



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 364 314**

51 Int. Cl.:
G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07700392 .9**

96 Fecha de presentación : **17.01.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **1974220**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **01.10.2008**

54 Título: **Detección y predicción de preeclampsia.**

30 Prioridad: **17.01.2006 GB 0600916**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
31.08.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
31.08.2011

73 Titular/es: **PERKINELMER LAS, Inc.**
549 Albany Stret
Boston, Massachusetts 02118, US

72 Inventor/es: **Poston, Lucilla y**
Shennan, Andrew

74 Agente: **Durán Moya, Carlos**

ES 2 364 314 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Detección y predicción de preeclampsia

5 La tecnología descrita en el presente documento se refiere a métodos de detección o predicción de preeclampsia (PE). La tecnología descrita en el presente documento también se refiere a envases comerciales, tales como kits de diagnóstico, para llevar a cabo un método para detectar o predecir la PE.

10 La PE afecta aproximadamente al 4% de todos los embarazos y es una de las causas principales de muerte materna en el Reino Unido, los Estados Unidos y otras naciones. Esta enfermedad, o la amenaza de la aparición, es la causa más común de parto prematuro electivo, representando aproximadamente el 15% de todos los nacimientos prematuros. El Instituto Nacional para la Excelencia Clínica (NICE) del Reino Unido recomienda que las mujeres deben asesorarse sobre el riesgo de la preeclampsia (PE) al inicio del embarazo para permitir ajustar una programación de atención prenatal. Los principios fundamentales para el tratamiento son identificar las mujeres con preeclampsia, de manera que se puede promover una vigilancia adecuada (habitualmente como una paciente hospitalizada) e intervención (normalmente el parto). Existen directrices similares en otras naciones del mundo.

15 La PE se define según las directrices de la Sociedad Internacional para el Estudio de Hipertensión en el Embarazo (Davey y otros, Am. J. Obstet Gynecol; 158: 892-98, 1988) como una hipertensión gestacional con proteinuria (para mujeres previamente normotensas) o PE severa como hipertensión gestacional severa con proteinuria (para mujeres con hipertensión crónica). Para mujeres con hipertensión crónica, la PE superimpuesta se define por el nuevo desarrollo de proteinuria. La hipertensión gestacional se define como dos registros de presión sanguínea diastólica de 90 mm Hg o superior con, como mínimo, 4 horas de diferencia, y una presión severa de 110 mm Hg o superior con, como mínimo, 4 horas de diferencia o un registro de presión sanguínea diastólica de, como mínimo 120 mm Hg.

20 La proteinuria se define como la excreción de 300 mg o más de proteína en 24 horas o dos registros de 2+ o superior en un análisis con tira reactiva de muestras de orina en la mitad de la expulsión o en catéter si no es posible una recogida a las 24 horas. Las mujeres se clasifican como previamente normotensas o con hipertensión crónica antes de las 20 semanas de gestación. De este modo, la detección de PE se lleva a cabo predominantemente utilizando la medición de la presión sanguínea y el análisis de la proteinuria en mujeres embarazadas. Estos procedimientos y el cuidado de las mujeres afectadas y de los niños prematuros implican importantes exigencias sobre los recursos en asistencia sanitaria. La identificación precisa de mujeres con riesgos podría reducir significativamente los costes de la atención prenatal.

25 Aunque no existe un tratamiento ampliamente utilizado para la PE (diferente del parto prematuro), se ha descrito una reducción significativa en la PE en mujeres con alto riesgo administradas con vitamina C y vitamina E desde las 16 semanas de gestación en adelante (véase, Chappell y otros, The Lancet, 354, 810-816, 1999; y Rumbold & Crowther, Vitamin C supplementation in pregnancy (Administración de vitamina C en el embarazo) (Cochrane Review, 2002, actualizado en 2004)). El metanálisis también sugiere que una dosis baja de aspirina es eficaz en la reducción de la incidencia de la PE en un 15% (Duley y otros, Cochrane Review, 2004). Internacionalmente existen en marcha otras pruebas de suplementos de vitamina C y vitamina E. Por lo tanto, es bastante posible que pronto se demuestre que una intervención económica, segura y ampliamente disponible es eficaz.

30 Una identificación más precisa y robusta de mujeres con riesgos reconocería aquellas mujeres que más probablemente se beneficiarían de estas terapias profilácticas. A las mujeres identificadas con un menor riesgo se les proporcionaría una atención prenatal menos intensa y menos cara. Además, una predicción precisa de aquellas mujeres con riesgo de PE permitiría dirigir los recursos de atención sanitaria a aquellas con mayor riesgo y dar lugar a un gran ahorro en los costes de atención sanitaria mediante la reducción de visitas prenatales para aquellas con menor riesgo.

35 No existe un método ampliamente aceptado para la detección o predicción precoz de la PE. El incremento de la presión sanguínea y la detección de proteína en la orina aparecen cuando el proceso de la enfermedad está bien establecido, tal como se ha indicado anteriormente. La detección de una anomalía del flujo sanguíneo hacia la arteria uterina mediante ultrasonido Doppler en mujeres que posteriormente desarrollan PE ha tenido una cierta utilización predictiva, aunque se ha observado que esta anomalía es relativamente no específica y por esta razón no se ha adoptado en la práctica clínica rutinaria.

40 Aunque se ha observado que algunos marcadores bioquímicos en plasma/orina son anormales en el proceso de la enfermedad, no se ha demostrado que ningún marcador individual tenga una sensibilidad adecuada para la utilización como indicador predictivo. Por ejemplo, se ha propuesto la utilización de factor de crecimiento de placenta (PLGF) solo como indicador predictivo de PE, pero el poder predictivo de este marcador no se podía determinar con certeza. Por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO 98/28006 sugiere detectar el PGLF solo o combinado con el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) a efectos de predecir el desarrollo de la PE.

45 Además, anteriormente se ha publicado el efecto de la administración de vitaminas en la relación PAI-1/PAI-2 de la sangre materna (Chappell et al, 1999, Lancet, 354, 810-816) y otros autores han documentado una relación PAI-1/PAI-2 aumentada en PE establecida (Reith y otros, 1993, British Journal of Obstetrics and Gynaecology, 100,

370-4) y una PAI-1 elevada en mujeres que posteriormente desarrollaron PE (Halligan y otros, 1994, British Journal of Obstetrics and Gynaecology, 101, 488-92). Se ha observado que el PLGF se reduce en mujeres con PE establecida (Torry y otros, 1998, American Journal of Obstetrics and Gynaecology, 179, 1539-44) y se sugiere que es inferior antes del inicio de la enfermedad. Se ha observado que la leptina aumenta con la gestación en mujeres embarazadas normales (Highman y otros, 1998, American Journal of Obstetrics and Gynaecology, 178, 1010-5). Se ha observado también que la leptina aumenta incluso más en PE establecida, habiéndose publicado el primer artículo por Mise y otros, Journal of Endocrinology and Metabolism, 83, 3225-9, 1998. Además, Anim-Nyame y otros, Hum. Reprod., 15, 2033-6, 2000, indican que el incremento de las concentraciones de leptina antes de la PE es clínicamente evidente. Este descubrimiento está apoyado por Chappell y otros, (American Journal of Obstetrics and Gynecology 2002; 187(1): 127-36), donde también se indica que la administración de vitaminas reduce la leptina en plasma en mujeres con riesgo de PE.

Kolben y otros, (Gynäkol Geburtshilfliche Rundsch, 1995; 35 (Suppl. 1): 126-131) identificaron que las concentraciones de PAI-1 en plasma en mujeres embarazadas con PE fueron significativamente superiores que en embarazos normales y las concentraciones de MMP-9 en extractos de tejido de placenta fueron inferiores en PE que en embarazos normales.

Serin y otros, (European Journal of Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Biology 2002; 100(2): 143-145) hallaron que los niveles de TNF- α en plasma fueron superiores en pacientes con PE que en mujeres normotensas en el tercer trimestre de embarazo. Se concluyó que la determinación de TNF- α puede ser útil para predecir la PE al principio del tercer trimestre, pero no en el primer y segundo trimestres.

En una revisión de PE por Shennan y otros, (Contemporary Clinical Gynaecology and Obstetrics 2001; 1(4): 353-364), se mencionaron varias pruebas predictivas para la PE que incluían medir la presión sanguínea, valoración Doppler de la circulación uteroplacental, la prueba de sensibilidad a Angiotensina 2, medir el ácido úrico, plaquetas, volumen de plasma, concentración de hemoglobina, marcadores de activación endotelial, gonadotropina coriónica humana en el segundo trimestre y alfa feto-proteína en suero materno. Sin embargo, se dice que la especificidad y sensibilidad de estas pruebas es cuestionable.

En la solicitud de patente internacional WO 02/37120 y Chappell y otros, (American Journal of Obstetrics and Gynecology 2002; 187(1): 127-36) se describe una prueba predictiva para PE con buena sensibilidad y especificidad. La prueba se basa en marcadores sanguíneos específicos, concretamente PLGF, combinados con, como mínimo, uno de PAI-2, la proporción de PAI-1 con respecto a PAI-2 y leptina. Por ejemplo, se obtuvieron resultados que proporcionan un 80% de sensibilidad para un 88% de especificidad a las 24 semanas de gestación utilizando el algoritmo $\log_e(\text{PLGF}) - 3 * (\text{PAI-1}/\text{PAI-2})$.

Se ha descubierto ahora que ciertas combinaciones de marcadores bioquímicos con o sin marcadores hemodinámicos proporcionan un método mejorado para la predicción de PE. En particular, las combinaciones que incluyen dos o más de los marcadores bioquímicos especificados, y opcionalmente uno o más marcadores bioquímicos y/o uno o más marcadores hemodinámicos, son efectivas como detectores o agentes de predicción precoces de la PE.

La tecnología descrita en el presente documento proporciona métodos de predicción de la preeclampsia mediante la determinación de los niveles de marcadores bioquímicos. En un aspecto, un método de predecir la preeclampsia (PE) implica determinar en una muestra materna obtenida de una paciente el nivel de receptor 1 del factor de necrosis tisular alfa soluble (sTNF α R1) y la Matriz Metaloproteínasa-9 (MMP-9). En otro aspecto, un método de predecir la PE implica determinar en una muestra materna obtenida de una paciente el nivel de sTNF α R1 y factor de crecimiento placentar (PLGF).

Se ha descubierto que realizando las determinaciones indicadas anteriormente, es posible determinar con una elevada especificidad y sensibilidad si es probable que una paciente desarrolle PE. La especificidad se define como la proporción de verdaderos negativos (mujeres que no desarrollarán PE) identificados como negativos en el método. La sensibilidad se define como la proporción de verdaderos positivos (mujeres que no desarrollarán PE) identificados como positivos en el método.

La presencia de muescas diastólicas en la forma de la onda de la arteria urinaria es predictiva para PE. Valores elevados de presión sanguínea sistólica y diastólica (SBF y DBP) y la presión arterial promedio (MAP) también son indicativos de la PE posterior. De este modo, un método para predecir la PE utilizando uno o más marcadores bioquímicos puede incluir adicionalmente medir una o más variables hemodinámicas. La variable hemodinámica puede ser cualquier parámetro o anomalía asociados con PE. Por ejemplo, la variable hemodinámica puede ser cualquier parámetro o anomalía de la forma de la onda de la arteria uterina obtenida de la paciente, tal como muesca diastólica o un índice de resistencia anormal (por ejemplo, un índice de resistencia anormal (RI) o índice de pulsatilidad (PI)). La variable hemodinámica puede ser la presión sanguínea, tal como la presión sanguínea sistólica (SBP), la presión sanguínea diastólica (DBP), o la presión sanguínea promedio (DBP), o la presión arterial promedio (MAP, definida como $\text{DBP} + (\text{SBP}-\text{DBP})/3$). Por ejemplo, se pueden determinar la presión sanguínea sistólica (SBP), la presión sanguínea diastólica (DBP), o la presión arterial promedio (MAP, definida como $\text{DBP} + (\text{SBP}-\text{DBP})/3$) de la

paciente. La presión sanguínea de la paciente se puede determinar utilizando cualquier técnica no quirúrgica conocida que permite una determinación precisa de la presión sanguínea de la paciente. Mediante la determinación adicional de la presión sanguínea de la paciente, se mejoran adicionalmente la especificidad y sensibilidad del método. La presión sanguínea de la paciente se puede determinar a partir de la revisión o análisis de los datos de presión sanguínea obtenidos de la paciente.

El método para predecir la PE descrito en el presente documento puede incluir adicionalmente determinar la presencia de una muesca diastólica en una forma de la onda de la arteria urinaria obtenida de la paciente. Determinando adicionalmente la presencia de una muesca diastólica, se pueden mejorar adicionalmente la especificidad y sensibilidad del método. La forma de la onda de la arteria uterina se puede obtener mediante cualquier método adecuado, por ejemplo, mediante Ultrasonido Doppler.

Se ha encontrado que las combinaciones específicas mencionadas anteriormente son particularmente útiles para determinar si es probable que una paciente desarrolle PE. Se ha observado también que midiendo los marcadores mencionados más arriba y determinando opcionalmente las mediciones de la forma de la onda de la arteria uterina y/o la presión sanguínea, es posible determinar con una elevada especificidad y sensibilidad si es probable que un individuo desarrolle PE.

Se ha encontrado que en pacientes que posteriormente desarrollaron PE, aumentó el nivel de sTNF α R1. Se observó que el nivel de MMP-9 se reducía en dichas mujeres. El factor de crecimiento de placenta (PLGF) no mostró el aumento pronunciado observado en embarazos sanos. También se observó que el PAI-2 se reducía en dichas mujeres. Se observó que los niveles de leptina, PAI-1 e ICAM aumentaron en dichas mujeres.

Las combinaciones de los marcadores demostraron ser altamente sensibles y específicos para la predicción de la PE. En particular, se ha encontrado que las combinaciones que incluyen MMP-9 y sTNF α R1, ya sean por sí solos o con otros biomarcadores, o con mediciones hemodinámicas (por ejemplo, muesca diastólica o presión sanguínea) son agentes de predicción altamente sensibles y específicos de la posterior PE. En dichas combinaciones, un sTNF α R1 elevado y una MAP-9 baja proporcionan una predicción positiva, opcionalmente con uno o más de PLGF bajo, PAI-2 bajo, SBP aumentada, DBP aumentada, MAP aumentada y presencia de muesca diastólica.

En el análisis de las combinaciones descritas anteriormente, se ha observado que para mujeres que desarrollarán la PE (es decir, la predicción es positiva), no existe un incremento en el nivel de PLGF con gestación, mientras que el PLGF normalmente aumenta con la gestación; y se reduce el nivel de MMP-9.

De este modo, los métodos para predecir la PE descritos en la presente invención pueden incluir adicionalmente determinar en una muestra materna obtenida de una paciente, el nivel de uno o más marcadores adicionales, por ejemplo, uno o más del PLGF total, leptina, el inhibidor-1 del activador de plasminógeno (PAI-1), sTNF α R1, MMP-9 y la molécula-1 de adhesión intercelular (ICAM). Se ha encontrado que uno o más de estos marcadores adicionales son útiles para mejorar la especificidad y la sensibilidad del método. Como ejemplo, un método en el que se determinan los niveles de sTNF α R1 y MMP-9 puede incluir adicionalmente determinar el nivel de inhibidor-2 del activador de plasminógeno (PAI-2) en la muestra materna. Mediante la determinación adicional de la presencia de PAI-2, se pueden mejorar adicionalmente la especificidad y la sensibilidad del método. A continuación se describen ejemplos específicos de combinaciones de marcadores.

La tecnología descrita en el presente documento da a conocer un método para predecir la PE que incluye determinar en una muestra materna obtenida de una paciente el nivel de receptor 1 del factor de necrosis tisular alfa soluble (sTNF α R1) y Matriz Metaloproteinasas-9 (MMP-9) y determinar la presencia de una muesca diastólica en una forma de onda de la arteria uterina obtenidas de la paciente, en el que un sTNF α R1 elevado, una MMP-9 baja y la presencia de una muesca diastólica proporcionan una predicción positiva.

Otro método que se da a conocer mediante la tecnología incluye determinar en una muestra materna obtenida de una paciente el nivel de receptor 1 del factor de necrosis tisular alfa soluble (sTNF α R1) y el factor de crecimiento de placenta (PLGF), en el que un sTNF α R1 elevado y un PLGF bajo proporcionan una predicción positiva. Si se desea, el método puede incluir además determinar la presencia de una muesca diastólica en una forma de onda de arteria uterina obtenida de la paciente, en el que un sTNF α R1 elevado y un PLGF bajo y la presencia de una muesca diastólica proporcionan una predicción positiva.

La tecnología da a conocer un método para predecir la PE que incluye determinar en una muestra materna obtenida de una paciente el nivel de receptor 1 del factor de necrosis tisular alfa soluble (sTNF α R1), Matriz Metaloproteinasas-9 (MMP-9) y PLGF, en el que un sTNF α R1 elevado, una MMP-9 baja y un PLGF bajo proporcionan una predicción positiva.

También se da a conocer un método para predecir la PE que incluye determinar en una muestra materna obtenida de una paciente el nivel de receptor 1 del factor de necrosis tisular alfa soluble (sTNF α R1), Matriz Metaloproteinasas-9 (MMP-9) e inhibidor-2 del activador de plasminógeno (PAI-2), en el que un sTNF α R1 elevado, una MMP-9 baja y un PAI-2 bajo proporcionan una predicción positiva.

También se proporciona un método para predecir la PE que incluye determinar en una muestra materna obtenida de una paciente el nivel de receptor 1 del factor de necrosis tisular alfa soluble (sTNF α R1), Matriz Metaloproteinasa-9 (MMP-9) y determinar la presión de sangre sistólica (SBP) de la paciente, en el que un sTNF α R1 elevado, una MMP-9 baja y una SBP elevada proporcionan una predicción positiva. Alternativamente, o adicionalmente, a determinar SBP, el método puede implicar determinar la presión arterial promedio (MAP) de la paciente, en el que un sTNF α R1 elevado, una MMP-9 baja y una MAP elevada proporcionan una predicción positiva.

La tecnología descrita en el presente documento da a conocer un método para predecir la PE que incluye determinar en una muestra materna obtenida de una paciente el nivel de receptor 1 del factor de necrosis tisular alfa soluble (sTNF α R1), Matriz Metaloproteinasa-9 (MMP-9) y otro marcador. Por ejemplo, el otro marcador puede ser leptina, en el que un sTNF α R1 elevado, una MMP-9 baja y una leptina elevada proporcionan una predicción positiva. Como otro ejemplo, el marcador puede ser el PLGF total, en el que un sTNF α R1 elevado, una MMP-9 baja y un PLGF total bajo proporcionan una predicción positiva. Como ejemplo adicional, el marcador puede ser el inhibidor-1 del activador de plasminógeno (PAI-1), en el que un sTNF α R1 elevado, una MMP-9 baja y un PAI-1 elevado proporcionan una predicción positiva. Como otro ejemplo, el marcador puede ser la ICAM, en el que un sTNF α R1 elevado, una MMP-9 baja y una ICAM elevada proporcionan una predicción positiva.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "predicción" cuando se utiliza en referencia a la preeclampsia significa determinar la probabilidad, riesgo o valoración de la posibilidad de desarrollo de la preeclampsia en un individuo mujer durante el embarazo. El término incluye detectar precozmente la PE.

Una muestra materna tomada de una mujer embarazada puede ser cualquier muestra a partir de la cual es posible medir los marcadores mencionados anteriormente. Por ejemplo, la muestra puede ser sangre. Otros tipos de muestras de ejemplo incluyen suero, otras fracciones de la sangre y la orina. Los niveles de biomarcadores también se pueden determinar en células maternas, por ejemplo, células recogidas de un fluido corporal o una muestra tejida, tales como células citrofoblastos y sincitiotrofoblastos. Las muestras maternas se pueden tomar en cualquier instante a partir de aproximadamente las 10 semanas de gestación. Por ejemplo, la muestra se puede tomar entre las 12 y las 38 semanas de gestación o entre 20 y 36 semanas. Además, la muestra materna se puede tomar durante uno o más de los siguientes instantes: 11-14 semanas de gestación; 15-17 semanas de gestación; 19-21 semanas de gestación; y 23-35 semanas de gestación.

El receptor 1 del factor de necrosis tisular alfa soluble (sTNF α R1) es un término estándar bien conocido para los expertos en la materia. En particular, la secuencia de la forma humana de sTNF α R1 se proporciona en la base de datos de proteínas del NCBI bajo el número de acceso GI:339750, versión AAA61201.1. Véase también Fuchs y otros, Genomics, 13, 219-224, 1992. Existen numerosas maneras de detectar el sTNF α R1, incluyendo el ensayo ELISA disponible comercialmente de R&D Systems. Cabe indicar que los términos "factor de necrosis tisular" y "factor de necrosis tumoral" se pueden utilizar indistintamente.

La matriz metaloproteinasa-9 (MMP-9) es un término estándar bien conocido por los expertos en la materia. En particular, la secuencia de la forma humana de MMP-9 se proporciona en la base de datos de proteínas del NCBI bajo el número de acceso GI:74272287, versión NP_004985.2. Existen numerosas maneras de detectar la MMP-9 incluyendo el ELISA de MMP-9 disponible comercialmente de Oncogene Research Products™.

El factor de crecimiento de placenta (PLGF) es un término estándar utilizado en la técnica y se refiere a la forma libre hallada en un individuo mujer a menos que se indique lo contrario. La secuencia de aminoácidos del PLGF humano es conocida (véase la base de datos de proteínas NCBI, número de acceso no. XP_040405, +. GI:20149543, versión NP_002623.2). Existen numerosos métodos para detectar el PLGF incluyendo el inmunoensayo de PLGF Humano Quantikine disponible comercialmente de R&D Systems Inc.

El PLGF libre se refiere al PLGF que no está en un complejo con ninguna otra proteína. La forma unida de PLGF se refiere al PLGF que es un complejo con una o más proteínas, por ejemplo, FITI. El inhibidor-2 de activador de plasminógeno (PAI-2) es un término estándar utilizado en la técnica y está claro para los expertos en la materia. En particular, la secuencia de la forma humana de PAI-2 está disponible en la base de datos de proteínas del NCBI bajo el número de acceso GI:1567409, versión CAA02099.1. Existen numerosos métodos para detectar PAI-2 incluyendo el kit de PAI-2 Tinti Elize disponible comercialmente de Biopool International.

El inhibidor-1 del activador de plasminógeno (PAI-1) es un término estándar utilizado en la técnica y está claro para los expertos en la materia. En particular, la secuencia de la forma humana de PAI-1 está disponible en la base de datos de proteínas del NCBI bajo el número de acceso GI:189542, versión AAA60003.1. Véase también Ginsburg y otros, J. Clin. Invest., 78, 1673-1680, 1986. Existen numerosos métodos para detectar el PAI-1 incluyendo el kit de PAI-1 Tinti Elize disponible comercialmente de Biopool International.

La leptina es un término estándar utilizado en la técnica y está claro para los expertos en la materia. En particular, la secuencia de la forma humana de leptina está disponible en la base de datos de proteínas del NCBI bajo el número

de acceso GI:66474463, versión AAY46797.1. Existen numerosos métodos para detectar la leptina incluyendo los ensayos Auto Delfia.

5 La molécula 1 de adhesión intercelular (ICAM) es un término utilizado en la técnica y está claro para los expertos en la materia. En particular, la secuencia de la forma humana de ICAM en dos isoformas está disponible en la base de datos de proteínas del NCBI bajo el número de acceso GI:33340673, versión AAQ14901.1 y el número de acceso GI:33340675, versión AAQ14902.1. Existen numerosos métodos para detectar ICAM incluyendo ensayos Auto Delfia.

10 Para evitar dudas, las secuencias específicas de los marcadores mencionados anteriormente se definen con respecto a la presente versión en la base de datos en la fecha de prioridad de la presente solicitud.

15 Las secuencias específicas de los marcadores son de ejemplo. Los expertos en la materia entenderán que existen variantes polimórficas en la población humana. Dichas variantes polimórficas difieren sólo en general en algunos aminoácidos (por ejemplo, 1 a 5 ó 1 a 3 aminoácidos). La muesca diastólica es un término estándar bien conocidos por los expertos en la materia. En particular, el término se refiere al descenso en la fase diastólica temprana de la forma de onda de la arteria uterina que se ha asociado con un resultado anormal posterior del embarazo que incluye la preeclampsia (Chien y otros, BJOG., 2000, 107(2), 196-208). La muesca diastólica puede ser persistente en la forma de la onda Doppler de la arteria uterina de mujeres embarazadas con riesgo de varios resultados anormales diferentes en el embarazo. La presencia de la muesca diastólica sola no es indicativa de PE.

20 Tal como se ha indicado anteriormente, la forma de la onda de la arteria uterina se puede medir utilizando ultrasonidos Doppler. El uso de ultrasonidos Doppler para medir la forma de la onda de la arteria uterina es bien conocida por los expertos en la materia (Chien y otros BJOG. 2000; 107 (2): 196-208).

25 La forma de la onda de la arteria uterina se puede medir en cualquier instante a partir de aproximadamente las 10 semanas de gestación. Por ejemplo, la medición se puede realizar a partir de las 12 semanas de gestación o entre las 20 y 25 semanas.

30 Los métodos para realizar inmunoensayos son bien conocidos por los expertos en la materia, y existen muchos sistemas comerciales disponibles para realizar y detectar los resultados de los inmunoensayos. Como ejemplo, los sistemas AUTODELFIA® y DELFIA® (PerkinElmer) son sistemas automatizados diseñados específicamente y optimizados para realizar inmunoensayos. Tal como se entenderá, los marcadores se pueden detectar utilizando cualquier método adecuado.

35 La presión sanguínea de una paciente, tal como la presión sanguínea sistólica (SBP), presión sanguínea diastólica (DBP) o la presión arterial promedio (MAP, definida como $DBP + (SBP-DBP)/3$), se pueden determinar utilizando el dispositivo oscilométrico de seguimiento de la presión sanguínea Microlife BP 3BTO-A, el cual está disponible de Microlife, Reino Unido. Éste se ha validado para la utilización en un embarazo normotenso, HBP no proteinúrica y preeclampsia según el protocolo modificado de la Sociedad Británica de Hipertensión (Cuckson y otros, Blood Pressure Monitoring, 2002, 7(6), 319-324).

40 A efectos de determinar si el nivel de los marcadores a los que se ha hecho referencia anteriormente es superior (elevado) o inferior (menor) al normal, se determina habitualmente el nivel normal de la población relevante de mujeres embarazadas. La población relevante se puede definir en base, por ejemplo, a la base étnica o cualquier otra característica que pueda afectar a los niveles normales de los marcadores. La población relevante para establecer el nivel normal de los marcadores se elige, por ejemplo, en base a un riesgo bajo de PE (es decir, sin marcador de riesgo conocido para PE, tal como PE previa, diabetes, hipertensión anterior, etc.). Una vez se conocen los niveles normales, se pueden comparar los niveles medidos y determinar la significación de la diferencia utilizando métodos estadísticos estándar. Si existe una diferencia sustancial entre el nivel medido y el nivel normal (es decir, una diferencia estadísticamente significativa), entonces existe un riesgo clínicamente importante de que el individuo mujer del que se han medido los niveles desarrollará la PE. Este riesgo se puede cuantificar y expresar como un porcentaje mediante la utilización de proporciones de probabilidad.

45 Por ejemplo, la determinación del riesgo puede incluir la determinación del valor de la desviación estándar para cada marcador y la medición (a excepción de la presencia o ausencia de una muesca diastólica), en base a la distribución de los valores observados en mujeres embarazadas sanas de la misma gestación que no continúan con el desarrollo de la PE. La determinación puede incluir adicionalmente combinar los valores de desviación estándar en un único agente de predicción combinado, en base a la regresión logística o a un modelo multivariado de la distribución normal, o algún otro método estadístico apropiado.

50 En particular, se establecen intervalos normales para cada marcador a lo largo de la gestación, utilizando el subgrupo de Riesgo Estándar (Apéndice 1). Para este objetivo, cada valor se trata como una observación independiente. A continuación, se expresan los resultados como Valores de Desviación Estándar (valores z), que muestran cuánta desviación estándar existe de cada resultado con respecto al valor esperado en esa gestación. Los

ajustes se realizan para no normalidad y los cambios tanto en la media como en la desviación estándar a lo largo de la gestación.

5 En un aspecto de los métodos de predicción descritos en el presente documento, los valores Z, derivados de los marcadores descritos en el apéndice 2, se pueden combinar utilizando los algoritmos descritos en el apéndice 3 (todos derivados de regresión logística).

10 El nivel de sensibilidad y especificidad se puede alterar modificando el nivel en el que se considera que una paciente presenta riesgo de PE. En algunas situaciones, por ejemplo, cuando se criban grandes cantidades de mujeres con un riesgo bajo de presentar PE, es importante tener una especificidad elevada. En otras situaciones, puede ser importante tener un equilibrio entre una sensibilidad y una especificidad elevadas, por ejemplo, cuando se consideran mujeres individuales con un riesgo elevado de presentar PE es necesario un equilibrio entre una sensibilidad y especificidad elevadas. La tabla 2 muestra la acción de numerosas combinaciones de marcadores en base a fijar la especificidad en un 95% (tasa de falsos positivos = 5%), 90% (tasa de falsos positivos = 10%) y 85% (tasa de falsos positivos = 15%).

20 La tecnología descrita en el presente documento ofrece muchas ventajas. Además de facilitar un reconocimiento preciso de las intervenciones, por ejemplo, suplementos de vitaminas, se puede esperar un considerable ahorro en recursos de atención sanitaria debido a la estratificación de la atención prenatal y reducir los costes de la atención neonatal especial. En el área de investigación y desarrollo, la identificación de pacientes con un riesgo elevado facilitará ampliamente futuras pruebas clínicas. Actualmente, debido a los métodos de predicción inadecuados, una gran cantidad de mujeres embarazadas reciben innecesariamente intervenciones en pruebas clínicas.

25 El método descrito anteriormente se puede llevar a cabo conjuntamente con otras pruebas para determinar indicadores de diagnóstico, tales como los niveles de ácido úrico, etc.

30 El método se puede utilizar también a efectos de controlar la eficiencia de un tratamiento profiláctico para evitar el desarrollo de PE, en el que una reducción en el riesgo de desarrollar PE será indicativa de la acción del tratamiento profiláctico.

35 Previamente se ha observado que más de veinte marcadores bioquímicos están asociados con una PE establecida y no habría una razón previa lógica para elegir la combinación específica de marcadores y mediciones dadas a conocer en la presente invención en cualquier estudio longitudinal de prospección para la valoración de la utilización como indicadores predictivos.

40 Aunque no según la presente invención, un envase comercial, tal como un kit de investigación o diagnóstico para llevar a cabo el método descrito en la presente invención, puede incluir reactivos útiles para determinar el nivel de los marcadores para detectar o predecir la PE. Entre los agentes adecuados para analizar los marcadores se incluyen anticuerpos y otras moléculas de unión a diana, reactivos de inmunoensayo unido a enzima, reactivos de RIA y reactivos para transferencia Western. EL kit también puede incluir un aparato para medir la forma de la onda de la arteria uterina, por ejemplo, un aparato de ultrasonidos Doppler. El kit puede incluir también un aparato para medir la presión sanguínea de la paciente. El kit también puede incluir un ordenador programado con un algoritmo para calcular el riesgo de la paciente de desarrollar PE, instrucciones y otros elementos útiles para llevar a cabo el método descrito en el presente documento.

45 Los métodos y envases comerciales descritos en el presente documento pueden ser útiles para detectar o predecir trastornos o síndromes asociados al embarazo con una etiología y/o síntomas similares a la preeclampsia. Entre dichos trastornos o síndromes relacionados con preeclampsia se incluyen, por ejemplo, la hipertensión inducida por el embarazo, síndrome HELLP, retraso del crecimiento intrauterino y gestosis superimpuesta.

50 Los aspectos particulares de esta tecnología se describen a modo de ejemplo a continuación.

EJEMPLOS

55 Se obtuvieron muestras de sangre de 198 mujeres embarazadas que se reclutaron con factores de riesgo para la PE (hipertensión crónica, diabetes, PE previa, enfermedad renal crónica, síndrome antifosfolípido, Índice de Masa Corporal > 30 en los primeros embarazos, forma de la onda Doppler de la arteria uterina anormal) y se realizó un Doppler arterial. 172 estuvieron disponibles para el análisis; el resto no se incluyeron debido a aborto (n = 5), parto con niño muerto (n = 3), finalización del embarazo (n = 2) y pérdida del control (n = 6), o abandono del estudio (n = 10). 19 mujeres desarrollaron PE. Las 153 mujeres restantes forman el grupo de control de alto riesgo (HR). Además, se reclutaron 95 mujeres nulíparas sin ninguno de los factores de riesgo anteriores como controles de "riesgo estándar" (SR). 70 de estas mujeres presentaron un final de embarazo normal en el parto, a partir de lo cual se seleccionaron los controles de riesgo estándar.

65 Se tomaron muestras de sangre a las 11-14 semanas de gestación y a continuación a las 15-17, 19-21 y 23-35 semanas. Después del parto, los 19 casos de preeclampsia correspondían a una relación 1:2 con respecto a los

- 5 controles de riesgo elevado y 1:2 con respecto a los controles de riesgo estándar para marcadores bioquímicos. Los marcadores sanguíneos y los resultados del ultrasonido Doppler (muesca diastólica; índice de resistencia (RI); índice de pulsatilidad (PI)), solos y combinados se consideraron a las 12, 16, 20 y 24 semanas. Los biomarcadores medidos fueron: PLGF libre, PLGF unido, PLGF total, Flt-1 soluble, Leptina, PAI-1, PAI-2, MAP-9, ICAM y RI de TNF-alfa soluble (sTNF α R1). Se midieron todos los biomarcadores diferentes de sTNF α R1 utilizando los ensayos Auto Delfia para este objetivo. Se midió el sTNF α R1 utilizando un ensayo ELISA disponible comercialmente (R&D Systems). El índice de resistencia y la presencia de muesca diastólica derivaban de la forma de la onda Doppler de la arteria uterina.
- 10 Los valores de relación de la probabilidad ajustados a la gestación se crearon estableciendo intervalos de referencia en casos y controles para los 13 indicadores en casos y controles (PLGF libre, PLGF unido, PLGF total, MMP-9, Leptina, PAI-1, PAI-2, sF1T-1, sTNF α R1, ICAM, índice de pulsatilidad (PI), muesca diastólica e índice de resistencia (RI)). Se observó que el PLGF unido no añadía nada al poder predictivo del PLGF libre y total y se eliminó de posteriores consideraciones. También se excluyó el Flt soluble dado que había problemas técnicos con el ensayo.
- 15 Para la comparación, también se muestran las combinaciones de marcadores considerados en la solicitud de patente internacional WO 02/37120.
- Los intervalos normales se establecieron para cada marcador a lo largo de la gestación utilizando el subgrupo de Riesgo Estándar (Apéndice 1). Para este objetivo cada valor se trató como una observación independiente. A
- 20 continuación se expresaron todos los resultados como Valores de las Desviaciones Estándar (valores Z), que muestran cuánta desviación estándar existe de cada resultado con respecto al valor esperado en esa gestación. Los ajustes se realizaron para no normalidad y los cambios tanto en la media como en la desviación estándar a lo largo de la gestación, según los métodos descritos a continuación y en detalle en el apéndice 2.
- 25 Estos valores Z ajustados a la gestación se resumen en el apéndice 2 a continuación, junto con comparaciones en un sistema de visita a visita. Las medias y las DE se estimaron mediante regresión de Tobit con corte a -2 y +2 (robusto para valores atípicos), siguiendo el método descrito en Amemiya T (1973) Regression analysis when the dependent variable is truncated ("Análisis de regresión cuando la variable dependiente está truncada"). Normal Econometrica 41: 997-1016, implementado para los datos del panel en el paquete informático estadístico Stata,
- 30 versión 9 (StataCorp, College Station, Texas). Los ensayos de significación se llevaron a cabo mediante una regresión de Tobit de efectos aleatorios (corte a -2 y +2) y mediante Ecuaciones Estimativas Generalizadas siguiendo el método descrito en Liang K-Y y Zeiger SL (1986). Longitudinal analysis using generalised linear models ("Análisis longitudinal utilizando modelos lineales generalizados"). Biometrika 73: 13-22, con Errores Estándar robustos, tal como se describe en Binder DA (1983), "On the variances of asymptotically normal estimators from complex surveys" ("Sobre las varianzas de estimadores asintóticamente normales de encuestas complejas")
- 35 International Statistical Review 51: 279-292, e implementados para los datos del panel en el paquete informático estadístico Stata, versión 9 (StataCorp, College Station, Texas).
- Los ensayos difieren en la manera que permiten valores extremos y mediciones repetidas. Los resultados mediante los dos métodos son similares, pero no idénticos.
- 40 El desempeño de los indicadores individuales se muestra a continuación en la tabla 1. Las áreas Características Operativas para el Receptor (ROC) se muestran junto con la Sensibilidad y valores predictivos positivos (PPV) para valores críticos elegidos para proporcionar el 5%, 10%, 15% de una tasa de falsos positivos (FPR), equivalente al 95%, 90% y 85% de especificidad. Todos estos términos son familiares para los expertos en estadística médica y se explican en libros de texto estándar sobre la materia, por ejemplo, Douglas Altman "Practical Statistics in Medical Research" ("Estadística Práctica en Investigación Médica") Chapman & Hall, Londres (1991) pág. 409-419. PPV es la probabilidad de que una mujer se convierta en un caso debido a un resultado positivo de las pruebas. Se puede calcular como $(\text{Prevalencia} * \text{Sensibilidad}) / (\text{Prevalencia} * \text{sensibilidad} + (1 - \text{prevalencia}) * (1 - \text{Especificidad}))$. Para
- 45 los objetivos de estos cálculos, se asume una prevalencia del 5% en mujeres con un riesgo bajo y del 15% en mujeres con un riesgo elevado.
- En base a estos resultados, se seleccionan MMP-9, PLGF y sTNF α R1 soluble para un trabajo posterior, opcionalmente con uno o más entre una muesca diastólica, presión sanguínea (SBP o MAP), PAI-1, PAI-2, leptina e
- 55 ICAM. El desempeño previsto de estos indicadores se proporciona en la tabla 2 utilizando una regresión logística simple sin términos cuadráticos. De nuevo, la regresión logística es un método estándar conocido por los expertos en estadística médica, explicado en Altman (1991), páginas 351-364, e implementado en paquetes estadísticos, tales como Stata Versión 9 (StataCorp, College Station, Texas).
- 60 Para una tasa de falsos positivos del 5% (especificidad del 95%), la tasa de detección (DR) en mujeres con un riesgo elevado utilizando los marcadores bioquímicos solos es del 56%, dando un valor predictivo positivo del 66%. Incluyendo la presión sanguínea sistólica, la DR aumenta hasta el 84% y los PPV hasta el 75%. En mujeres de riesgo estándar, la misma combinación produce una DR del 80% y un PPV del 46%.
- 65 En conclusión, los métodos dados a conocer en el presente documento son capaces de identificar, como mínimo, 4 de 5 mujeres con probabilidad de continuar con el desarrollo de preeclampsia si se utiliza correctamente con el coste

de una sola falsa alarma en 20 mujeres analizadas. Por sí mismo, esto podría reducir el número de visitas prenatales necesarias para la mayoría de mujeres y centrar la atención en aquellas mujeres con un mayor riesgo.

Tabla 1: Acción de los indicadores individuales y las combinaciones establecidas

5 Los marcadores individuales se estandarizan tal como se describe en otros puntos del presente documento. Las combinaciones estándar son como en la Solicitud de patente internacional WO 02/37120.

10 Valores bajos de PLGF libre, PLGF total, PAI2, MMP-9, \log_e (PLGF libre) – 3 * (PAI1 : PAI2), PAI2 * PLGF libre se consideran como predictivos de preeclampsia.

15 Las combinaciones publicadas previamente: Leptina/PLGF libre, \log_e (PLGF libre) – 3 * (PAI1 : PAI2), proporción PAI 1: PAI 2, PAI2 * PLGF libre (solicitud de patente internacional WO 02/37120) se incluyen para la comparación, al igual que los marcadores FLT soluble, MMP-2, Inhibina, VEGF y Adiponectina. Valores bajos de FLT soluble, MMP-2, VEGF y Adiponectina se analizan como agente de predicción de PE.

(1) PE frente a riesgo estándar

Visita 1: 11-14 semanas de gestación

Agente de predicción	Valor estandarizado ROC		5% FPR		10% FPR		15% FPR	
	Área	[95% CI]	DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
PLGF libre	0,50	(0,28 a 0,73)	0,09	0,24	0,16	0,22	0,22	0,20
sTNF α R1	0,80	(0,64 a 0,97)	0,35	0,55	0,48	0,46	0,58	0,40
PAI2	0,49	(0,24 a 0,74)	0,15	0,34	0,21	0,27	0,26	0,23
MMP-9	0,65	(0,44 a 0,86)	0,13	0,12	0,22	0,10	0,30	0,10
PLGF total	0,51	(0,29 a 0,73)	0,04	0,04	0,09	0,04	0,14	0,05
ICAM	0,61	(0,37 a 0,85)	0,13	0,12	0,21	0,10	0,28	0,09
PI	0,76	(0,49 a 1,00)	0,37	0,57	0,46	0,45	0,53	0,38
Índice de resistencia	0,64	(0,29 a 1,00)	0,22	0,44	0,30	0,35	0,37	0,30
SBP	0,84	(0,67 a 1,00)	0,61	0,68	0,68	0,55	0,73	0,46
Muesca	0,76	(0,67 a 0,85)	-	-	-	-	-	-
Leptina/PLGF libre	0,59	(0,36 a 0,83)	0,16	0,14	0,24	0,11	0,31	0,10
\log_e (PLGF libre) - 3*(PAI1:PAI2)	0,56	(0,32 a 0,80)	0,07	0,06	0,13	0,06	0,19	0,06
Relación PAI1 : PAI2	0,45	(0,22 a 0,68)	0,22	0,19	0,29	0,13	0,33	0,10
PAI2 * PLGF libre	0,56	(0,32 a 0,79)	0,04	0,04	0,10	0,05	0,16	0,05
FLT soluble	0,47	(0,24 a 0,70)	0,04	0,04	0,08	0,04	0,12	0,04
MAP-2	0,62	(0,40 a 0,85)	0,20	0,17	0,28	0,13	0,34	0,11
Inhibina	0,46	(0,22 a 0,71)	0,13	0,12	0,18	0,09	0,23	0,07
VEGF	0,50	(0,26 a 0,74)	0,10	0,09	0,16	0,08	0,21	0,07
Adiponectina	0,56	(0,31 a 0,82)	0,25	0,21	0,31	0,14	0,35	0,11

Visita 2: 15-17 semanas de gestación

Agente de predicción	Valor estandarizado ROC		5% FPR		10% FPR		15% FPR	
	Área	[95% CI]	DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
PLGF libre	0,66	(0,47 a 0,85)	0,30	0,52	0,39	0,41	0,45	0,34
sTNF α R1	0,71	(0,51 a 0,91)	0,23	0,45	0,34	0,38	0,43	0,34
PAI2	0,63	(0,39 a 0,87)	0,37	0,57	0,44	0,43	0,48	0,36
MMP-9	0,48	(0,28 a 0,69)	0,03	0,03	0,07	0,04	0,11	0,04
PLGF total	0,70	(0,49 a 0,91)	0,30	0,24	0,40	0,17	0,47	0,14
ICAM	0,64	(0,43 a 0,85)	0,13	0,12	0,22	0,10	0,30	0,09
PI	0,53	(0,24 a 0,82)	0,17	0,37	0,24	0,30	0,30	0,26
Índice de resistencia	0,51	(0,25 a 0,77)	0,08	0,21	0,13	0,19	0,18	0,18
SBP	0,80	(0,65 a 0,95)	0,42	0,60	0,53	0,49	0,61	0,42

ES 2 364 314 T3

Muesca	0,55	(0,32 a 0,79)	-	-	-	-	-	-
Leptina/PLGF libre	0,74	(0,53 a 0,95)	0,39	0,29	0,47	0,20	0,53	0,16
log _e (PLGF libre) - 3*(PAI1:PAI2)	0,70	(0,47 a 0,92)	0,48	0,34	0,54	0,22	0,58	0,17
Relación PAI1 : PAI2	0,56	(0,33 a 0,79)	0,25	0,21	0,32	0,14	0,37	0,11
PAI2 * PLGF libre	0,73	(0,49 a 0,98)	0,45	0,32	0,51	0,21	0,56	0,16
FLT soluble	0,60	(0,36 a 0,85)	0,23	0,19	0,30	0,14	0,35	0,11
MMP-2	0,48	(0,24 a 0,72)	0,13	0,12	0,19	0,09	0,24	0,08
Inhibina	0,46	(0,23 a 0,68)	0,14	0,13	0,20	0,10	0,25	0,08
VEGF	0,66	(0,45 a 0,87)	0,18	0,16	0,28	0,13	0,35	0,11
Adiponectina	0,58	(0,32 a 0,85)	0,26	0,21	0,32	0,14	0,37	0,11

Visita 3: 19-21 semanas de gestación

Agente de predicción	Valor estandarizado ROC		5% FPR		10% FPR		15% FPR	
	Área	[95% CI]	DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
PLGF libre	0,75	(0,59 a 0,91)	0,43	0,60	0,51	0,47	0,56	0,40
sTNF α R1	0,71	(0,52 a 0,90)	0,24	0,46	0,33	0,37	0,40	0,32
PAI2	0,63	(0,42 a 0,83)	0,31	0,52	0,38	0,40	0,43	0,34
MMP-9	0,60	(0,41 a 0,79)	0,23	0,19	0,31	0,14	0,38	0,12
PLGF total	0,71	(0,56 a 0,87)	0,20	0,18	0,32	0,15	0,42	0,13
ICAM	0,70	(0,54 a 0,87)	0,21	0,18	0,32	0,14	0,40	0,12
PI	0,65	(0,43 a 0,86)	0,04	0,13	0,10	0,15	0,17	0,17
Índice de resistencia	0,72	(0,57 a 0,87)	0,13	0,32	0,24	0,30	0,34	0,29
SBP	0,79	(0,66 a 0,92)	0,36	0,56	0,49	0,46	0,58	0,40
Muesca	0,72	(0,58 a 0,86)	-	-	-	-	-	-
Leptina/PLGF libre	0,75	(0,59 a 0,91)	0,39	0,29	0,48	0,20	0,55	0,16
log _e (PLGF libre) - 3*(PAI1:PAI2)	0,85	(0,73 a 0,96)	0,55	0,37	0,64	0,25	0,70	0,20
Relación PAI1 : PAI2	0,71	(0,55 a 0,87)	0,54	0,36	0,56	0,23	0,58	0,17
PAI2 * PLGF libre	0,79	(0,65 a 0,93)	0,46	0,32	0,55	0,23	0,62	0,18
FLT soluble	0,54	(0,33 a 0,75)	0,16	0,15	0,22	0,10	0,26	0,08
MMP-2	0,58	(0,38 a 0,77)	0,21	0,18	0,28	0,13	0,34	0,11
Inhibina	0,53	(0,33 a 0,74)	0,17	0,15	0,23	0,11	0,28	0,09
VEGF	0,68	(0,50 a 0,86)	0,18	0,16	0,28	0,13	0,36	0,11
Adiponectina	0,62	(0,42 a 0,83)	0,23	0,20	0,30	0,14	0,36	0,11

Visita 4: 23-25 semanas de gestación

Agente de predicción	Valor estandarizado ROC		5% FPR		10% FPR		15% FPR	
	Área	[95% CI]	DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
PLGF libre	0,77	(0,61 a 0,92)	0,61	0,68	0,65	0,53	0,67	0,44
sTNF α R1	0,73	(0,57 a 0,89)	0,16	0,36	0,29	0,34	0,39	0,32
PAI2	0,69	(0,49 a 0,88)	0,45	0,62	0,51	0,47	0,55	0,39
MMP-9	0,61	(0,43 a 0,79)	0,20	0,18	0,29	0,13	0,36	0,11
PLGF total	0,73	(0,56 a 0,90)	0,37	0,28	0,46	0,19	0,52	0,15
ICAM	0,80	(0,65 a 0,96)	0,36	0,28	0,49	0,21	0,58	0,17
PI	0,84	(0,71 a 0,97)	0,62	0,69	0,66	0,54	0,69	0,45
Índice de resistencia	0,76	(0,60 a 0,91)	0,41	0,59	0,50	0,47	0,57	0,40
SBP	0,82	(0,68 a 0,96)	0,55	0,66	0,64	0,53	0,69	0,45
Muesca	0,79	(0,65 a 0,93)	-	-	-	-	-	-

ES 2 364 314 T3

Leptina/PLGF libre	0,80	(0,65 a 0,96)	0,61	0,39	0,65	0,25	0,68	0,19
log _e (PLGF libre) - 3*(PAI1:PAI2)	0,85	(0,73 a 0,98)	0,67	0,41	0,70	0,27	0,73	0,20
Relación PAI1 : PAI2	0,81	(0,65 a 0,96)	0,61	0,39	0,65	0,26	0,69	0,19
PAI2 * PLGF libre	0,79	(0,62 a 0,95)	0,62	0,39	0,66	0,26	0,69	0,19
FLT soluble	0,49	(0,26 a 0,71)	0,14	0,13	0,18	0,09	0,21	0,07
MMP-2	0,59	(0,39 a 0,78)	0,16	0,14	0,24	0,11	0,30	0,10
Inhibina	0,53	(0,32 a 0,75)	0,27	0,22	0,33	0,15	0,38	0,12
VEGF	0,66	(0,48 a 0,84)	0,24	0,20	0,32	0,15	0,39	0,12
Adiponectina	0,65	(0,42 a 0,87)	0,35	0,27	0,42	0,18	0,46	0,14

Todos los periodos de tiempo

Agente de predicción	Valor estandarizado ROC		5% FPR		10% FPR		15% FPR	
	Área	[95% CI]	DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
PLGF libre	0,70	(0,61 a 0,79)	0,48	0,63	0,53	0,63	0,56	0,40
sTNF α R1	0,74	(0,65 a 0,83)	0,25	0,47	0,37	0,47	0,45	0,35
PAI2	0,62	(0,51 a 0,73)	0,35	0,55	0,41	0,55	0,46	0,35
MMP-9	0,59	(0,49 a 0,68)	0,16	0,14	0,24	0,14	0,31	0,10
ICAM	0,69	(0,60 a 0,79)	0,21	0,18	0,32	0,18	0,40	0,12
PLGF total	0,68	(0,59 a 0,77)	0,24	0,20	0,34	0,20	0,42	0,13
PI	0,69	(0,58 a 0,81)	0,40	0,59	0,47	0,59	0,52	0,38
Índice de resistencia	0,78	(0,5 a 0,78)	0,23	0,45	0,33	0,45	0,40	0,32
SBP	0,81	(0,74 a 0,88)	0,49	0,63	0,59	0,63	0,66	0,44
Muesca	0,70	(0,61 a 0,78)	-	-	-	-	-	-
Leptina/PLGF libre	0,74	(0,65 a 0,83)	0,47	0,33	0,53	0,33	0,58	0,17
log _e (PLGF libre) - 3*(PAI1:PAI2)	0,78	(0,69 a 0,86)	0,51	0,35	0,57	0,35	0,61	0,18
Relación PAI1 : PAI2	0,66	(0,56 a 0,75)	0,33	0,26	0,40	0,26	0,44	0,13
PAI2 * PLGF libre	0,74	(0,65 a 0,83)	0,48	0,34	0,54	0,34	0,58	0,17
FLT soluble	0,52	(0,41 a 0,63)	0,15	0,14	0,21	0,14	0,25	0,08
MMP-2	0,57	(0,46 a 0,67)	0,17	0,16	0,25	0,16	0,31	0,10
Inhibina	0,51	(0,40 a 0,62)	0,19	0,16	0,25	0,16	0,30	0,10
VEGF	0,64	(0,54 a 0,73)	0,18	0,16	0,26	0,16	0,33	0,10
Adiponectina	0,60	(0,49 a 0,72)	0,27	0,22	0,34	0,22	0,39	0,12

(1) PE frente a riesgo elevado

Visita 1: 11-14 semanas de gestación

Agente de predicción	Valor estandarizado ROC		5% FPR		10% FPR		15% FPR	
	Área	[95% CI]	DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
PLGF libre	0,71	(0,50 a 0,92)	0,13	0,31	0,24	0,31	0,34	0,28
sTNF α R1	0,81	(0,65 a 0,97)	0,05	0,15	0,23	0,15	0,45	0,34
MMP-9	0,73	(0,51 a 0,94)	0,32	0,53	0,43	0,53	0,50	0,37
VEGF	0,55	(0,30 a 0,79)	0,08	0,21	0,15	0,21	0,21	0,20
ICAM	0,48	(0,24 a 0,73)	0,08	0,22	0,13	0,22	0,18	0,17
SBP	0,63	(0,46 a 0,81)	0,10	0,27	0,20	0,27	0,28	0,25
Muesca	0,75	(0,68 a 0,82)	-	-	-	-	-	-
Leptina/PLGF libre	0,65	(0,40 a 0,89)	0,23	0,45	0,32	0,45	0,38	0,31
log _e (PLGF libre) - 3*(PAI1:PAI2)	0,66	(0,44 a 0,89)	0,07	0,20	0,15	0,20	0,24	0,22

ES 2 364 314 T3

Relación PAI1 : PAI2	0,44	(0,20 a 0,67)	0,28	0,50	0,34	0,50	0,37	0,31
PAI2 * PLGF libre	0,64	(0,40 a 0,88)	0,02	0,08	0,09	0,08	0,18	0,18
FLT soluble	0,41	(0,17 a 0,64)	0,02	0,06	0,05	0,06	0,08	0,08
MMP-2	0,53	(0,29 a 0,78)	0,13	0,32	0,20	0,32	0,26	0,23
Inhibina	0,40	(0,16 a 0,64)	0,06	0,18	0,10	0,18	0,14	0,14
PLGF total	0,56	(0,34 a 0,78)	0,01	0,05	0,05	0,05	0,11	0,12
Adiponectina	0,60	(0,36 a 0,84)	0,22	0,43	0,29	0,43	0,35	0,29

Visita 2: 15-17 semanas de gestación

Agente de predicción	Valor estandarizado ROC		5% FPR		10% FPR		15% FPR	
	Área	[95% CI]	DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
PLGF libre	0,63	(0,43 a 0,83)	0,14	0,34	0,24	0,34	0,32	0,27
sTNF α R1	0,73	(0,52 a 0,94)	0,22	0,44	0,34	0,44	0,43	0,34
MMP-9	0,67	(0,46 a 0,88)	0,11	0,28	0,20	0,28	0,29	0,25
PLGF total	0,59	(0,37 a 0,81)	0,08	0,21	0,15	0,21	0,23	0,21
ICAM	0,47	(0,23 a 0,72)	0,11	0,28	0,17	0,28	0,22	0,20
SBP	0,65	(0,50 a 0,81)	0,04	0,13	0,11	0,13	0,19	0,18
Muesca	0,62	(0,39 a 0,84)	-	-	-	-	-	-
Leptina/PLGF libre	0,64	(0,43 a 0,86)	0,19	0,41	0,28	0,41	0,35	0,29
log _e (PLGF libre) - 3*(PAI1:PAI2)	0,69	(0,47 a 0,91)	0,43	0,60	0,49	0,60	0,54	0,39
Relación PAI1 : PAI2	0,47	(0,24 a 0,70)	0,36	0,56	0,41	0,56	0,44	0,34
PAI2 * PLGF libre	0,67	(0,44 a 0,90)	0,21	0,43	0,31	0,43	0,38	0,31
FLT soluble	0,53	(0,29 a 0,78)	0,11	0,29	0,18	0,29	0,23	0,21
MMP-2	0,47	(0,24 a 0,70)	0,04	0,12	0,08	0,12	0,12	0,13
Inhibina	0,28	(0,06 a 0,51)	0,06	0,17	0,09	0,17	0,12	0,12
VEGF	0,59	(0,38 a 0,81)	0,16	0,37	0,24	0,37	0,31	0,27
Adiponectina	0,64	(0,41 a 0,87)	0,21	0,43	0,30	0,43	0,36	0,30

Visita 3: 19-21 semanas de gestación

Agente de predicción	Valor estandarizado ROC		5% FPR		10% FPR		15% FPR	
	Área	[95% CI]	DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
PLGF libre	0,72	(0,56 a 0,88)	0,26	0,48	0,37	0,48	0,44	0,34
sTNF α R1	0,70	(0,51 a 0,89)	0,11	0,28	0,21	0,28	0,30	0,26
MMP-9	0,63	(0,44 a 0,83)	0,28	0,49	0,36	0,49	0,42	0,33
PLGF total	0,60	(0,42 a 0,78)	0,05	0,15	0,12	0,15	0,19	0,19
ICAM	0,56	(0,37 a 0,76)	0,10	0,27	0,17	0,27	0,23	0,22
SBP	0,63	(0,49 a 0,77)	0,08	0,21	0,16	0,21	0,24	0,22
Muesca	0,69	(0,55 a 0,83)	-	-	-	-	-	-
Leptina/PLGF libre	0,68	(0,51 a 0,85)	0,23	0,44	0,32	0,44	0,39	0,32
log _e (PLGF libre) - 3*(PAI1:PAI2)	0,70	(0,54 a 0,86)	0,01	0,05	0,06	0,05	0,13	0,13
Relación PAI1 : PAI2	0,59	(0,42 a 0,76)	0,37	0,56	0,42	0,56	0,45	0,35
PAI2 * PLGF libre	0,67	(0,51 a 0,84)	0,16	0,36	0,27	0,36	0,37	0,30
FLT soluble	0,38	(0,20 a 0,56)	0,09	0,24	0,12	0,24	0,15	0,15
MMP-2	0,54	(0,35 a 0,73)	0,01	0,04	0,04	0,04	0,07	0,08
Inhibina	0,47	(0,27 a 0,68)	0,07	0,19	0,11	0,19	0,16	0,16
VEGF	0,60	(0,40 a 0,79)	0,18	0,39	0,25	0,39	0,30	0,26
Adiponectina	0,58	(0,38 a 0,78)	0,13	0,31	0,20	0,31	0,26	0,24

Visita 4: 23-25 semanas de gestación								
Agente de predicción	Valor estandarizado ROC		5% FPR		10% FPR		15% FPR	
	Área	[95% CI]	DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
PLGF libre	0,68	(0,51 a 0,85)	0,52	0,65	0,57	0,65	0,60	0,42
sTNF α R1	0,84	(0,70 a 0,97)	0,12	0,29	0,29	0,29	0,46	0,35
MMP-9	0,60	(0,40 a 0,79)	0,25	0,47	0,33	0,47	0,39	0,32
PLGF total	0,61	(0,43 a 0,79)	0,14	0,34	0,23	0,34	0,31	0,27
ICAM	0,71	(0,54 a 0,89)	0,18	0,38	0,29	0,38	0,38	0,31
SBP	0,68	(0,52 a 0,84)	0,23	0,45	0,33	0,45	0,41	0,32
Muesca	0,75	(0,61 a 0,88)	-	-	-	-	-	-
Leptina/PLGF libre	0,77	(0,61 a 0,93)	0,55	0,66	0,60	0,66	0,63	0,43
log _e (PLGF libre) - 3*(PAI1:PAI2)	0,74	(0,59 a 0,90)	0,52	0,65	0,58	0,65	0,62	0,42
Relación PAI1 : PAI2	0,68	(0,50 a 0,86)	0,34	0,54	0,42	0,54	0,47	0,36
PAI2 * PLGF libre	0,70	(0,53 a 0,88)	0,47	0,62	0,54	0,62	0,58	0,41
FLT soluble	0,39	(0,19 a 0,59)	0,07	0,19	0,10	0,19	0,13	0,13
MMP-2	0,56	(0,37 a 0,75)	0,03	0,09	0,07	0,09	0,13	0,13
Inhibina	0,48	(0,26 a 0,69)	0,21	0,42	0,27	0,42	0,31	0,27
VEGF	0,57	(0,39 a 0,75)	0,11	0,29	0,18	0,29	0,24	0,22
Adiponectina	0,62	(0,42 a 0,82)	0,08	0,22	0,15	0,22	0,22	0,21

Todas								
Agente de predicción	Valor estandarizado ROC		5% FPR		10% FPR		15% FPR	
	Área	[95% CI]	DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
PLGF libre	0,67	(0,58 a 0,76)	0,38	0,57	0,45	0,57	0,50	0,37
sTNF α R1	0,78	(0,70 a 0,86)	0,08	0,23	0,22	0,23	0,35	0,29
MMP-9	0,65	(0,55 a 0,75)	0,24	0,46	0,33	0,46	0,40	0,32
PLGF total	0,59	(0,49 a 0,68)	0,07	0,21	0,15	0,21	0,23	0,21
ICAM	0,57	(0,46 a 0,67)	0,12	0,30	0,20	0,30	0,26	0,23
SBP	0,65	(0,58 a 0,73)	0,10	0,26	0,19	0,26	0,28	0,25
Muesca	0,70	(0,62 a 0,78)	-	-	-	-	-	-
Leptina/PLGF libre	0,69	(0,60 a 0,78)	0,38	0,57	0,45	0,57	0,50	0,37
log _e (PLGF libre) - 3*(PAI1:PAI2)	0,70	(0,61 a 0,78)	0,30	0,52	0,39	0,52	0,46	0,35
Relación PAI1 : PAI2	0,55	(0,45 a 0,65)	0,34	0,55	0,40	0,55	0,44	0,34
PAI2 * PLGF libre	0,67	(0,57 a 0,76)	0,31	0,52	0,40	0,52	0,46	0,35
FLT soluble	0,42	(0,32 a 0,53)	0,07	0,21	0,12	0,21	0,15	0,15
MMP-2	0,53	(0,43 a 0,63)	0,03	0,10	0,07	0,10	0,12	0,13
Inhibina	0,42	(0,32 a 0,53)	0,10	0,26	0,15	0,26	0,19	0,18
VEGF	0,57	(0,47 a 0,67)	0,12	0,30	0,19	0,30	0,25	0,23
Adiponectina	0,60	(0,50 a 0,71)	0,13	0,31	0,21	0,31	0,27	0,24

Tabla 2

5 Combinaciones de agentes de predicción (acción estimada mediante regresión logística simple). Los detalles del cálculo de los valores de predicción y los valores críticos se indican en el Apéndice 3. Las pacientes con valores de predicción por encima de los valores críticos se tratan como un ensayo positivo.

PE frente a Riesgo estándar

Todas las visitas, prevalencia 0,05

Agente de predicción	Valor estandarizado de ROC Área	[95% CI]	5% FPR		10% FPR		15% FPR	
			DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9)	0,78	(0,70 a 0,87)	0,43	0,31	0,52	0,22	0,54	0,16
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9) muesca diastólica	0,89	(0,81 a 0,96)	0,46	0,33	0,64	0,25	0,75	0,21
Z(sTNF α R1), Z(sTNF α R1), Z(PLGF libre) muesca diastólica	0,79	(0,71 a 0,87)	0,33	0,26	0,49	0,20	0,53	0,16
Z(sTNF α R1), Z(sTNF α R1), Z(PLGF libre) muesca diastólica	0,84	(0,76 a 0,93)	0,35	0,27	0,62	0,24	0,69	0,20
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(PLGF libre)	0,83	(0,75 a 0,91)	0,43	0,31	0,57	0,23	0,57	0,17
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(PAI-2)	0,83	(0,75 a 0,91)	0,39	0,29	0,56	0,23	0,59	0,17
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(SBP)	0,91	(0,85 a 0,96)	0,65	0,41	0,80	0,30	0,83	0,22
Z(P1GF libre), Z(MMP-9), Z(sTNF α R1), Z(PAI-2), Z(SBP) muesca diastólica	0,98	(0,96 a 1,00)	0,77	0,45	1,00	0,34	1,00	0,26
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(MAP)	0,92	(0,87 a 0,97)	0,76	0,44	0,80	0,30	0,80	0,22
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(leptina)	0,78	(0,70 a 0,87)	0,40	0,30	0,51	0,21	0,56	0,16
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(PLGF total)	0,83	(0,76 a 0,90)	0,36	0,28	0,45	0,19	0,57	0,17
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(PAI-1)	0,77	(0,68 a 0,87)	0,46	0,33	0,49	0,20	0,54	0,16
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(sICAM)	0,83	(0,75 a 0,90)	0,39	0,29	0,52	0,22	0,72	0,20
Combinaciones previas (solicitud de patente internacional WO 02/37120)								
Z(PAI2/PAI1)	0,66	(0,56 a 0,75)	0,30	0,24	0,36	0,16	0,36	0,11
Z(Leptina/PLGF libre)	0,74	(0,65 a 0,83)	0,38	0,29	0,42	0,18	0,56	0,16
Z(PAI2 * PLGF libre)	0,74	(0,65 a 0,83)	0,33	0,26	0,40	0,17	0,46	0,14
Z(log _e (P1GF libre) -3 * (PAI1/PAI2))	0,78	(0,69 a 0,86)	0,35	0,27	0,42	0,18	0,54	0,16
Combinación de comparación								

ES 2 364 314 T3

Agente de predicción	Valor estandarizado ROC	Área [95% CI]	5% FPR		10% FPR		15% FPR	
			DR	PPV	DR	PPV	DR	PPV
Z(sFlt-1), Z(MMP-2), Z(Inhibina), Z(VEGF), Z(PLGF total), Z(adiponectina) PE frente a Riesgo ELEVADO Todas las visitas, prevalencia 0,15	0,66	(0,55 a 0,78)	0,45	0,32	0,50	0,21	0,55	0,16
Z(sTNF α R1),	0,82	(0,74 a 0,90)	0,33	0,54	0,48	0,46	0,63	0,43
Z(MMP-9)								
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9) muesca diastólica	0,89	(0,82 a 0,97)	0,61	0,68	0,64	0,53	0,71	0,46
Z(sTNF α R1), Z(PLGF libre)	0,83	(0,75 a 0,91)	0,33	0,53	0,51	0,47	0,53	0,39
Z(sTNF α R1), Z(PLGF libre) muesca diastólica	0,89	(0,82 a 0,97)	0,62	0,68	0,62	0,52	0,69	0,45
Z(sTNF α R1), Z(MW-9), Z(PLGF libre)	0,85	(0,77 a 0,92)	0,40	0,59	0,55	0,49	0,69	0,45
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(PAI-2)	0,84	(0,76 a 0,92)	0,32	0,53	0,51	0,47	0,66	0,44
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(SBP)	0,85	(0,78 a 0,92)	0,48	0,63	0,61	0,52	0,61	0,42
Z(PIGF libre), Z(MMP-9), Z(sTNFaR1), Z(PAI-2), Z(SBP) muesca diastólica	0,95	(0,88 a 1,00)	0,86	0,75	0,91	0,62	0,91	0,52
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(MAP)	0,85	(0,78 a 0,92)	0,50	0,64	0,57	0,50	0,67	0,44
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(leptina)	0,81	(0,73 a 0,89)	0,33	0,54	0,49	0,46	0,51	0,38
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(PLGF total)	0,83	(0,75 a 0,91)	0,30	0,51	0,34	0,38	0,64	0,43
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(PAI-1)	0,79	(0,70 a 0,88)	0,32	0,53	0,44	0,44	0,49	0,36
Z(sTNF α R1), Z(MMP-9), Z(sICAM)	0,82	(0,74 a 0,90)	0,30	0,52	0,52	0,48	0,65	0,43
Recomendaciones previas (solicitud internacional de patente WO 02/37120)								
Z(PAI2/PAI1)	0,55	(0,45 a 0,65)	0,10	0,26	0,12	0,17	0,20	0,19
Z(Leptina/PLGF libre)	0,69	(0,60 a 0,78)	0,21	0,43	0,31	0,35	0,40	0,32
Z(PAI2 * PLGF libre)	0,67	(0,57 a 0,76)	0,23	0,45	0,31	0,36	0,33	0,28
Z(log_e(PIGF libre) - 3 * (PAI1/PAI2))	0,70	(0,61 a 0,78)	0,19	0,40	0,27	9,32	0,35	0,29

Apéndice 1:

Intervalos normales para agentes de predicción seleccionados de PE establecida en mujeres con riesgo estándar con resultados normales.

5 Las transformaciones presentan tres componentes:

- En la mayoría de casos, se utilizan transformaciones logarítmicas y de potencias para conseguir distribuciones gaussianas (normales) aproximadas

10 • Los valores promedio en cada gestación se estiman mediante una curva cuadrática (no mostrada); el coeficiente de variación (y por tanto la desviación estándar) mediante una función lineal

15 • Para todas las pacientes, se estima un valor Z (valor de las desviaciones estándar); que muestra el número de desviaciones estándar del valor por encima o por debajo del valor esperado en esa gestación.

Las representaciones se establecen (no mostradas) de manera que muestran las mujeres con un riesgo estándar con líneas de referencia al 3%, 50%, 97%, que representan -2, 0, 2 DE por encima o por debajo de la media.

20 Las transformaciones indicadas eliminan el efecto de la gestación en mujeres con un riesgo estándar tanto en la media como en la dispersión de los valores. Se utilizan para estandarizar los valores en controles con un riesgo elevado y casos de PE.

25 Las proporciones PAI2/PAI1 y Leptina (pg/mL)/PLGF libre (pg/mL) se utilizan para mantener las proporciones > 1. 3 pacientes con PAI2 < 2*PAI1 se excluyeron de las estimaciones de PAI1, PAI2, y todas las combinaciones que implican a éstos.

30 Para entender cómo se utilizarán las fórmulas, hay que considerar una mujer con un PLGF libre de 194,11 y DBP de 66 a las 19 semanas y 6 días de gestación. Considerando en primer lugar el DBP; no existen transformaciones para preocuparse, de manera que el proceso es relativamente sencillo.

$$\begin{aligned} \text{El DBP esperado} &= 75,1 - 1,09 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,02695 * \text{edad gestacional (semanas)}^2 \\ &= 75,1 - 1,09 * (19 + 6/7) + 0,02695 * (19 + 6/7)^2 \\ &= 64,1 \end{aligned}$$

35 La DE del DBP = $(0,113 + 0,00076 * \text{edad gestacional (semanas)}) * \text{valor esperado}$
 $= (0,113 + 0,00076 * (19 + 6/7)) * 64,1$
 $= 8,21$

40 El valor Z es $(\text{valor real} - \text{valor esperado}) / \text{desviación estándar}$
 $= (66 - 64,1) / 8,21$
 $= 0,23$

45 Al considerar el PLGF libre, existen dos transformaciones a considerar. El valor esperado se calcula en primer lugar para \log_{10} (PLGF libre). A continuación tanto los valores reales como los esperados se elevan a la potencia 0,669. Las desviaciones estándar y los valores Z se calculan para estos nuevos valores.

El valor real de \log_{10} (PLGF libre) es $\log_{10} (194,11) = 2,288$

50 El valor esperado de \log_{10} (PLGF libre) = $-0,9681 + 0,261 * \text{edad gestacional (semanas)} - 0,00445 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$
 $= -0,9681 + 0,261 * (19 + 6/7) - 0,00445 * (19 + 6/7)^2$
 $= 2,46$

55 Elevando éstos a la potencia 0,669 se obtiene 1,740 y 1,826

La desviación estándar de \log_{10} (PLGF libre) 0,669
 $= (-0,0050 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,184) * 0,669 * (\text{valor esperado})^{0,669}$
 $(-0,0050 * (19 + 6/7) + 0,184) * 0,669 * (2,46)^{0,669}$
 $= 0,103$

60 El valor Z es de nuevo $(\text{valor real} - \text{valor esperado}) / \text{Desviación estándar}$
 $= (1,74 - 1,826) / 0,103$
 $= -0,84$

65

PLGF libre

Modelo: $\log_{10}(\text{PLGF libre}) = -0,968 + 0,261 * \text{edad gestacional (semanas)} - 0,00445 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$

5 DE $(\log_{10}(\text{PLGF libre})^{0,669}) = (-0,0050 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,184) * 0,669 * (\text{valor esperado})^{0,669}$

PLGF total

10 Modelo: $\log_{10}(\text{PLGF total}) = 0,446 + 0,1638 * \text{edad gestacional (semanas)} - 0,00241 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$

DE $(\log_{10}(\text{PLGF total})^{2,52}) = (-0,0028 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,120) * 2,52 * (\text{valor esperado})^{2,52}$

PAI-1

15 Modelo: $\log_{10}(\text{PAI-1}) = -0,519 + 0,1388 * \text{edad gestacional (semanas)} - 0,00257 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$

DE $(\log_{10}(\text{PAI-1})^{0,502}) = (0,278 - 0,008 * \text{edad gestacional (semanas)}) * \text{valor esperado} * 0,502^{0,502}$

20 DE $(\log_{10}(\text{PAI-1})^{0,502}) = (-0,0077 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,278) * 0,502 * (\text{valor esperado})^{0,502}$

PAI-2

Modelo: $\log_{10}(\text{PAI-2}) = 0,19 + 0,1177 * \text{edad gestacional (semanas)} - 0,00162 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$

25 DE $(\log_{10}(\text{PAI-2})^{0,935}) = (-0,0045 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,156) * 0,935 * (\text{valor esperado})^{0,935}$

Leptina

30 Modelo: $\log_{10}(\text{Leptina}) = 1,44 - 0,0061 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,00045 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$

DE $(\log_{10}(\text{leptina})^{1,93}) = (-0,0015 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,194) * 1,93 * (\text{valor esperado})^{1,93}$

sTNFαR1

35 Modelo: $\log_{10}(\text{sTNFαR1}) = 2,87 - 0,0026 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,00022 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$

DE $(\log_{10}(\text{sTNFαR1})^{-10,3}) = (0,0007 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,012) * -10,3 * (\text{valor esperado})^{-10,3}$

MMP-9

40 Modelo: $\log_{10}(\text{MMP-9}) = 3,11 - 0,0612 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,0018 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$

DE $(\log_{10}(\text{MMP-9})^{1,62}) = (-0,0024 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,157) * 1,62 * (\text{valor esperado})^{1,62}$

Índice de pulsatilidad

Modelo: $\text{PI} = 2,04 + 0,0901 * \text{edad gestacional (semanas)} - 0,00475 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$

50 DE $(\text{PI}) = (0,524 - 0,009 * \text{edad gestacional (semanas)}) * \text{valor esperado}$

Índice de Resistencia

Modelo: $\text{RI} = 0,797 - 0,0108 * \text{edad gestacional (semanas)} - 8,6e-05 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$

55 DE $(\text{RI}) = (0,302 - 0,006 * \text{edad gestacional (semanas)}) * \text{valor esperado}$

SBP

60 Modelo: $\text{SBP} = 112 + 0,0131 * \text{edad gestacional (semanas)} - 0,00724 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$

DE $(\text{SBP}) = (0,040 + 0,002 * \text{edad gestacional (semanas)}) * \text{valor esperado}$

DBP

65 Modelo: $\text{DBP} = 75,1 + -1,09 * \text{edad gestacional (semanas)} + 0,02695 * \text{edad gestacional (semanas)}^2$

DE (DBP) = (0,113 + 0,00076 * edad gestacional (semanas))* valor esperado

MAP (= DBP + (SBP-DBP)/3)

Modelo: MAP = 87,3 - 0,7161 * edad gestacional (semanas) + 0,01542 * edad gestacional (semanas)²

DE (MAP) = (0,062 + 0,002 * edad gestacional (semanas)) * valor esperado

PAI-2/PLGF

Modelo: log₁₀ (PAI-2/PLGF) = -0,555 + 0,3565 * edad gestacional (semanas) -0,00552 * edad gestacional (semanas)²

DE (log₁₀ (PAI-2/PLGF)^{1,54}) = (-0,0037 * edad gestacional (semanas) + 0,130) * 1,54* (valor esperado^{1,54})

PAI2/PAI1

Modelo: log₁₀ (PAI2/PAI1) = 0,625 - 0,0143 * edad gestacional (semanas) + 0,00077 * edad gestacional (semanas)²

DE (log₁₀ (PAI2/PAI1)^{-0,049}) = (-0,0025 * edad gestacional (semanas) + 0,267) * -0,049* (valor esperado^{-0,049})

Leptina/PLGF libre

Modelo: log₁₀ (Leptina/PLGF libre) = 5,8 - 3118 * edad gestacional (semanas) + 0,00611 * edad gestacional (semanas)²

DE (log₁₀ (Leptina/PLGF libre)^{2,09}) = (0,0036 * edad gestacional (semanas) + 0,081) * 2,09* (valor esperado^{2,09})

log_e (PLGF libre) – 3 * (PAI1:PAI2)

Modelo: log_e (PLGF libre - *PAI-1/PAI-2) = -2,2 + 0,5004 * edad gestacional (semanas) -0,00706 * edad gestacional (semanas)²

DE (log_e (PLGF libre - *PAI-1/PAI-2)) = (0,267 - 0,008 * edad gestacional (semanas))* valor esperado

Apéndice 2

Medias y DE estimadas de los valores Z para grupos de visita y de resultado final

Las medias y DE se estiman mediante las Ecuaciones Estimativas Generalizadas (GEE) con Errores Estándar robustos (SE). Los gráficos se muestran con la barras de error en base a los SE. Los Ensayos de significación se llevan a cabo en base tanto al modelo GEE como la regresión de Tobit de efectos aleatorios (corte a -2 y +2). La aproximación con GEE proporciona el mismo peso para cada mujer (en lugar de cada muestra de sangre) y permite mediciones repetidas y corrige Errores Estándar.

Valor Z para PLGF Libre (pg/ml)

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	-0,101	1,088	0,748	1,499	-0,255	1,027	0,770	0,060
15-17 semanas	0,036	0,796	0,062	1,183	-0,540	1,100	0,105	0,112
19-21 semanas	-0,011	0,923	-0,171	1,288	-1,074	1,272	0,003	0,014
23-25 semanas	0,027	1,110	-0,331	1,576	-1,213	1,701	0,008	0,060
Todas	(corte a +/- 2 DE)						0,018	0,021
Todas	(mediante GEE con SE robusto)						0,004	0,005

ES 2 364 314 T3

Valor Z para PLGF Total (pg/ml)

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	-0,077	1,076	0,209	1,309	-0,127	0,973	0,904	0,464
15-17 semanas	-0,017	0,786	-0,342	1,181	-0,894	1,231	0,017	0,164
19-21 semanas	-0,038	1,075	-0,485	1,269	-0,949	1,075	0,009	0,186
23-25 semanas	0,093	1,017	-0,459	1,521	-1,029	1,527	0,007	0,183
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,005	0,028
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,003	0,057

Valor Z para PAI 1 (ng/ml)

5

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	0,206	1,156	0,554	1,220	/0,104	0,773	0,813	0,330
15-17 semanas	0,054	1,105	-0,069	0,674	0,110	1,191	0,859	0,617
19-21 semanas	-0,098	0,977	0,203	0,950	0,354	0,906	0,127	0,614
23-25 semanas	0,131	0,931	0,412	1,100	1,051	1,011	0,003	0,041
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,123	0,324
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,145	0,489

Valor Z para PAI2 (ng/ml)

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	-0,212	1,267	-0,209	1,722	-0,083	1,650	0,793	0,865
15-17 semanas	0,120	0,934	-0,457	1,320	-0,564	2,486	0,202	0,989
19-21 semanas	-0,096	0,829	-0,613	1,479	-0,658	1,665	0,190	0,944
23-25 semanas	-0,001	1,032	-0,618	1,161	-1,239	2,630	0,024	0,477
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,001	0,614
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,020	0,237

Valor Z para Leptina (ng/ml)

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	0,095	1,042	0,623	1,079	0,439	1,178	0,388	0,653
15-17 semanas	-0,037	0,964	0,376	1,044	0,553	1,165	0,103	0,650
19-21 semanas	-0,011	1,102	0,311	0,965	0,424	1,133	0,180	0,744
23-25 semanas	-0,040	0,984	-0,015	0,942	0,505	1,182	0,077	0,093
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,000	0,000
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,075	0,387

Valor Z para sTNF α -R1

5

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	0,023	1,147	-1,131	2,884	1,547	1,293	0,013	0,001
15-17 semanas	-0,007	0,933	-0,114	1,016	0,877	1,156	0,022	0,012
19-21 semanas	-0,119	0,965	-0,179	1,276	0,582	1,210	0,053	0,047
23-25 semanas	0,119	1,058	-0,490	1,123	0,941	0,878	0,014	0,000
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,011	0,000
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,003	0,000

Valor Z para MMP 9

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	-0,007	1,060	0,305	0,802	-0,584	1,102	0,135	0,027
15-17 semanas	-0,077	0,939	0,540	0,955	0,028	0,855	0,748	0,135
19-21 semanas	0,073	1,000	0,136	0,896	-0,427	1,143	0,123	0,091
23-25 semanas	0,026	1,066	-0,055	0,845	-0,511	1,158	0,102	0,167
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,100	0,021
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,094	0,021

Valor Z para Índice de Pulsatilidad

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	0,141	1,013	0,466	1,102	1,389	1,500	0,026	0,100
15-17 semanas	-0,172	0,825	-0,097	0,806	0,102	1,,205	0,531	0,662
19-21 semanas	-0,026	0,983	-0,070	0,931	0,410	0,875	0,264	0,199
23-25 semanas	0,006	0,909	0,449	1,000	1,421	1,130	0,001	0,016
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,006	0,022
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,031	0,077

Valor Z para Índice de Resistencia

5

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	0,044	1,002	0,228	0,855	0,744	1,418	0,169	0,321
15-17 semanas	0,030	0,901	0,025	0,816	0,045	0,948	0,969	0,958
19-21 semanas	-0,127	0,952	0,098	1,003	0,647	0,908	0,014	0,069
23-25 semanas	0,068	0,907	0,532	1,113	1,088	1,005	0,006	0,101
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,001	0,034
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,006	0,063

Valor Z para SBP

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	0,025	0,930	1,103	2,029	1,922	1,530	0,001	0,070
15-17 semanas	-0,045	0,956	0,612	1,845	1,711	1,676	0,001	0,024
19-21 semanas	-0,053	1,236	0,776	1,531	1,609	1,498	0,000	0,047
23-25 semanas	0,026	0,859	0,817	1,138	1,651	1,413	0,000	0,016
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,000	0,002
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,000	0,004

Valor Z para DBP

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	-0,004	0,982	0,827	1,389	0,851	1,485	0,052	0,994
15-17 semanas	-0,100	0,989	0,586	1,398	0,736	1,319	0,033	0,677
19-21 semanas	0,140	1,034	0,538	1,074	1,144	0,858	0,001	0,028
23-25 semanas	-0,048	0,986	0,453	1,180	1,696	1,265	0,000	0,000
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,000	0,007
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,000	0,012

Valor Z para la Presión Arterial Promedio

5

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	0,010	0,959	1,017	1,646	1,313	1,169	0,003	0,336
15-17 semanas	-0,086	0,980	0,682	1,481	1,316	1,539	0,002	0,155
19-21 semanas	0,098	1,154	0,721	1,292	1,400	1,011	0,000	0,031
23-25 semanas	-0,017	0,952	0,633	1,093	1,771	1,251	0,000	0,000
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,000	0,008
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,000	0,004

Valor Z para PAI2 * PLGF total

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	-0,158	1,206	0,004	1,697	-0,296	1,118	0,793	0,577
15-17 semanas	-0,002	0,832	-0,471	1,280	-1,535	2,223	0,009	0,128
19-21 semanas	-0,062	0,973	-0,595	1,439	-1,140	1,368	0,007	0,178
23-25 semanas	0,108	1,053	-0,629	1,441	-1,428	2,088	0,002	0,182
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,000	0,000
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,002	0,056

Valor Z para PA1/PAI2

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	0,277	1,006	0,640	1,574	0,176	1,161	0,773	0,414
15-17 semanas	-0,057	1,254	0,382	1,458	0,333	1,812	0,488	0,886
19-21 semanas	0,010	1,075	0,609	1,423	0,932	1,165	0,016	0,359
23-25 semanas	0,051	0,946	0,753	1,123	1,608	1,439	0,000	0,038
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,001	0,295
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,069	0,209

Valor Z para leptina/PLGF

5

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	0,091	1,149	0,410	1,297	0,464	1,409	0,440	0,946
15-17 semanas	-0,002	0,838	0,435	0,927	0,839	1,109	0,011	0,256
19-21 semanas	0,002	1,002	0,464	1,052	0,796	1,111	0,014	0,318
23-25 semanas	-0,101	1,065	0,135	1,209	0,849	1,289	0,009	0,051
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,000	0,001
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,006	0,104

Valor Z para $\log_e(\text{PLGF Total}) - 3 * (\text{PAI1:PAI2})$

	Promedio de SR	DE	Promedio de HR	DE	Promedio de PE	DE	Ensayos de significación	
							PE frente a SR	PE frente a HR
11-14 semanas	-0,298	1,263	-0,258	2,140	-0,565	1,192	0,628	0,519
15-17 semanas	-0,104	0,957	-0,529	1,339	-1,855	2,485	0,016	0,131
19-21 semanas	0,001	1,094	-0,739	1,512	-1,481	1,223	0,000	0,057
23-25 semanas	0,043	1,054	-0,679	1,498	-1,844	1,656	0,000	0,017
Todas (corte a +/- 2 DE)							0,000	0,021
Todas (mediante GEE con SE robusto)							0,000	0,031

10 **Apéndice 3**

Combinación de valores Z en valores de predicción compuestos y evaluación contra valores críticos.

15 Para cada valor compuesto, los valores Z elegidos (calculados tal como se describe en el apéndice 1) se multiplican cada uno por un parámetro fijo y se suman con una constante adicional añadida. Cuanto mayor es el valor de predicción, mayor es el riesgo de PE. Las mujeres que no desarrollan PE presentarán en general valores negativos.

20 Los parámetros se proporcionan por separado para la predicción de PE frente a un riesgo elevado y de PE frente a controles de riesgo estándar. Los valores resultantes se comparan con los valores críticos listados a continuación. Los parámetros se presentan en forma de matriz. Los nombres de las variables se abrevian tal como se indica a continuación:

z_freep1gf: Z (PLGF libre)
 z_mmp9: Z (MMP-9)
 z_stnfr1: Z (sTNF α R1)
 z_pai2: Z (PAI-2)
 5 z_sbp: Z (SBP)
 muesca: añadir sólo si la muesca arterial está presente en el rastreo con ultrasonidos Doppler
 z_map: Z (MAP)
 z_leptin: Z (Leptina)
 z_totalplgf_sr: Z (PLGF total)
 10 z_pai1: Z (PAI-1)
 z_sicam: Z (icam)

15 Para demostrar el principio, se considera una mujer con un riesgo estándar (es decir, sin factores de riesgo particulares para PE) que presentan sTNF α R1 y MMP-9 medidos en una visita rutinaria. En los cálculos, se observa que el sTNF α R1 es ligeramente elevado (valor Z = 1,2), MMP-9 muy ligeramente bajo (valor Z = -0,7). Ningún valor solo provocaría preocupación. Por razones administrativas, el asistente sanitario no quiere tratar con más de un 5% de falsos positivos, de manera que se fija la FPR requerida a un 5% y el valor crítico al 0,12 (página 33, línea 12).

20 Utilizando la primera matriz, su valor de predicción es $1,0432029 * 1,2 - 0,34696031 * 0,7 - 1,2863186 = -0,28$. Éste es inferior al valor crítico, de manera que el ensayo se considera negativo. El ensayo también sería negativo si la FTR era del 10%; pero si el asistente clínico ha fijado la FPR a 15% haciendo que el valor crítico sea de -0,32, se habría tratado como positivo.

25 Si se realizara un rastreo con ultrasonido Doppler y no se hallaran muescas, se utilizaría la segunda matriz. El valor de predicción sería de $0,61090612 * 1,2 - 0,59709505 * 0,7 - 2,1966031 = -1,9$, un resultado inequívoco negativo. Si hubiera una muesca, se añadiría 2,7545618 al valor, obteniendo 0,87. Este valor necesita compararse con la segunda línea de la tabla de valores críticos (página 33, línea 14). Ahora, el resultado es negativo para una FPR de 5%, pero positivo para una FPR del 10% o 15%.

30 Para la predicción de PE frente al riesgo estándar

```

b[1,3]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr _cons
y1 1.0432029 -0.34696031 -1.2863186
  
```

```

b[1,4]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr notch _cons
y1 .61090612 -.59709505 2.7545618 -2.1966031
  
```

```

b[1,3]
  z_stnfr1_sr z_freep1gf_sr _cons
y1 .81384545 -.53030671 -1.5053348
  
```

```

b[1,4]
  
```

```

      z_stnfr1_sr z_freplgf_sr notch _cons
y1  .26926822 -55020866 1.8888846 -2.1814126
b[1,4]
      z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_freplgf_sr _cons
y1  1.0738543 -19184711 -57021054 -1.5267719

b[1,4]
      z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_pai2_sr _cons
y1  1.1534334 -3877764 -52279565 -1.5507775

b[1,4]
      z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_sbp_sr _cons
y1  1.0301201 -38423421 1.4740355 -2.1781847

b[1,7]
      z_freplgf_sr z_mmp9_sr z_stnfr1_sr z_pai2_sr z_sbp_sr notch
y1  -2.0250666 -65920058 .59080375 .19069115 3.6054897 1.9389349
      _cons
y1  -5.7557371

b[1,4]
      z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_map_sr _cons
y1  1.3379544 -10787412 1.6728738 -2.3193343

b[1,4]
      z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_leptin_sr _cons
y1  .98383643 -36584237 .39760579 -1.2927683

b[1,4]
      z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_totalplgf_sr _cons
y1  1.1851669 -1844576 -65271362 -1.5679957

b[1,4]
      z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_pai1_sr _cons
y1  .94282693 -30127994 .12890895 -1.2214146

b[1,4]
      z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_sicam_sr _cons
y1  .99344876 -33604467 .6909771 -1.5493951

b[1,2]
      z_pai2pai1_sr _cons
y1  -.15004057 -1.0637463

b[1,2]
      z_leptin_plgf_sr _cons
y1  .77674067 -1.3431946

b[1,2]
      z_pai2_plgf_sr _cons
y1  -.75667183 -1.3920582
logit pe z_plgf_pai_e_sr if pe|sr, nolog

b[1,2]
      z_plgf_pai_e_sr _cons
y1  -.70432698 -1.4878685

b[1,7]

```

	z_fit1_sr	z_mmp2_sr	z_inhibin_sr	z_vegf_sr	z_totalplgf_sr
y1	.35582686	-.16394511	-.07078584	-.27345864	-.34067951
5	z_adiponectin_sr	_cons			
y1	-.20935986	-.9211228			

Valores críticos

10

	5% FPR	10% FPR	15% FPR
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr	0,12	-0,19	-0,32
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr notch z_stnfr1 _sr z_mmp9_sr notch	1,02	-0,03	-0,68
z_stnfr1_sr z_freelplgf_sr	0,32	-0,01	-0,35
z_stnfr1_sr z_freelplgf_sr notch	0,66	-0,22	-0,92
z_stnft1_sr z_mmp9_sr z_freelplgf_sr	0,52	-0,10	0,29
z_smfr1_sr z_mmp9_sr z_pai2_sr	0,67	-0,16	-0,28
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_sbp_sr	0,47	-0,55	-0,96
z_freelplgf_sr z_mmp9_sr z_stnfr1_sr z_pai2_sr z_sbp_sr notch	0,22	-1,28	-2,06

	5% FPR	10% FPR	15% FPR
z_stnfr1_sr z_nmip9_sr z_map_sr	0,25	-0,46	-0,85
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_leptin_sr	0,48	-0,09	-0,34
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_totalplgf_sr	0,65	0,29	-0,06
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_pai1_sr	0,13	-0,12	-0,22
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_sicam_sr	0,51	0,12	-0,38

ES 2 364 314 T3

	5% FPR	10% FPR		15% FPR
Combinaciones previas (solicitud de patente internacional WO 02/37120)				
z_pai2pai1_sr	-0,78	-0,84		-0,86
z_teptin_plgi_sr	-0,18	-0,28		-0,59
z_pai2_plgf_sr	-0,18	-0,46		-0,59
z_plgf_pai_e_sr	0,04	-0,42		-0,77

	5% FPR	10% FPR		15% FPR
Combinación de comparación				
z_ftt1_sr z_mmp2_sr z_inhibin_sr z_vegf_sr z_totalplgf_sr z_adiponectin_sr	-0,17	-0,28		-0,36

Para la predicción de PE frente a riesgo elevado

```

b[1,3]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr   _cons
y1  .88498059 -72536714 -94524474

b[1,4]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr notch   _cons
y1  .87523318 -1.1270949 2.8218524 -2.2408897

b[1,3]
  z_stnfr1_sr z_freelplg_sr   _cons
y1  .86134793 -57855919 -87119207

b[1,4]
  z_stnfr1_sr z_freelplg_sr notch   _cons
y1  .80939968 -52511392 2.1766235 -1.8037314

b[1,4]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_freelplg_sr   _cons
y1  .84869018 -47779192 -5639567 -87878531

b[1,4]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_pai2_sr   _cons
y1  .85771221 -6995626 -46065059 -1.025472

b[1,4]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_sbp_sr   _cons
y1  .85569662 -7670603 .51384748 -1.5029548

b[1,7]
  z_freelplg_sr z_mmp9_sr z_stnfr1_sr z_pai2_sr z_sbp_sr notch
y1  -4940046 -1.5801611 .78963882 -41251359 .8577906 3.950109

  _cons
y1  -3.8968735

b[1,4]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_map_sr   _cons
y1  .88661071 -74080545 .58578771 -1.5753431

b[1,4]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_leptin_sr   _cons
y1  .79373952 -.49158458 .34714359 -.68989926

b[1,4]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_totalplg_sr   _cons
y1  .8689593 -52976047 -47183616 -.90188186

b[1,4]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_pail_sr   _cons
y1  .75591297 -.48766196 -.00740248 -.66806738

b[1,4]
  z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_sicam_sr   _cons
y1  .8626898 -.71502332 .21285119 -1.0772888

b[1,2]
  z_pai2pail_sr   _cons

```

y1 -.11241369 -.87572122
logit pe z_leptin_plgf_sr if pe|hr, nolog

b[1,2]
z_leptin_plgf_sr _cons
y1 .50677483 -1.084977
logit pe z_pai2_plgf_sr if pe|hr, nolog

b[1,2]
z_pai2_plgf_sr _cons
y1 -.43092466 -1.0958821

b[1,2]
z_plgf_pai_e_sr _cons
y1 -.34371951 -1.1250665

b[1,7]
zflt1_sr z_mmp2_sr z_inhibin_sr z_vegf_sr z_totalplgf_sr
y1 .789795 .23762254 -.7119987 -.33843105 -.23128792

z_adiponectin_sr _cons
y1 -.54010533 -.06317101

Valores criticos

5

	5% FPR	10% FPR	15% FPR
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr	0,74	0,20	-0,15
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr notch	0,21	-0,14	-0,50
z_stnfr1_sr z_freep_lgf_sr	11,04	0,61	0,29
z_stnfr1_sr z_freep_lgf_sr notch	0,75	0,51	0,07
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_freep_lgf_sr	1,13	0,33	-0,05
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_pai2_sr	1,12	0,63	-0,03
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_sbp_sr	0,63	0,08	-0,20
z_freep_lgf_sr z_mmp9_sr z_stnfr1_sr z_pai2_sr z_sbp_sr notch	0,58	-0,92	-1,31

ES 2 364 314 T3

	5% FPR	10% FPR	15% FPR
z_stnfr1_sr z_nmip9_sr z_map_sr	0,80	0,08	-0,28
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_leptin_sr	0,91	0,60	0,49
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_totalplgf_sr	1,26	0,99	0,09
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_pai1_sr	1,01	0,44	0,16
z_stnfr1_sr z_mmp9_sr z_sicam_sr	0,74	0,22	-0,15

	5% FPR	10% FPR	15% FPR
Combinaciones previas (solicitud de patente internacional WO 02/37120)			
z_pai2pai1_sr	-0,19	-0,48	-0,62
z_leptin_plgl_sr	0,07	-0,16	-0,35
z_pai2_plgf_sr	-0,13	-0,24	-0,33
z_plgf_pai_e_sr	0,03	-0,24	-0,41

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método de predicción de preeclampsia (PE) que comprende determinar en una muestra materna obtenida de una paciente que se encuentra entre las 10 y 38 semanas de gestación, el nivel de receptor 1 del factor de necrosis tisular alfa soluble (sTNF α R1) y de Matriz Metaloproteinasa-9 (MMP-9), en el que una predicción positiva está determinada por un nivel de MMP-9 estadísticamente significativamente inferior y un nivel de sTNF α R1 estadísticamente significativamente superior a los niveles normales obtenidos de mujeres embarazadas.
- 10 2. Método, según la reivindicación 1, que comprende adicionalmente medir una o más variables hemodinámicas seleccionadas de un grupo que consiste en una muesca diastólica, presión sanguínea sistólica (SBP), presión sanguínea diastólica (DBP) y presión arterial promedio (MAP), utilizando medios no quirúrgicos, en el que una predicción positiva está determinada adicionalmente por la presencia de una muesca diastólica, o un nivel de SBP, DBP o MAP estadísticamente significativamente superiores al valor normal obtenido de mujeres embarazadas.
- 15 3. Método, según la reivindicación 1, que comprende adicionalmente determinar la presencia de una muesca diastólica en una forma de la onda de la arteria uterina obtenida de la paciente utilizando medios no quirúrgicos, en el que una predicción positiva está determinada adicionalmente por la presencia de una muesca diastólica.
- 20 4. Método, según la reivindicación 3, en el que la forma de la onda de la arteria uterina se obtiene mediante ultrasonido Doppler.
- 25 5. Método, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende adicionalmente determinar la presión sanguínea de una paciente mediante métodos estándar no quirúrgicos y una predicción positiva está determinada por una presión sanguínea estadísticamente significativamente superior al nivel normal obtenido de mujeres embarazadas.
- 30 6. Método, según la reivindicación 5, en el que se determina la presión sanguínea sistólica (SBP) de una paciente utilizando medios no quirúrgicos y una predicción positiva está determinada adicionalmente por una SBP estadísticamente significativamente superior al nivel normal obtenido de mujeres embarazadas.
- 35 7. Método, según la reivindicación 5 o la reivindicación 6, en el que se determina la presión arterial promedio (MAP) de una paciente utilizando medios no quirúrgicos y una predicción positiva está determinada adicionalmente por una MAP estadísticamente significativamente superior al nivel normal obtenido de mujeres embarazadas.
- 40 8. Método, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende adicionalmente determinar el nivel de factor de crecimiento de placenta (PLGF) en la muestra materna, en el que una predicción positiva está determinada adicionalmente por un nivel de PLGF estadísticamente significativamente inferior al nivel normal obtenido de mujeres embarazadas.
- 45 9. Método, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende adicionalmente determinar el nivel de inhibidor-2 de activador de plasminógeno (PAI-2) en la muestra materna, en el que una predicción positiva está determinada adicionalmente por un nivel de PAI-2 estadísticamente significativamente inferior al nivel normal obtenido de mujeres embarazadas.
- 50 10. Método, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende adicionalmente determinar el nivel de uno o más de los siguientes marcadores: leptina, inhibidor-1 de activador de plasminógeno (PAI-1), factor de crecimiento de placenta (PLGF) y molécula-1 de adhesión intercelular (ICAM), en el que una predicción positiva está determinada adicionalmente por un nivel de leptina estadísticamente significativamente superior y/o un nivel de PAI-1 estadísticamente significativamente superior y/o un nivel de PLGF estadísticamente significativamente inferior y/o un nivel de ICAM estadísticamente significativamente superior a los niveles normales obtenidos de mujeres embarazadas.
- 55 11. Método, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la muestra materna es sangre.
- 60 12. Método de predicción de la preeclampsia (PE) que comprende determinar en una muestra materna obtenida de una paciente, el nivel de receptor 1 del factor de necrosis tisular alfa soluble (sTNF α R1) y factor de crecimiento de placenta (PLGF), en el que una predicción positiva está determinada por un nivel de sTNF α R1 estadísticamente significativamente superior y un nivel de PLGF estadísticamente significativamente inferior a los niveles normales obtenidos de mujeres embarazadas.
13. Método, según la reivindicación 12, que comprende determinar en una muestra biológica materna obtenida de una paciente los niveles de sTNF α R1 y PLGF, y determinar la presencia o ausencia de una muesca diastólica en una forma de onda de la arteria uterina obtenida de la paciente, en el que una predicción positiva está determinada adicionalmente por la presencia de una muesca.