



PERINATOLOGÍA Y REPRODUCCIÓN HUMANA

www.elsevier.es/rprh



ORIGINAL

Angiopoyetina-1 plasmática en el segundo trimestre como predictor del desarrollo de preeclampsia



E. Reyna-Villasmil*, J. Mejía-Montilla, J. Santos-Bolívar, D. Torres-Cepeda, N. Reyna-Villasmil y A. Fernández-Ramírez

Servicio de Obstetricia y Ginecología, Maternidad Dr. Nerio Beloso, Hospital Central Dr. Urquinaona, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

Recibido el 26 de abril de 2016; aceptado el 18 de noviembre de 2016
Disponible en Internet el 3 de julio de 2017

PALABRAS CLAVE

Angiopoyetina-1;
Preeclampsia;
Predicción

Resumen

Objetivo: Establecer la utilidad de las concentraciones plasmáticas de angiopoyetina-1 en el segundo trimestre como predictor del desarrollo de preeclampsia.

Material y métodos: La investigación fue prospectiva y observacional en 504 pacientes nulíparas con embarazos simples de entre 17 y 20 semanas que acudieron a la consulta prenatal en el Hospital Central Dr. Urquinaona de Maracaibo (Venezuela). Se evaluaron las características generales, las concentraciones plasmáticas de angiopoyetina-1 y la eficacia pronóstica.

Resultados: Los casos fueron 41 embarazadas que desarrollaron preeclampsia (grupo A) y 463 embarazadas fueron consideradas como controles (grupo B). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la edad materna, la edad gestacional y la presión arterial sistólica y diastólica en el momento de la realización de la ecografía ($p = ns$). La edad gestacional en el momento del diagnóstico de preeclampsia en el grupo A fue de 35.0 ± 3.2 semanas. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de angiopoyetina-1 entre las pacientes del grupo A (11.8 ± 2.8 ng/mL) y las pacientes del grupo B (5.9 ± 1.7 ng/mL; $p < 0.0001$). Un valor de corte de 8 ng/mL presentó un valor por debajo de la curva de 0.97 y tiene una sensibilidad del 80.4%, una especificidad del 97.4%, un valor predictivo positivo del 73.3% y un valor predictivo negativo del 98.2%.

Conclusión: Las concentraciones plasmáticas de angiopoyetina-1 en el segundo trimestre pueden predecir el desarrollo de preeclampsia en nulíparas sin otro factor concomitante.

© 2017 Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Publicado por Masson Doyma México S.A. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: sippenbauch@gmail.com (E. Reyna-Villasmil).

KEYWORDS

Angiopietin-1;
Pre-eclampsia;
Prediction

Plasma angiopoietin-1 in the second trimester as a predictor of the development of pre-eclampsia

Abstract

Objective: To establish the usefulness of plasma concentrations of angiopoietin-1 in the second trimester as a predictor of the development of pre-eclampsia.

Material and methods: A prospective and observational study was conducted on 504 nulliparous pregnant women between 17 and 20 weeks gestation who attended the Antenatal Clinic of the Hospital Central Dr. Urquinaona, Maracaibo, Venezuela. An evaluation was made of the general characteristics, plasma angiopoietin-1 concentrations, and prognosis efficacy.

Results: The cases were 41 pregnant women who developed pre-eclampsia (group A), and 463 pregnant women that were considered as controls (group B). No significant differences were found in maternal age, gestational age, and systolic and diastolic blood pressure at the time of the ultrasound evaluation ($p = ns$). Gestational age at the time of pre-eclampsia diagnosis in group A was 35.0 ± 3.2 weeks. Significant differences were found in the plasma angiopoietin-1 concentrations between patients in group A (11.8 ± 2.8 ng/mL) and patients in group B (5.9 ± 1.7 ng/mL; $P < .0001$). A cut-off value of 8 ng/mL had an under the curve value of 0.97, a sensitivity of 80.4%, a specificity of 97.4%, a positive predictive value of 73.3%, and a negative predictive value of 98.2%.

Conclusion: Plasma angiopoietin-1 concentrations in the second trimester could predict the development of pre-eclampsia in nulliparous pregnant women without any other concomitant factor.

© 2017 Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Published by Masson Doyma México S.A. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La preeclampsia, descrita como la presencia de hipertensión y proteinuria de nueva aparición después de las 20 semanas de embarazo, es un desorden multiorgánico específico del embarazo que causa morbilidad materna y fetal¹. La patogénesis es desconocida, pero las investigaciones actuales apuntan a la placentación inadecuada debida a la invasión trofoblástica anormal de los vasos uterinos, al igual que a factores genéticos y epidemiológicos². Se ha propuesto que la inadecuada invasión trofoblástica induce hipoxia placentaria, que lleva a la alteración de los diferentes factores que regulan la vasculogénesis y la angiogénesis³.

La angiogénesis, el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos a partir de los preexistentes, está involucrada en los eventos fisiológicos al igual que en los desórdenes patológicos, incluyendo crecimiento tumoral^{4,5}. El factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) es un estimulador de la angiogénesis y promueve la proliferación y migración de las células endoteliales y la permeabilidad vascular. La cinasa-1 de tirosina similar a FMS soluble, un antagonista del VEGF y del factor de crecimiento placentario, actúa como inhibidor de la angiogénesis⁶.

La familia de las angiopoyetinas (Ang) representa un papel importante en el desarrollo de la vasculatura sanguínea y linfática⁷. La Ang-1 y la Ang-2 se unen al mismo receptor 2 específico de tirosina cinasa de la célula endotelial, el cual es activado por la Ang-1 y bloqueado por la Ang-2^{7,8}. La Ang-1 y la Ang-2, expresadas en la placenta temprana, son fundamentales para el desarrollo vascular placentario⁸. Durante la evolución del embarazo, la

expresión placentaria de Ang-1 aumenta, mientras que las concentraciones de Ang-2 disminuyen⁹⁻¹¹. En las embarazadas con preeclampsia establecida, las concentraciones de Ang-1 están más elevadas comparadas con las de las embarazadas normotensas¹². Sin embargo, existe poca información sobre si la Ang-1 puede ser un marcador confiable para el desarrollo de preeclampsia.

El objetivo de la investigación fue establecer la utilidad de las concentraciones plasmáticas de Ang-1 en el segundo trimestre como predictor del desarrollo de preeclampsia.

Material y métodos

Se realizó una investigación explicativa, prospectiva y longitudinal en pacientes nulíparas con embarazos simples que fueron atendidas en la consulta prenatal ambulatoria del Hospital Central Dr. Urquinaona de Maracaibo (Venezuela), entre enero de 2012 y marzo de 2016. El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del hospital antes del inicio de la investigación y se obtuvo consentimiento por escrito de todas las pacientes.

Se excluyeron las embarazadas con polihidramnios, hemorragia del tercer trimestre (desprendimiento prematuro de placenta, placenta previa), sospecha de restricción del crecimiento intrauterino del feto (circunferencia cefálica, circunferencia abdominal y longitud del fémur menor del percentil 10 de referencia con confirmación posnatal de peso menor al percentil 10 de referencia), síndrome de HELLP, alteraciones de la frecuencia cardíaca fetal, gestaciones múltiples, presencia de infección intrauterina o materna activa, enfermedad hipertensiva crónica

(hipertensión antes de las 20 semanas de embarazo), enfermedad cardíaca, hematológica, hepática, renal o sistémica crónica, diabetes mellitus pre o gestacional, hábito tabáquico, aquellas embarazadas en las cuales no se pudieron obtener muestras de sangre y las que hubieran utilizado medicamentos que alteren la concentración de Ang-1. También se excluyó a las pacientes que se negaron a participar en la investigación.

La preeclampsia se definió como la presión arterial sistólica de 140 mmHg o más, o la presión arterial diastólica de 90 mmHg o más, confirmada por 6 h o más de diferencia, mientras que la proteinuria se definió como 300 mg o más de proteína en una muestra de 24 h, o 1-2 cruces de proteinuria en un examen cualitativo después de las 20 semanas de gestación¹³. La presión sanguínea se midió en posición sedente después de 15 min de descanso usando un esfigmógrafo de mercurio estándar con un manguito de 14 cm. Las presiones arteriales sistólica y diastólica (tomada en relación con el quinto ruido de Korotkoff) se ubicó con relación al punto de 2 mmHg más cercano. El método palpatorio se utilizó para verificar las lecturas auscultatorias de la presión arterial sistólica. Las presiones arteriales sistólica y diastólica se calcularon del promedio de la presión arterial de cada brazo.

Una vez seleccionadas las pacientes para el estudio, se llenó una ficha de recogida de datos que incluyó: identificación de la paciente, antecedentes personales y ginecoobstétricos, control prenatal, edad de gestación (por fecha de la última regla o ecografía del primer trimestre) y concentraciones séricas de Ang-1. La edad gestacional se calculó sobre la fecha de la última menstruación y se corrigió por ultrasonido si las mediciones durante el primer trimestre mostraban una diferencia de más de 7 días. Las muestras de Ang-1 se tomaron entre las 17 y 20 semanas de embarazo para determinar las concentraciones de Ang-1. Todos los embarazos fueron seguidos hasta el parto y se catalogaron de acuerdo con el desarrollo de preeclampsia (casos; grupo A) o no (controles; grupo B).

Las muestras de sangre de la vena antecubital para la determinación se recogieron en el momento de la realización de la evaluación ecográfica. Las muestras coagularon a temperatura ambiente en un tubo con litio/heparina y se almacenaron a -70°C hasta el momento de procesarlas. Posteriormente, fueron centrifugadas a 1.500 rpm durante 10 min luego de 30 min de la toma la muestra y almacenadas con posterioridad a -80°C . La determinación de las concentraciones de Ang-1 fue realizada utilizando una prueba de ELISA (R&D Systems, Inc., EE. UU.). Todas las mediciones se realizaron por duplicado y el promedio fue utilizado como resultado final. La sensibilidad fue $< 10\text{ ng/mL}$. Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron de 4 y 7%, respectivamente.

Los valores obtenidos se presentaron como promedio $\pm$ desviación estándar. Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para comprobar la distribución normal de los datos ($p > 0.05$). La prueba de la t de Student para muestras no relacionadas se utilizó para el análisis de los grupos y para comparar las variables continuas. La precisión de las determinaciones de Ang-1 para la predicción del desarrollo de preeclampsia se presenta en función de la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo. Se utilizó el análisis

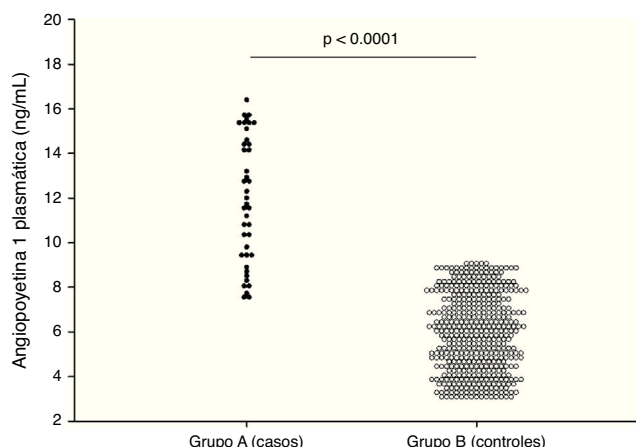


Figura 1 Concentraciones plasmáticas de angiopoyetina-1 en el segundo trimestre en embarazadas que posteriormente desarrollaron preeclampsia frente a embarazadas controles sanas.

operador-receptor para determinar el mejor valor de corte. Se consideró $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

Resultados

Se obtuvieron los resultados de las mediciones de 504 mujeres embarazadas, de las cuales 41 (8.1%) desarrollaron preeclampsia (grupo A) y 463 (91.9%) fueron consideradas como controles (grupo B). Las características generales de los 2 grupos de embarazadas se muestran en la [tabla 1](#). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la edad materna, la edad gestacional y las presiones arteriales sistólica y diastólica en el momento de la realización de la ecografía ($p = \text{ns}$). La edad gestacional en el momento del diagnóstico de preeclampsia en el grupo A fue de 35.0 ± 3.2 semanas. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la edad gestacional en el momento del parto, las presiones arteriales sistólica y diastólica en el momento del parto, la proteinuria de 24 h y el peso del recién nacido al nacer entre los 2 grupos de embarazadas ($p < 0.0001$).

En la [figura 1](#) se muestran los valores de las mediciones biométricas fetales y las concentraciones de Ang-1. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de Ang-1 entre las pacientes del grupo A ($11.8 \pm 2.8\text{ ng/mL}$) y las pacientes del grupo B ($5.9 \pm 1.7\text{ ng/mL}$; $p < 0.0001$).

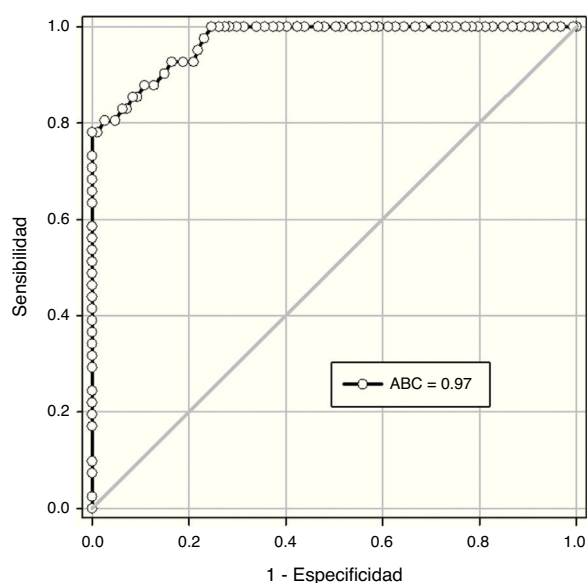
En la [figura 2](#) se muestra la curva operador-receptor para la precisión de las concentraciones de Ang-1 en la predicción de la preeclampsia. Un valor de corte de 8 ng/mL presentó un valor bajo la curva de 0.97 (intervalo de confianza de 95% [IC 95%] 0.94-0.99) y tiene una sensibilidad de 80.4% (IC 95% 65.1-91.1), una especificidad de 97.4% (IC 95% 95.5-98.6), un valor predictivo positivo de 73.3% (IC 95% 58.0-85.4) y un valor predictivo negativo de 98.2% (IC 95% 96.5-99.2). La razón de posibilidad positiva fue de 31.0 (IC 95% 17.5-54.9) y la exactitud pronóstica fue de 96.0%.

Discusión

Los resultados de la presente investigación aportan evidencia de un aumento de las concentraciones de Ang-1 en

Tabla 1 Características generales

	Grupo A Casos (n = 41)	Grupo B Controles (n = 463)	p
Edad materna, años	22.9 ± 2.5	22.6 ± 2.2	ns
Índice de masa corporal, kg/m ²	28.6 ± 4.5	27.2 ± 4.4	ns
Edad gestacional en el momento del examen, semanas	18.3 ± 0.9	18.5 ± 0.8	ns
Presión arterial sistólica en el momento del examen, mmHg	110.5 ± 5.3	111.7 ± 5.1	ns
Presión arterial diastólica en el momento del examen, mmHg	77.5 ± 4.2	77.2 ± 3.8	ns
Edad gestacional en el momento del parto, semanas	35.0 ± 3.2	38.4 ± 1.4	< 0.001
Presión arterial sistólica en el momento del parto, mmHg	139.9 ± 14.4	115.8 ± 7.1	< 0.001
Presión arterial diastólica en el momento del parto, mmHg	98.6 ± 5.7	74.1 ± 7.8	< 0.001
Proteinuria, g/24 h	4.30 ± 1.60	0.24 ± 0.03	< 0.001
Peso del recién nacido al nacer, g	2,757 ± 900	3,595 ± 350	< 0.001

**Figura 2** Curva operador-receptor de las concentraciones plasmáticas de angiopoyetina-1 en la predicción de preeclampsia.

el segundo trimestre en embarazadas nulíparas que posteriormente desarrollan preeclampsia, y que esta tiene una importante capacidad de discriminar entre las embarazadas que desarrollan preeclampsia y las que no.

Las Ang son necesarias para la vasculogénesis y la angiogénesis. El proceso de neovascularización es iniciado por los factores angiogénicos, los cuales tienen un papel crucial en el crecimiento y el desarrollo de la placenta¹⁴. La Ang-1 y el receptor 2 específico de tirosina cinasa son expresados en los pericitos y actúan sobre las células endoteliales vecinas para estabilizar la interacción célula endotelial-pericito y se considera que son importantes para la maduración, la estabilización y la supervivencia endotelial^{15,16}. Los factores que regulan la expresión de la Ang-1 no son completamente comprendidos. La hipoxia regula la expresión del gen de VEGF-A y puede regular la expresión de Ang-1¹⁷.

Varias publicaciones se han enfocado en la importancia de las Ang^{9,14}, las cuales actúan en conjunto con el VEGF. Se ha demostrado que el VEGF es importante para la vasculogénesis, la angiogénesis y el desarrollo de la placenta¹⁸. Geva et al.¹⁰ demostraron que las concentraciones de ARN

mensajero tanto de VEGF como de Ang-1 están aumentadas en la placenta durante el embarazo normal. Seval et al.¹⁴ reportaron que las Ang y sus receptores son cruciales en el desarrollo temprano de la placenta e identificaron la presencia de Ang-1 tanto en células endoteliales como en el sincitiotrofoblasto.

En embarazos complicados por la preeclampsia generalmente se asume que la placenta es hipóxica. Esto se considera así por la reducción del flujo sanguíneo materno al espacio intervelloso, la cual es secundaria a la conversión incompleta de las arterias espirales endometriales por el trofoblasto extraveloso migratorio, el cual no logra invadir los segmentos miometriales de estas arterias^{19,20}. Sin embargo, en ausencia de mediciones directas de la presión parcial de oxígeno en el espacio intervelloso, este aspecto está basado en la determinación de marcadores menores, los cuales se consideran que pueden estar afectados por la presión parcial de oxígeno local. Estos análisis se vuelven más complicados por las diferentes categorías de hipoxia y la sobreagregación de factores adicionales^{19,21}. Desde la perspectiva histomorfométrica, existe dilatación de los capilares fetales sin evidencia de proliferación de los vasos^{21,22}. Estos cambios se cree que son secundarios a la disminución en el área de superficie vellosa total más que a la hipoxia *per se*²¹.

Se ha demostrado previamente que las concentraciones maternas de Ang-1 estaban aumentadas en las preeclápticas con enfermedad establecida¹². Sin embargo, la presente investigación logró demostrar una asociación entre las concentraciones en el segundo trimestre del embarazo y el posterior desarrollo de preeclampsia. Leinonen et al.²³ no pudieron comprobar esta relación, ya que solo una paciente que desarrolló preeclampsia después de las 20 semanas presentó valores elevados de Ang-1. Es posible que el pequeño tamaño del grupo de embarazadas que desarrolló preeclampsia en esa investigación no permitiera establecer una conclusión firme sobre el posible papel de la Ang-1 en la aparición de la preeclampsia.

Para esta investigación se tomó el valor de Ang-1 de 8 ng/mL como punto de corte óptimo, ya que es aquel que minimiza de forma máxima la suma de los errores (falsos positivos + falsos negativos) y verifica el comportamiento de otros estadígrafos como la sensibilidad, la especificidad y el índice de Youden. Otro factor importante es la proporción relativa de la preeclampsia que se pretende discriminar con la prueba, es decir, la prevalencia o probabilidad *a priori* del desarrollo de preeclampsia en la población.

El estudio tiene algunas limitaciones, ya que no fue posible incluir información sobre algunos factores de confusión. Schneuer et al.²⁴ han descrito que la edad materna, la ganancia de peso, el lugar de nacimiento y la condición socioeconómica pueden modificar de forma significativa las concentraciones de algunas de las sustancias angiogénicas, como las Ang y su relación. Por otra parte, esta investigación se limitó solo a pacientes nulíparas sin otras enfermedades asociadas. Se necesitan estudios en un futuro para confirmar los hallazgos de esta investigación en diferentes grupos de embarazadas.

Durante la última década, se han propuesto varios marcadores bioquímicos y biofísicos para predecir qué embarazadas desarrollarán preeclampsia. Se han planteado los factores involucrados en el balance angiogénico como marcadores bioquímicos. Los factores antiangiogénicos y angiogénicos han sido investigados como predictores de preeclampsia, pero no hay suficientes datos sobre estos como pruebas de pesquisa²⁵. Las Ang tienen el potencial de ser marcadores bioquímicos para la preeclampsia ya que son de gran importancia durante la implantación y el desarrollo placentario. Esta investigación ha demostrado que las concentraciones de Ang-1 en el segundo trimestre son útiles para discriminar a las embarazadas que desarrollarán preeclampsia de aquellas que no. Los hallazgos de esta investigación se relacionan con otros datos que describen concentraciones elevadas de factores angiogénicos, antes de las manifestaciones clínicas de la preeclampsia²⁶⁻²⁸. Todos estos datos indican que la alteración del desarrollo vascular placentario y de la función vascular materna está asociada a la alteración del balance entre los factores angiogénicos y antiangiogénicos en las preeclámpticas.

Conclusión

Los hallazgos de la presente investigación permiten concluir que las concentraciones plasmáticas de Ang-1 en el segundo trimestre pueden predecir el desarrollo de preeclampsia en nulíparas sin otro factor concomitante.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Mol BW, Roberts CT, Thangaratinam S, Magee LA, de Groot CJ, Hofmeyr GJ. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2016;387:999-1011.
- Hsu P, Nanan RK. Innate and adaptive immune interactions at the fetal-maternal interface in healthy human pregnancy and pre-eclampsia. *Front Immunol*. 2014;5:125.
- Redman CW. Preeclampsia: A multi-stress disorder. *Rev Med Interne*. 2011;32 Suppl 1:S41-4.
- Maeshima Y, Yerramalla UL, Dhanabal M, Holthaus KA, Barbashev S, Kharbada S, et al. Extracellular matrix-derived peptide binds to alpha(v)beta(3) integrin and inhibits angiogenesis. *J Biol Chem*. 2001;276:31959-68.
- Kawaguchi T, Yamashita Y, Kanamori M, Endersby R, Bankiewicz KS, Baker SJ, et al. The PTEN/Akt pathway dictates the direct alphaVbeta3-dependent growth-inhibitory action of an active fragment of tumstatin in glioma cells in vitro and in vivo. *Cancer Res*. 2006;66:11331-40.
- Hirokoshi K, Maeshima Y, Kobayashi K, Matsuura E, Sugiyama H, Yamasaki Y, et al. Elevated serum sFlt-1/Ang-2 ratio in women with preeclampsia. *Nephron Clin Pract*. 2007;106:c43-50.
- Wu X, Liu N. The role of Ang/Tie signaling in lymphangiogenesis. *Lymphology*. 2010;43:59-72.
- Fukuhara S, Sako K, Noda K, Zhang J, Minami M, Mochizuki N. Angiopoietin-1/Tie2 receptor signaling in vascular quiescence and angiogenesis. *Histol Histopathol*. 2010;25:387-96.
- Zhang EG, Smith SK, Baker PN, Charnock-Jones DS. The regulation and localization of angiopoietin-1, -2, and their receptor Tie2 in normal and pathologic human placentae. *Mol Med*. 2001;7:624-35.
- Geva E, Ginzinger DG, Zaloudek CJ, Moore DH, Byrne A, Jaffe RB. Human placental vascular development: Vasculogenic and angiogenic (branching and nonbranching) transformation is regulated by vascular endothelial growth factor-A, angiopoietin-1, and angiopoietin-2. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:4213-24.
- Tseng JJ, Hsu SL, Ho ES, Hsieh YT, Wen MC, Chou MM. Differential expression of angiopoietin-1, angiopoietin-2, and Tie receptors in placentas from pregnancies complicated by placenta accreta. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194:564-71.
- Nadar SK, Karalis I, Al Yemini E, Blann AD, Lip GY. Plasma markers of angiogenesis in pregnancy induced hypertension. *Thromb Haemost*. 2005;94:1071-6.
- Turner JA. Diagnosis and management of pre-eclampsia: An update. *Int J Womens Health*. 2010;2:327-37.
- Seval Y, Sati L, Celik-Ozenci C, Taskin O, Demir R. The distribution of angiopoietin-1, angiopoietin-2 and their receptors tie-1 and tie-2 in the very early human placenta. *Placenta*. 2008;29:809-15.
- Suri C, Jones PF, Patan S, Bartunkova S, Maisonnier PC, Davis S, et al. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell*. 1996;87:1171-80.
- Eklund L, Olsen BR. Tie receptors and their angiopoietin ligands are context-dependent regulators of vascular remodeling. *Exp Cell Res*. 2006;312:630-41.
- Yamakawa M, Liu LX, Date T, Belanger AJ, Vincent KA, Akita GY, et al. Hypoxia-inducible factor-1 mediates activation of cultured vascular endothelial cells by inducing multiple angiogenic factors. *Circ Res*. 2003;93:664-73.
- Lohela M, Bry M, Tammela T, Alitalo K. VEGFs and receptors involved in angiogenesis versus lymphangiogenesis. *Curr Opin Cell Biol*. 2009;21:154-65.
- Guzin K, Tomruk S, Tuncay YA, Naki M, Sezginsoy S, Zemheri E, et al. The relation of increased uterine artery blood flow resistance and impaired trophoblast invasion in pre-eclamptic pregnancies. *Arch Gynecol Obstet*. 2005;272:283-8.
- Lyall F. Priming and remodelling of human placental bed spiral arteries during pregnancy-A review. *Placenta*. 2005;26 Suppl A:S31-6.
- Mayhew TM. Changes in fetal capillaries during preplacental hypoxia: Growth, shape remodelling and villous capillarization in placenta from high-altitude pregnancies. *Placenta*. 2003;24:191-8.
- Mayhew TM, Ohadike C, Baker PN, Crocker IP, Mitchell C, Ong SS. Stereological investigation of placental morphology in pregnancies complicated by pre-eclampsia with and without intrauterine growth restriction. *Placenta*. 2003;24:219-26.
- Leinonen E, Wathén KA, Alfthan H, Ylikorkala O, Andersson S, Stenman UH, et al. Maternal serum angiopoietin-1 and -2 and tie-2 in early pregnancy ending in preeclampsia or intrauterine growth retardation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:126-33.
- Schneuer FJ, Roberts CL, Ashton AW, Guilbert C, Tasevski V, Morris JM, et al. Angiopoietin 1 and 2 serum concentrations in

- first trimester of pregnancy as biomarkers of adverse pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;210, 345.e1-9.
25. Costa ML. Preeclampsia: Reflections on how to counsel about preventing recurrence. *J Obstet Gynaecol Can*. 2015;37:887-93.
26. Lim JH, Kim SY, Park SY, Yang JH, Kim MY, Ryu HM. Effective prediction of preeclampsia by a combined ratio of angiogenesis-related factors. *Obstet Gynecol*. 2008;111:1403-9.
27. Rana S, Karumanchi SA, Levine RJ, Venkatesha S, Rauh-Hain JA, Tamez H, et al. Sequential changes in antiangiogenic factors in early pregnancy and risk of developing preeclampsia. *Hypertension*. 2007;50:137-42.
28. Romero R, Nien JK, Espinoza J, Todem D, Fu W, Chung H, et al. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2008;21:9-23.