de la semana 37+0. Como resultado secundario se evaluó la presencia de un RPA secundario a la prematuridad, definido por la existencia de al menos uno de los siguientes síndromes o afecciones: enfermedad por deficiencia de surfactante, síndrome de apnea bradicárdica, ictericia no inmune, meningitis, hipoglucemia, enfermedad metabólica ósea del recién nacido, distrés respiratorio, enfermedad de la membrana hialina, enterocolitis necrosante y obstrucción meconial. Estas condiciones fueron seleccionadas por un neonatólogo como estrictamente relacionadas con la prematuridad entre todos los diagnósticos recopilados de los recién nacidos incluidos. Además, cuando se encontró una relación significativa, se evaluó la fuerza de la correlación entre el ratio sFlt-1/PIGF y cada uno de los resultados. También se evaluó si la evolución entre cada determinación del ratio sFlt-1/PIGF estaba relacionada con los eventos estudiados.

Se definieron los siguientes criterios de inclusión:

- mujeres mayores de 18 años
- embarazo gemelar
- ausencia de diagnóstico de anomalías fetales
- con consentimiento informado firmado

Los criterios de exclusión incluyeron:

- embarazos múltiples con tres o más fetos
- abandono voluntario del estudio antes de su finalización
- terminación del embarazo antes de completar la recolección de muestras, ya fuera mediante el parto o la muerte fetal
- para el análisis de la relación con parto pretérmino, dado que nuestro protocolo incluía evaluaciones del ratio sFlt-1/PIGF en las semanas 12, 24 y 32 del embarazo, se excluyeron del análisis los nacimientos prematuros ocurridos antes de las 32 semanas.

No se excluyeron a las pacientes con antecedentes de parto pretérmino.

Resultados

Se incluyeron un total de 70 pacientes con un embarazo gemelar, tanto monocoriales (14,29%) como bicoriales (85,71%). En todas las gestaciones se determinó el ratio sFlt-1/PIGF a las 12, 24 y 32 semanas. Inicialmente, 107 pacientes firmaron el documento de consentimiento informado y aceptaron participar. Sin embargo, 29 se retiraron voluntariamente del estudio por razones personales, 7 dieron a luz antes de la semana 32 y 1 sufrió una muerte fetal intraútero y, por tanto, no completó la recolección de muestras. Los datos sobre las características basales, comparando a las mujeres embarazadas que tuvieron un parto prematuro con aquellas que no lo hicieron, se muestran en la Tabla 20.

De las 70 pacientes incluidas, 38 (54,3%) presentaron un parto prematuro tardío, mientras que 32 (45,71%) alcanzaron la semana 37 de embarazo. Se encontró una relación significativa (prueba de Fisher, valor $p = 0,0014$) en la proporción de casos

con parto prematuro según la corionicidad. De las gestaciones bicoriales totales ($n = 60$), el 46,7% experimentaron un parto prematuro tardío. Por el contrario, todos los 10 casos monocoriales presentaron un parto prematuro tardío ($n = 100\%$). Además, se encontraron diferencias significativas (valor $p < 0,05$) entre ambos grupos en los pesos al nacer de ambos recién nacidos.

Tabla 20. Características basales comparando mujeres y recién nacidos que presentan parto prematuro vs. parto a término. IMC = Índice de masa corporal; Técnicas de reproducción asistida = TRA. Los datos se presentan como mediana (IQR, Rango intercuartílico) para variables continuas o como n (%) para variables dicotómicas.

Características	Partos a término ($n = 32$)	Parto pretérmino ($n = 38$)	P valor
Edad (años)	35.5 (32.8–37.2)	35.0 (31.2–38.8)	0.93
IMC	23.2 (21.2–24.8)	23.2 (20.4–25.4)	0.82
IMC > 35	4 (50)	4 (50)	1.00
Ganancia ponderal > 15 kg	11.5 (9.0–14.2)	11.5 (9.0–14.0)	0.88
Hábito tabáquico	3 (42.86)	4 (57.14)	1.00
Nulípara	22 (43.14)	29 (58.86)	0.48
Concepción espontánea	12 (44.4)	15 (55.56)	0.73
Concepción por TRA	19 (48.72)	20 (51.28)	
Monocorial	0 (0)	10 (100)	0.0014
Bicorial	32 (53.33)	28 (46.67)	
Diabetes gestacional	4 (50)	4 (50)	1.00
Disfunción placentaria	4 (12.5)	17 (44.74)	0.004
Ausencia de disfunción placentaria	21 (55.26)	28 (87.5)	
Peso al nacer del 1er recién nacido (gramos)	2565.0 (2420.0–2743.8)	2027.5 (1792.5–2387.5)	<0.0001

Peso al nacer del 2o recién nacido (gramos)	2432.5 (2257.5–2626.2)	2160.0 (1880.0–2450.0)	<0.0012
Apgar test a los 5 min del 1er recién nacido	10.0 (10.0–10.0)	10.0 (10.0–10.0)	0.16
Apgar test a los 5 min del 2o recién nacido	10.0 (9.8–10.0)	10.0 (10.0–10.0)	0.73
pH arterial del 1er recién nacido	7.3 (0.1)	7.3 (0.1)	0.17
pH venoso del 2o recién nacido	7.3 (0.04)	7.3 (0.1)	0.89

Para evaluar la relación entre los síndromes asociados a disfunción placentaria y el parto prematuro, se recopilaron los diagnósticos de RCIU y PE. En nuestra muestra, el 55.26% de las pacientes que presentaron parto prematuro no fueron diagnosticadas de dichos síndromes. La asociación entre la disfunción placentaria y el parto a término vs prematuro fue estadísticamente significativa ($p = 0.004$), con un OR de 5.52 (IC del 95% 1.5, 25.94).

Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas con los factores grupo (a término, prematuro) y tiempo (12, 24, 32 semanas) para comprobar si los niveles del ratio sFlt-1/PIGF en los tres puntos de tiempo distintos diferían entre los grupos. Al incorporar un efecto aleatorio utilizando una identificación para cada paciente, el modelo pudo tener en cuenta las variaciones individuales entre los pacientes. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el ratio sFlt-1/PIGF observado en la semana 32 en función de la presencia de parto prematuro tardío ($p = 0.0026$, corregido por la prueba de Tukey para comparaciones múltiples), como se observa en la Figura 14 y en la Tabla 21.

Tabla 21. Niveles de la razón hormonal a lo largo de las tres determinaciones, en función de la presencia de parto prematuro tardío. Los datos se presentan como media y DE.

SFlt-1/PIGF Ratio	A término (n = 32)	Pretérmino (n = 38)	P valor
Semana 12	31.59 (2.9)	41.49 (5.07)	0.58
Semana 24	3.16 (0.33)	9.98 (4.60)	0.87
Semana 32	8.88 (1.22)	32.31 (6.37)	0.0026

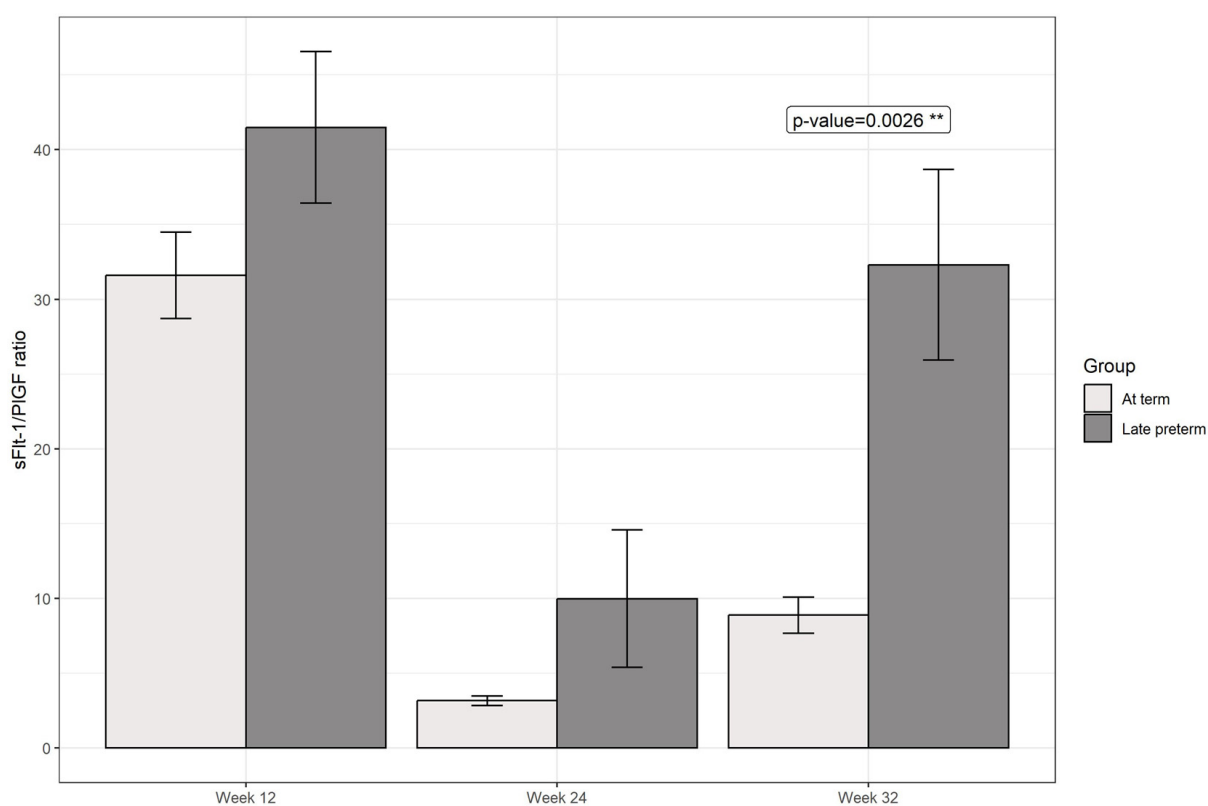


Figura 14. Evolución de la relación hormonal basada en la presencia de parto pretérmino tardío (No: gris claro, Sí: gris oscuro). Las barras de error representan el error estándar.
 ** Representa un valor de $p < 0,01$.

Como se observa en la Figura 15 y en la Tabla 22, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las tres determinaciones entre los embarazos monocoriales y bicoriales.

Tabla 22. Niveles de la relación hormonal a lo largo de las tres determinaciones, basados en la corionicidad (embarazos monocoriales vs. bicoriales). Los datos se presentan como media y desviación estándar (DE).

Ratio sFlt-1/PlGF	Monocoriales (n = 10)	Bicoriales (n = 60)	p Valor
Semana 12	47.1 (8.78)	35.22 (3.28)	0.78
Semana 24	3.8 (0.81)	7.37 (2.94)	0.99
Semana 32	19.1 (4.64)	22.01 (4.32)	0.99

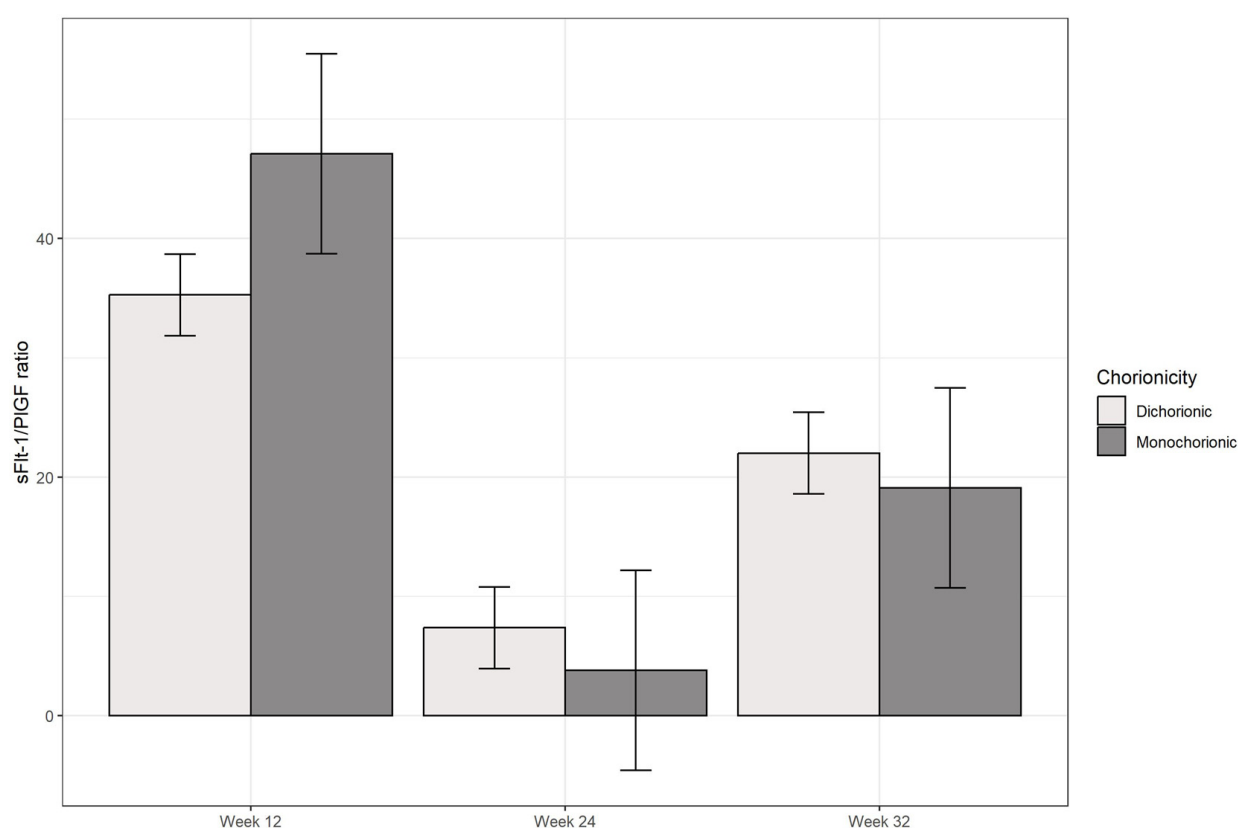


Figura 15. Evolución del ratio sFlt-1/PlGF en embarazos monocoriales vs. bicoriales.

Después de evaluar la relación entre las tres determinaciones con la variable parto pretérmino a través de un modelo de regresión logística, se encontró que el OR relacionado con el ratio en la semana 32 [1.11 (1.05–1.20)] fue estadísticamente significativo (coeficiente = 0.107147; $p = 0.00104$). También se evaluaron los cambios entre las tres mediciones, y se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la evolución entre las semanas 24 y 32 (niveles ascendentes de sFlt-1/PlGF), con un OR de 1.1 (1.05–1.19; $p = 0.005$). Esto significa que el

aumento de una unidad en la diferencia del ratio sFlt-1/PIGF entre la semana 24 y la semana 32 aumentó la probabilidad de presentar un parto pretérmino en comparación con no presentar este evento en un 1.1. Además, se evaluó si agregar otros datos aumentaba el poder predictivo de sFlt-1/PIGF aislado. Un modelo de regresión logística combinó la paridad, la edad materna, el método de concepción y el IMC con el nivel del ratio sFlt-1/PIGF en la semana 32. El modelo presentó resultados estadísticamente significativos con respecto al modelo nulo ($p = 0.0002$), pero no mejoró estadísticamente el valor predictivo del ratio sFlt-1/PIGF solo (prueba de razón de verosimilitud, $p > 0.05$). Por lo tanto, se propuso utilizar el modelo más parsimonioso, que incluye solo el ratio en lugar de agregar variables adicionales. Como se representa en la Figura 16, se realizó una curva AUC-ROC para analizar las capacidades predictivas de dicho modelo. Una relación >12 en la semana 32 se relacionó con una sensibilidad del 71%, especificidad del 72%, y una precisión del 71%, con un valor predictivo positivo (VPP) de 0.75 y un valor predictivo negativo (VPN) de 0.68 para la identificación de pacientes que desarrollan parto pretérmino.

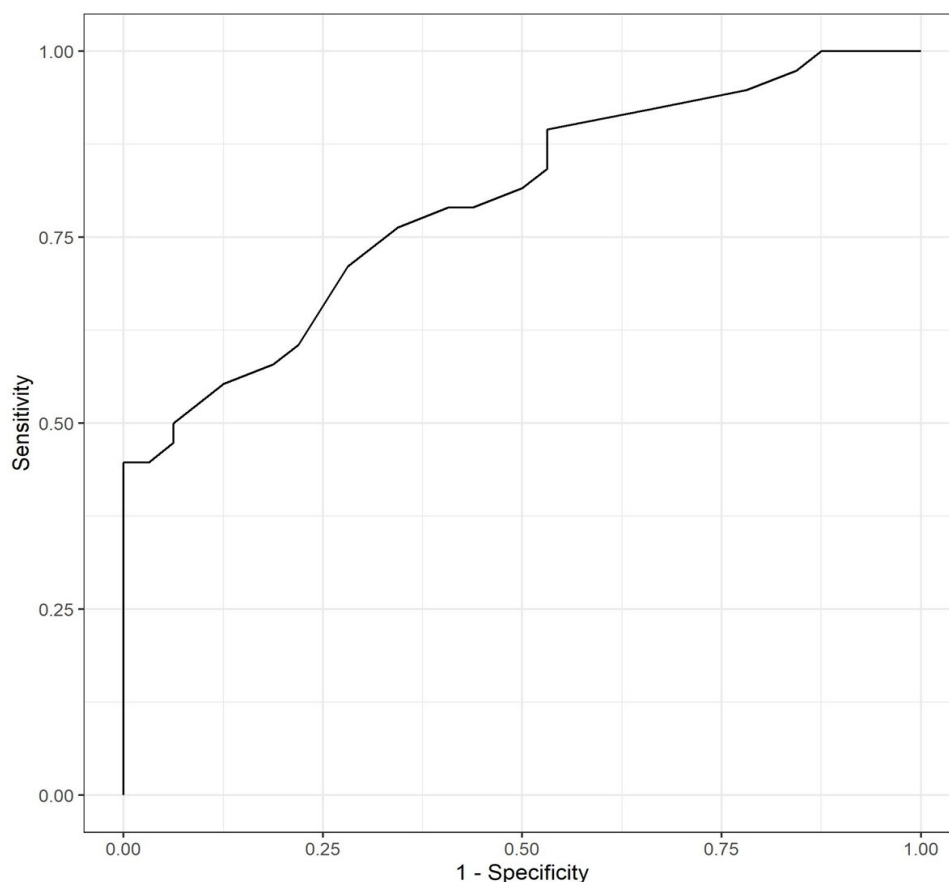


Figura 16. Curva AUC-ROC para la determinación de sFlt-1/PIGF en la semana 32 para la detección de pacientes con embarazos gemelares que posteriormente desarrollan parto pretérmino

En cuanto a la ocurrencia de un RPA, 19 mujeres tuvieron hijos con uno o más diagnósticos secundarios a la prematuridad. Los datos sobre los resultados perinatales se resumen en la Tabla 20.

Al evaluar la relación entre las tres determinaciones del ratio sFlt-1/PIGF con la ocurrencia de un RPA mediante un modelo de regresión logística, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la semana 24, con un OR de 1.24 (1.11–1.40; $p = 0.0002$). Por lo tanto, el aumento de una unidad del ratio sFlt-1/PIGF aumentó la probabilidad de presentar un RPA secundario a la prematuridad en 1.40. También se evaluaron los cambios evolutivos entre las tres mediciones del ratio sFlt-1/PIGF en las semanas 12, 24 y 32 de gestación, y se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el cambio entre la semana 24 y la 32 (niveles ascendentes de sFlt-1/PIGF), con un OR de 1.04 (1.01–1.07; $p = 0.0301$). Además, también se evaluó si agregar otros datos aumentaba el poder predictivo del ratio sFlt-1/PIGF solo. Así, la paridad, la edad materna, el método de concepción, el IMC y la corionicidad se combinaron con el nivel de relación en la semana 24, después de estandarizar los datos debido a diferencias en las escalas. El modelo presentó resultados estadísticamente significativos con respecto al modelo nulo para la relación en la semana 24 y la corionicidad. Además, mejoró estadísticamente el valor predictivo del ratio sFlt-1/PIGF solo (Prueba de razón de verosimilitud, $p = 0.04$). En este modelo, los niveles de relación en la semana 24 presentaron un OR de 314 (25–5795; $p = 0.00002$). Por lo tanto, un aumento de una DE significó aumentar la probabilidad de presentar un RPA en 314. En cuanto a la corionicidad, se encontró un OR de 6.88 (1.57–33.04; $p = 0.01$) para los embarazos monocoriales. Además, como se representa en la Figura 17, se realizó una curva AUC-ROC para analizar las capacidades predictivas del modelo, incluyendo la relación sFlt-1/PIGF, solo para la semana 24. Un ratio sFlt-1/PIGF en la semana 24 > 4 semanas se relacionó con una sensibilidad del 79%, una especificidad del 71%, una precisión del 73%, con un VPP de 0.50 y un VPN de 0.90. Esta curva AUC-ROC se comparó posteriormente con una segunda, que incluyó todos los datos adicionales (Figura 18), con valores predictivos más altos:

una sensibilidad del 82%, una especificidad del 80% y una precisión del 80%, con un VPP de 0.58 y un VPN de 0.93.

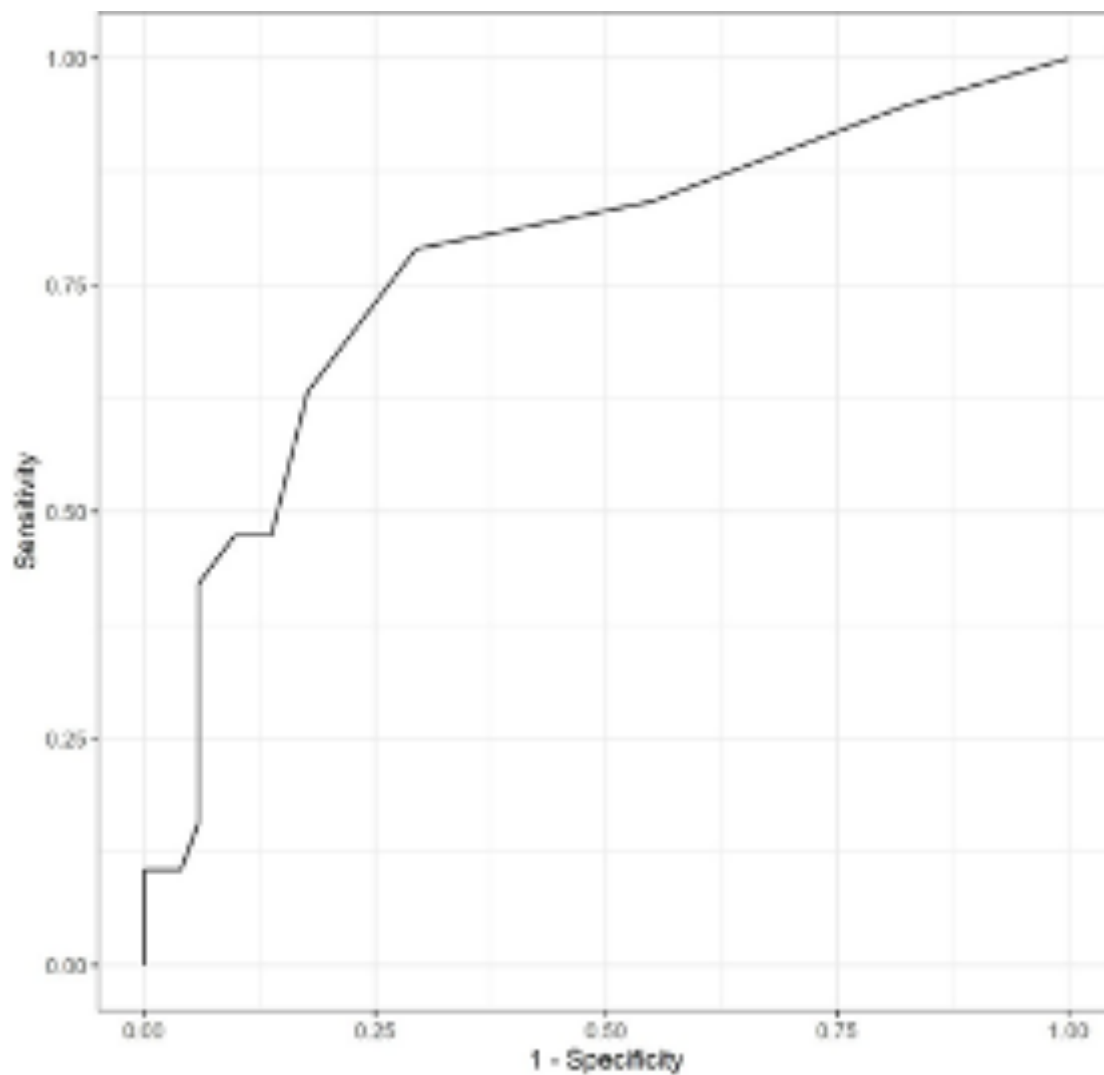


Figura 17. Curva AUC-ROC para la determinación de sFlt-1/PlGF en la semana 24 para la detección de pacientes con embarazos gemelares que posteriormente desarrollan eventos perinatales adversos secundarios a la prematuridad.

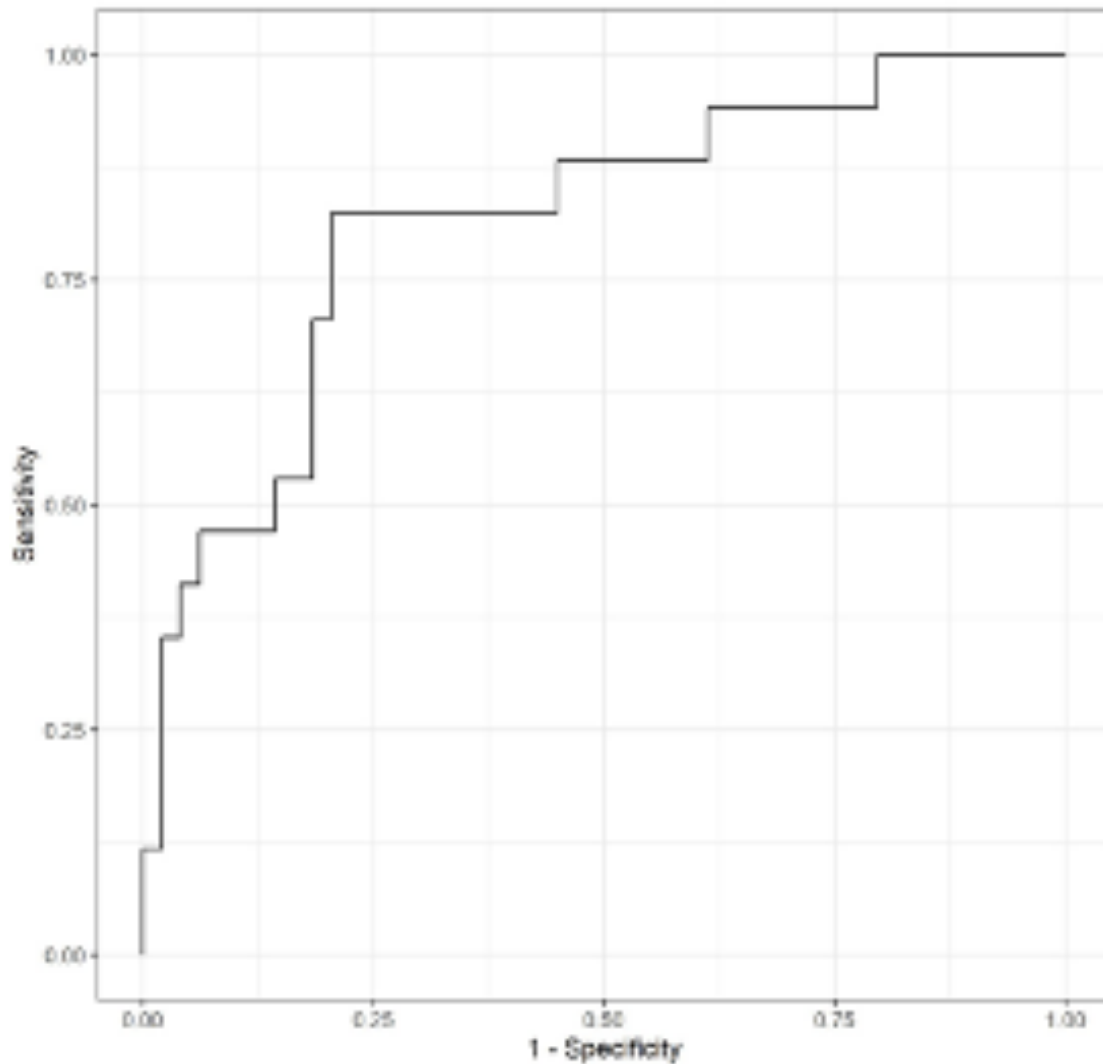


Figura 18. Curva AUC-ROC para la determinación de sFlt-1/PIGF en la semana 24, paridad, edad materna, método de concepción, IMC y corionicidad para detectar pacientes con embarazos gemelares que posteriormente desarrollan eventos perinatales adversos secundarios a prematuridad.

Discusión

El hallazgo principal de este estudio es que los niveles séricos maternos del ratio sFlt-1/PIGF en la semana 32 en mujeres con un embarazo gemelar estuvieron fuertemente asociados con el evento de parto pretérmino. Además, los niveles séricos maternos del ratio en la semana 24, especialmente cuando asociados a otros datos del embarazo (paridad, edad materna, método de concepción, IMC y corionicidad), estuvieron fuertemente asociados con el desarrollo de eventos neonatales adversos asociados a prematuridad.

Se reveló una diferencia estadísticamente significativa del ratio sFlt-1/PIGF en la semana 32 entre los grupos a término y pretérmino, ya que el aumento en una unidad aumentó la probabilidad de presentar un parto pretérmino por 1.11, al igual que al evaluar la diferencia de los niveles entre semana 24 y 32. Además, se encontró que agregar otras variables, como la paridad, edad materna, método de concepción, IMC y corionicidad, no mejoraba su poder predictivo. Por lo tanto, se consideró como el modelo más parsimonioso aquel que utilizaba el ratio sFlt-1/PIGF en la semana 32 únicamente, ya que incorporar la evolución de determinaciones previas u otros datos no mejoró significativamente el poder predictivo e implicaba el uso de un modelo más complejo. El modelo preferido presentó sensibilidades y especificidades notables (71 y 72%, respectivamente).

Por otro lado, en cuanto a los resultados perinatales adversos, se encontró una asociación estadísticamente significativa entre los niveles del ratio sFlt-1/PIGF en la semana 24 y la ocurrencia de dichos eventos. Un aumento de una unidad del ratio en la semana 24 se relacionó con un aumento en la probabilidad de desarrollar un RPA secundario a la prematuridad en 1.24. Hallazgos similares se descubrieron al analizar la evolución entre las tres determinaciones, ya que el aumento de una unidad en la diferencia entre los niveles del ratio sFlt-1/PIGF en las semanas 24 y 32 implicaba un aumento en la probabilidad de presentar el evento en 1.04. Al combinar la paridad, la edad materna, el método de concepción, el IMC y la corionicidad, se optimizó el poder predictivo del ratio sFlt-1/PIGF sola (Prueba de razón de verosimilitud, $p = 0.04$). En este modelo, un aumento de una DE significó aumentar la probabilidad de presentar un RPA en 314. Además, se realizaron curvas AUC-ROC para analizar las capacidades predictivas de ambos modelos, con mejores resultados obtenidos por el modelo que incluía datos adicionales (AUC de 77 vs. 82%, sensibilidad de 79 vs. 82%; especificidad de 71 vs. 80%, VPP de 50 vs. 58%; VPN de 90 vs. 93%). Por lo tanto, al utilizar el ratio sFlt-1/PIGF como predictor de eventos perinatales adversos asociados con la prematuridad, se encontró que el modelo más parsimonioso era aquel que incluía la determinación en la semana 24 más las características mencionadas del embarazo.

Aunque el ratio sFlt-1/PIGF ha sido estudiada y aplicada principalmente para detectar disfunción placentaria, en nuestra muestra analizada de pacientes con un embarazo gemelar, solo el 44.74% de las mujeres que presentaron parto prematuro tenían un diagnóstico establecido relacionado con la disfunción placentaria, como la PE o la RCIU (187,226,234,254). Esto deja al 55.26% de las pacientes restantes con un embarazo gemelar sin un diagnóstico relacionado con la disfunción placentaria, en el que la alteración de biomarcadores placentarios como el ratio sFlt-1/PIGF podría deberse a mecanismos fisiopatológicos alternativos como se ha informado en estudios previos (255–257). Se ha propuesto ampliamente que el parto prematuro espontáneo puede iniciarse secundariamente a otras múltiples condiciones, incluida la isquemia uterina, la infección o el estrés fetal (258–260).

Los resultados obtenidos en nuestro análisis respaldan la utilidad de los marcadores placentarios determinados en suero materno para predecir el parto prematuro secundario a cualquier causa. Estos resultados están en consonancia con los reportados en artículos recientes, donde un aumento en el nivel de suero materno de sFlt-1/PIGF entre las 20 y 28 semanas se ha asociado fuertemente con el riesgo posterior de parto prematuro espontáneo (50% por un aumento de 1 DE en el nivel de la relación) (256). En concordancia a dichos hallazgos, un grupo estadounidense encontró que los niveles disminuidos de PIGF en los dos primeros trimestres del embarazo estaban asociados con el parto prematuro indicado médicamente (261). Estudios previos ya habían propuesto esta relación, con asociaciones significativas a las 28 semanas de gestación o aproximadamente 5-10 semanas antes del diagnóstico (257). En la misma línea, otros biomarcadores maternos y placentarios también se han evaluado para predecir el parto prematuro, pero con resultados contradictorios (262,263).

Sin embargo, los estudios mencionados se centran en embarazos simples. El desarrollo de herramientas para identificar pacientes de alto riesgo podría ayudar a optimizar la toma de decisiones y mejorar la selección de pacientes beneficiarias de intervenciones invasivas, como el uso de agentes tocolíticos y corticosteroides para la maduración pulmonar. Esto podría ser especialmente útil en embarazos gemelares, considerados un grupo de alto riesgo para el parto prematuro.

Además, nuestros hallazgos sugieren que los biomarcadores placentarios en suero materno tienen también una utilidad prometedora en la identificación de recién nacidos con riesgo de desarrollar un RPA relacionado con la prematuridad. Esto podría beneficiar a pediatras y equipos multidisciplinares en la planificación de cuidados médicos específicos para ambos recién nacidos.

La principal fortaleza de este estudio es que, hasta donde sabemos, es el primero en evaluar el papel de los biomarcadores placentarios para predecir el parto prematuro y los resultados neonatales específicamente en embarazos gemelares. Nuestros resultados demuestran que el ratio sFlt-1/PIGF se correlaciona con el parto prematuro y los resultados perinatales adversos en embarazos gemelares. La limitación más significativa radica en el tamaño de muestra restringido, lo que influyó en varias variables, dando lugar a tendencias observables que no alcanzaron significancia estadística. La limitada potencia estadística debido al pequeño tamaño de muestra restringe la capacidad para hacer afirmaciones concluyentes y subraya la necesidad de ser prudente a la hora de generalizar los hallazgos. Además, nuestra muestra solo incluyó pacientes con determinación del ratio sFlt-1/PIGF en la semana 32, lo que implicó que los partos prematuros ocurridos antes de esa semana no fueron analizados. Estudios futuros deben utilizar cohortes más grandes para validar y reforzar las tendencias identificadas, mejorando así la credibilidad de los resultados obtenidos.

Versión original del tercer artículo

Journal of
Clinical Medicine

Article

The sFlt-1/PlGF Ratio at 12, 24, and 32 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Late Preterm Birth and Perinatal Event Secondary to Prematurity

Elena Satorres-Pérez ¹ , Alicia Martínez-Varea ^{1,2,3,4,*} , Blanca Novillo-Del Álamo ¹ , José Morales-Roselló ^{1,2} and Vicente Diago-Almela ¹¹ Department of Obstetrics and Gynecology, La Fe University and Polytechnic Hospital, Avenida Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain; elenasatorres@gmail.com (E.S.-P.); bnalamo@gmail.com (B.N.-D.Á.); cm@comv.es (J.M.-R.); diago_vicalm@gva.es (V.D.-A.)² Department of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, University of Valencia, 46010 Valencia, Spain³ Department of Medicine, CEU Cardenal Herrera University, 12006 Castellón de la Plana, Spain⁴ Faculty of Health Sciences, Universidad Internacional de Valencia, 46002 Valencia, Spain

* Correspondence: martinez.alicia.v@gmail.com



Citation: Satorres-Pérez, E.; Martínez-Varea, A.; Novillo-Del Álamo, B.; Morales-Roselló, J.; Diago-Almela, V. The sFlt-1/PlGF Ratio at 12, 24, and 32 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Late Preterm Birth and Perinatal Event Secondary to Prematurity. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 2699. <https://doi.org/10.3390/jcm13092699>

Academic Editor: Liza Johansson

Received: 21 March 2024

Revised: 24 April 2024

Accepted: 1 May 2024

Published: 4 May 2024



Copyright: © 2024 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: Background: Preterm birth impacts 60% of twin pregnancies, with the subsequent risk of complications in both newborns secondary to the immaturity of organs. This study aims to assess the utility of the sFlt-1/PlGF ratio throughout pregnancy in predicting late preterm birth and adverse perinatal outcomes related to prematurity in twin pregnancies. **Methods:** This is a prospective cohort study developed at a tertiary hospital. All pregnant women with a twin pregnancy who signed the informed consent were included. The sFlt-1/PlGF ratio was measured at 12, 24, and 32 weeks' gestation. **Results:** Seventy patients were included, from which 54.3% suffered late preterm birth. Results revealed a significant difference in sFlt-1/PlGF ratio at week 32 between term and preterm groups, with a one-unit increase associated with a 1.11-fold increase in the probability of preterm birth. The sFlt-1/PlGF ratio at week 32 alone presented considerable predictive capacities (sensitivity of 71%, specificity of 72%, a PPV of 75%, and an NPV of 68%). Similarly, at week 24, a one-unit increase in sFlt-1/PlGF ratio was associated with a 1.24-fold increase in the probability of adverse perinatal events due to prematurity. Combining parity, maternal age, conception method, BMI, and chorionicity, the model yielded better predictive capacities (sensitivity of 82%, specificity of 80%, PPV of 58%, NPV of 93%). **Conclusions:** The potential of the sFlt-1/PlGF ratio as a predictive tool for preterm birth and adverse perinatal outcomes secondary to prematurity in twin pregnancies is underscored.

Keywords: twin pregnancy; sFlt-1/PlGF ratio; preterm birth; adverse perinatal outcomes; prematurity

1. Introduction

Preterm birth, defined as delivery before 37 weeks of gestation, impacts 5–18% of pregnancies [1]. It stands as the primary cause of neonatal mortality and ranks second among causes of childhood death before the age of 5, as neonates born preterm face an elevated risk of short-term complications secondary to the immaturity of organs [2]. Spontaneous preterm labor accounts for 70% of preterm births [3], and current understanding explains its initiation by multiple mechanisms, including infection or inflammation, uteroplacental ischemia or hemorrhage, uterine overdistension, stress, and other immunologically mediated processes [4–11].

Multiple pregnancies, although representing only 2–3% of infants, pose a substantial risk of preterm delivery and contribute to 15–20% of all preterm births. Approximately 60% of twins are born preterm, as almost 40% of twins experience spontaneous labor

or preterm premature rupture of membranes (PPROM) before 37 weeks gestation, while others undergo indicated preterm delivery due to conditions such as pre-eclampsia or other maternal or fetal disorders [12–14]. Nevertheless, uterine overdistension is believed to be the major mechanism for the increased rate of spontaneous preterm births [15]. Newborns from multiple pregnancies account for approximately 15% of perinatal mortality [16].

In conditions such as hypoxia or placental stress, anti-angiogenic factors like soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) are released into the maternal circulation, which subsequently reduces the availability of pro-angiogenic factors, including placental growth factor (PlGF) [17–19]. The sFlt-1/PlGF ratio as an indicator of placental dysfunction has been widely studied over the last decade [20]. Thus, numerous national and international societies have already included its determination in their protocols [21,22]. The anti-angiogenic factor sFlt-1 is a soluble protein that induces peripheral vasoconstriction, aiming to recruit additional blood volume and, secondarily, reduce ischemia [23]. Given that sFlt-1 binds to the domains of two pro-angiogenic proteins, PlGF and vascular endothelial growth factor (VEGF), it naturally decreases free PlGF levels [24]. A high ratio of placental biomarkers in the first trimester of pregnancy and an increased risk of spontaneous preterm birth and other pregnancy complications have previously been established [25,26], and its elevation in the third trimester is believed to be associated with placental hypoxia-related stress and an increased risk of complications [17]. Nevertheless, these studies have primarily assessed singletons, though evidence has proved that twin pregnancies have higher sFlt-1/PlGF ratios both in uncomplicated and complicated cases [27,28]. Therefore, this analysis aimed to assess whether the ratio of soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) to placental growth factor (PlGF, the sFlt-1/PlGF ratio) measured at weeks 12, 24, or 32 could predict the risk of spontaneous preterm birth in twin pregnancies.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

This was a prospective cohort study among both mono and dichorionic twin pregnancies that were followed up at the University and Polytechnic Hospital La Fe, Valencia, Spain, from February 2021 to September 2023. The evolution of the sFlt-1/PlGF ratio during pregnancy was monitored at 12, 24, and 32 weeks of gestation using Elecsys® immunoassay sFlt-1/PlGF ratio (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) in an outpatient setting. Serum samples were immediately analyzed (<6 h) after the collection. Gestational age, chorionicity, and amnionicity were defined by ultrasound on the first-trimester evaluation (11⁺⁰ to 13⁺⁶ weeks of pregnancy).

2.2. Inclusion and Exclusion Criteria

All women over 18 years old, pregnant with a twin pregnancy, with no fetal abnormalities, and who provided signed informed consent were included. Exclusion criteria included triplets or high-order pregnancies, and termination of pregnancy prior to complete sample collection, whether through birth or stillbirth. Additionally, as our protocol included assessments of the sFlt-1/PlGF ratio at weeks 12, 24, and 32 of pregnancy, any preterm births occurring before 32 weeks, as well as participants who voluntarily withdrew from the study before completion, were excluded from the analysis.

2.3. Outcome Data

The primary outcome was the event of preterm birth, defined by delivery between 32+0 weeks and 36+6 weeks. The comparison group was determined by a delivery at term, which occurred after 37+0 weeks. The secondary outcome evaluated the presence of an adverse perinatal event secondary to prematurity, defined by the existence of at least one of the following syndromes or conditions: surfactant deficiency disease, bradycardic apnea syndrome, non-immune jaundice, meningitis, hypoglycemia, newborn metabolic bone disease, respiratory distress, hyaline membrane disease, necrotizing enterocolitis, and meconial obstruction. These conditions were selected by a neonatologist as strictly related

to preterm birth among all diagnoses collected from the included newborns. Furthermore, when found to be significant, the strength of the sFlt-1/PIGF ratio and each outcome correlation was evaluated. It was also assessed if the evolution between each sFlt-1/PIGF ratio determination was related to the studied events.

Data on patients concerning pregnancy and delivery were collected from their digital clinical history: maternal age, body mass index, parity, toxic habits, chronic diseases, chronic treatments, conception method, weight gain along the pregnancy, diagnosis of gestational diabetes or placental dysfunction related syndromes, mean uterine artery pulsatility index at week 12, gestational age at birth, mode and onset of delivery, neonatal outcome (weight, Apgar test, arterial and venous pH, admission to neonatal unit). All these parameters were compared between patients developing preterm birth and those who did not. Registered outcomes were collected through online clinical history and personal interviews if patients gave birth in a different hospital.

2.4. Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using R. Descriptive analysis of all variables was performed, stratifying by patients showing preterm birth or at term. The Chi-squared statistical test assessed the statistical relationship between each categorical variable and the occurrence of preterm birth and adverse perinatal outcomes. For continuous variables, where the assumption of normality in data distribution was not met, we employed a non-parametric Mann–Whitney test to evaluate the statistical relationship between each continuous variable and the incidence of preterm birth as well as adverse perinatal outcomes. A mix-model ANOVA with factors time (week 12, week 24, and week 32) and group (Pre-term, at Term) was applied to test differences in the ratio across time and groups. Post hoc Tukey tests corrected by multiple comparisons were applied.

Multivariate Logistic regression models were used to test the relationship between the different variables and the occurrence of preterm birth and adverse perinatal outcomes. For each model, the Odds Ratio (OR) with the confidence interval at 95% (95% CI) was associated with each variable, and its statistical significance was reported. The predictive capacities of each of these models related to the occurrence of each event were also determined. In each analysis, accuracy, sensitivity, specificity, as well as the AUC-ROC curve were reported. In all cases, statistical significance was set at $p < 0.05$.

2.5. Ethics

The study was approved by the Ethics Committee of the Health Research Institute Hospital La Fe (IIS La Fe). All pregnant women signed the informed consent form before participating in the study.

3. Results

A total of 70 patients with a twin pregnancy were included in our study, both monochorionic (14.29%) and dichorionic (85.71%). In all these collected twin pregnancies, the sFlt-1/PIGF ratio was determined at 12, 24, and 32 weeks of gestation. Initially, 107 patients signed the informed consent document and accepted participation. Nonetheless, 29 voluntarily withdrew from the study for personal reasons, 7 gave birth before week 32, and 1 suffered stillbirth and therefore did not complete sample collection. Data regarding baseline characteristics, comparing pregnant women who had preterm birth with those who did, are displayed in Table 1.

From the final 70 included patients, 38 (54.3%) presented late preterm birth, while 32 (45.71%) reached week 37 of pregnancy. A significant relationship (Fisher test, p value = 0.0014) was found in the proportion of cases with preterm birth based on chorionicity. Out of the total dichorionic cases ($n = 60$), 46.7% experienced late preterm birth. Conversely, all 10 monochorionic cases exhibited late preterm birth ($n = 100\%$). Additionally, significant differences (p -value < 0.05) were found between groups in both newborns' birth weights based on the presence or absence of preterm birth.

Table 1. Baseline characteristics comparing women and newborns presenting preterm birth vs. birth at term. BMI = Body mass index; ART = assisted reproductive technology. Data are presented as median (IQR, Interquartile Range) for continuous variables or as *n* (%) for dichotomic variables.

Characteristics	At Term Birth (<i>n</i> = 32)	Preterm Birth (<i>n</i> = 38)	<i>p</i> Value
Age (years)	35.5 (32.8–37.2)	35.0 (31.2–38.8)	0.93
BMI	23.2 (21.2–24.8)	23.2 (20.4–25.4)	0.82
BMI > 35	4 (50)	4 (50)	1.00
Weight gain > 15 kg	11.5 (9.0–14.2)	11.5 (9.0–14.0)	0.88
Smoking habit	3 (42.86)	4 (57.14)	1.00
Nulliparous	22 (43.14)	29 (58.86)	0.48
Natural conception	12 (44.4)	15 (55.56)	0.73
Conception by ART	19 (48.72)	20 (51.28)	
Monochorionic	0 (0)	10 (100)	0.0014
Dichorionic	32 (53.33)	28 (46.67)	
Gestational Diabetes	4 (50)	4 (50)	1.00
Placental dysfunction	4 (12.5)	17 (44.74)	0.004
No placental dysfunction	21 (55.26)	28 (87.5)	
Birth at weight 1st newborn (grams)	2565.0 (2420.0–2743.8)	2027.5 (1792.5–2387.5)	<0.0001
Birth at weight 2nd newborn (grams)	2432.5 (2257.5–2626.2)	2160.0 (1880.0–2450.0)	<0.0012
Apgar test at 5 min 1st newborn	10.0 (10.0–10.0)	10.0 (10.0–10.0)	0.16
Apgar test at 5 min 2nd newborn	10.0 (9.8–10.0)	10.0 (10.0–10.0)	0.73
Arterial pH 1st newborn	7.3 (0.1)	7.3 (0.1)	0.17
Venous pH 1st newborn	7.3 (0.04)	7.3 (0.1)	0.89

In order to assess the relationship between placental dysfunction-related syndromes and preterm birth, fetal growth restriction (FGR) and preeclampsia diagnosis were collected. In our sample, 55.26% of the patients presenting preterm birth were not diagnosed with FGR or preeclampsia. The association between placental dysfunction and the birth at term or preterm was statistically significant ($p = 0.004$). The odds ratio was 5.52, with a 95% CI of [1.5, 25.94]

A repeated-measures analysis of variance (ANOVA) with factors group (at term, preterm) and time (12, 24, 32 weeks) was conducted to test whether the ratio sFlt-1/PlGF levels across the three distinct time points differed between groups. By incorporating a random effect using an identification for each patient, the model accounted for individual variations among patients. Statistically significant differences were found between the observed sFlt-1/PlGF ratio at week 32 based on the presence of late preterm birth ($p = 0.0026$, corrected by the Tukey test for multiple comparisons), as seen in Figure 1 and Table 2.

Table 2. Hormonal ratio levels along the three determinations, based on the presence of late preterm birth. Data are presented as mean and SD.

sFlt-1/PlGF Ratio	At Term Birth (<i>n</i> = 32)	Preterm Birth (<i>n</i> = 38)	<i>p</i> Value
Week 12	31.59 (2.9)	41.49 (5.07)	0.58
Week 24	3.16 (0.33)	9.98 (4.60)	0.87
Week 32	8.88 (1.22)	32.31 (6.37)	0.0026

As seen in Figure 2 and Table 3, no statistically significant differences were found in the three determinations between monochorionic and dichorionic pregnancies.

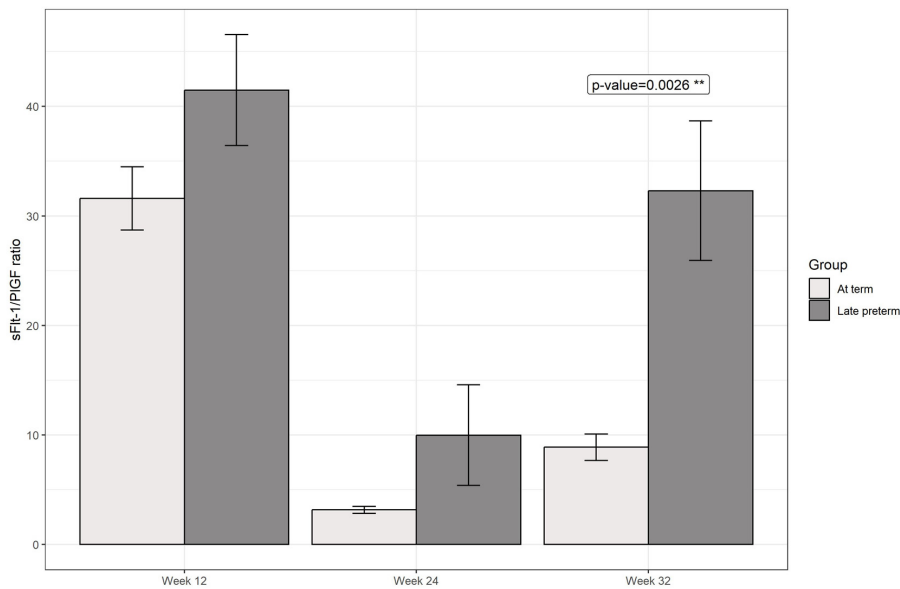


Figure 1. Evolution of hormonal ratio based on the presence of late preterm birth (No: light gray, Yes: dark gray). Error bars represent the standard error. ** Represents p -value <0.01 .

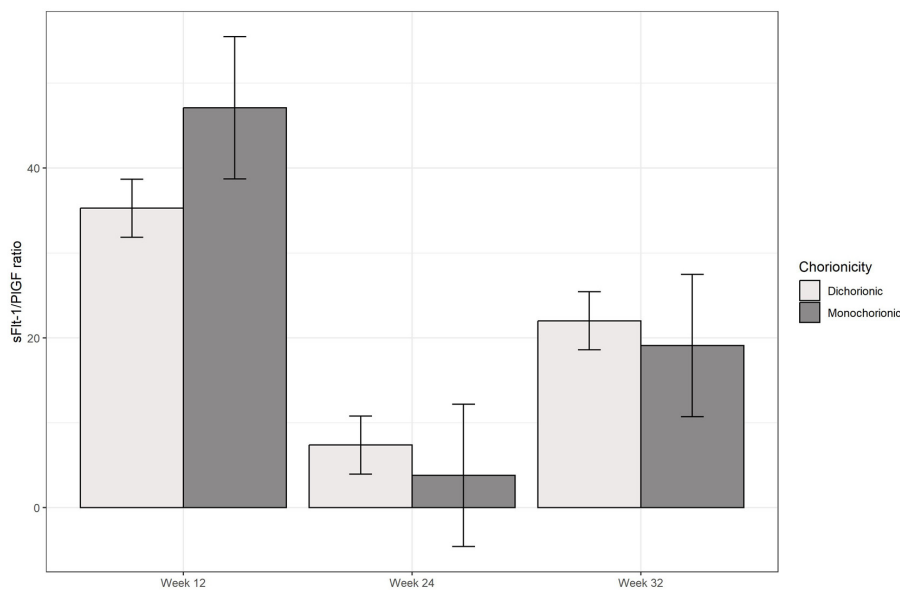
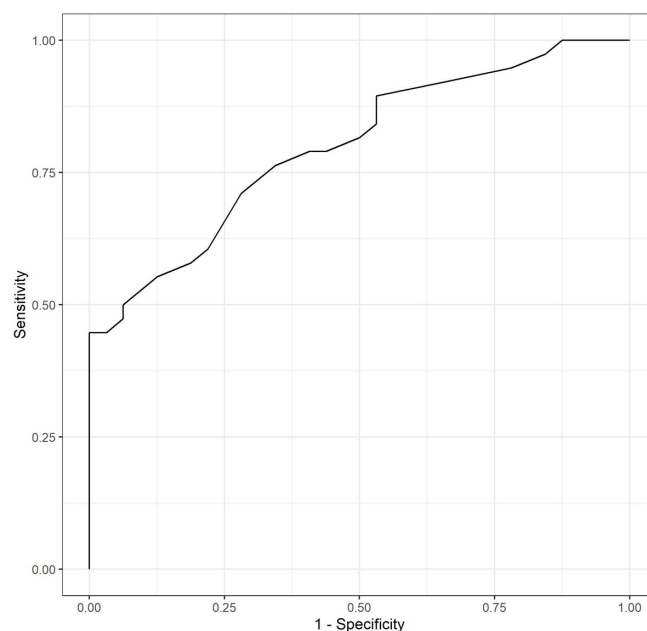


Figure 2. Evolution on sFlt-1/PlGF ratio in monochorionic vs. dichorionic pregnancies.

Table 3. Hormonal ratio levels along the three determinations, based on chorionicity (monochorionic vs. dichorionic pregnancies). Data are presented as mean and SD.

SFlt-1/PlGF Ratio	Monochorionic (<i>n</i> = 10)	Dichorionic (<i>n</i> = 60)	<i>p</i> Value
Week 12	47.1 (8.78)	35.22 (3.28)	0.78
Week 24	3.8 (0.81)	7.37 (2.94)	0.99
Week 32	19.1 (4.64)	22.01 (4.32)	0.99

After evaluating the relationship between the three determinations with the occurrence of preterm birth through a logistic regression model, it was found that the OR related with the sFlt-1/PlGF ratio at week 32 was statistically significant (coefficient = 0.107147; $p = 0.00104$), with an associated OR of 1.11 (1.05–1.20). The changes between all three measurements were also evaluated, and statistically significant differences were found in the evolution between weeks 24 and 32 (ascending levels of sFlt-1/PlGF), with a 1.1 OR (1.05–1.19; $p = 0.005$). This means that the increase of one unit of sFlt-1/PlGF ratio difference between week 24 and week 32 increased the probability of presenting a preterm birth with respect to not presenting this event by 1.1. Furthermore, it was evaluated if adding other data increased the predictive power of sFlt-1/PlGF alone concerning preterm birth. A logistic regression model combined the parity, maternal age, conception method, and BMI with the sFlt-1/PlGF ratio level at week 32. The model presented statistically significant results with respect to the null model ($p = 0.0002$) but did not statistically improve the predictive value of the sFlt-1/PlGF ratio alone (Likelihood ratio test, $p > 0.05$). Therefore, we proposed to use the most parsimonious model, including only the ratio alone instead of adding additional variables. As represented in Figure 3, an AUC-ROC curve was performed to analyze the predictive capacities of such a model. A ratio >12 at 32 weeks was related to a sensitivity of 71%, specificity of 72%, and an accuracy of 71%, with a positive predictive value (PPV) of 0.75 and a negative predictive value (NPV) of 0.68 for the identification of patients who develop preterm birth.

**Figure 3.** AUC- ROC curve for sFlt-1/PlGF determination at week 32 for the detection of patients with twin pregnancies who subsequently develop preterm birth.

Regarding the occurrence of an adverse perinatal event, 19 women had children with one or more diagnoses secondary to prematurity. Data regarding perinatal outcomes is summarized in Table 1.

When evaluating the relationship between the three determinations of sFlt-1/PlGF ratio with the occurrence of an adverse perinatal event through a logistic regression model, statistically significant differences were found for week 24, with an OR of 1.24 (1.11–1.40; $p = 0.0002$). Thus, the increase of one unit of the sFlt-1/PlGF ratio increased the probability of presenting an adverse perinatal event secondary to prematurity by 1.40. The evolutive changes between the three measurements of the sFlt-1/PlGF ratio at 12, 24, and 32 weeks gestation were also evaluated, and statistically significant differences were found in the change between week 24 and 32 (ascending levels of sFlt-1/PlGF), with a 1.04 OR (1.01–1.07; $p = 0.0301$). Furthermore, it was also evaluated if adding other data increased the predictive power of the sFlt-1/PlGF ratio alone. Thus, parity, maternal age, conception method, BMI, and chorionicity were combined with ratio level at week 24, after standardizing data due to differences in scales. The model presented statistically significant results with respect to the null model for ratio at week 24 and chorionicity. Furthermore, it statistically improved the predictive value of the sFlt-1/PlGF ratio alone (Likelihood ratio test, $p = 0.04$). In this model, ratio levels at week 24 presented an OR of 314 (25–5795; $p = 0.00002$). Thus, an increase of one standard deviation meant increasing the probability of presenting an adverse perinatal event by 314. As for chorionicity, an OR of 6.88 (1.57–33.04; $p = 0.01$) was found for monochorionic pregnancies. Additionally, as represented in Figure 4, an AUC-ROC curve was performed to analyze the predictive capacities of the model, including the sFlt-1/PlGF ratio, for week 24 only. A sFlt-1/PlGF ratio at week 24 > 4 weeks was related to a sensitivity of 79%, a specificity of 71%, an accuracy of 73%, with a PPV of 0.50 and a negative predictive value NPV of 0.90, were found. This AUC-ROC curve was subsequently compared to a second one, which included all additional data (Figure 5), with higher predictive values: a sensitivity of 82%, a specificity of 80%, and an accuracy of 80%, with a PPV of 0.58 and a negative predictive value NPV of 0.93.

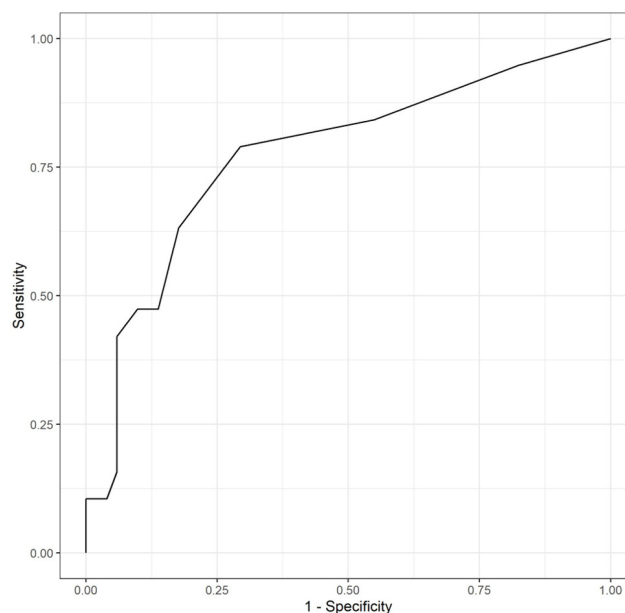


Figure 4. AUC-ROC curve for sFlt-1/PlGF determination at week 24 for the detection of patients with twin pregnancies who subsequently develop adverse perinatal events secondary to prematurity.

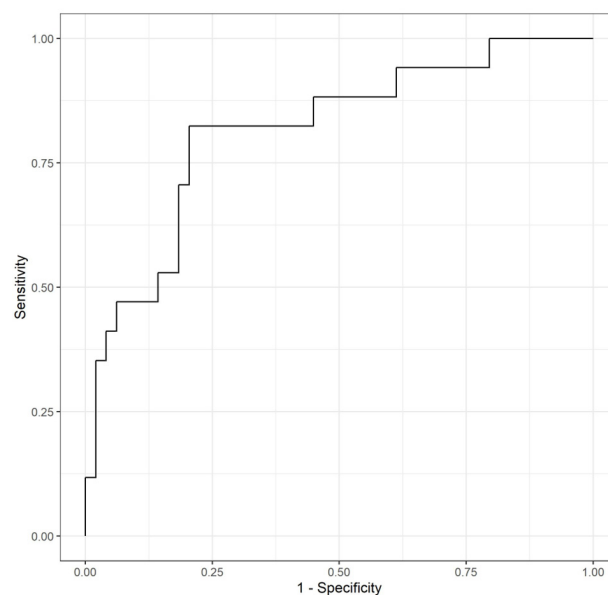


Figure 5. AUC-ROC curve for sFlt-1/PlGF determination at week 24, parity, maternal age, conception method, BMI, and chorionicity for detecting patients with twin pregnancies who subsequently develop adverse perinatal events secondary to prematurity.

4. Discussion

The main finding of this study was that maternal serum levels of sFlt-1/PlGF ratio at week 32 in women with a twin pregnancy were strongly associated with preterm birth. Additionally, maternal serum levels of sFlt-1/PlGF ratio at week 24 in patients with a twin pregnancy, especially associated with additional pregnancy data (parity, maternal age, conception method, BMI, and chorionicity), were strongly associated with adverse neonatal events related to prematurity.

A significant difference in the sFlt-1/PlGF ratio at week 32 between at-term and preterm groups was revealed when evaluating gestational age at birth. An increase of one unit in such determination increased the probability of presenting preterm birth by 1.11, and a difference of one unit between the sFlt-1/PlGF ratio at weeks 24 and 32 also entailed an increase of such probability by 1.1. Also, it was revealed that adding other variables, such as parity, maternal age, conception method, BMI, and chorionicity, did not enhance its predictive power. Therefore, the most parsimonious model was found to be the one using sFlt-1/PlGF ratio at week 32 only, as incorporating the evolution of precedent determinations or other data did not significantly improve the predictive power and implied using a more complex model. The preferred model presented notable sensitivities and specificities (71 and 72%, respectively).

Conversely, regarding adverse perinatal outcomes, the association between the sFlt-1/PlGF ratio levels at week 24 and the occurrence of such events was found to be statistically significant. An increase of one unit in the sFlt-1/PlGF ratio at week 24 was related to an increase in the probability of developing an adverse perinatal event secondary to prematurity by 1.24. Similar findings were discovered when analyzing the evolution between all three determinations, as the increase of one unit on the difference between sFlt-1/PlGF ratio levels at weeks 24 and 32 implied an increase in the probability of presenting the event by 1.04. By combining parity, maternal age, conception method, BMI, and chorionicity, the predictive power of the sFlt-1/PlGF ratio alone was optimized (Likelihood ratio test, $p = 0.04$). In this model, an increase of one standard deviation meant

raising the probability of presenting an adverse perinatal event by 314. Additionally, AUC-ROC curves were performed to analyze the predictive capacities of both models, with better numbers obtained by the model, including additional data (AUC of 77 vs. 82%, sensitivity of 79 vs. 82%; specificity of 71 vs. 80%, PPV of 50 vs. 58%; NPV of 90 vs. 93%). Therefore, when using sFlt-1/PlGF as a predictor of adverse perinatal events associated with prematurity, the most parsimonious model was found to be the one that included determination at week 24 plus the mentioned pregnancy characteristics.

Although the sFlt-1/PlGF ratio has been mainly studied and applied to detect placental dysfunction, in our analyzed sample of patients with a twin pregnancy, only 44.74% of the women presenting preterm birth had an established diagnosis related to placental dysfunction, such as preeclampsia or fetal growth restriction [29–34]. This leads to a 55.26% remaining patients with a twin pregnancy without a diagnosis related to placental dysfunction, such as FGR or preeclampsia, in which the alteration of placental biomarkers such as the sFlt-1/PlGF ratio could be due to alternative physiopathological mechanisms, as reported in previous studies [35–37]. It has been widely proposed that spontaneous preterm birth can be initiated secondary to other multiple conditions, including uterine ischemia, infection, or fetal stress [38–40]. However, the exact mechanisms underlying the onset of preterm birth in these cases remain undetermined.

The presented findings of this study support the potential utility of placental markers determined in maternal serum for predicting preterm birth secondary to any cause. These results are in accordance with those reported in a recent article, where an increase in the maternal serum level of sFlt-1/PlGF between 20 and 28 weeks was strongly associated with the subsequent risk of spontaneous preterm birth (50% for a 1 SD increase in the level of the ratio) [36]. According to such findings, an American group found that decreased levels of PlGF in the first two trimesters of pregnancy were associated with medically indicated preterm birth [26]. Previous studies have already proposed this relationship, with significant associations at 28 weeks of gestation or approximately 5–10 weeks prior to the diagnosis [37]. Along the same line, other maternal and placental biomarkers have also been assessed to predict preterm birth, but with contradictory results [41,42]. Nevertheless, these studies are mostly centered on single pregnancies. To the best of our knowledge, there is no published research assessing placental biomarkers for preterm birth prediction, specifically in twin pregnancies [34]. The development and incorporation of a potentially valuable tool for identifying high-risk patients might help optimize the decision-making for clinicians and improve the selection of patients benefiting from the application of invasive interventions, such as the use of tocolytic agents and corticosteroids for lung maturation. This could be especially useful in twin pregnancies, considered a high-risk group for preterm birth. Additionally, our findings suggest that placental serum biomarkers have a promising utility in identifying newborns at risk of developing an adverse perinatal outcome related to prematurity. This could benefit pediatricians and obstetric multidisciplinary teams in planning specific medical care for both newborns.

The main strength of this study is that, to the best of our knowledge, this is the first study to evaluate the role of placental biomarkers for preterm birth prediction and neonatal outcomes in twin pregnancies. Our results prove that the sFlt-1/PlGF ratio correlates with preterm birth and adverse perinatal outcomes in twin pregnancies. These associations underscore the potential impact of monitoring the sFlt-1/PlGF ratio in twins, as it could provide clinicians with valuable information for managing a condition with a considerable impact on perinatal and neonatal health. The most significant limitation relies on its restricted sample size, which influenced several variables, resulting in observable trends that did not reach statistical significance. The limited statistical power from the small sample size restricts the ability to make conclusive statements and underscores the need for caution in generalizing the findings. Plus, our sample only included patients with sFlt-1/PlGF ratio determination at week 32, which implied preterm births occurring before such week were not analyzed. Future research needs to utilize larger cohorts to validate and reinforce the identified trends, thereby improving the credibility of the study results.

5. Conclusions

The primary findings of this study suggest a strong association between maternal serum levels of the sFlt-1/PlGF ratio at week 32 and the incidence of preterm birth. Additionally, a notable correlation was observed at week 24, specifically concerning adverse neonatal outcomes related to prematurity. Differences in the sFlt-1/PlGF ratio at week 32 between term and preterm births were significant, with an increase in this ratio correlating with an increased risk of preterm birth. Nonetheless, incorporating additional variables such as parity, maternal age, conception method, BMI, and chorionicity did not enhance predictive power, suggesting that utilizing the sFlt-1/PlGF ratio alone at week 32 could be the most effective approach. Conversely, associations were found between sFlt-1/PlGF ratio levels at week 24 and adverse perinatal events, with higher predictive power when associated with other pregnancy data. While this study provides valuable insights into the utility of placental biomarkers for predicting preterm birth and adverse neonatal outcomes in twin pregnancies, further research with larger cohorts is required to validate these findings and enhance their reliability.

Author Contributions: A.M.-V. and V.D.-A. performed the work's conceptualization. A.M.-V. and V.D.-A. carried out the methodology and study design. A.M.-V., E.S.-P., B.N.-D.Á. and V.D.-A. performed the research work. A.M.-V. and V.D.-A. supervised the research. A.M.-V., E.S.-P. and B.N.-D.Á. wrote the original draft. A.M.-V., J.M.-R. and V.D.-A. revised the final manuscript, adding valuable input to the text. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: No funding has been received to carry out this study.

Institutional Review Board Statement: This study protocol was reviewed and approved by the Ethics Committee of the Health Research Institute Hospital La Fe (IIS La Fe), approval Ref: 2018/0164, P.I. Exp. 2018_0164_PP_DE_DIA-GO on 1 April 2018.

Informed Consent Statement: Written informed consent was obtained from each patient before her inclusion in the study.

Data Availability Statement: The data in this study were obtained from the clinical program of La Fe University and Polytechnic Hospital. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

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

Abbreviations

ART	Assisted reproductive technology
AUC-ROC curve	Area Under the Curve–Receiver Operating Characteristic
BMI	Body mass index
CI	Confidence Interval
FGR	Fetal growth restriction
IQR	Interquartile range
NPV	negative predictive value
OR	Odds Ratio
PlGF	Placental growth factor
PPV	positive predictive value
PROM	Premature rupture of membranes
SD	standard deviation
sFlt-1	Soluble fms-like tyrosine kinase 1

References

1. Romero, R.; Dey, S.K.; Fisher, S.J. Preterm labor: One syndrome, many causes. *Science* **2014**, *345*, 760–765. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. McCormick, M.C. The contribution of low birth weight to infant mortality and childhood morbidity. *N. Engl. J. Med.* **1985**, *312*, 82–90. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Goldenberg, R.L.; Culhane, J.F.; Iams, J.D.; Romero, R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet* **2008**, *371*, 75–84. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

4. Romero, R.; Espinoza, J.; Kusanovic, J.P.; Gotsch, F.; Hassan, S.; Erez, O.; Chaiworapongsa, T.; Mazor, M. The preterm parturition syndrome. *BJOG* **2006**, *113* (Suppl. S3), 17–42. [\[CrossRef\]](#)
5. Romero, R.; Sirtori, M.; Oyarzun, E.; Avila, C.; Mazor, M.; Callahan, R.; Sabo, V.; Athanassiadis, A.P.; Hobbins, J.C. Infection labor, V. Prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1989**, *161*, 817–824. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Romero, R.; Avila, C.; Brekus, C.A.; Morotti, R. The role of systemic and intrauterine infection in preterm parturition. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1991**, *622*, 355–375. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Dudley, D.J.; Chen, C.L.; Branch, D.W.; Hammond, E.; Mitchell, M.D. A murine model of preterm labor: Inflammatory mediators regulate the production of prostaglandin E2 and interleukin-6 by murine decidua. *Biol. Reprod.* **1993**, *48*, 33–39. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Ou, C.W.; Orsino, A.; Lye, S.J. Expression of connexin-43 and connexin-26 in the rat myometrium during pregnancy and labor is differentially regulated by mechanical and hormonal signals. *Endocrinology* **1997**, *138*, 5398–5407. [\[CrossRef\]](#)
9. Liggins, G.C. Premature parturition after infusion of corticotrophin or cortisol into foetal lambs. *J. Endocrinol.* **1968**, *42*, 323–329. [\[CrossRef\]](#)
10. Challis, J.R.G. CRH, a placental clock and preterm labour. *Nat. Med.* **1995**, *1*, 416. [\[CrossRef\]](#)
11. Copper, R.L.; Goldenberg, R.L.; Das, A.; Elder, N.; Swain, M.; Norman, G.; Ramsey, R.; Cotroneo, P.; Collins, B.A.; Johnson, F.; et al. The preterm prediction study: Maternal stress is associated with spontaneous preterm birth at less than thirty-five weeks' gestation. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1996**, *175*, 1286–1292. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Rouse, D.J.; Caritis, S.N.; Peaceman, A.M.; Sciscione, A.; Thom, E.A.; Spong, C.Y.; Varner, M.; Malone, F.; Iams, J.D.; Mercer, B.M.; et al. A trial of 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate to prevent prematurity in twins. *N. Engl. J. Med.* **2007**, *357*, 454–461. [\[CrossRef\]](#)
13. Lewi, L.; Gucciardo, L.; Van Mieghem, T.; De Koninck, P.; Beck, V.; Medek, H.; Van Schoubroeck, D.; Devlieger, R.; De Catte, L.; Deprest, J. Monochorionic diamniotic twin pregnancies: Natural history and risk stratification. *Fetal. Diagn. Ther.* **2010**, *27*, 121–133. [\[CrossRef\]](#)
14. Burgess, J.L.; Unal, E.R.; Nietert, P.J.; Newman, R.B. Risk of late preterm stillbirth and neonatal morbidity for monochorionic and dichorionic twins. *Am. J. Obs. Gynecol.* **2014**, *210*, 578.e1. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Blickstein, I.; Keith, L.G. *Multiple Pregnancy: Epidemiology, Gestation & Perinatal Outcome*; Taylor & Francis: Abingdon, UK, 2005; 943p.
16. Giuffrè, M.; Piro, E.; Corsello, G. Prematurity and twinning. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2012**, *25* (Suppl. S3), 6–10. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Rana, S.; Lemoine, E.; Granger, J.; Karumanchi, S.A. Preeclampsia. *Circ. Res.* **2019**, *124*, 1094–1112. [\[CrossRef\]](#)
18. Herraiz, I.; Quezada, M.S.; Rodríguez-Calvo, J.; Gómez-Montes, E.; Villalain, C.; Galindo, A. Longitudinal change of sFlt-1/PlGF ratio in singleton pregnancy with early-onset fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2018**, *52*, 631–638. [\[CrossRef\]](#)
19. Herraiz, I.; Simón, E.; Gómez-Arriaga, P.I.; Quezada, M.S.; García-Burguillo, A.; López-Jiménez, E.A.; Galindo, A. Clinical implementation of the sFlt-1/PlGF ratio to identify preeclampsia and fetal growth restriction: A prospective cohort study. *Pregnancy Hypertens.* **2018**, *13*, 279–285. [\[CrossRef\]](#)
20. Rybak-Krzyszowska, M.; Staniczek, J.; Kondracka, A.; Bogusławska, J.; Kwiatkowski, S.; Góra, T.; Strus, M.; Górczewski, W. From Biomarkers to the Molecular Mechanism of Preeclampsia—A Comprehensive Literature Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 13252. [\[CrossRef\]](#)
21. Overview | PLGF-Based Testing to Help Diagnose Suspected Preterm Pre-Eclampsia | Guidance | NICE. Available online: <https://www.nice.org.uk/guidance/dg49/resources/plgfbased-testing-to-help-diagnose-suspected-preterm-preeclampsia-pdf-1053819586501> (accessed on 15 February 2024).
22. Guía de Asistencia Práctica*. Available online: <https://sego.es/documentos/progresos/v63-2020/n4/GAP-Trastornos%20hipertensivos%20gestacion.pdf> (accessed on 15 February 2024).
23. Kendall, R.L.; Thomas, K.A. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 10705–10709. [\[CrossRef\]](#)
24. De Falco, S. The discovery of placenta growth factor and its biological activity. *Exp. Mol. Med.* **2012**, *44*, 1–9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Smith, G.C.S.; Crossley, J.A.; Aitken, D.A.; Jenkins, N.; Lyall, F.; Cameron, A.D.; Connor, J.M.M.; Dobbie, R.B. Circulating angiogenic factors in early pregnancy and the risk of preeclampsia, intrauterine growth restriction, spontaneous preterm birth, and stillbirth. *Obstet. Gynecol.* **2007**, *109*, 1316–1324. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Parry, S.; Carper, B.A.; Grobman, W.A.; Wapner, R.J.; Chung, J.H.; Haas, D.M.; Mercer, B.; Silver, R.M.; Simhan, H.N.; Saade, G.R.; et al. Placental protein levels in maternal serum are associated with adverse pregnancy outcomes in nulliparous patients. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2022**, *227*, 497.e1–497.e13. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Dröge, L.; Herraiz, I.; Zeisler, H.; Schlembach, D.; Stepan, H.; Küssel, L.; Henrich, W.; Galindo, A.; Verlohren, S. Maternal serum sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies with and without pre-eclampsia in comparison with singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2015**, *45*, 286–293. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

28. Binder, J.; Palmrich, P.; Pateisky, P.; Kalafat, E.; Kuessel, L.; Zeisler, H.; Munkhbaatar, M.; Windsperger, K.; Thilaganathan, B.; Khalil, A. The Prognostic Value of Angiogenic Markers in Twin Pregnancies to Predict Delivery Due to Maternal Complications of Preeclampsia. *Hypertension* **2020**, *76*, 176–183. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
29. Satorres-Pérez, E.; Martínez-Varea, A.; Álamo, B.N.D.; Morales-Roselló, J.; Diago-Almela, V. The sFlt-1/PlGF Ratio at 12, 24, and 32 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Placental Dysfunction. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 1784. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Faupel-Badger, J.M.; McElrath, T.F.; Lauria, M.; Houghton, L.C.; Lim, K.H.; Parry, S.; Cantonwine, D.; Lai, G.; Karumanchi, S.A.; Hoover, R.N.; et al. Maternal circulating angiogenic factors in twin and singleton pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2015**, *212*, 636.e1–636.e8. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Heimberger, S.; Mueller, A.; Ratnaparkhi, R.; Perdigao, J.L.; Rana, S. Angiogenic factor abnormalities and risk of peripartum complications and prematurity among urban predominantly obese parturients with chronic hypertension. *Pregnancy Hypertens.* **2020**, *20*, 124–130. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Rana, S.; Powe, C.E.; Salahuddin, S.; Verlohren, S.; Perschel, F.H.; Levine, R.J.; Lim, K.-H.; Wenger, J.B.; Thadhani, R.; Karumanchi, S.A. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation* **2012**, *125*, 911–919. [\[CrossRef\]](#)
33. Martínez-Varea, A.; Martínez-Sáez, C.; Domenech, J.; Desco-Blay, J.; Monfort-Pitarch, S.; Hueso, M.; Diago-Almela, V. sFlt-1/PlGF Ratio at 24 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Preeclampsia or Fetal Growth Restriction. *Fetal Diagn. Ther.* **2022**, *49*, 206–214. [\[CrossRef\]](#)
34. Satorres, E.; Martínez-Varea, A.; Diago-Almela, V. sFlt-1/PlGF ratio as a predictor of pregnancy outcomes in twin pregnancies: A systematic review. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2023**, *36*, 2230514. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Chaiworapongsa, T.; Romero, R.; Tarca, A.; Pedro Kusanovic, J.; Mittal, P.; Kim, S.K.; Gotsch, F.; Erez, O.; Vaisbuch, E.; Mazaki-Tovi, S.; et al. A subset of patients destined to develop spontaneous preterm labor has an abnormal angiogenic/anti-angiogenic profile in maternal plasma: Evidence in support of pathophysiologic heterogeneity of preterm labor derived from a longitudinal study. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2009**, *22*, 1122–1139. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Sovio, U.; Gaccioli, F.; Cook, E.; Charnock-Jones, D.S.; Smith, G.C.S. Maternal serum levels of soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor at 20 and 28 weeks of gestational age and the risk of spontaneous preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2023**, *229*, 164.e1–164.e18. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Romero, R.; Jung, E.; Chaiworapongsa, T.; Erez, O.; Gudicha, D.W.; Kim, Y.M.; Kim, J.-S.; Kim, B.; Kusanovic, J.P.; Gotsch, F.; et al. Toward a new taxonomy of obstetrical disease: Improved performance of maternal blood biomarkers for the great obstetrical syndromes when classified according to placental pathology. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2022**, *227*, 615.e1–615.e25. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Brar, H.S.; Medearis, A.L.; DeVore, G.R.; Platt, L.D. Maternal and fetal blood flow velocity waveforms in patients with preterm labor: Prediction of successful tocolysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1988**, *159*, 947–950. [\[CrossRef\]](#)
39. Fonseca, E.; Yu, C.K.H.; Singh, M.; Papageorgiou, A.T.; Nicolaides, K.H. Relationship between second-trimester uterine artery Doppler and spontaneous early preterm delivery. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2006**, *27*, 301–305. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
40. Kim, Y.M.; Bujold, E.; Chaiworapongsa, T.; Gomez, R.; Yoon, B.H.; Thaler, H.T.; Rotmensch, S.; Romero, R. Failure of physiologic transformation of the spiral arteries in patients with preterm labor and intact membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2003**, *189*, 1063–1069. [\[CrossRef\]](#)
41. Lim, H.; Powell, S.; McNamara, H.C.; Forbes Howie, A.; Doust, A.; Bowman, M.E.; Smith, R.; Norman, J.E.; Stock, S.J. Placental hormone profiles as predictors of preterm birth in twin pregnancy: A prospective cohort study. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0173732. [\[CrossRef\]](#)
42. Barinov, S.V.; Di Renzo, G.C.; Belinina, A.A.; Koliado, O.V.; Remneva, O.V. Clinical and biochemical markers of spontaneous preterm birth in singleton and multiple pregnancies. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2022**, *35*, 5724–5729. [\[CrossRef\]](#)

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.

Conclusiones

1. La escasa evidencia publicada acerca del ratio sFlt-1/PIGF en embarazos gemelares sugiere un prometedor papel como herramienta para detectar, y particularmente descartar, resultados adversos del embarazo relacionados con la disfunción placentaria, como la preeclampsia o la restricción del crecimiento intrauterino.
2. El ratio sFlt-1/PIGF es capaz de detectar pacientes susceptibles de desarrollar disfunción placentaria desde semana 12. Valores ≥ 8.5 a las 24 semanas y ≥ 30.5 a las 32 semanas se asocian con una mayor incidencia de preeclampsia y restricción del crecimiento intrauterino. Por tanto, cabe considerar el potencial beneficio en su evaluación secuencial.
3. Niveles bajos del ratio sFlt-1/PIGF en gestaciones gemelares se asocian a mejores resultados neonatales, con mayores pesos al nacer y menor tasa de ingreso en unidad de neonatos.
4. Existe una fuerte asociación entre los niveles séricos del ratio sFlt-1/PIGF en la semana 32 de gestación y la incidencia de parto prematuro. La adición de variables adicionales en esta edad gestacional no mejora significativamente el poder predictivo, por lo que el ratio sFlt-1/PIGF puede considerarse como predictor independiente.
5. Existe una notable correlación en los niveles del ratio sFlt-1/PIGF en semana 24 con resultados neonatales adversos relacionados con la prematuridad. Combinado estos valores con la corionicidad, se eleva el poder predictivo para predecir eventos perinatales adversos.

Material Adicional

Material suplementario del primer artículo

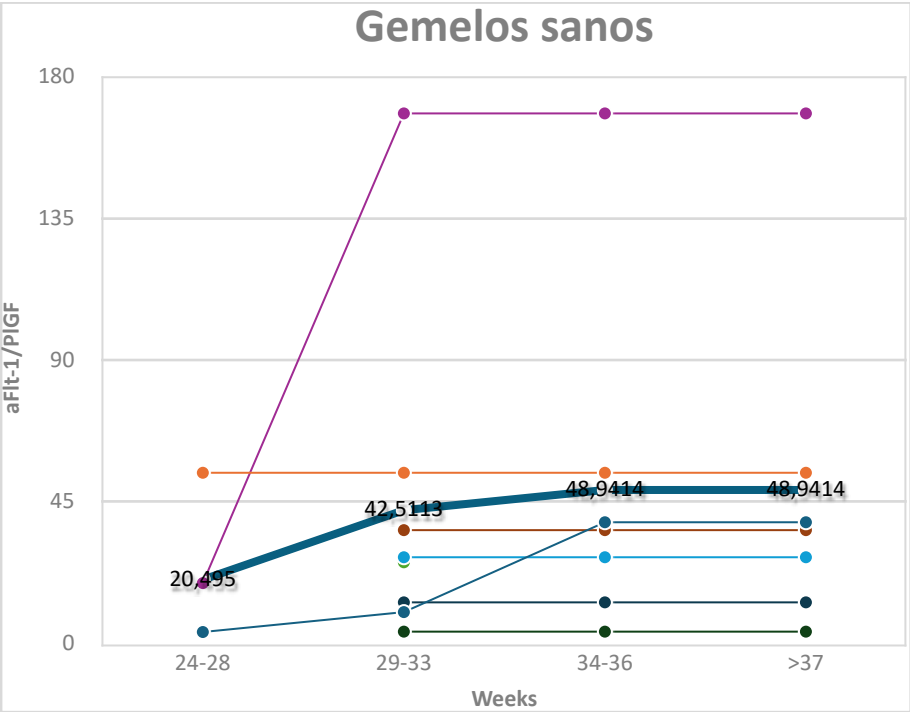
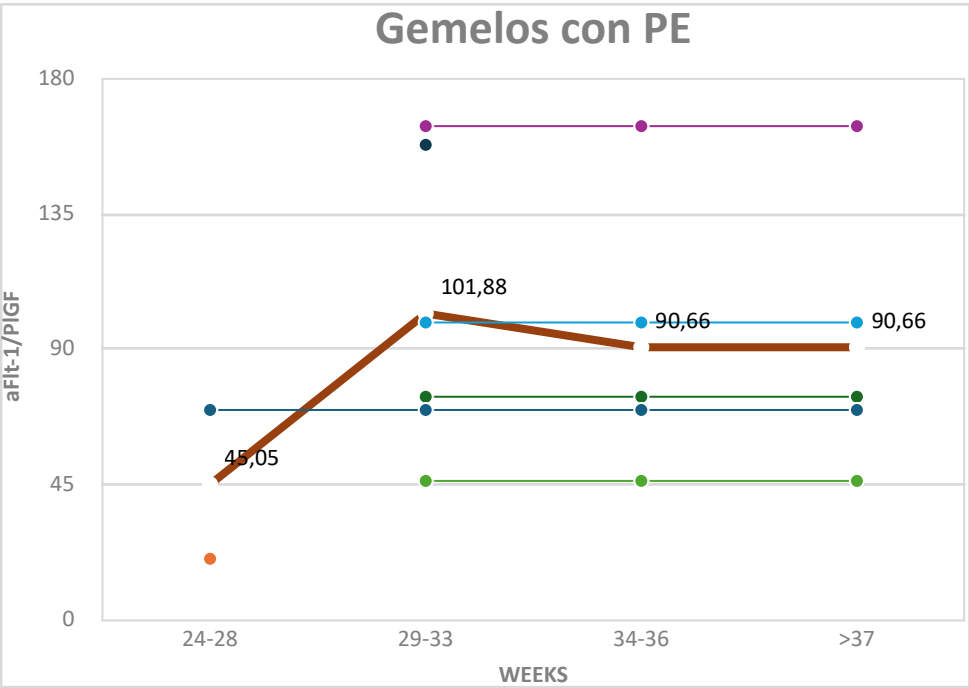


Figura 19. Ratio medio obtenido en gestaciones gemelares sin diagnóstico de PE.



lustración 20. Ratio medio obtenido en gestaciones gemelares con diagnóstico de PE.

Dictamen del comité de ética



CEIm-F-PE-01-17 Ed. 01

DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

MARÍA TORDERA BAVIERA, titular de la Secretaría Técnica del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del **CEIM - HOSPITAL UNIVERSITARIO Y POLITÉCNICO LA FE**,

CERTIFICA

Que este Comité, ha evaluado la propuesta del investigador principal, **Dr./ Dra. VICENTE JOSE DIAGO ALMELA**, relativa a la modificación sustancial con nº **Modificación sustancial nº1 de fecha 31/03/2021**, correspondiente al proyecto de investigación con nº de registro **2018/0164**, titulado: ***"Ratio sFlt-1/PIGF en semana 12, 24 y 32 en gestaciones gemelares: predictor de preeclampsia."***, que se está llevando a cabo en el HOSPITAL LA FE DE VALENCIA, por el/ la Dr./ Dra. VICENTE JOSE DIAGO ALMELA, del servicio de OBSTETRICIA, como Investigador Principal.

Y considera que:

El CEIm del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, en su reunión del 28/04/2021, tras la evaluación de la siguiente modificación sustancial:

Modificación sustancial: **Modificación sustancial nº1 de fecha 31/03/2021**

Documentos modificados:

Documento	Versión
Protocolo	31 de marzo de 2021

emite un **DICTAMEN FAVORABLE**.

Que este Comité ha realizado la evaluación de la modificación sustancial de la solicitud de autorización del estudio, de acuerdo con lo previsto en la legislación vigente.

Que el CEIM - HOSPITAL UNIVERSITARIO Y POLITÉCNICO LA FE, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento, y que la composición del CEIM - HOSPITAL UNIVERSITARIO Y POLITÉCNICO LA FE es la indicada en el anexo I, teniendo en cuenta que, en el caso de que algún miembro participe en el estudio o declare algún conflicto de interés, no habrá participado en la evaluación ni en el dictamen de la solicitud de autorización del estudio clínico.

Lo que firmo en Valencia, a 28/04/2021

Fdo.: MARÍA TORDERA BAVIERA
Secretaria Técnica del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos

Hoja de información al paciente



HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Versión de la HIP: 1	Fecha de la versión: 24-02-2021
Investigador Principal: Vicente José Diago Almela, Servicio de Obstetricia y Ginecología HUP La Fe Secretaría: torre F, 3ª planta, teléfono 963862700	
CENTRO: HUP La Fe	
Título del proyecto de investigación: Ratio sFit-1/PIGF en semana 12, 24 y 32 en gestaciones gemelares: predictor de preeclampsia	

1. INTRODUCCIÓN:

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos del Hospital Universitario y Politécnico la Fe.

Nuestra intención es tan sólo 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 oportunas.

2. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar 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.

3. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

Justificación del estudio

La preeclampsia es una enfermedad asociada al embarazo, que se caracteriza por la aparición de hipertensión y proteínas en orina a partir de la semana 20 de gestación. La preeclampsia precoz, aquella diagnosticada antes de la semana 34, asocia mayor incidencia de resultados adversos perinatales, en comparación con la preeclampsia tardía (≥ 34 semanas).

La placenta, lugar de intercambio de nutrientes entre la embarazada y el feto, tiene un papel esencial en el desarrollo de preeclampsia. Un defectuoso desarrollo de la vascularización placentaria (angiogénesis) ha sido clásicamente considerado como una vía hacia la preeclampsia. Rigurosas investigaciones muestran que el estado anti-angiogénico está implicado en el desarrollo de preeclampsia. De hecho, comparado con gestantes sanas, pacientes con preeclampsia presentan niveles reducidos en plasma y/o suero de factores angiogénicos (VEGF y PIGF) y niveles elevados de factores anti-angiogénicos (sFit-1).

En gestaciones únicas, se han establecido puntos de corte del ratio sFit-1/PIGF en plasma de la embarazada para confirmar precozmente preeclampsia precoz y tardía. También se han establecido puntos de corte que predicen alto riesgo de



desarrollo de preeclampsia precoz y tardía en las siguientes 4 semanas. Puesto que estos puntos de corte no se han establecido para embarazos gemelares, mediante el presente estudio se pretende contribuir a su determinación.

Objetivos

El objetivo principal es determinar los valores del ratio a lo largo de la gestación gemelar (12s, 24s, 32s) sin patologías. Los objetivos secundarios son: 1) establecer valores del ratio a lo largo de gestaciones gemelares con patología gestacional asociada (A: enfermedades por disfunción placentaria como RCIU y preeclampsia; B: STFF, etc); 2) determinar si los valores de ratio en semana 12, 24 y/o 32 pueden ayudar a seleccionar gestantes con elevado riesgo de posterior aparición de enfermedades asociadas a disfunción placentaria, como RCIU o preeclampsia; 3) estudiar si el valor del ratio asociado al IP medio de las arterias uterinas permite detectar pacientes con riesgo posterior de desarrollar enfermedades asociadas a disfunción placentaria; 4) determinar si el valor del ratio a lo largo de la gestación gemelar es diferente en determinados subgrupos (fundamentalmente, gestaciones sin patología pero con factores de riesgo asociados a disfunción placentaria, como aquellas de concepción mediante TRA vs espontáneas).

Metodología

Se realizará una extracción analítica a gestantes sanas con embarazos gemelares el mismo día de su visita en consultas de obstetricia para control del embarazo, en semana 12 (rango 10 – 14), 24 (rango 22 – 26 semanas) y 32 (rango 30-34 semanas). Se determinará el ratio sFlt-1/PIGF. En cada una de las consultas de las semanas 12, 24 y 32 también se determinará el índice de pulsatilidad de las arterias uterinas mediante ecografía Doppler (se realiza rutinariamente).

Se determinará el ratio sFlt-1/PIGF a gestantes con diagnóstico de preeclampsia precoz o tardía. Esta determinación ya se realiza actualmente, empleándose el punto de corte descrito para gestaciones únicas.

Implicaciones de la participación en este estudio de la mujer con gestación gemelar

La gestante que acceda a participar en este estudio únicamente se realizará de forma extraordinaria por participar en este estudio una analítica de sangre en el Hospital La Fe en semana 12 (rango 10 - 14), 24 (rango 22-26 semanas) y 32, el día en el que reciba consulta médica en la consulta de obstetricia especializada en embarazos gemelares. Esta analítica revelará el ratio sFlt-1/PIGF. En cada una de las visitas mencionadas se realizará el índice de pulsatilidad de las arterias uterinas mediante ecografía. Asimismo, en la visita de la semana 12, se recogerán múltiples datos de interés mediante entrevista clínica y exploración física (raza, IMC, enfermedades concomitantes, método de concepción, tensión arterial, etc). En las visitas posteriores (semana 24 y 32) se recogerán nuevamente datos relacionados con la evolución del embarazo, como aumento ponderal, diagnóstico de patologías relacionadas con el embarazo y cifras de tensión arterial.

La gestante con embarazo gemelar y diagnóstico de preeclampsia se someterá a una extracción analítica para determinar el ratio sFlt-1/PIGF. De hecho, esta analítica ya se realiza rutinariamente en la actualidad en nuestro centro en embarazadas con la enfermedad, aunque se emplean puntos de corte descritos para gestaciones únicas (siendo imprecisos para gestaciones gemelares), puesto que en gemelares todavía no se han descrito puntos de corte específicos para el diagnóstico precoz de



preeclampsia precoz y tardía. Por tanto, este grupo de pacientes no se someterán a ninguna actuación extraordinaria por participar en este estudio.

El equipo investigador ha establecido que se estudiará el ratio sFlt-1/PIGF en 400 embarazadas con gestaciones gemelares sanas en semana 12, 24 y 32 y en 50 embarazadas con gestaciones gemelares y diagnóstico de preeclampsia (precoz o tardía). Todas las pacientes que deseen participar en el estudio deben comprometerse a continuar el seguimiento del embarazo en el Hospital La Fe.

4. BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:

¿Cuáles son las posibles desventajas de participar en el estudio?

No existen desventajas por participar en este estudio, puesto que su participación sólo implica la realización de tres extracciones analíticas.

¿Existe algún daño para el/los fetos?

No. La extracción analítica se realiza en la gestante.

¿Cuáles son los posibles beneficios de participar en el estudio?

Aportar información a los investigadores para, en primer lugar, determinar valores normales del ratio sFlt-1/PIGF en semana 12, 24 y 32 de gestaciones gemelares sanas. En segundo lugar, determinar puntos de corte del ratio que permitan un diagnóstico precoz de preeclampsia precoz y tardía en gestaciones gemelares. En tercer lugar, establecer unos valores del ratio sFlt-1/PIGF en semana 12, 24 y 32 que permitan seleccionar a embarazadas con gestaciones gemelares con riesgo de desarrollo de preeclampsia precoz o tardía. Todo ello contribuirá a una mejor asistencia a embarazadas con gestaciones gemelares en el futuro. Las gestantes sanas con embarazos gemelares que participen en el estudio pueden no recibir beneficios directos actualmente.

Específicamente, gestantes con embarazos gemelares y preeclampsia que se realicen la analítica (la cual ya se realiza de forma rutinaria en el HUP La Fe en este caso) se beneficiarán del empleo del punto de corte del ratio sFlt-1/PIGF (establecido para gestaciones únicas) para el diagnóstico precoz de preeclampsia.

5. TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS:

Gestantes sanas con embarazos gemelares que no deseen participar en el estudio no se realizarán la extracción analítica en semana 12, 24 y 32.

Gestantes con preeclampsia y embarazos gemelares que no deseen participar en el estudio recibirán la analítica igualmente, puesto que ésta se emplea para estudiar el ratio sFlt-1/PIGF con el punto de corte diagnóstico de preeclampsia descrito para gestaciones únicas.

6. N° DE URGENCIA PARA PROBLEMAS DEL ESTUDIO:

En caso de que desee formular preguntas acerca del estudio o daños relacionados con el mismo, contactar con el médico del estudio Dr. Diago Almela en el número de teléfono 963862700 (preguntar en Secretaría de Obstetricia y Ginecología).

7. CONFIDENCIALIDAD:



El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes, se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse al Dr. Diago Almela, con quién podrá comunicarse a través del teléfono 963862700 (preguntar en Secretaría de Obstetricia y Ginecología).

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo su médico del estudio o colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal. El responsable del registro de los datos, en la Agencia Española de Protección de Datos, es la Institución.

Sólo se tramitarán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio, que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, nº de la seguridad social, etc... En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio, colaboradores, autoridades sanitarias (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios), al Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos y personal autorizado por el promotor, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente. El acceso a su historia clínica ha de ser sólo en lo relativo al estudio.

8. COMPENSACIÓN ECONÓMICA:

No hay compensación económica por participar en este estudio.

9. OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE:

Cualquier nueva información que se descubra durante su participación y que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, le será comunicada por su médico lo antes posible.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, no se añadirá ningún dato nuevo a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente obtenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si el promotor o los investigadores del mismo lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad o porque consideren que usted no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo por el que se ha decidido su retirada del estudio.

El promotor podrá suspender el estudio siempre y cuando sea por alguno de los supuestos contemplados en la legislación vigente.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto. Cuando acabe su participación recibirá el mejor tratamiento disponible y que su médico considere el más adecuado para su enfermedad.

Consentimiento informado



MODELO DE CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

TÍTULO DEL ESTUDIO:

Ratio sFlt-1/PIGF en semana 12, 24 y 32 en gestaciones gemelares: predictor de preeclampsia

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:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del Participante

Firma del Investigador

Nombre:

Fecha:

Nombre:

Fecha:

Permiso de los coautores para la utilización de los artículos

Primer artículo

Por el presente documento, los abajo firmantes autorizan a Elena Satorres Pérez para la utilización y publicación del artículo "sFlt-1/PlGF ratio as a predictor of pregnancy outcomes in twin pregnancies: a systematic review", del cual son coautores, en el marco de su tesis doctoral.



Martínez-Varea A



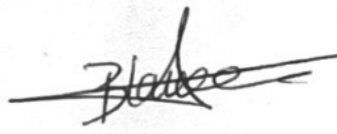
Diago-Almela V.

Segundo artículo

Por el presente documento, los abajo firmantes autorizan a Elena Satorres Pérez para la utilización y publicación del artículo "The sFlt-1/PlGF Ratio at 12, 24, and 32 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Placental Dysfunction", del cual son coautores, en el marco de su tesis doctoral.



Martínez-Varea A.



Novillo-Del Álamo B.



Morales-Roselló J.



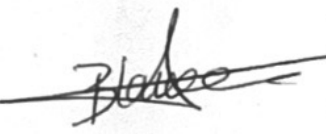
Diago-Almela V.

Tercer artículo

Por el presente documento, los abajo firmantes autorizan a Elena Satorres Pérez para la utilización y publicación del artículo "The sFlt-1/PlGF Ratio at 12, 24, and 32 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Late Preterm Birth and Perinatal Event Secondary to Prematurity", del cual son coautores, en el marco de su tesis doctoral.



Martínez-Varea A.



Novillo-Del Álamo B.



Morales-Roselló J.



Diago-Almela V.

Referencias

1. Osterman MJK, Hamilton BE, Martin JA, Driscoll AK, Valenzuela CP. National Vital Statistics Reports Volume 73, Number 2, April 4, 2024. National Vital Statistics Reports. 2022;73(2).
2. Kulkarni AD, Jamieson DJ, Jones HW, Kissin DM, Gallo MF, Macaluso M, *et al.* Fertility Treatments and Multiple Births in the United States. *New England Journal of Medicine*. 2013 Dec 5;369(23):2218–25.
3. Fell DB, Joseph KS. Temporal trends in the frequency of twins and higher-order multiple births in Canada and the United States. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2012 Sep 27;12(1):1–7.
4. Ananth CV., Chauhan SP. Epidemiology of twinning in developed countries. *Semin Perinatol*. 2012 Jun;36(3):156–61.
5. Scholten I, Chambers GM, Van Loendersloot L, Van Der Veen F, Repping S, Gianotten J, *et al.* Impact of assisted reproductive technology on the incidence of multiple-gestation infants: a population perspective. *Fertil Steril*. 2015;103(1):179–83.
6. Nylander PPS. The Factors That Influence Twinning Rates. *Acta geneticae medicae et gemellologiae: twin research*. 1981;30(3):189–202.
7. Adashi EY, Gutman R. Delayed childbearing as a growing, previously unrecognized contributor to the national plural birth excess. *Obstetrics and Gynecology*. 2018;132(4):999–1006.
8. Barrett JFR, Hannah ME, Hutton EK, Willan AR, Allen AC, Armson BA, *et al.* A Randomized Trial of Planned Cesarean or Vaginal Delivery for Twin Pregnancy. *New England Journal of Medicine*. 2013 Oct 3;369(14):1295–305.
9. Madar H, Goffinet F, Seco A, Rozenberg P, Dupont C, Deneux-Tharaux C. Severe Acute Maternal Morbidity in Twin Compared With Singleton Pregnancies. *Obstetrics and Gynecology*. 2019 Jun 1;133(6):1141–50.
10. Misra DP, Ananth C V. Infant Mortality Among Singletons and Twins in the United States During 2 Decades: Effects of Maternal Age. *Pediatrics*. 2002 Dec 1;110(6):1163–8.
11. Porta R, Capdevila E, Botet F, Verd S, Ginovart G, Moliner E, *et al.* Trends in Morbidity and Mortality of Extremely Preterm Multiple Gestation Newborns. *Pediatrics*. 2015 Feb 1;132(3):389–97.
12. Roberts JM, Hubel CA. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta*. 2009 Mar;30 Suppl A(Suppl A):32–7.
13. Ness RB, Roberts JM. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol*;175(5):1365–70.
14. Bombrys AE, Barton JR, Nowacki EA, Habli M, Pinder L, How H, *et al.* Expectant management of severe preeclampsia at less than 27 weeks' gestation: maternal and perinatal outcomes according to gestational age by weeks at onset of expectant management. *Am J Obstet Gynecol*. 2008 Sep 1;199(3):247.e1-247.e6.
15. Von Dadelszen P, Magee LA, Roberts JM. Subclassification of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2003;22(2):143–8.
16. Weiler J, Tong S, Palmer KR. Is fetal growth restriction associated with a more severe maternal phenotype in the setting of early onset pre-eclampsia? A retrospective study. *PLoS One*. 2011;6(10).
17. Magee LA, Brown MA, Hall DR, Gupte S, Hennessy A, Karumanchi SA, *et al.* The 2021 International Society for the

Study of Hypertension in Pregnancy classification, diagnosis & management recommendations for international practice. *Pregnancy Hypertens.* 2022 Mar 1;27:148–69.

18. Webster K, Fishburn S, Maresh M, Findlay SC, Chappell LC. Diagnosis and management of hypertension in pregnancy: summary of updated NICE guidance. *BMJ.* 2019 Sep 9;366.

19. ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Obstetrics and gynecology.* 2019 Jan 1;133(1):e1–25.

20. Chaiworapongsa T, Chaemsaihong P, Yeo L, Romero R. Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10(8):466–80.

21. Herraiz I, Llurba E, Verlohren S, Galindo A, Bartha JL, De La Calle M, *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 Feb 28;43(2):81–9.

22. Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Annu.* 1972 Jan 1;1:177–91.

23. Herraiz I, Llurba E, Verlohren S, Galindo A, Bartha JL, De La Calle M, *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 Feb 1;43(2):81–9.

24. Stanek J. Histological Features of Shallow Placental Implantation Unify Early-Onset and Late-Onset Preeclampsia. 2018 Oct 9;22(2):112–22.

25. Hecht JL, Zsengeller ZK, Spiel M, Karumanchi SA, Rosen S. Revisiting decidual vasculopathy. *Placenta.* 2016 Jun 1;42:37–43.

26. Papageorgiou AT, Yu CKH, Nicolaides KH. The role of uterine artery

Doppler in predicting adverse pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004;18(3):383–96.

27. Falco ML, Sivanathan J, Laoreti A, Thilaganathan B, Khalil A. Placental histopathology associated with preeclampsia: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.* 2017 Sep 1;50(3):295–301.

28. Huppertz B. Placental Origins of Preeclampsia. *Hypertension.* 2008 Apr 1;51(4 PART 2 SUPPL.):970–5.

29. Saftlas AF, Beydoun H, Triche E. Immunogenetic determinants of preeclampsia and related pregnancy disorders: a systematic review. *Obstetrics and gynecology.* 2005;106(1):162–72.

30. Zera CA, Seely EW, Wilkins-Haug LE, Lim KH, Parry SI, McElrath TF. The association of body mass index with serum angiogenic markers in normal and abnormal pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;211(3):247.e1–247.e7.

31. Skjærven R, Vatten LJ, Wilcox AJ, Rønning T, Irgens LM, Lie RT. Recurrence of pre-eclampsia across generations: exploring fetal and maternal genetic components in a population based cohort. *BMJ.* 2005 Oct 15;331(7521):877–9.

32. Paré E, Parry S, McElrath TF, Pucci D, Newton A, Lim KH. Clinical risk factors for Preeclampsia in the 21st century. *Obstetrics and Gynecology.* 2014 Oct 10;124(4):763–70.

33. Valensise H, Vasapollo B, Gagliardi G, Novelli GP. Early and late preeclampsia: two different maternal hemodynamic states in the latent phase of the disease. *Hypertension.* 2008 Nov;52(5):873–80.

34. Yagel S, Cohen SM, Goldman-Wohl D, Beharier O. Redefining pre-eclampsia as Type I or II: implementing an integrated model of the maternal-cardiovascular-placental-fetal array. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2023 Mar 1;61(3):293–301.

35. Ramlakhan KP, Johnson MR, Roos-Hesselink JW. Pregnancy and cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2020 Nov 1;17(11):718–31.
36. Redman CWG, Staff AC, Roberts JM. Syncytiotrophoblast stress in preeclampsia: the convergence point for multiple pathways. *Am J Obstet Gynecol*. 2022 Feb 1;226(2S):S907–27.
37. Gezer A, Rashidova M, Güralp O, Öçer F. Perinatal mortality and morbidity in twin pregnancies: The relation between chorionicity and gestational age at birth. *Arch Gynecol Obstet*. 2012 Feb 16;285(2):353–60.
38. Fox NS, Rebarber A, Klauser CK, Roman AS, Saltzman DH. Intrauterine growth restriction in twin pregnancies: Incidence and associated risk factors. *Am J Perinatol*. 2011;28(4):267–72.
39. Francisco C, Wright D, Benkő Z, Syngelaki A, Nicolaides KH. Hidden high rate of pre-eclampsia in twin compared with singleton pregnancy. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2017 Jul 1;50(1):88–92.
40. Sibai BM, Hauth J, Caritis S, Lindheimer MD, MacPherson C, Klebanoff M, *et al*. Hypertensive disorders in twin versus singleton gestations. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 Apr 1;182(4):938–42.
41. Brown WW, Shetty KR, Rosenfeld P S. Hyperthyroidism due to struma ovarii: demonstration by radioiodine scan. Vol. 73, *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1973.
42. Romero R, Lockwood C, Oyarzun E, Hobbins JC. Toxemia: new concepts in an old disease. *Semin Perinatol*. 1988;4:302–23.
43. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *The Lancet*. 2005 Feb 26 [cited 2024 Jan 20];365(9461):785–99.
44. Duley L. The Global Impact of Pre-eclampsia and Eclampsia. *Semin Perinatol*. 2009 Jun 1;33(3):130–7.
45. Cantwell, R., Clutton-Brock, T., Cooper, G., Dawson, A., Drife, J., Garrod, D., *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(s1):1–203.
46. Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011;25(4):391–403.
47. Galan H, Grobman W. ACOG Practice Bulletin No. 204: Fetal Growth Restriction. *Obstetrics and gynecology*. 2019 Feb 1;133(2):E297–E109.
48. Liu J, Wang XF, Wang Y, Wang HW, Liu Y. The incidence rate, high-risk factors, and short- and long-term adverse outcomes of fetal growth restriction. *Medicine (United States)*. 2014 Dec 20;93(27).
49. SEGO. Trastornos hipertensivos en la gestación. Guía de Asistencia Práctica. *Prog Obstet Ginecol*. 2020;63: 244–272.
50. O'Gorman N, Wright D, Poon LC, Rolnik DL, Syngelaki A, Wright A, *et al*. Accuracy of competing-risks model in screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Jun 1;49(6):751–5.
51. Scazzocchio E, Figueras F, Crispi F, Meler E, Masoller N, Mula R, *et al*. Performance of a first-trimester screening of preeclampsia in a routine care low-risk setting. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;208(3):203.e1-203.e10.
52. Scazzocchio E, Crovetto F, Triunfo S, Gratacós E, Figueras F. Validation of a first-trimester screening model for pre-eclampsia in an unselected population. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Feb 1;49(2):188–93.

53. Serra B, Mendoza M, Scazzocchio E, Meler E, Nolla M, Sabrià E, *et al.* A new model for screening for early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2020 Jun 1;222(6):608.e1-608.e18.
54. Wright D, Rolnik DL, Syngelaki A, de Paco Matallana C, Machuca M, de Alvarado M, *et al.* Aspirin for Evidence-Based Preeclampsia Prevention trial: effect of aspirin on length of stay in the neonatal intensive care unit. *Am J Obstet Gynecol.* 2018 Jun 1;218(6):612.e1-612.e6.
55. Roberge S, Nicolaides K, Demers S, Hyett J, Chaillet N, Bujold E. The role of aspirin dose on the prevention of preeclampsia and fetal growth restriction: systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2017 Feb 1;216(2):110-120.e6.
56. Koopmans CM, Bijlenga D, Groen H, Vijgen SM, Aarnoudse JG, Bokedam DJ, *et al.* Induction of labour versus expectant monitoring for gestational hypertension or mild pre-eclampsia after 36 weeks' gestation (HYPITAT): a multicentre, open-label randomised controlled trial. *Lancet.* 2009 Sep 25;374(9694):979–88.
57. Chappell LC, Brocklehurst P, Green ME, Hunter R, Hardy P, Juszczak E, *et al.* Planned early delivery or expectant management for late preterm pre-eclampsia (PHOENIX): a randomised controlled trial. *Lancet.* 2019 Sep 28;394(10204):1181–90.
58. Sibai BM, Mercer BM, Schiff E, Friedman SA. Aggressive versus expectant management of severe preeclampsia at 28 to 32 weeks' gestation: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171(3):818–22.
59. Lees, C. C., Stampalija, T., Baschat, A., da Silva Costa, F., Ferrazzi, E., Figueras, F., Hecher, K., Kingdom, J., Poon, L. C., Salomon, L. J., & Unterscheider, J. (2020). ISUOG Practice Guidelines: diagnosis and management of small-for-gestational-age fetus and fetal growth restriction. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 56(2), 298–312. <https://doi.org/10.1002/uog.22134>.
60. Hendrix N, Berghella V. Non-placental causes of intrauterine growth restriction. *Semin Perinatol.* 2008 Jun;32(3):161–5.
61. Bernstein PS, Divon MY. Etiologies of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 1997;40(4):723–9.
62. Richardson BS, Bocking AD. Metabolic and circulatory adaptations to chronic hypoxia in the fetus. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 1998;119(3):717–23.
63. Reforma LG, Febres-Cordero D, Trochtenberg A, Modest AM, Collier A ris Y, Spiel MH. Incidence of small-for-gestational-age infant birthweight following early intertwin fetal growth discordance in dichorionic and monochorionic twin pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2022 May 1;226(5):726.e1-726.e9.
64. Hirsch L, Barrett J, Aviram A, Mei-Dan E, Yoon EW, Zaltz A, *et al.* Patterns of discordant growth and adverse neonatal outcomes in twins. *Am J Obstet Gynecol.* 2021 Aug 1;225(2):187.e1-187.e14.
65. D'Antonio F, Odibo AO, Prefumo F, Khalil A, Buca D, Flacco ME, *et al.* Weight discordance and perinatal mortality in twin pregnancy: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018 Jul 1;52(1):11–23.
66. Dekalo A, Kogan Z, Herman HG, Marelly C, Yaka C, Schreiber L, *et al.* Fetal growth restriction, neonatal morbidity and placental pathology in dichorionic twins-a comparison of twin-specific versus

- singleton growth charts. *Placenta*. 2023 Sep 7;140:6–10.
67. Baschat AA. Neurodevelopment following fetal growth restriction and its relationship with antepartum parameters of placental dysfunction. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011 May;37(5):501–14.
68. Figueras F, Gratacos E. An integrated approach to fetal growth restriction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2017 Jan 1;38:48–58.
69. Figueras F, Gratacós E. Update on the Diagnosis and Classification of Fetal Growth Restriction and Proposal of a Stage-Based Management Protocol. *Fetal Diagn Ther*. 2014 Aug 1;36(2):86–98.
70. Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, Papageorghiou A, Baschat AA, Baker PN, *et al*. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016 Sep 1;48(3):333–9.
71. Mayhew TM, Manwani R, Ohadike C, Wijesekara J, Baker PN. The Placenta in Pre-eclampsia and Intrauterine Growth Restriction: Studies on Exchange Surface Areas, Diffusion Distances and Villous Membrane Diffusive Conductances. *Placenta*. 2007 Feb;28(2–3):233–8.
72. Egbor M, Ansari T, Morris N, Green CJ, Sibbons PD. Morphometric placental villous and vascular abnormalities in early- and late-onset pre-eclampsia with and without fetal growth restriction. *BJOG*. 2006 May;113(5):580–9.
73. Marasciulo F, Orabona R, Fratelli N, Fichera A, Valcamonico A, Ferrari F, *et al*. Preeclampsia and late fetal growth restriction. *Minerva obstetrics and gynecology*. 2021 Aug 1;73(4):435–41.
74. Crimmins S, Desai A, Block-Abraham D, Berg C, Gembruch U, Baschat AA. A comparison of Doppler and biophysical findings between liveborn and stillborn growth-restricted fetuses. *Am J Obstet Gynecol*. 2014 Dec 1;211(6):669.e1-669.e10.
75. Kwiatkowski S, Bednarek-Jędrzejek M, Ksel J, Tousty P, Kwiatkowska E, Cymbaluk A, *et al*. sFlt-1/PlGF and Doppler ultrasound parameters in SGA pregnancies with confirmed neonatal birth weight below 10th percentile. *Pregnancy Hypertens*. 2018 Oct 1;14:79–85.
76. Griffin M, Seed PT, Webster L, Myers J, Mackillop L, Simpson N, *et al*. Diagnostic accuracy of placental growth factor and ultrasound parameters to predict the small-for-gestational-age infant in women presenting with reduced symphysis–fundus height. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2015 Aug 1;46(2):182.
77. Baschat AA, Gembruch U, Harman CR. The sequence of changes in Doppler and biophysical parameters as severe fetal growth restriction worsens. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001;18(6):571–7.
78. Cosmi E, Ambrosini G, D’Antona D, Saccardi C, Mari G. Doppler, cardiotocography, and biophysical profile changes in growth-restricted fetuses. *Obstetrics and gynecology*. 2005;106(6):1240–5.
79. Baschat AA, Gembruch U, Reiss I, Gortner L, Weiner CP, Harman CR. Relationship between arterial and venous Doppler and perinatal outcome in fetal growth restriction. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2000;16(5):407–13.
80. Baschat AA, Gembruch U, Harman CR. The sequence of changes in Doppler and biophysical parameters as severe fetal growth restriction worsens. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2001;18(6):571–7.
81. Lees C, Marlow N, Arabin B, Bilardo CM, Brezinka C, Derks JB, *et al*. Perinatal morbidity and mortality in early-onset fetal growth restriction: cohort

outcomes of the trial of randomized umbilical and fetal flow in Europe (TRUFFLE). *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013 Oct;42(4):400–8.

82. Ting JY, Kingdom JC, Shah PS. Antenatal glucocorticoids, magnesium sulfate, and mode of birth in preterm fetal small for gestational age. *Am J Obstet Gynecol*. 2018 Feb 1;218(2S):S818–28.

83. Norman M. Incidence of and risk factors for neonatal morbidity after active perinatal care: extremely preterm infants study in Sweden (EXPRESS). *Acta Paediatr*. 2010 Jul;99(7):978–92.

84. Torrance HL, Bloemen MCT, Mulder EJH, Nikkels PGJ, Derks JB, De Vries LS, *et al*. Predictors of outcome at 2 years of age after early intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol* . 2010 Aug;36(2):171–7.

85. Gouyon JB, Iacobelli S, Ferdynus C, Bonsante F. Neonatal problems of late and moderate preterm infants. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2012 Jun;17(3):146–52.

86. Cluver CA, Bergman L, Bergkvist J, Imberg H, Geerts L, Hall DR, *et al*. Impact of fetal growth restriction on pregnancy outcome in women undergoing expectant management for preterm preeclampsia. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2023 Nov 1;62(5):660–7.

87. Rodríguez-Sibaja MJ, Méndez-Piña MA, Lumbreras-Marquez MI, Acevedo-Gallegos S, Velázquez-Torres B, Ramírez-Calvo JA. Intended delivery mode and neonatal outcomes in pregnancies with fetal growth restriction. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2023;36(2).

88. Oros D, Figueras F, Cruz-Martínez R, Meler E, Munmany M, Gratacos E. Longitudinal changes in uterine, umbilical and fetal cerebral Doppler indices in late-onset small-for-gestational age fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol* . 2011 Feb;37(2):191–5.

89. Stampalija T, Thornton J, Marlow N, Napolitano R, Bhide A, Pickles T, *et al*. Fetal cerebral Doppler changes and outcome in late preterm fetal growth restriction: prospective cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2020 Aug 1;56(2):173–81.

90. Bahado-Singh RO, Kovanci E, Jeffres A, Oz U, Deren O, Copel J, *et al*. The Doppler cerebroplacental ratio and perinatal outcome in intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180(3 I):750–6.

91. Cruz-Martínez R, Figueras F, Hernandez-Andrade E, Oros D, Gratacos E. Fetal brain Doppler to predict cesarean delivery for nonreassuring fetal status in term small-for-gestational-age fetuses. *Obstetrics and Gynecology*. 2011 Mar;117(3):618–26.

92. Melamed N, Baschat A, Yinon Y, Athanasiadis A, Mecacci F, Figueras F, *et al*. FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) initiative on fetal growth: Best practice advice for screening, diagnosis, and management of fetal growth restriction. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics*. 2021 Mar 1;152(Suppl 1):3.

93. McCowan LM, Figueras F, Anderson NH. Evidence-based national guidelines for the management of suspected fetal growth restriction: comparison, consensus, and controversy. *Am J Obstet Gynecol*. 2018 Feb 1;218(2S):S855–68.

94. Galan H, Grobman W. ACOG Practice Bulletin No. 204: Fetal Growth Restriction. *Obstetrics and gynecology*. 2019 Feb 1;133(2):E297–E109.

95. Gouin K, Murphy K, Shah PS. Effects of cocaine use during pregnancy on low birthweight and preterm birth: systematic review and metaanalyses. *Am J*

- Obstet Gynecol. 2011;204(4):340.e1-340.e12.
96. Jaddoe VWV, Bakker R, Hofman A, Mackenbach JP, Moll HA, Steegers EAP, *et al.* Moderate alcohol consumption during pregnancy and the risk of low birth weight and preterm birth. The generation R study. *Ann Epidemiol.* 2007 Oct;17(10):834–40.
 97. Han Z, Mulla S, Beyene J, Liao G, McDonald SD. Maternal underweight and the risk of preterm birth and low birth weight: a systematic review and meta-analyses. *Int J Epidemiol.* 2011 Feb;40(1):65–101.
 98. Odibo AO, Nelson D, Stamilio DM, Sehdev HM, Macones GA. Advanced maternal age is an independent risk factor for intrauterine growth restriction. *Am J Perinatol.* 2006 Jul;23(5):325–8.
 99. SEGO. Guías de Asistencia Práctica. Crecimiento intrauterino restringido. 2009.
 100. Townsend R, Khalil A. Fetal growth restriction in twins. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018 May 1;49:79–88.
 101. Chervenak FA, Skupski DW, Romero R, Myers MK, Smith-Levitin M, Rosenwaks Z, *et al.* How accurate is fetal biometry in the assessment of fetal age? *Am J Obstet Gynecol.* 1998;178(4):678–87.
 102. Sueters M, Oepkes D. Diagnosis of twin-to-twin transfusion syndrome, selective fetal growth restriction, twin anaemia-polycythaemia sequence, and twin reversed arterial perfusion sequence. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2014;28(2):215–26.
 103. Valsky D V., Eixarch E, Martinez JM, Crispi F, Gratacós E. Selective intrauterine growth restriction in monochorionic twins: pathophysiology, diagnostic approach and management dilemmas. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010 Dec;15(6):342–8.
 104. Fick AL, Feldstein VA, Norton ME, Wassel Fyr C, Caughey AB, Machin GA. Unequal placental sharing and birth weight discordance in monochorionic diamniotic twins. *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Jul 1;195(1):178–83.
 105. Khalil A, Rodgers M, Baschat A, Bhide A, Gratacos E, Hecher K, *et al.* ISUOG Practice Guidelines: Role of ultrasound in twin pregnancy. Vol. 47, *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology.* John Wiley and Sons Ltd; 2016. p. 247–63.
 106. SEGO. Guías de Asistencia Práctica. Guía práctica consensuada con la sección de Medicina perinatal Sustituye a la guía previa sobre Embarazo múltiple. *Prog Obstet Ginecol.* 2016;59(1):43-57. SEGO.
 107. Embarazo y parto de gestaciones múltiples. *Protocols Medicina Maternofetal Hospital Clinic-Hospital Sant Joan de Déu-Universitar de Barcelona.* Recuperado el 05 Mayo 2024 de: <https://fetalmedicinebarcelona.org/wp-content/uploads/2024/02/gestacionmultiple.pdf>
 108. Townsend R, Khalil A. Twin pregnancy complicated by selective growth restriction. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2016 Nov 13;28(6):485–91.
 109. Lewi L, Deprest J, Hecher K. The vascular anastomoses in monochorionic twin pregnancies and their clinical consequences. *Am J Obstet Gynecol.* 2013 Jan;208(1):19–30.
 110. Fick AL, Feldstein VA, Norton ME, Wassel Fyr C, Caughey AB, Machin GA. Unequal placental sharing and birth weight discordance in monochorionic diamniotic twins. *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Jul;195(1):178–83.
 111. SEGO. Guías de Asistencia Práctica. Gestacion Monocorial. *Prog Obstet Ginecol.* 2020;63(2):123-145. 2016;59(1):43-57.

112. CIRs el gestación monocorial. *Protocols Medicina Maternofetal Hospital Clinic-Hospital Sant Joan de Déu-Universitar de Barcelona*. Recuperado el 05 Mayo 2024 de: <https://fetalmedicinebarcelona.org/wp-content/uploads/2024/02/CIRsengestaciomonocorial.pdf>
113. Sibai BM, Ramadan MK, Usta I, Salama M, Mercer BM, Friedman SA. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). *Am J Obstet Gynecol*. 1993;169(4):1000–6.
114. Martin JN, Rose CH, Briery CM. Understanding and managing HELLP syndrome: the integral role of aggressive glucocorticoids for mother and child. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Oct;195(4):914–34.
115. Sibai BM. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): much ado about nothing? *Am J Obstet Gynecol*. 1990;162(2):311–6.
116. Sibai BM. Imitators of severe preeclampsia. *Obstetrics and Gynecology*. 2007 Apr;109(4):956–66.
117. Fitzpatrick KE, Hinshaw K, Kurinczuk JJ, Knight M. Risk factors, management, and outcomes of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome and elevated liver enzymes, low platelets syndrome. *Obstetrics and gynecology*. 2014;123(3):618–27.
118. Poldre PA. Haptoglobin helps diagnose the HELLP syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1987;157(5):1267.
119. Wilke G, Rath W, Schutz E, Armstrong VW, Kuhn W. Haptoglobin as a sensitive marker of hemolysis in HELLP-syndrome. *Int J Gynaecol Obstet*. 1992;39(1):29–34.
120. Abildgaard U, Heimdal K. Pathogenesis of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count (HELLP): A review. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2013 Feb 1;166(2):117–23.
121. Wallace K, Harris S, Addison A, Bean C. HELLP Syndrome: Pathophysiology and Current Therapies. *Curr Pharm Biotechnol*. 2018 Jul 12;19(10):816–26.
122. Koenen S V., Huisjes AJM, Dings J, Van Der Graaf Y, Visser GHA, Bruinse HW. Is there a diurnal pattern in the clinical symptoms of HELLP syndrome? *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2006 Feb;19(2):93–9.
123. Kappler S, Ronan-Bentle S, Graham A. Thrombotic microangiopathies (TTP, HUS, HELLP). *Emerg Med Clin North Am*. 2014;32(3):649–71.
124. Haram K, Svendsen E, Abildgaard U. The HELLP syndrome: Clinical issues and management. A Review. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2009 Feb 26;9:8.
125. Visser W, Wallenburg HCS. Temporising management of severe pre-eclampsia with and without the HELLP syndrome. *BJOG*. 1995;102(2):111–7.
126. Van Pampus MG, Wolf H, Westenberg SM, Van Der Post JAM, Bonsel GJ, Treffers PE. Maternal and perinatal outcome after expectant management of the HELLP syndrome compared with pre-eclampsia without HELLP syndrome. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 1998 Jan 1;76(1):31–6.
127. O'Brien JM, Barton JR. Controversies with the diagnosis and management of HELLP syndrome. *Clin Obstet Gynecol*. 2005 Jun;48(2):460–77.
128. Cavaignac-Vitalis M, Vidal F, Simon-Toulza C, Boulot P, Guerby P, Chantalat E, *et al*. Conservative versus active management in HELLP syndrome: results from a cohort study. *Journal of*

- Maternal-Fetal and Neonatal Medicine. 2019 Jun 3;32(11):1769–75.
129. Cadoret F, Guerby P, Cavaignac-Vitalis M, Vayssiere C, Parant O, Vidal F. Expectant management in HELLP syndrome: predictive factors of disease evolution. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2021;34(24):4029–34.
130. Yang Q, Wen SW, Phillips K, Oppenheimer L, Black D, Walker MC. Comparison of maternal risk factors between placental abruption and placenta previa. *Am J Perinatol.* 2009 Apr;26(4):279–86.
131. Ananth C V., Cnattingius S. Influence of maternal smoking on placental abruption in successive pregnancies: a population-based prospective cohort study in Sweden. *Am J Epidemiol.* 2007 Aug;166(3):289–95.
132. Tikkanen M, Nuutila M, Hiilesmaa V, Paavonen J, Ylikorkala O. Prepregnancy risk factors for placental abruption. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2006 Jan;85(1):40–4.
133. Brandt JS, Ananth C V. Placental Abruption at Near-Term and Term Gestations: Pathophysiology, Epidemiology, Diagnosis, and Management. *Am J Obstet Gynecol.* 2023 May 1;228(5 Suppl):S1313.
134. Khan S, Chughani G, Amir F, Bano K. Frequency of Abruption Placenta in Women With Pregnancy-Induced Hypertension. *Cureus.* 2022 Jan 23;14(1):e21524.
135. Ananth C V., Peltier MR, Kinzler WL, Smulian JC, Vintzileos AM. Chronic hypertension and risk of placental abruption: is the association modified by ischemic placental disease? *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197(3):273.e1-273.e7.
136. Ananth C V., Lavery JA, Vintzileos AM, Skupski DW, Varner M, Saade G, *et al.* Severe placental abruption: clinical definition and associations with maternal complications. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Feb 1;214(2):272.e1-272.e9.
137. Signore C, Mills JL, Qian C, Yu KF, Rana S, Karumanchi SA, *et al.* Circulating soluble endoglin and placental abruption: PD-08-0098.R1. *Prenat Diagn.* 2008 Sep;28(9):852.
138. Hall DR. Abruption Placentae and Disseminated Intravascular Coagulopathy. *Semin Perinatol.* 2009 Jun;33(3):189–95.
139. Oyelese Y, Ananth C V. Placental abruption. *Obstetrics and gynecology.* 2006 Sep;108(4):1005–16.
140. Downes KL, Grantz KL, Shenassa ED. Maternal, Labor, Delivery, and Perinatal Outcomes Associated with Placental Abruption: A Systematic Review. *Am J Perinatol.* 2017 Aug 1;34(10):935–57.
141. Tikkanen M, Luukkaala T, Gissler M, Ritvanen A, Ylikorkala O, Paavonen J, *et al.* Decreasing perinatal mortality in placental abruption. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2013 Mar;92(3):298–305.
142. Atkinson AL, Santolaya-Forgas J, Blitzer DN, Santolaya JL, Matta P, Canterino J, *et al.* Risk factors for perinatal mortality in patients admitted to the hospital with the diagnosis of placental abruption. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine.* 2015 Mar 1;28(5):594–7.
143. Who: Recommended Definitions, Terminology and Format for Statistical Tables Related to The Perinatal Period And Use of A New Certificate For Cause of Perinatal Deaths. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1977 Jan 1;56(3):247–53.
144. Hamilton BE, Martin JA, Ventura SJ. National Vital Statistics Reports Volume 59 Number 3, December 21, 2010.
145. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of

- preterm birth. *Lancet*. 2008 Jan 5;371(9606):75–84.
146. Martin JA, Brady MPH, Hamilton E, Sutton PD, Ventura SJ, Mathews TJ, *et al*. National Vital Statistics Reports, Volume 59, Number 1, (December 8, 2010).
147. Liu L, Oza S, Hogan D, Chu Y, Perin J, Zhu J, *et al*. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet*. 2016 Dec 17;388(10063):3027–35.
148. Ream MA, Lehwald L. Neurologic Consequences of Preterm Birth. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2018 Aug 1;18(8).
149. Instituto Nacional de Estadística. INEbase / Demografía y población / Fenómenos demográficos / Estadística de nacimientos. Movimiento natural de la población / Últimos datos. Recuperado el 20 Mayo 2024 en https://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/operacion.htm?c=Estadistica_C&cid=1254736177007&menu=ultiDatos&idp=1254735573002.
150. Davidoff MJ, Dias T, Damus K, Russell R, Bettegowda VR, Dolan S, *et al*. Changes in the gestational age distribution among U.S. singleton births: impact on rates of late preterm birth, 1992 to 2002. *Semin Perinatol*. 2006;30(1):8–15.
151. McIntire DD, Leveno KJ. Neonatal mortality and morbidity rates in late preterm births compared with births at term. *Obstetrics and Gynecology*. 2008 Jan;111(1):35–41.
152. SEGO. Guías de Asistencia Práctica. Parto pretérmino. *Prog Obstet Ginecol* 2020;63:283-321.
153. Romero R, Espinoza J, Kusanovic JP, Gotsch F, Hassan S, Erez O, *et al*. The preterm parturition syndrome. *BJOG*. 2006 Dec;113 Suppl 3(Suppl 3):17–42.
154. Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm Labor: One Syndrome, Many Causes. *Science*. 2014 Aug 8;345(6198):760.
155. Renthal NE, Williams KC, Mendelson CR. MicroRNAs--mediators of myometrial contractility during pregnancy and labour. *Nat Rev Endocrinol*. 2013 Jul;9(7):391–401.
156. Gomez-Lopez N, Galaz J, Miller D, Farias-Jofre M, Liu Z, Arenas-Hernandez M, *et al*. The immunobiology of preterm labor and birth: intra-amniotic inflammation or breakdown of maternal-fetal homeostasis. *Reproduction*. 2022 Aug 1;164(2):R11–45.
157. Mahendroo M. Cervical remodeling in term and preterm birth: insights from an animal model. *Reproduction*. 2012 Apr;143(4):429–38.
158. Moore RM, Mansour JM, Redline RW, Mercer BM, Moore JJ. The physiology of fetal membrane rupture: insight gained from the determination of physical properties. *Placenta*. 2006 Nov;27(11–12):1037–51.
159. Menon R, Fortunato SJ. Infection and the role of inflammation in preterm premature rupture of the membranes. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007 Jun;21(3):467–78.
160. Romero R, Gómez R, Chaiworapongsa T, Conoscenti G, Kim JC, Kim YM. The role of infection in preterm labour and delivery. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2001;15(SUPPL. 2):41–56.
161. American College of Obstetricians and Gynecologists, & Committee on Practice Bulletins—Obstetrics (2012). ACOG practice bulletin no. 127: Management of preterm labor. *Obstetrics and gynecology*, 119(6), 1308–1317. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e31825af2f0>.

162. Agrawal V, Hirsch E. Intrauterine infection and preterm labor. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2012 Feb;17(1):12.
163. Behrman RE, Butler AS. Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention. *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention.* 2007 May 23;1–772.
164. Ananth C V., Joseph KS, Oyelese Y, Vintzileos AM. Trends in preterm birth and perinatal mortality among singletons: United States, 1989 through 2000. *Obstetrics and gynecology.* 2005;105(5 Pt 1):1084–91.
165. Chen X, Zhang X, Li W, Li W, Wang Y, Zhang S, *et al.* Iatrogenic vs. Spontaneous Preterm Birth: A Retrospective Study of Neonatal Outcome Among Very Preterm Infants. *Front Neurol.* 2021 Mar 23;12:649749.
166. Loftin RW, Habli M, Snyder CC, Cormier CM, Lewis DF, DeFranco EA. Late Preterm Birth. *Rev Obstet Gynecol.* 2010 Dec 27;3(1):10.
167. Aughey H, Jardine J, Knight H, Gurol-Urganci I, Walker K, Harris T, *et al.* Iatrogenic and spontaneous preterm birth in England: A population-based cohort study. *BJOG.* 2023 Jan 1;130(1):33.
168. Rozenberg P. Universal cervical length screening for singleton pregnancies with no history of preterm delivery, or the inverse of the Pareto principle. *BJOG.* 2017 Jun 1;124(7):1038–45.
169. Butt K, Crane J, Hutcheon J, Lim K, Nevo O. No. 374-Universal Cervical Length Screening. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada.* 2019 Mar 1;41(3):363-374.e1.
170. Van Baaren GJ, Vis JY, Wilms FF, Oudijk MA, Kwee A, Porath MM, *et al.* Predictive value of cervical length measurement and fibronectin testing in threatened preterm labor. *Obstetrics and gynecology.* 2014;123(6):1185–92.
171. Melchor JC, Khalil A, Wing D, Schleussner E, Surbek D. Prediction of preterm delivery in symptomatic women using PAMG-1, fetal fibronectin and pHIGFBP-1 tests: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol .* 2018 Oct 1;52(4):442–51.
172. Committee Opinion No. 455: Magnesium sulfate before anticipated preterm birth for neuroprotection. *Obstetrics and gynecology.* 2010 Mar;115(3):669–71.
173. Costantine MM, Weiner SJ. Effects of antenatal exposure to magnesium sulfate on neuroprotection and mortality in preterm infants: a meta-analysis. *Obstetrics and gynecology.* 2009;114(2 Pt 1):354–64.
174. ACOG Committee on Obstetric Practice. ACOG Committee Opinion No. 475: antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation. *Obstetrics and gynecology.* 2011;117(2 Pt 1):422–4.
175. Gilstrap LC. Antenatal corticosteroids revisited: Repeat courses - National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement, August 17-18, 2000. *Obstetrics and Gynecology.* 2001;98(1):144–50.
176. Rundell K, Panchal B. Preterm Labor: Prevention and Management. *Am Fam Physician.* 2017 Mar 15;95(6):366–72.
177. De Heus R, Mol BW, Erwich JJHM, Van Geijn HP, Gyselaers WJ, Hanssens M, *et al.* Adverse drug reactions to tocolytic treatment for preterm labour: prospective cohort study. *BMJ .* 2009 Mar 6;338(7697).
178. María D, Ortiz Ruiz E, Eréndira M, Ruiz O, Labrador ÁM, Ayala Yáñez R. Uteroinhibidores actuales para el manejo de parto pretérmino. *Trabajo de revisión ANALES MEDICOS.* 2010;55:85–91.
179. Besinger RE, Niebyl JR. The safety and efficacy of tocolytic agents for the treatment of preterm labor. *Obstet Gynecol Surv.* 1990;45(7):415–40.

180. Su LL, Samuel M, Chong YS. Progestational agents for treating threatened or established preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Jan 31;2014(1).
181. Norman JE, Norrie J, Maclennan G, Cooper D, Whyte S, Chowdhry S, *et al*. The Arabin pessary to prevent preterm birth in women with a twin pregnancy and a short cervix: the STOPPIT 2 RCT. *Health Technol Assess (Rockv)*. 2021;25(44).
182. Conde-Agudelo A, Romero R, Nicolaides KH. Cervical pessary to prevent preterm birth in asymptomatic high-risk women: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2020 Jul 1;223(1):42-65.e2.
183. Rana S, Lemoine E, Granger J, Karumanchi SA. Preeclampsia. *Circ Res*. 2019 Mar 29;124(7):1094–112.
184. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, *et al*. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003;111(5):649–58.
185. Herraiz I, Quezada MS, Rodríguez-Calvo J, Gómez-Montes E, Villalaín C, Galindo A. Longitudinal change of sFlt-1/PlGF ratio in singleton pregnancy with early-onset fetal growth restriction. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2018 Nov 1;52(5):631–8.
186. Allen RE, Rogozinska E, Cleverly K, Aquilina J, Thangaratnam S. Abnormal blood biomarkers in early pregnancy are associated with preeclampsia: A meta-analysis. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2014 Nov 1;182:194–201.
187. Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, *et al*. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation*. 2012 Feb 21;125(7):911–9.
188. Parchem JG, Brock CO, Chen HY, Kalluri R, Barton JR, Sibai BM. Placental Growth Factor and the Risk of Adverse Neonatal and Maternal Outcomes. *Obstetrics and gynecology*. 2020 Mar 1;135(3):665–73.
189. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Zeisler H, Calda P, *et al*. New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia. *Hypertension*. 2014 Feb;63(2):346–52.
190. Zeisler H, Llorba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M, *et al*. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med*. 2016 Jan 7;374(1):13–22.
191. NICE. PLGF-based testing to help diagnose suspected preterm pre-eclampsia. *Diagnostics guidance* Published: 27 July 2022. Recuperado el 20 Mayo 2024 de <https://www.nice.org.uk/guidance/dg49/resources/plgfbased-testing-to-help-diagnose-suspected-preterm-preeclampsia-pdf-1053819586501>.
193. Kendall RL, Thomas KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993 Nov 15;90(22):10705–9.
194. Chaiworapongsa T, Romero R, Kim YM, Kim GJ, Kim MR, Espinoza J, *et al*. Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 concentration is elevated prior to the clinical diagnosis of pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2005 Jan;17(1):3–18.
195. De Falco S. The discovery of placenta growth factor and its biological activity. *Exp Mol Med*. 2012;44(1):1–9.
196. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, *et al*.

- Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004 Feb 12;350(7):672–83.
197. 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. *Obstetrics and gynecology*. 2014;124(2 Pt 1):265–73.
 198. Alahakoon TI, Zhang W, Trudinger BJ, Lee VW. Discordant clinical presentations of preeclampsia and intrauterine fetal growth restriction with similar pro- and anti-angiogenic profiles. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014 Dec 1;27(18):1854–9.
 199. Agrawal S, Shinar S, Cerdeira AS, Redman C, Vatish M. Predictive Performance of PlGF (Placental Growth Factor) for Screening Preeclampsia in Asymptomatic Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Hypertension*. 2019 Nov 1;74(5):1124–35.
 200. The Fetal Medicine Foundation. Recuperado el 10 Abril 2024 de: <https://fetalmedicine.org/research/assess/preeclampsia/first-trimester>.
 201. Birdir C, Droste L, Fox L, Frank M, Fryze J, Enekwe A, *et al*. Predictive value of sFlt-1, PlGF, sFlt-1/PlGF ratio and PAPP-A for late-onset preeclampsia and IUGR between 32 and 37 weeks of pregnancy. *Pregnancy Hypertens*. 2018 Apr 1;12:124–8.
 202. Stepan H, Galindo A, Hund M, Schlembach D, Sillman J, Surbek D, *et al*. Clinical Utility of sFlt-1 and PlGF in Screening, Prediction, Diagnosis and Monitoring of Pre-eclampsia and Fetal Growth Restriction. *Obstet Gynecol Surv*. 2023 Aug 1;78(8):451–3.
 203. Chaiworapongsa T, Romero R, Korzeniewski SJ, Cortez JM, Pappas A, Tarca AL, *et al*. Plasma Concentrations of Angiogenic/Anti-Angiogenic Factors Have Prognostic Value in Women Presenting With Suspected Preeclampsia to the Obstetrical Triage Area: A Prospective Study. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014 Jan;27(2):132.
 204. Schoofs K, Grittner U, Engels T, Pape J, Denk B, Henrich W, *et al*. The importance of repeated measurements of the sFlt-1/PlGF ratio for the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction. *J Perinat Med*. 2014 Jan 1;42(1):61–8.
 205. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M, *et al*. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med*. 2016 Jan 7;374(1):13–22.
 206. Peguero A, Herraiz I, Perales A, Melchor JC, Melchor I, Marcos B, *et al*. Placental growth factor testing in the management of late preterm preeclampsia without severe features: a multicenter, randomized, controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*. 2021 Sep 1;225(3):308.e1-308.e14.
 207. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, *et al*. An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;202(2):161.e1-161.e11.
 208. Stepan H, Herraiz I, Schlembach D, Verlohren S, Brennecke S, Chantraine F, *et al*. Implementation of the sFlt-1/PlGF ratio for prediction and diagnosis of preeclampsia in singleton pregnancy: implications for clinical practice. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2015 Mar 1;45(3):241.
 209. Hadlock FP, Harrist RB, Sharman RS, Deter RL, Park SK. Estimation of fetal weight with the use of head, body, and

- femur measurements—A prospective study. *Am J Obstet Gynecol*. 1985 Feb;151(3):333–7.
210. Ferrero A, Maggi E, Giancotti A, Torcia F, Pachi A. Regression formula for estimation of fetal weight with use of abdominal circumference and femur length: a prospective study. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 1994 Nov 1;13(11):823–33.
211. Schild RL, Fell K, Fimmers R, Gembruch U, Hansmann M. A new formula for calculating weight in the fetus of ≤ 1600 g. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004;24:775–80.
212. Milner J, Arezina J. The accuracy of ultrasound estimation of fetal weight in comparison to birth weight: A systematic review. 2018 Feb 7;26(1):32–41.
213. Geerts L, Widmer T. Which is the most accurate formula to estimate fetal weight in women with severe preterm preeclampsia? *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2011 Feb;24(2):271–9.
214. NICHD - Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development. Extremely Preterm Birth Outcomes Tool. Recuperado el Día 25 Abril 2024 de <https://www.nichd.nih.gov/research/supported/EPBO>.
215. Manktelow BN, Seaton SE, Field DJ, Draper ES. Population-based estimates of in-unit survival for very preterm infants. *Pediatrics*. 2013 Feb;131(2).
216. Rodríguez-Calvo J, Villalaín C, Gómez-Arriaga PI, Quezada MS, Herraiz I, Galindo A. Prediction of perinatal survival in early-onset fetal growth restriction: role of placental growth factor. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2023 Feb 1;61(2):181.
217. Herraiz I, Simón E, Gómez-Arriaga PI, Quezada MS, García-Burguillo A, López-Jiménez EA, *et al*. Clinical implementation of the sFlt-1/PlGF ratio to identify preeclampsia and fetal growth restriction: A prospective cohort study. *Pregnancy Hypertens*. 2018 Jul 1;13:279–85.
218. Hong J, Crawford K, Cavanagh E, da Silva Costa F, Kumar S. Prediction of preterm birth in growth-restricted and appropriate-for-gestational-age infants using maternal PlGF and the sFlt-1/PlGF ratio—A prospective study. *BJOG*. 2024;00:1–13.
219. Signore C, Mills JL, Qian C, Yu K, Lam C, Epstein FH, *et al*. Circulating angiogenic factors and placental abruption. *Obstetrics and gynecology*. 2006 Aug;108(2):338–44.
220. Bdolah Y, Lam C, Rajakumar A, Shivalingappa V, Mutter W, Sachs BP, *et al*. Twin pregnancy and the risk of preeclampsia: bigger placenta or relative ischemia? *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198(4):428.e1-428.e6.
221. Hytten F. (1985). Blood volume changes in normal pregnancy. *Clinics in haematology*, 14(3), 601–612.
222. Shinohara S, Sunami R, Kasai M, Yasuda G, Uchida Y. Predictive value of the sFlt-1/PlGF ratio for preeclampsia in twin pregnancies: a retrospective study. *Hypertens Pregnancy*. 2021 Oct 2;40(4):330–5.
223. Dröge L, Herraiz I, Zeisler H, Schlembach D, Stepan H, Küssel L, *et al*. Maternal serum sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies with and without preeclampsia in comparison with singleton pregnancies. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2015 Mar 1;45(3):286–93.
224. Binder J, Palmrich P, Pateisky P, Kalafat E, Kuessel L, Zeisler H, *et al*. The Prognostic Value of Angiogenic Markers in Twin Pregnancies to Predict Delivery Due to Maternal Complications of

- Preeclampsia. Hypertension. 2020 Jul 1;76(1):176–83.
225. 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 Oct 1;10:165–70.
 226. Martínez-Varea A, Martínez-Sáez C, Domenech J, Desco-Blay J, Monfort-Pitarch S, Hueso M, *et al.* sFlt-1/PlGF Ratio at 24 Weeks Gestation in Twin Pregnancies as a Predictor of Preeclampsia or Fetal Growth Restriction. *Fetal Diagn Ther.* 2022 Jul 19;49(4):206–14.
 227. Karge A, Seiler A, Flechsenhar S, Haller B, Ortiz JU, Lobmaier SM, *et al.* Prediction of adverse perinatal outcome and the mean time until delivery in twin pregnancies with suspected pre-eclampsia using sFlt-1/PlGF ratio. *Pregnancy Hypertens.* 2021 Jun 1;24:37–43.
 228. Rana S, Hacker MR, Modest AM, Salahuddin S, Lim KH, Verlohren S, *et al.* Circulating angiogenic factors and risk of adverse maternal and perinatal outcomes in twin pregnancies with suspected preeclampsia. *Hypertension.* 2012 Aug;60(2):451–8.
 229. Ong CYT, Liao AW, Spencer K, Munim S, Nicolaides KH. First trimester maternal serum free beta human chorionic gonadotrophin and pregnancy associated plasma protein A as predictors of pregnancy complications. *BJOG.* 2000;107(10):1265–70.
 230. Smith GCS, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Michael Connor J. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(4):1762–7.
 231. Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, Porter TF, Luthy D, Comstock CH, *et al.* First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: A population-based screening study (The FASTER Trial). *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Oct;191(4):1446–51.
 232. Melchiorre K, Wormald B, Leslie K, Bhide A, Thilaganathan B. First-trimester uterine artery Doppler indices in term and preterm pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008 Aug;32(2):133–7.
 233. Martin AM, Bindra R, Curcio P, Cicero S, Nicolaides KH. Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001;18(6):583–6.
 234. Faupel-Badger JM, McElrath TF, Lauria M, Houghton LC, Lim KH, Parry S, *et al.* Maternal circulating angiogenic factors in twin and singleton pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 May 1;212(5):636.e1-636.e8.
 235. De La Calle M, Delgado JL, Verlohren S, Escudero AI, Bartha JL, Campillos JM, *et al.* Gestational Age-Specific Reference Ranges for the sFlt-1/PlGF Immunoassay Ratio in Twin Pregnancies. *Fetal Diagn Ther.* 2021 Apr 19;48(4):288–96.
 236. Saleh L, Tahitu SIM, Danser AHJ, van den Meiracker AH, Visser W. The predictive value of the sFlt-1/PlGF ratio on short-term absence of preeclampsia and maternal and fetal or neonatal complications in twin pregnancies. *Pregnancy Hypertens.* 2018 Oct 1;14:222–7.
 237. Choi R, Park MJ, Oh Y, Lee SG, Lee EH. Preeclampsia Screening Using the Ratio of Soluble FMS-Like Tyrosine Kinase-1 to Placental Growth Factor

- During Pregnancy in Pregnant Korean Women. *Clin Lab*. 2020;66(9):1893–8.
238. Krotz S, Fajardo J, Ghandi S, Patel A, Keith LG. Hypertensive Disease in Twin Pregnancies: A Review. *Twin Research and Human Genetics*. 2002 Feb 1;5(1):8–14.
239. Grantz KL, Grewal J, Albert PS, Wapner R, D’Alton ME, Sciscione A, *et al*. Dichorionic twin trajectories: the NICHD Fetal Growth Studies. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 Aug 1;215(2):221.e1-221.e16.
240. Rao A, Sairam S, Shehata H. Obstetric complications of twin pregnancies. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2004 Aug [cited 2024 Jan 18];18(4):557–76.
241. Ananth C V., Peltier MR, Chavez MR, Kirby RS, Getahun D, Vintzileos AM. Recurrence of ischemic placental disease. *Obstetrics and gynecology*. 2007 Jul;110(1):128–33.
242. Ananth C V., Vintzileos AM. Ischemic placental disease: epidemiology and risk factors. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2011;159(1):77–82.
243. Gómez O, Figueras F, Fernández S, Bennasar M, Martínez JM, Puerto B, *et al*. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11-41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008 Aug;32(2):128–32.
244. DeMers D, Wachs D. Physiology, Mean Arterial Pressure. 2023 Apr 10. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 30855814.
245. Tan MY, Wright D, Syngelaki A, Akolekar R, Cicero S, Janga D, *et al*. Comparison of diagnostic accuracy of early screening for pre-eclampsia by NICE guidelines and a method combining maternal factors and biomarkers: results of SPREE. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Jun 1;51(6):743–50.
246. Wright D, Syngelaki A, Akolekar R, Poon LC, Nicolaides KH. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal characteristics and medical history. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Jul 1;213(1):62.e1-62.e10.
247. Benkő Z, Wright A, Rehal A, Cimpoca B, Syngelaki A, Delgado JL, *et al*. Prediction of pre-eclampsia in twin pregnancy by maternal factors and biomarkers at 11–13 weeks’ gestation: data from EVENTS trial. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2021 Feb 1;57(2):257–65.
248. Benkő Z, Chaveeva P, De C, Matallana P, Zingler E, Wright D, *et al*. Revised competing-risks model in screening for pre-eclampsia in twin pregnancy by maternal characteristics and medical history. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019;54:617–24.
249. Perales A, Delgado JL, de la Calle M, García-Hernández JA, Escudero AI, Campillos JM, *et al*. sFlt-1/PlGF for prediction of early-onset pre-eclampsia: STEPS (Study of Early Pre-eclampsia in Spain). *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Sep;50(3):373–82.
250. Barton JR, Woelkers DA, Newman RB, Combs CA, How HY, Boggess KA, *et al*. Placental growth factor predicts time to delivery in women with signs or symptoms of early preterm preeclampsia: a prospective multicenter study. *Am J Obstet Gynecol*. 2020 Mar;222(3):259.e1-259.e11.
251. Chappell LC, Duckworth S, Seed PT, Griffin M, Myers J, Mackillop L, *et al*. Diagnostic accuracy of placental growth factor in women with suspected preeclampsia: a prospective multicenter study. *Circulation*. 2013 Nov 5;128(19):2121–31.
252. Griffin M, Seed PT, Duckworth S, North R, Myers J, Mackillop L, *et al*. Predicting delivery of a small-for-

- gestational-age infant and adverse perinatal outcome in women with suspected pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Mar 1;51(3):387–95.
253. Rana S, Schnettler WT, Powe C, Wenger J, Salahuddin S, Cerdeira AS, *et al*. Clinical characterization and outcomes of preeclampsia with normal angiogenic profile. *Hypertens Pregnancy*. 2013;32(2):189–201.
254. Heimberger S, Mueller A, Ratnaparkhi R, Perdigao JL, Rana S. Angiogenic factor abnormalities and risk of peripartum complications and prematurity among urban predominantly obese parturients with chronic hypertension. *Pregnancy Hypertens*. 2020 Apr 1;20:124–30.
255. Chaiworapongsa T, Romero R, Tarca A, Pedro Kusanovic J, Mittal P, Kwon Kim S, *et al*. A subset of patients destined to develop spontaneous preterm labor has an abnormal angiogenic/anti-angiogenic profile in maternal plasma: Evidence in support of pathophysiologic heterogeneity of preterm labor derived from a longitudinal study. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2009 Dec;22(12):1122–39.
256. Sovio U, Gaccioli F, Cook E, Charnock-Jones DS, Smith GCS. Maternal serum levels of soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor at 20 and 28 weeks of gestational age and the risk of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2023 Aug 1;229(2):164.e1-164.e18.
257. Romero R, Jung E, Chaiworapongsa T, Erez O, Gudicha DW, Kim YM, *et al*. Toward a new taxonomy of obstetrical disease: improved performance of maternal blood biomarkers for the great obstetrical syndromes when classified according to placental pathology. *Am J Obstet Gynecol*. 2022 Oct 1;227(4):615.e1-615.e25.
258. Brar HS, Medearis AL, DeVore GR, Platt LD. Maternal and fetal blood flow velocity waveforms in patients with preterm labor: prediction of successful tocolysis. *Am J Obstet Gynecol*. 1988;159(4):947–50.
259. Fonseca E, Yu CKH, Singh M, Papageorghiou AT, Nicolaides KH. Relationship between second-trimester uterine artery Doppler and spontaneous early preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006 Mar;27(3):301–5.
260. Kim YM, Bujold E, Chaiworapongsa T, Gomez R, Yoon BH, Thaler HT, *et al*. Failure of physiologic transformation of the spiral arteries in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189(4):1063–9.
261. Parry S, Carper BA, Grobman WA, Wapner RJ, Chung JH, Haas DM, *et al*. Placental protein levels in maternal serum are associated with adverse pregnancy outcomes in nulliparous patients. *Am J Obstet Gynecol*. 2022 Sep 1;227(3):497.e1.
262. Lim H, Powell S, McNamara HC, Forbes Howie A, Doust A, Bowman ME, *et al*. Placental hormone profiles as predictors of preterm birth in twin pregnancy: A prospective cohort study. *PLoS One*. 2017 Mar 1;12(3).
263. Barinov S V., Di Renzo GC, Belinina AA, Koliado O V., Remneva O V. Clinical and biochemical markers of spontaneous preterm birth in singleton and multiple pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2022;35(25):5724–9.