

BIOMARCADORES LABORATORIAIS COMO PREDITORES DE PRÉ-ECLÂMPسيا

LABORATORY BIOMARKERS AS PRE-ECLAMPSIA PREDICTORS

Dilma do Socorro Moraes de Souza^{1,2}, Francisco César Aquino³, Alan Souza da Luz³, João Victor Moura Alves³

RESUMO

A pré-eclâmpسيا (PE) caracteriza-se por um quadro clínico grave e multissistêmico em gestantes previamente normotensas e até o momento sem etiologia completamente esclarecida. Vários mecanismos fisiopatológicos têm sido implicados na patogênese e biomarcadores vêm sendo estudados para rastreamento de PE, porém ainda precisam ser validados para detecção precoce deste estado hipertensivo, o que complica a previsão e o tratamento da PE.

Descritores: Pré-Eclâmpسيا; Biomarcadores; Diagnóstico; Placentação.

ABSTRACT

Pre-eclampsia (PE) is a severe and multisystemic in previously normotensive pregnant women and, so far without fully clarified etiology. Several pathophysiological mechanisms have been implicated in the pathogenesis and biomarkers have been studied for PE screening, but they still need to be validated for early detection of this hypertensive state which complicates PE prediction and treatment.

Keywords: Pre-Eclampsia; Biomarkers; Diagnosis; Placentation.

INTRODUÇÃO

Os estados hipertensivos maternos são classificados em quatro categorias principais: pré-eclâmpسيا, eclâmpسيا, hipertensão crônica, hipertensão crônica com pré-eclâmpسيا sobreposta e hipertensão gestacional.^{1,2}

A pré-eclâmpسيا (PE) é um estado hipertensivo da gravidez caracterizado por uma nova hipertensão que surge após a vigésima semana de gestação em previamente normotensas, e comumente cursa com proteinúria e ou lesões em órgãos nobres.²⁻⁴

Esta síndrome hipertensiva é a principal causa de morbidade e mortalidade materno fetal e neonatal, sendo atribuída aos estados de PE 14% de mortes maternas e 500.000 mortes fetais anualmente em todo planeta. Mundialmente 2 a 8% das grávidas irão desenvolver quadros de pré-eclâmpسيا.⁵⁻⁸

A PE caracteriza-se por desenvolver um quadro clínico grave, multissistêmico, e sem etiologia completamente esclarecida. Postula-se que a placenta desempenha um papel fundamental para o desenvolvimento de PE, partindo-se da observação da resolução dos quadros após a remoção desta estrutura gestacional.^{9,10}

Neste artigo faremos uma abordagem geral do quadro

evolutivo de pré-eclâmpسيا, com foco nos biomarcadores utilizados como "screening" para predição precoce dos estados de PE.

A literatura disponível cita determinados fatores considerados como preditores de risco ao desenvolvimento de quadros de PE, dos quais fazem parte, a idade materna, história familiar, predisposição genética, tempo de convivência sexual, tabagismo materno, número de gestações, uso de anticoncepcionais, fertilização *in vitro* e condições médicas maternas, como hipertensão pré-existente, diabetes, doença renal crônica e obesidade. Determinadas condições associadas ao aumento da massa placentária, como gestações multifetais e mola hidatiforme, são incluídas como fatores de risco para o surgimento de PE. Condições menos comuns e que contribuem para o risco de desenvolver PE são trissomia 13, mulheres nascidas de gestações complicadas, hereditariedade, todas contribuindo para o risco do binômio materno-fetal.^{8,11,12}

APRESENTAÇÃO CLÍNICA

As principais diretrizes consideram critérios de PE a "uma nova" hipertensão que surge após a 20ª semana em grávidas sem histórico de hipertensão arterial.² Atenção deve ser despendida quanto ao diagnóstico correto de hipertensão arterial

1. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Pará, PA, Brasil.

2. Fundação Pública Estadual Hospital de Clínicas Gaspar Vianna, Belém, PA, Brasil.

3. Faculdade De Medicina da Universidade Federal do Pará, PA, Brasil.

Correspondência: dsouza@cardiol.br

<http://dx.doi.org/10.47870/1519-7522/20212803238-42>

em gestantes, considerando-se como pontos de corte níveis ≥ 140 mmHg de sistólica e/ou ≥ 90 de diastólica verificada em duas ocasiões com intervalo de 4h entre as aferições.²Atualmente os critérios de PE passaram a ser ampliados e incluem situações que cursam com ausência de proteinúria. Nesta situação as gestantes afetadas podem apresentar relação albumina/creatinina > 30 mg/mmol e/ou proteinúria > 300 mg/24h, ou 1 gr/l (2+) no teste da fita na urina.

Os quadros de PE podem vir associados a comorbidades tais como insuficiência renal, insuficiência hepática, lesões neurológicas, complicações hematológicas e insuficiência útero-placentária manifestada pelo retardo do crescimento fetal.¹²⁻¹⁴

A evolução para hipertensão grave apresenta como manifestações clínicas níveis pressóricos elevados ≥ 160 mmHg de sistólica e/ou 110 mmHg de diastólica seguida de trombocitopenia, elevação de transaminase, edema pulmonar, aparecimento de insuficiência renal e complicações cerebrais, distúrbios visuais e até convulsão do tipo grande mal; esta última quando surge, passa a se chamar de eclâmpsia.¹⁵

Os casos de PE apresentam-se bastante heterogêneos, e considera-se o tempo gestacional em semanas como período de aparecimento desse estado hipertensivo no curso da gestação. A PE chamada precoce é aquela que tem início antes da 34ª semana de gravidez e tardia quando surge após esse período.¹⁶

A PE que surge após 34ª semana é caracterizada como tardia e geralmente está associada com recém-nascidos grandes para a idade gestacional e obesidade materna.¹⁷

A ocorrência de casos precoces está associada com restrição do crescimento intrauterino. Determinados estudos de coorte como os desenvolvidos por Shear et al. que estudaram 155 gestantes (64%) com PE antes de 34 semanas observando que elas apresentaram restrições do crescimento intrauterino (RCIU).¹⁸ Outro estudo de coorte envolveu 176 casos de PE antes de 34 semanas, os autores corroboraram com este mesmo resultado.^{16,17}

PATOGÊNESE

Placentação normal

A PE é uma patologia humana, não sendo registrada em outras espécies. Do ponto de vista fisiológico, para acomodar o fluxo sanguíneo necessário ao desenvolvimento fetal ocorre alterações estruturais e adaptação dos vasos maternos. A transformação das artérias espirais de pequenas artérias musculares em grandes vasos tortuosos é necessária para acomodar o fluxo sanguíneo da placenta e para substituir o controle vasomotor das artérias maternas.¹⁹

Placentação Anormal

A literatura cita dois estágios envolvidos na patogênese da pré-eclâmpsia: placentação anormal no primeiro trimestre e posteriormente disfunção vascular sistêmica materna.²⁰ As pesquisas em relação as alterações placentárias na PE revelaram participação de fatores moleculares importantes na gênese das manifestações clínicas, como fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento da placenta (PIGF), tirosina quinase-1 tipo FMS solúvel (sFlt-1) e endoglina solúvel (sEng).

A ocorrência de PE se deve a prejuízo na placentação

causando isquemia placentária resultando no aumento de fatores antiangiogênicos (sFlt-1 e sEng) na circulação materna, que posteriormente agem antagonizando uma série de fatores pró-angiogênicos, como PIGF. A consequência disso é a redução na concentração de fatores angiogênicos e PIGFs na circulação materna durante o primeiro e segundo trimestre levando ao comprometimento da função endotelial e a quadros de PE precoce.²¹⁻²³

FATORES PRÓ-ANGIOGÊNICO E ANTI-ANGIOGÊNICO

A angiogênese placentária normal é o mecanismo essencial para formar uma boa perfusão placentária no sentido de estabelecer um ambiente uterino adequado para garantir o crescimento normal do feto. Fatores pró-angiogênicos desempenham um papel fundamental neste processo.²⁴

A literatura científica trabalha com a hipótese de desequilíbrio entre os fatores pró-angiogênicos e anti-angiogênicos como sendo patogênicos da PE, afetando a remodelação das artérias espirais uterinas e a angiogênese.²⁵

Com referência às evidências existentes, citaremos vários fatores pró-angiogênicos e fatores anti-angiogênicos que podem estar associados com PE, todos os quais são proteínas, a exemplo o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) pertencente a um grupo de glicoproteínas diméricas, e muito estudado atualmente, apresenta vários subtipos, como VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F e fator de crescimento placentário (PIGF), que podem se ligar especificamente a receptores do VEGF como VEGFR-1, VEGFR-2 e VEGFR-3.²⁵ O VEGF pode aumentar a permeabilidade vascular e a vasodilatação por meio do óxido nítrico, reduzindo o tônus vascular e a pressão arterial.²⁴

O VEGF pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento da PE. Kurtoglu et al. descobriram que o VEGF sérico em pacientes com PE grave foi significativamente maior do que em pacientes com PE leve em grávidas normais e interpretaram que o VEGF poderia ser um indicador importante para prever a gravidade da PE.²⁶

O VEGF e o PIGF são importantes durante todo o período de desenvolvimento embrionário, devido a participação desses fatores na angiogênese. Os fatores sFlt-1 e a endoglina solúvel (sEng) apresentam atividade anti-angiogênica. As evidências têm demonstrado que um desequilíbrio entre esses fatores está associado ao início da pré-eclâmpsia.²⁷

Inúmeras hipóteses tentam justificar o desenvolvimento e a gravidade da PE. Neste raciocínio os pesquisadores entendem como uma síndrome placentária que depende da presença da placenta para sua ocorrência, uma vez que se observa o aparecimento na mola hidatiforme.¹⁹

Estudos com biópsia registraram que placentas pré-eclâmpicas apresentavam aterosclerose, estreitamento esclerótico de artérias e arteríolas, deposição de fibrina e infartos, consistentes com hipoperfusão placentária secundária. Várias publicações trabalham com a hipótese do remodelamento anormal das artérias espirais e tendo como gatilho inicial a isquemia placentária causando restrição do crescimento fetal.²⁸⁻³⁰

Investigações experimentais dos perfis metabólicos da placenta de gestantes observaram participação de

mediadores moleculares que regulavam a expressão de determinados genes os quais seriam estimulados por hipóxia, como a eritropoetina, fator de crescimento endotelial vascular, óxido nítrico sintetase e expressão de HIF1 em placentas humanas. Níveis de HIF1 α persistentemente elevados poderiam indicar estresse placentário e prever o desenvolvimento de pré-eclâmpsia.³⁰

O estresse oxidativo pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento normal ou defeituoso da placenta, influenciando em mecanismos de desequilíbrio entre fatores pro oxidante e antioxidantes responsáveis pelo remodelamento defeituoso das artérias espirais.^{31,32}

Estudos experimentais em modelos de animais têm demonstrado um papel primordial de mecanismos imunológicos no qual as células natural “killer” da decídua estariam envolvidas no remodelamento das artérias espirais. incompatibilidade materna com receptores placentários são vistos como um dos fatores desencadeantes de PE. Da mesma forma antígenos paternos parecem compartilhar tais mecanismos.³³

BIOMARCADORES SÉRICOS COMO PREDITORES DE PE

As diretrizes internacionais e nacionais sugerem rastreamento da PE no primeiro trimestre, alguns modelos levam em conta a história clínica materna, fatores de risco associados à ultrassonografia com Doppler, este último verifica se há resistência ao fluxo nas artérias uterinas. Além disso podem ser adicionados exames laboratoriais que avaliam a angiogênese como dosagem da endoglina solúvel, PIGF (*placental endotelial growth factor (sFlt-1 soluble fms-like tyrosine kinase receptor-1)*) e razão sFlt-1/PIGF tidos como promissores, porém não atingiram níveis de indicação assim como ainda não estão disponíveis na prática clínica.³⁴

FATOR DE CRESCIMENTO DERIVADO DA PLACENTA (PLGF)

Trata-se de uma glicoproteína dimérica, pertencente à família dos fatores de crescimento vascular (VEGF) sendo sintetizada no citotrofoblasto viloso e extra viloso, com propriedades angiogênicas e pró-inflamatórias. Níveis baixos deste marcador bioquímico entre 11^a a 13^a semana de gestação ou sFlt-1 em níveis elevados são capazes de prever PE, de acordo com estudos mais recentes. Esses marcadores isolados têm baixa sensibilidade na predição de PE, porém quando realizada a relação entre ambos (sFlt-1/PIGF) mostrou uma melhor sensibilidade.³⁵⁻³⁷

ENDOGLINA SOLÚVEL (SENG)

A endoglina é uma proteína ligada à membrana a qual promove a produção de óxido nítrico pelas células endoteliais e inibe a apoptose, desempenha um papel antiangiogênico ao inibir a ligação do fator transformador de crescimento- β 1 (TGF β 1) ao seu receptor nas células endoteliais. Pode afetar a permeabilidade dos vasos sanguíneos *in vivo* para causar hipertensão, e também pode inibir a angiogênese capilar *in vitro*.^{38,39}

Estudos têm demonstrado que os níveis séricos de SeNG podem aumentar nos últimos dois meses de gravidez

normal e surgimento de um pico mais rápido na PE durante o início da doença, podendo estar associado à gravidade. Além disso, pode desempenhar um papel sinérgico com sFlt1 na patogênese da PE. Portanto, alguns pesquisadores acreditam que o aumento da SeNG no sangue e o aumento da razão sFlt1: PIGF podem prever a ocorrência de pré-eclâmpsia.^{40,41}

BIOMARCADORES FÍSICOS

Índice de **pulsatilidade da artéria uterina**: é um marcador biofísico que avalia a circulação útero-placentária, e ele é calculado pela resistência das artérias uterinas obtidas pelo ultrassom com Doppler (USD). É citado como capaz de prever o risco de PE pelas diretrizes internacionais e nacionais, porém sem atingir níveis de evidência. O ultrassom com Doppler avalia a resistência do fluxo nas artérias uterinas, apresenta correlação histológica e clínica com a gravidade da PE. Com o avanço da gestação há uma redução da resistência do fluxo de maneira fisiológica. O aumento da impedância do fluxo nas artérias uterinas demonstra placentação anormal, manifestada por mudanças na velocidade do fluxo útero-placentário. A medida do índice de pulsabilidade das artérias uterinas é melhor reprodutível no primeiro trimestre.^{42,43}

O USD está indicado entre 20 e 22 semanas tendo boa correlação com PE tardia (acima de 34 semanas) e retardo do crescimento intrauterino (RCIU). Quando o USD é realizado no primeiro trimestre da gestação, o índice de pulsabilidade da artéria uterina tem menor acurácia, podendo ser mais fidedigno quando auxiliado pela história clínica e investigação das comorbidades associadas.³⁵

PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM)

Estudos observacionais têm demonstrado que mulheres que desenvolveram PE apresentavam pressão arterial sistólica e pressão arterial média mais elevadas pela MAPA, antes do início da doença, apresentando valores preditivos positivos mais elevados, quando comparados com leituras das pressões arteriais sistólicas ou diastólicas isoladas. A MAPA realizada no primeiro trimestre costuma ser afetada pelo peso materno, altura, idade, raça, origem, tabagismo, história familiar prévia de PE e história de hipertensão crônica. Conseqüentemente, a combinação desses preditores pode ser benéfico na seleção das pacientes para o monitoramento e intervenção precoce durante a gravidez.^{44,45}

OUTRAS MODALIDADES PROPOSTAS PARA “SCREENING” DE PE

Várias estratégias de triagem, para detecção precoce dos casos de PE vem sendo experimentadas nos estudos, incluindo desde a história materna, fatores de risco, marcadores séricos e biofísicos. Kumar et al. analisando uma combinação de índice de massa corpórea (IMC), PAM (pressão arterial média) Doppler e índice de pulsabilidade das artérias uterinas tiveram correlação distinta com início de hipertensão arterial, tendo sensibilidade e especificidade de 76% e 80% respectivamente. Este fato foi corroborado pelos estudos de Poon et al. que avaliaram o risco de PE e

encontraram sensibilidade de 76% com esta combinação quando utilizaram somente a história materna.^{45,46}

A FIGO (Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia) apoia escores de rastreamento de PE no primeiro trimestre da gestação, a qual combina história materna, medida da pressão arterial média avaliada pela MAPA (Monitorização da pressão arterial), índice de pulsabilidade das artérias uterinas mensurada pelo US com Doppler, e PlGF. A Tabela 1 demonstra os fatores de risco maternos incluídos na estratégia de *screening* de PE apoiados pela FIGO.⁴⁵

CONCLUSÃO

Como vimos, há muito espaço para melhorias e para identificar e validar biomarcadores novos e mais precisos para a previsão de PE. Vários mecanismos fisiopatológicos têm sido implicados na patogênese da PE, no entanto, atualmente os mecanismos envolvidos por trás desta doença ainda permanecem incompletamente elucidados, o que complica a previsão e o tratamento da PE.

REFERÊNCIAS

- Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2013 Nov;122(5):1122-1131. doi: 10.1097/01.AOG.0000437382.03963.88.
- Barroso WKS, Rodrigues CIS, Bortolotto LA, Mota-Gomes MA, Brandão AA, Feitosa ADM, et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. *Arq Bras Cardiol.* 2021; 116(3):516-658.
- World Health Organization (WHO). WHO Recommendations for Prevention and Treatment of pre-eclampsia and eclampsia. World Health Organization (WHO), Department of Reproductive Health and Research, 2011. Acesso em 9/8/2021. Disponível em: https://www.who.int/reproductivehealth/publications/maternal_perinatal_health/9789241548335/en/
- Savaj S, Nosratalah D Vaziri. An overview of recent advances in pathogenesis and diagnosis of preeclampsia Iran J Kidney Dis. 2012 Sep;6(5):334-8.
- Kuklina EV, Ayala C, Callaghan WM. Hypertensive disorders and severe obstetric morbidity in the United States. *Obstet Gynecol.* 2009;113:1299-306.
- Wallis AB, Saftlas AF, Hsia J, Atrash HK. Secular trends in the rates of preeclampsia, eclampsia, and gestational hypertension, United States, 1987-2004. *Am J Hypertens.* 2008; 21: 521-6. doi: 10.1038/ajh.2008.20.
- Townsend R, O'Brien P, Khalil A. Current best practice in the management of hypertensive disorders in pregnancy. *Integr Blood Press Control.* 2016;9:79–94. doi: 10.2147/IBPC.S77344.
- Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2011 Aug;25(4):391-403. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2011.01.006.
- Mol BWJ, Roberts CT, Thangaratnam S, Laura AM, Christianne JM, Justus HG. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2016; 387:999-1011. doi:10.1016/S0140-6736(15)00070-7.
- Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, Ray JG; High Risk of Pre-eclampsia Identification Group. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *BMJ.* 2016 Apr 19;353:i1753. doi: 10.1136/bmj.i1753.
- Roberts JM, Escudero C: The placenta in preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2012; 2:72-83. doi 10.1016/j.preghy.2012.01.001
- Weiler J, Tong S, Palmer KR. Is fetal growth restriction associated with a more severe maternal phenotype in the setting of early onset pre-eclampsia? A retrospective study. *PLoS One.* 2011;6(10): e26937.
- Tranquilli AL, Dekker G, Magee L, et al. The classification, diagnosis and management of the hypertensive disorders of pregnancy: A revised statement from the ISSHP. *Pregnancy hypertension.* 2014;4(2):97-104.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. Task force on hypertension in pregnancy. Hypertension in pregnancy. Report of the American college of obstetricians and gynecologists' task force on hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2013;122(5):1122–31.
- Phipps EA, Thadhani R, Benzing T, Karumanchi SA. Pre-eclampsia:

Tabela 1. Características maternas, história clínica e obstétrica para “screening” de PE no primeiro trimestre.

1- Idade materna
2- Peso materno em kg
3- Altura materna em cm
4- Etnia materna
5- História obstétrica pregressa: nulíparas, parentes sem pré-eclâmpsia prévia
6- Paridade com pré-eclâmpsia prévia
7- Intervalo entre gestações em anos
8- História familiar de pré-eclâmpsia (mãe)
9- Método de concepção: espontâneo, indução da ovulação, fertilização <i>in vitro</i>
10- Hábito de fumar
11- História de hipertensão crônica
12- História de diabetes <i>mellitus</i> : tipo 1, tipo 2, ingestão de insulina
13- História de lúpus eritematoso sistêmico ou síndrome antifosfolípide

Fonte: modificado da referência 45.

pathogen-esis, novel diagnostics and therapies. *Nat Rev Nephrol* 2019;15:275–89.

- Bicocca MJ, Mendez-Figueroa H, Chauhan SP, Sibai BM. Maternal obesity and the risk of early-onset and late-onset hypertensive disorders of pregnancy *Obstet Gynecol.* 2020;136:118–27.
- Rasmussen S, Irgens LM & Espinoza J Maternal obesity and excess of fetal growth in pre-eclampsia. *BJOG.* 2014 Oct;121(11):1351-7. doi: 10.1111/1471-0528.12677.
- Shear RM, Rinfret D, Leduc L. Should we offer expectant management in cases of severe preterm preeclampsia with fetal growth restriction? *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192:1119–1125.
- Brosens I, Robertson WB, Dixon HG. The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy. *J Pathol Bacteriol.* 1967 Apr;93(2):569-79. doi: 10.1002/path.1700930218.
- Rana S, Lemoine E, Granger J, Karumanchi SA. Preeclampsia. *Circ Res.* 2019;124:1094–112.
- Lockwood CJ, Krikun G, Caze R, Rahman M, Buchwalder LF, Schatz F. Decidual cell-expressed tissue factor in human pregnancy and its involvement in hemostasis and preeclampsia-related angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1127: 67-72.
- Milkat B, Gellhaus A, Wagner N, Birdir C, Kimmig R, Koninger A. Early detection of maternal risk for preeclampsia. *ISRN Obstet Gynecol.* 2012; 2012: 172808. doi: 10.5402/2012/172808.
- Crispi F, Llurba E, Domínguez C, Martín-Gallán P, Cabero L, Gratacós E. Predictive value of angiogenic factors and uterine artery Doppler for early-versus late-onset pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008; 31:303-9. doi: 10.1002/uog.5184
- Pratt A, Da Silva Costa F, Borg AJ, et al. Placenta-derived angiogenic proteins and their contribution to the pathogenesis of preeclampsia. *Angiogenesis.* 2015;18:115-123. doi:10.1007/s10456-014-9452-3
- Helmo FR, Lopes AMM, Carneiro A, et al. Angiogenic and antiangiogenic factors in preeclampsia. *Pathol Res Pract.* 2018; 214:7-14. Doi: 10.1016/j.prp.2017.10.021
- Kurtoglu E, Avci B, Kokcu A, et al. Serum VEGF and PGF may be significant markers in prediction of severity of preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016; 29:1987-92. Doi: 0.3109/14767058.2015.1072157
- Jardim LL, Rios DR, Perucci LO, de Sousa LP, Gomes KB, Dusse LM. Is the imbalance between pro-angiogenic and anti-angiogenic factors associated with preeclampsia? *Clin Chim Acta* 2015;447:34–8.
- Zhou Y, Fisher SJ, Janatpour M, et al. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J Clin Invest.* 1997 May 1;99(9):2139-51. doi: 10.1172/JCI119387.
- Zhou Y, Damsky CH & Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest.* 1997;99:2152–64.

30. Caniggia I, Mostachfi H, Winter J, et al. Hypoxia-inducible factor-1 mediates the biological effects of oxygen on human trophoblast differentiation through TGFbeta(3). *J Clin Invest*. 2000;105(5):577-87. doi: 10.1172/JCI8316.
31. Sedeek M, Gilbert JS, LaMarca BB, et al. Role of reactive oxygen species in hypertension produced by reduced uterine perfusion in pregnant rats. *Am J Hypertens*. 2008 Oct;21(10):1152-6. doi: 10.1038/ajh.2008.239.
32. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011 Jun;25(3):287-99. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016.
33. Chazara O, Xiong S, Moffett A. Maternal KIR and fetal HLA-C: a fine balance. *J Leukoc Biol*. 2011 Oct;90(4):703-16. doi: 10.1189/jlb.0511227.
34. Brown MA, Magee LA, Kenny LC, et al. The hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis & management recommendations for international practice. *Pregnancy Hypertens*. 2018;13:291-310.
35. Poon LC, Nicolaides KH. Early prediction of preeclampsia. *Obstet Gynecol Int*. 2014; 2014:29739.
36. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraj I, Moertl MG, et al. An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;202: 161.e1-161.e11.
37. Townsend R, O'Brien P, Khalil A. Current best practice in the management of hypertensive disorders in pregnancy. *Integr Blood Press Control*. 2016;9:79-94.
38. Jardim LL, Rios DR, Perucci LO, et al. Is the imbalance between pro-angiogenic and antiangiogenic factors associated with preeclampsia?. *Clin Chim Acta*. 2015;447:34-38. Doi:10.1016/j.cca. 2015.05.004
39. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med*. 2006;12:642-9. Doi: 10.1038/nm1429
40. Levine RJ, Lam C, Qian C, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med*. 2006;355:992-1005. Doi:10.1056/NEJMoa055352
41. Liu Z, Afink GB, Dijke PT. Soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin are elevated circulating anti-angiogenic factors in pre-eclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2012; 2:358-67. Doi: 10.1016/j.preghy.2012.06.003
42. Carbillion L, Perrot N, Uzan M, Uzan S. Doppler ultrasonography and implantation: A critical review. *Fetal Diagn Ther*. 2001;16:327-32.
43. Carbillion L, Challier JC, Alouini S, Uzan M, Uzan S. Uteroplacental circulation development: Doppler assessment and clinical importance. *Placenta*. 2001;22:795-9.
44. Sunjaya AF, Sunjaya AP. Evaluation of Serum Biomarkers and Other Diagnostic Modalities for Early Diagnosis of Preeclampsia. *J Family Reprod Health*. 2019 Jun;13(2):56-69.
45. Poon LC, Shennan A, Hyett JA, et al. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: A pragmatic guide for first-trimester screening and prevention. *Int J Gynaecol Obstet*. 2019 May;145 Suppl 1(Suppl 1):1-33. doi: 10.1002/ijgo.12802. Erratum in: *Int J Gynaecol Obstet*. 2019 Sep;146(3):390-1.
46. Kumar M, Gupta U, Bhattacharjee J, et al. Early prediction of hypertension during pregnancy in a low-resource setting. *Int J Gynaecol Obstet*. 2016;132:159-64.
47. Weiler J, Tong S, Palmer KR. Is fetal growth restriction associated with a more severe maternal phenotype in the setting of early onset pre-eclampsia? A retrospective study. *PLoS One*. 2011;6(10): e26937.