Utilizzo combinato di marcatori biochimici ed ecografici nella diagnosi di preeclampsia: una rassegna sistematica

Yves Giguère[1,2], Marc Charland[1], Emmanuel Bujold[1,3], Nathalie Bernard[1], Sonya Grenier[1], François Rousseau[1,2], Julie Lafond[4], France Légaré[1,5], Jean Claude Forest[1,2]

[1]CHUQ Research Center/Hôpital Saint-François d'Assise, Québec City, Québec, Canada

[2]Department of Medical Biology, [3]Department of Obstetrics and Gynecology, and [5]Department of Family Medicine, Faculty of Medicine, Université Laval, Québec City, Québec, Canada

[4]Department of Biological Sciences, BioMed Research Center, UQAM, Montréal, Québec, Canada

Traduzione a cura di Giulia Albonico

ABSTRACT

Combining biochemical and ultrasonographic markers in predicting preeclampsia: a systematic review. Early identification of pregnant women at risk for preeclampsia is a priority to implement preventive measures. Some biochemical and ultrasonographic parameters have shown promising predictive performance, but so far there is no clinically validated screening procedure. Using a series of keywords, we reviewed electronic databases (Medline, Embase, all records to May 2009) reporting the performance of biological and ultrasonographic markers to predict preeclampsia, both single markers and combinations of markers. We analyzed the data according to gestational age and risk levels of the studied populations. We evaluated the methodological quality of included publications using QUADAS (quality assessment of diagnostic accuracy studies). We identified 37 relevant studies that assessed 71 different combinations of biochemical and ultrasonographic markers. Most studies were performed during the second trimester on small-scale high-risk populations with few cases of preeclampsia. Combinations of markers generally led to an increase in sensitivity and/or specificity compared with single markers. In low-risk populations, combinations including placental protein 13 (PP13), pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A), a disintegrin and metalloprotease-12 (ADAM12), activin A, or inhibin A measured in first or early second trimester and uterine artery Doppler in second trimester appear promising (sensitivity 60%–80%, specificity >80%). In high-risk populations, the combination of PP13 and pulsatility index in first trimester showed 90% sensitivity and 90% specificity in a single study limited to severe preeclampsia. Combinations of biochemical and ultrasonographic markers improved the performance of early prediction of preeclampsia. From a perspective of integrative medicine, large population-based studies evaluating algorithms combining multiple markers are needed, if screening approaches are to be eventually implemented.

INTRODUZIONE

La preeclampsia (PE), una delle principali cause mondiali di problemi in gravidanza, rappresenta una causa importante di mortalità materna e perinatale (1-3). È definita dalla presenza *ex-novo* di ipertensione (>140/90 mmHg) che compare dopo la 20ª settimana di gravidanza, accompagnata da proteinuria (>0,3 g/24 ore) (4, 5). Un crescente numero di evidenze indica che le donne affette da PE saranno a maggiore rischio di malattie cardiovascolari in età più avanzata (6-9). L'OMS ha riconosciuto l'importanza della PE lanciando un programma specifico dedicato allo studio e al trattamento di questa sindrome (10).

La PE è caratterizzata da fisiopatologia complessa e da segni clinici e di laboratorio eterogenei (11-13). Numerosi meccanismi fisiopatologici, soli o in combinazione, sono stati proposti come responsabili delle diverse espressioni della PE. Essi includono un alterato rimodellamento vascolare dell'interfaccia materno-fetale, un'eccessiva risposta immune agli antigeni paterni, una risposta infiammatoria sistemica e una risposta disfunzionale placentare o endoteliale, processi questi tutti modulati da fattori genetici e ambientali (1, 14-16). Una tale eterogeneità di processi, potenzialmente causa o conseguenza di PE, ha

**Questo articolo è stato tradotto con il permesso dell'American Association for Clinical Chemistry (AACC). AACC non è responsabile della correttezza della traduzione. Le opinioni presentate sono esclusivamente quelle degli Autori e non necessariamente quelle dell'AACC o di Clinical Chemistry. Tradotto da Clin Chem 2010;56:361-75 su permesso dell'Editore.*

Copyright originale © 2010 American Association for Clinical Chemistry, Inc. In caso di citazione dell'articolo, riferirsi alla pubblicazione originale in Clinical Chemistry.

contribuito alla mancanza di mezzi diagnostici per l'identificazione delle donne che possono sviluppare PE, risultando in un riconoscimento tardivo e gravi complicanze (17, 18) e impedendo la valutazione di nuovi interventi di prevenzione. Quest'ultimo problema comporta particolari conseguenze per le donne ad alto rischio, in cui il trattamento ha mostrato potenziali effetti protettivi (19-22). Una recente metaanalisi suggerisce che, nelle donne ad alto rischio, aspirina a basse dosi a partire da prima della 16ª settimana di gestazione può evitare fino al 50% di PE, la PE severa e il ritardo di crescita intrauterina (IUGR) (23). Tutto ciò rafforza la necessità dell'identificazione precoce delle donne a rischio con l'obbiettivo di realizzare interventi mirati per migliorare la prognosi perinatale e materna.

Nel 2004, eseguito un riesame sistematico degli esami per lo screening della PE, l'OMS ha ribadito che "non esiste un esame di screening clinicamente utile per prevedere lo sviluppo di PE nelle popolazioni, sia a basso che ad alto rischio, e ulteriori studi prospettici sono necessari" (24). Dopo questa affermazione, molti gruppi hanno identificato o studiato potenziali marcatori biochimici e/o biofisici basati su meccanismi fisiologici, alcuni dei quali hanno fornito risultati incoraggianti. Riesami sistematici e/o metaanalisi che hanno valutato l'utilità clinica, più frequentemente, di singoli marcatori sono stati pubblicati recentemente (25-28), ma finora nessun marcatore ha dimostrato un livello di accuratezza tanto elevato da giustificare la sua applicazione clinica.

A causa della natura eterogenea della PE una combinazione di 2 o più biomarcatori indipendenti, ognuno riflettente un diverso processo fisiopatologico, potrebbe potenzialmente aumentare la probabilità di ricavare adatti algoritmi predittivi. Finora comunque nessuna rassegna sistematica ha valutato se i marcatori biochimici miglioravano le prestazioni di quelli ecografici e viceversa. In questo studio abbiamo eseguito un riesame sistematico delle evidenze disponibili riguardo le caratteristiche predittive di combinazioni di marcatori biochimici ed ecografici nel primo e secondo trimestre. Lo sviluppo di algoritmi predittivi efficienti sarebbe un passo importante verso l'identificazione precoce delle donne destinate a soffrire di PE, per classificarle secondo le categorie di rischio e in definitiva offrir loro un appropriato monitoraggio e interventi preventivi.

MATERIALI E METODI

Ricerca in letteratura e selezione dei lavori

Abbiamo eseguito una ricerca bibliografica nelle banche dati Medline e Embase dalle origini fino al maggio 2009. La strategia di ricerca consisteva nel combinare i "Medical Subject Heading" (MeSH, termini medici principali), i termini "Emtree" e le parole chiave collegate alla malattia (disordini ipertensivi della gravidanza, PE, gestosi, eclampsia, ipertensione indotta dalla gravidanza, ecc.) con i marcatori biochimici e biofisici (ecografici, Doppler, ecc.). Abbiamo sviluppato la strategia di ricerca attraverso un ripetuto processo di stretta collaborazione con specialisti di informatica ed esperti clinici di medicina di laboratorio e di ostetricia, in particolare per quanto riguarda i marcatori biochimici. Abbiamo dedicato particolare attenzione al fine di includere appropriati sinonimi, abbreviazioni e differenti modi di scrivere i marcatori biochimici e per cercare e selezionare termini MeSH più generali quando necessario (ad es., il marcatore IL-10 è legato al MeSH "interleuchina-10", che è compreso nel MeSH "interleuchine", che a sua volta fa parte di "citochine"; perciò abbiamo scelto "citochine" come termine MeSH onnicomprensivo). Alla fine questo meccanismo ha prodotto 68 termini MeSH che sono stati combinati con 303 parole chiave, che rappresentavano più di 118 differenti molecole, per produrre la strategia di ricerca in Medline (per Embase abbiamo usato 311 parole chiave). Le bibliografie delle pubblicazioni selezionate sono state analizzate manualmente per includere potenziali articoli non catturati dalle ricerche elettroniche. Abbiamo inizialmente incluso tutti gli studi originali in lingua inglese o francese che riportavano un qualsiasi metodo ecografico per la valutazione della salute sia materna che fetale e un qualsiasi marcatore biologico (da sangue, urine o altro liquido biologico) in qualsiasi ambito assistenziale, in popolazione di qualsiasi livello di rischio di PE, eseguiti prima della diagnosi di malattia. Sono stati inclusi gli studi che permettevano lo sviluppo di tabelle 2x2 per l'accuratezza combinata degli esami.

Estrazione dei dati e valutazione di qualità

I titoli e i riassunti dei lavori erano inizialmente esaminati per la loro rilevanza da due esaminatori indipendenti. Le citazioni senza riassunto erano scartate. L'eventuale disaccordo tra le valutazioni dei due esaminatori veniva risolto da un terzo esaminatore. Raggiunto l'accordo, il testo completo dell'articolo veniva valutato da due esaminatori per l'inclusione e l'estrazione dei dati. Per più pubblicazioni sullo stesso gruppo di dati veniva incluso solo lo studio di maggior rilievo.

La qualità metodologica delle pubblicazioni era valutata da due esaminatori indipendenti con "Quality assessment of diagnostic accuracy studies" (QUADAS), un questionario che usa 14 criteri per escludere differenti tipi di errore sistematico (29-31). I disaccordi erano risolti consensualmente. Dato che lo strumento QUADAS richiede una chiara definizione di uno standard di riferimento, è stata selezionata la definizione della Società Internazionale per lo Studio dell'Ipertensione in Gravidanza: "si fa diagnosi di PE nelle donne con persistente ipertensione sistolica (>140 mmHg) o diastolica (>90 mmHg) e proteinuria (>0,3 g/24 ore o ≥1+ con la striscia reattiva) che compaiono dopo la 20ª settimana di gestazione" (4).

Sintesi dei dati: analisi

Abbiamo potuto costruire tabelle 2x2 per combinazioni di marcatori ottenute da 24 degli studi inclusi in relazione alla PE. I dati legati alla capacità predittiva (sensibilità, specificità, valori predittivi e rapporti di probabilità) delle combinazioni studiate sono stati sia estratti direttamente

che calcolati dai dati grezzi recuperati. Usando le classiche equazioni per il calcolo di questi parametri si deve tener conto della prevalenza della malattia, dato che questa influisce sul tasso di falsi positivi e di falsi negativi [il valore predittivo positivo (VPP) e il valore predittivo negativo (VPN) varieranno a seconda della prevalenza della malattia in esame]. Sfortunatamente, la grande diversità di combinazioni, la variabilità legata alle caratteristiche dello studio (cut-off, livello di rischio delle popolazioni studiate, ecc.) e il piccolo numero di studi inclusi per una data combinazione di marcatori biochimici ed ecografici non hanno permesso di eseguire metaanalisi.

RISULTATI

La strategia di ricerca iniziale ha portato a esaminare titoli e riassunti di 394 citazioni. La Figura 1 mostra il processo di screening e selezione che è stato seguito per l'identificazione e l'inclusione di studi che combinano marcatori biochimici ed ecografici per predire la PE. Abbiamo recuperato 92 studi primari potenzialmente eligibili per la valutazione dettagliata e l'inclusione nel riesame sistematico, e altre 15 pubblicazioni dalle bibliografie degli studi inclusi. Una valutazione dettagliata ha portato all'esclusione di 70 pubblicazioni che non rispondevano ai criteri della selezione. Alla fine 37 studi sono stati considerati rilevanti e sono stati inclusi nella rassegna sistematica.

Gli studi inclusi erano stati condotti in 12 diversi paesi: 19 venivano dal Regno Unito, mentre 3 ciascuno da Italia e Turchia. La maggior parte degli studi selezionati erano stati eseguiti usando un disegno prospettico, che includeva studi caso-controllo "nested", compiuti come parte di più vasti studi prospettici, che soddisfacevano il nostro criterio di inclusione che richiedeva che gli esami dovessero essere eseguiti prima della comparsa della PE. Più del 60% (23 su 37) degli studi inclusi erano stati condotti su popolazioni ad alto rischio, caratteristica che è stata o dichiarata direttamente dagli autori o dedotta dai dati dello studio. Per esempio, uno studio che includesse le donne dopo un risultato anomalo di un esame (biochimico o ecografico) era considerato come eseguito su una popolazione ad alto rischio. Quasi metà degli studi inclusi (17 su 37) erano basati su meno di 25 donne con PE come casistica, mentre solo 5 studi hanno indagato più di 100 donne preeclamptiche.

In 23 dei 37 studi inclusi, i marcatori biochimici ed ecografici sono stati valutati simultaneamente (stessa età gestazionale), mentre negli altri 14 sono stati studiati in sequenza, il marcatore biochimico sempre prima di quello ecografico. Per quanto riguarda gli studi con valutazione simultanea dei marcatori, 8 combinazioni di esami erano messe in pratica nel primo trimestre di gravidanza, una all'inizio del secondo trimestre (prima della 20ª settimana) e 14 dopo la 20ª settimana di gestazione. Per gli studi con valutazione sequenziale, i marcatori biochimici erano valutati durante il primo trimestre in 5 studi e durante il secondo in 9; i marcatori ecografici erano valutati in tutti gli studi tranne uno durante il secondo trimestre di gestazione. I marcatori biochimici più frequentemente studiati erano gonadotropina umana corionica (hCG) (8 studi), inibina A e tirosina chinasi 1 solubile "fms-like" (sFlt-1) (6 studi), e α-fetoproteina (AFP), attivina A, proteina plasmatica A associata alla gravidanza (PAPP-A) e fattore di crescita placentare (PlGF) (5 studi). L'indice di pulsatilità dell'arteria uterina (PI) al Doppler era valutato in 20 studi (in 14 come unico marcatore e in 6 come componente di un insieme di marcatori ecografici). Pochi studi (n=9) combinavano simultaneamente più di un marcatore biochimico con misure ecografiche per valutarne la capacità predittiva di PE.

La qualità metodologica degli studi selezionati così come viene stabilita dalla loro consonanza con le 14 voci contenute in QUADAS è riportata nella Figura 2. Più del 75% degli studi rispondeva ai seguenti criteri: chiara descrizione dei criteri di selezione delle pazienti, assenza di errori sistematici di verifica parziale e differenziale, uso di un test di riferimento indipendente, adeguata descrizione dell'esame "indice", valutazione in cieco di entrambi e spiegazione dei casi persi. D'altra parte, meno del 50% degli studi rispondeva ai seguenti criteri: appropriato spettro di pazienti, disponibilità di dati clinici e report dei risultati non interpretabili.

L'estrazione dei dati dai 37 studi ci ha permesso di costruire la tabelle 2x2 e calcolare le caratteristiche di prestazione delle combinazioni prese da 24 lavori (Tabella 1). Le caratteristiche delle combinazioni di esami sono state espresse come sensibilità, specificità, VPP e VPN. Quando ciò non è stato possibile (13 studi) abbiamo usato le conclusioni di maggior peso date dagli Autori dei lavori per valutare l'abilità predittiva delle combinazioni (Tabella 2).

Il grafico della sensibilità dell'esame in funzione del tasso dei falsi positivi (1-specificità) ci ha permesso di confrontare le caratteristiche dei marcatori presi

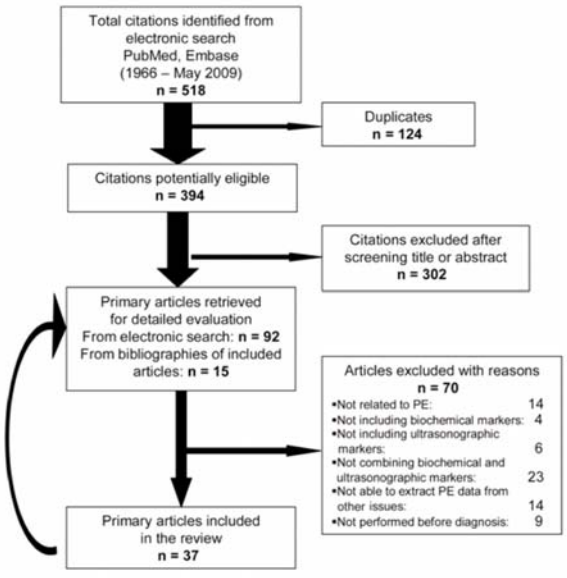


Figura 1
Processo di selezione degli studi per la presente rassegna sistematica.

singolarmente o in combinazione (Figure 3 e 4). I dati sono stati stratificati a seconda del livello di rischio della popolazione (alto vs. basso) e l'epoca di campionamento o misura del marcatore (primo trimestre, inizio secondo o secondo inoltrato). Complessivamente, combinazioni di marcatori hanno generalmente portato a un aumento in sensibilità e/o specificità rispetto ai marcatori presi singolarmente. Nelle popolazioni a basso rischio, parecchie associazioni, che comprendevano proteina placentare 13 (PP-13), PAPP-A, disintegrina e metalloproteinasi 12 (ADAM12), attivina A o inibina A misurate all'inizio del primo o del secondo trimestre combinate con il Doppler dell'arteria uterina (PI o indice di resistenza e/o presenza di "notch") hanno mostrato ragionevole accuratezza (sensibilità 60%-80% per specificità >80%). In una popolazione ad alto rischio, la PP-13 e il PI misurati nel primo trimestre mostravano un 90% sia di sensibilità che di specificità quando limitati alla diagnosi di PE severa.

DISCUSSIONE

Abbiamo valutato le prestazioni di 71 combinazioni di marcatori ecografici e biochimici nell'identificare le donne suscettibili di sviluppare PE. Sebbene 65 combinazioni di marcatori ne includessero almeno uno valutato durante il secondo trimestre, solo 6 combinazioni includevano marcatori sia biologici che ecografici entrambi misurati durante il primo trimestre di gravidanza (32-37). Nessuna combinazione è stata valutata più di una volta. La grande varietà di combinazioni di marcatori osservata nei lavori esaminati riflette la complessità ed eterogeneità della fisiopatologia della PE o l'assenza, a questo punto, di un unico potenziale marcatore. Tale eterogeneità e il numero limitato di studi pubblicati per ciascuna combinazione ha precluso qualsiasi ulteriore analisi comparativa come la metaanalisi.

Tra le numerose combinazioni di marcatori studiate nel secondo trimestre di gravidanza, molte mostravano caratteristiche predittive promettenti (sensibilità 60%-90%, specificità >90%). In genere, l'aggiunta dei dati relativi al Doppler dell'arteria uterina ai dati biochimici migliorava il valore predittivo dei soli marcatori biochimici in misura maggiore di quanto non facesse l'aggiunta dei dati biochimici ai dati del Doppler. In uno studio (l'unico su una popolazione ad alto rischio nel primo trimestre) l'aggiunta della PP-13 al PI dell'arteria uterina aumentava la sensibilità dal 40% al 90% (a una specificità del 90%) (34). Questo studio era limitato a soli 10 casi di PE a esordio precoce. I risultati erano comunque in accordo con i dati di Romero et al. (38), secondo i quali la PP-13 sembra essere un interessante marcatore per il calcolo del rischio di PE pretermine, ma un debole marcatore di PE severa a termine di gravidanza e un inefficace marcatore per l'identificazione di una lieve PE a termine. Anche i dati di Spencer et al. (39) suggeriscono che la PP-13 mostra scarsa capacità predittiva come marcatore singolo al primo trimestre in popolazione a basso rischio. Non abbiamo trovato alcun dato pubblicato su PP-13 nel primo trimestre combinata con parametri del Doppler in popolazione a basso rischio.

Abbiamo osservato che PAPP-A, inibina A e attivina A combinate con Doppler dell'arteria uterina nel primo trimestre o inizio del secondo possono fornire un buon valore predittivo di PE in popolazioni sia a basso che alto rischio. Dati da pubblicazioni recenti indicano che questi marcatori biochimici, presi singolarmente, possono diagnosticare solo fino al 42% di PE precoci, ma fino al 89% se associati alle caratteristiche materne, come razza, indice di massa corporea, parità, e al PI dell'arteria uterina, a un tasso di falsi positivi del 10% in una popolazione a basso rischio (32). Recentemente, si è visto che PAPP-A e PlGF nel primo trimestre mostrano valori significativamente più bassi (0,53 e 0,61 multipli della mediana, rispettivamente) nelle donne destinate a PE a insorgenza precoce, mentre sono solo leggermente diminuiti nelle donne che sviluppano PE tardiva. Quando queste variabili erano combinate in algoritmi di regressione logistica per la PE precoce, era osservato un valore predittivo del 94% a un tasso di falsi positivi del 10% (35). Perciò un crescente numero di evidenze suggerisce che la combinazione di marcatori biochimici

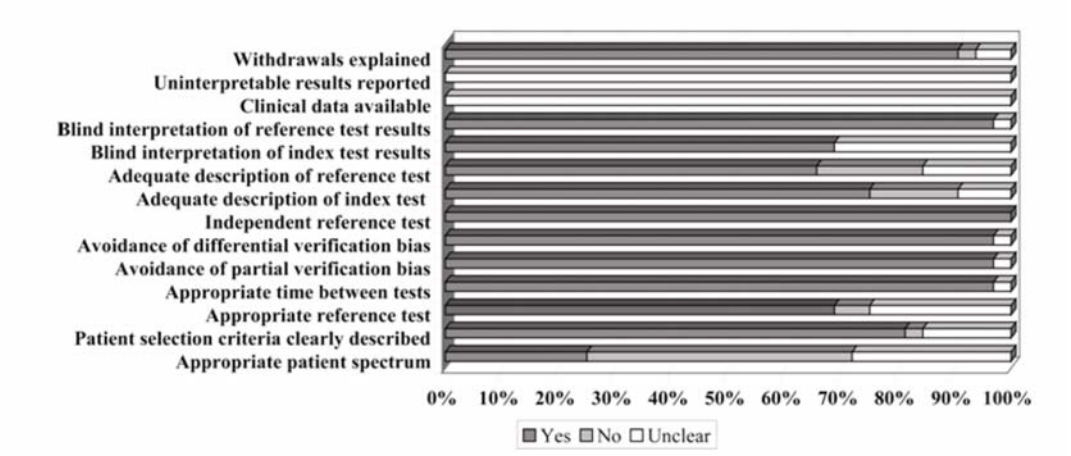


Figura 2
Percentuale di studi classificati come soddisfacenti, non soddisfacenti o poco chiari per ciascuna delle voci del questionario QUADAS.

Tabella 1
Caratteristiche degli studi che combinano marcatori biochimici ed ecografici per la diagnosi di preeclampsia (PE).

Studio	Marcatori studiati e cut-off applicati	"Timing" dell'esame, trimestre o settimana	Sensibilità, %	Specificità, %	Valore predittivo positivo, %	Valore predittivo negativo, %
Studi che hanno combinato 1 marcatore biochimico e 1 marcatore ecografico						
Su popolazioni ad alto rischio						
Jauniaux et al. (43)	hCG ≥2,5 MoM e PI >95° perc. o "notches" (incisure protodiastoliche) bilaterali dell'arteria uterina	2, 20–24 2, 24–28	72,7 54,6	90,0 93,3	72,7 75,0	90,0 84,9
	βhCG ≥2,5 MoM e PI >95° perc. o "notches" bilaterali dell'arteria uterina	2, 24–28	63,6	76,7	50,0	85,2
Merviel et al. (44)	hCG ≥2 MoM e "notches" dell'arteria uterina e rapporto D/S diminuito di >0,2	2	54,5	93,5	50,0	98,9
Jauniaux et al. (43)	AFP ≥2,5 MoM e PI >95° perc. o "notches" bilaterali dell'arteria uterina	2, 20–24 2, 24–28	72,7 46,0	70,0 86,7	47,0 56,0	88,0 81,0
Chung et al. (45)	AFP ≥2,5 MoM e "notches" dell'arteria uterina o IR ≥0,6	2	88,5	88,9	57,5	-
Kuo et al. (46)	AFP ≥2,5 MoM e sonolucenze ecografiche	2	61,5	47,3	6,9	95,1
Williams et al. (47)	AFP ≥2,0 MoM e anormalità ecografiche placentari	2	7,9	91,7	8,8	90,7
Aquilina et al. (48)	Inhibina A >2,0 MoM e "notches" bilaterali e IR >0,55 o "notch" unilaterale dell'arteria uterina e IR>0,65 (tutti i casi di PE)	2	42,9	97,9	53,6	96,7
	Casi di PE precoce (<37 sett)	2	60,0	97,0	32,0	99,0
Spencer et al. (72)	Inibina A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato)	Inibina A, 1 o 2 PI, 2	68,0	95,0	-	-
Florio et al. (50)	Inibina A >1,8 MoM e ≥1 "notches" dell'arteria uterina	2	38,9	92,5	70,0	77,1
Florio et al. (50)	Attivina A >1,7 MoM e ≥1 "notches" dell'arteria uterina	2	61,1	77,5	55,0	81,6
Spencer et al. (72)	Attivina A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato)	Attivina A, 1 PI, 2	63,0	95,0	-	-
Nicolaides et al. (34)	PP-13 (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato)	1	90,0	90,0	-	-
Stepan et al. (51)	PlGF ≥118,0 μg/L e PI ≥1,46 (tutte le PE)	2	77,0	68,0	45,0	-
	PI ≥1,64 (PE precoci)	2	83,0	76,0	36,0	-
Diab et al. (52)	PI >1,45 e/o "notches" bilaterali e PlGF ≥144 μg/L (tutte le PE) PlGF ≥134 μg/L (PE precoci)	2 2	88,0 100,0	81,0 76,0	67,0 25,0	94,0 100,0
Stepan et al. (51)	sFlt1 <567,2 μg/L e PI ≥2,31 (tutte le PE) sFlt1 <631,3 μg/L e PI ≥2,79 (PE precoce, <34 sett)	2 2	77,0 83,0	73,0 89,0	50,0 56,0	- -

Diab et al. (52)	PI >1,45 e/o "notches" bilaterali e sFlt1 ≥614 μg/L (tutte le PE) sFlt1 ≥978 μg/L (PE precoce, <34 sett)	 2 2	 96,0 100,0	 87,0 87,0	 76,0 38,0	 98,0 100,0
Stepan et al. (53)	Endoglina solubile ≥4,15 μg/Le PI >1,64 Tutte le PE PE precoce (<34 sett)	 2 2	 66,7 100,0	 72,7 72,7	 - -	 - -
Florio et al. (54)	Factor IIC attività >136,5% e IR >0,57	2	66,7	95,1	66,7	80,5
Anastasakis et al. (55)	Malondialdeide >1,68 μmol/L e PI ≥1,6 o "notches" bilaterali	2	100,0	50,0	-	-
Spencer et al. (49)	ADAM12 (cut-off non specificato) e PI medio (cut-off non specificato)	ADAM12, 1 PI, 2	66,0	95,0	-	-
Jauniaux et al. (43)	Acid urico >4 mg/dL e PI >95° perc. o "notches" bilaterali	2, 24–28	63,6	86,7	63,6	86,7
Su popolazioni a basso rischio						
Audibert et al. (56)	hCG totale >2 MoM e ≥1 "notch" arteria uterina o PI >95° perc.	2	7,8	99,5	25,0	98,2
Audibert et al. (56)	AFP >1,5 MoM e ≥1 "notch" arteria uterina o PI >95° perc.	2	7,8	99,0	13,8	98,2
	AFP >1,5 MoM e "notches" bilaterali arteria uterina	2	5,9	99,6	21,4	98,2
Ay et al. (57)	Inibina A ≥2,79 MoM e 1 "notch" arteria uterina	2	71,0	100,0	100,0	97,6
	Inibina A ≥2,79 MoM e IR >0,62	2	71,0	100,0	100,0	97,6
Spencer et al. (58)	Inibina A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato)	2	67,0	95,0	-	-
Ay et al. (57)	Activina A ≥6,58 MoM e 1 "notch" arteria uterina	2	78,6	100,0	100,0	98,2
Spencer et al. (58)	Activina A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato)	2	57,0	95,0	-	-
Spencer et al. (39)	PP-13 (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato) (tutte le PE)	PP-13,1; PI, 2	74,0	80,0	-	-
	PE precoce (<35 sett)		79,0	80,0	-	-
	PE tardiva (35 sett)		70,0	80,0	-	-
Spencer et al. (59)	PP-13 (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato) (tutte le PE)	2	75,0	80,0	-	-
	PE precoce (<35 sett)		100,0	80,0	-	-
	PE tardiva (≥35 sett)		29,0	80,0	-	-
Poon et al. (36)	PAPP-A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato) (tutte le PE)	1	20,5	95,0	-	-
	PE precoce (<34 sett)		46,9	95,0	-	-
Spencer et al. (60)	PAPP-A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato)	PAPP-A, 1; PI, 2	62,1	95,0	-	-
Spencer et al. (39)	PAPP-A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato) (tutte le PE)	PAPP-A, 1; PI, 2	76,0	80,0	-	-
	PE precoce (<35 sett)		76,0	80,0	-	-
	PE tardiva (≥35 sett)		70,0	80,0	-	-

Spencer et al. (59)	PAPP-A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato) (tutte le PE)	2	58,0	80,0	-	-
	PE precoce (<35 sett)		60,0	80,0	-	-
	PE tardiva (≥35 sett)		43,0	80,0	-	-
Espinoza et al. (61)	PlGF <280 μg/L e PI >95° perc. e/o "notches" bilaterali dell'arteria uterina (tutte le PE)	2	27,3	96,4	21,4	97,3
	PE precoce (≤34 sett)		64,0	96,5	12,7	99,7
	PE severa		63,6	96,3	15,0	99,6
Onalan et al. (62)	Omocisteina ≥6,3 μmol/L e "notches" bilaterali dell'arteria uterina con IR >0,55 o "notch" unilaterale dell'arteria uterina con IR >0,85 o assenza di "notches" arteria uterinata con IR >0,70	2	61,3	98,1	53,3	97,5
Studi che hanno combinato 2 marcatori biochimici e 1 marcatori ecografico						
Su popolazioni ad alto rischio						
Florio et al. (50)	Activina A >1,7 MoM e inibina A >1,8 MoM e >1 "notch" arteria uterina	2	33,3	97,5	85,7	76,5
Jauniaux et al. (43)	AFP >2,5 MoM e hCG >2,5 MoM e PI >95° perc. o "notches" bilaterali dell'arteria uterina	2, 20–24	63,6	96,7	87,5	89,7
Liu et al. (63)	βhCG e PAPP-A e translucenza nucale (rischio per sindrome di Down ≥1/270)	1	6,0	91,8	2,1	97,0
Su popolazioni a basso rischio						
Spencer et al. (58)	Activina A (cut-off non specificato), inibina A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato)	2	75,0	95,0	-	-
Spencer et al. (39)	PP-13 (cut-off non specificato), PAPP-A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato) (tutte le PE)	PP-13 e PAPP-A, 1; PI, 2	74,0	80,0	-	-
	PE precoce (<35 sett)		70,0	80,0	-	-
	PE tardiva (≥35 sett)		73,0	80,0	-	-
Spencer et al. (59)	PP-13 (cut-off non specificato), PAPP-A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato) (tutte le PE)	2	67,0	80,0	-	-
	PE precoce (<35 sett)		80,0	80,0	-	-
	PE tardiva (≥35 sett)		43,0	80,0	-	-
Spencer et al. (59)	PP-13 (cut-off non specificato), activina A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato) (tutte le PE)	2	83,0	80,0	-	-
	PE precoce (<35 sett)		100,0	80,0	-	-
	PE tardiva (≥35 sett)		71,0	80,0	-	-
Spencer et al. (59)	PP-13 (cut-off non specificato), βhCG libera (cutoff non specificato) e PI (cut-off non specificato) (tutte le PE)	2	67,0	80,0	-	-
	PE precoce (<35 sett)		100,0	80,0	-	-
	PE tardiva (≥35 sett)		14,0	80,0	-	-
Spencer et al. (59)	PP-13 (cut-off non specificato) Inibina A (cut-off non specificato) e PI (cut-off non specificato) (tutte le PE)	2	67,0	80,0	-	-
	PE precoce (<35 sett)		100,0	80,0	-	-
	PE tardiva (≥35 sett)		29,0	80,0	-	-

Studi che hanno combinato 1 marcatore biochimico, 1 marcatore ecografico e un altro tipo di marcatore su popolazioni a basso rischio

Akolekar (32)	Inibina A (cut-off non specificato), PI (cut-off non specificato) e fattori materni[a]	1				
	PE precoce (<35 sett)		84,6	95,0	-	-
	PE tardiva (≥35 sett)		33,7	61,5	-	-
Akolekar et al. (32)	PAPP-A (cutoff non specificato), PI (cutoff non specificato) e fattori materni[a] (PE precoce, <35 sett)	1	61,5	95,0	-	-
Akolekar et al. (32)	Inibina A (cut-off non specificato), PAPP-A (cut-off non specificato), PI (cut-off non specificato) e fattori materni[a] (PE precoce <35 sett)	1	80,8	95,0	-	-
Poon et al. (35)	PlGF (cut-off non specificato), PAPP-A (cut-off non specificato), PI (cut-off non specificato), PAM (cut-off non specificato) e fattori materni[b] (regressione logistica)	1				
	PE precoce (<34 sett)		93,1	95,0	21,1	-
	PE tardiva (≥34 sett)		35,7	95,0	-	-
Poon et al. (36)	PAPP-A (cut-off non specificato), PI (cut-off non specificato) e fattori materni[c] (tutte le PE)	1	32,1	95,0	-	-
	PE precoce (<34 sett)		62,5	95,0	-	-
Poon et al. (37)	MMP-9 (cut-off non specificato), PI (cut-off non specificato) e fattori materni[d] (regressione logistica) (PE tardiva ≥34 sett)	1	34,3	95,0	-	-
Poon et al. (37)	PAPP-A (cut-off non specificato), PI (cut-off non specificato) e fattori materni[d] (regressione logistica) (PE precoce, <34 sett)	1	69,0	95,0	-	-

hCG, gonadotropina corionica umana; MoM, multiplo della mediana; PI, indice di pulsatilità dell'arteria uterina; D/S, diastolico/sistolico; AFP, α-fetoproteina; IR, indice di resistenza; PP-13, proteina placentare 13; PlGF, fattore di crescita placentare; sFlt1, tirosina chinasi 1 solubile "fms-like"; ADAM12, disintegrina e metalloproteinasi 12; PAPP-A, proteina plasmatica A associata alla gravidanza; PAM, pressione arteriosa media; MMP-9, metalloproteinasi 9.

[a]*Etnia, indice di massa corporea e storia di PE.*

[b]*Etnia, parità e storia di PE o ipertensione cronica.*

[c]*Etnia, parità, indice di massa corporea e storia di PE.*

[d]*Etnia, parità, indice di massa corporea, peso e storia di PE.*

Tabella 2

Caratteristiche qualitative degli studi che hanno valutato la combinazione di marcatori biochimici ed ecografici per la predizione di preeclampsia (PE)

Studio	Marcatori studiati e cut-off applicati	Risultati o conclusioni
Savvidou et al. (64)	sFlt1 (cut-off non specificato) e "notches" bilaterali dell'arteria uterina	Non è stata trovata differenza significativa nei livelli di sFlt1 a 23–25 settimane tra donne con Doppler normale che hanno poi partorito normalmente e donne con Doppler patologico che hanno in seguito sviluppato PE.
Parra et al. (65)	sFlt1 (cut-off non specificato) e PI >95° percentile	Il marcatore biochimico, sebbene la concentrazione cambiasse significativamente tra la 23^ e la 25^ settimana, non migliorava significativamente la capacità di predire la PE del Doppler dell'arteria uterina.
Espinoza et al. (61)	sVEGFR-1 (cut-off non specificato) e PI >95° percentile e/o "notches" bilaterali dell'arteria uterina	sVEGFR-1 era di uso limitato nel predire l'esordio precoce e/o la gravità della PE.
Yu et al. (66)	Omocisteina (cut-off non specificato) e PI >95° percentile	Non è stata trovata differenza significativa nelle concentrazioni di omocisteina alla 22–24 settimana tra donne con Doppler normale che hanno poi partorito normalmente e donne con Doppler patologico che hanno in seguito sviluppato PE.
Parra et al. (65)	PIGF (cut-off non specificato) e PI >95° percentile PAI-1/PAI-2 (cut-off non specificato) e PI >95° percentile F2-isoprostano (cut-off non specificato) e PI >95° percentile	Nessun marcatore biochimico, sebbene la concentrazione cambiasse significativamente tra la 23^ e la 25^ settimana, migliorava significativamente la capacità di predire la PE del Doppler dell'arteria uterina.
Savvidou et al. (67)	PIGF (cut-off non specificato) e "notches" bilaterali dell'arteria uterina Endoglina solubile (cut-off non specificato) e "notches" bilaterali dell'arteria uterina sFlt1/PIGF ratio e "notches" bilaterali dell'arteria uterina (sFlt1 + endoglina solubile)/PIGF ratio e "notches" bilaterali dell'arteria uterina	Le combinazioni non sono significativamente alterate nelle donne con parametri Doppler alterati destinate a sviluppare PE (ma non feti SGA) rispetto a donne con parametri Doppler normali e normale esito e donne con Doppler patologico ed esito normale; lo sono significativamente nelle donne destinate a sviluppare PE e SGA.
Savvidou et al. (64)	VEGF (cut-off non specificato) e "notches" bilaterali dell'arteria uterina	Donne con Doppler patologico che svilupperanno PE presentano una piccola ma significativa (P <0,02) diminuizione di VEGF a 23–25 settimane rispetto a donne con Doppler normale e normale esito.
Prefumo et al. (68)	ADMA (cut-off non specificato) e IR >95° percentile e "notches" bilaterali dell'arteria uterina	Nessuna differenza significativa nelle concentrazioni di ADMA sierico materno tra gravidanze con flusso dell'arteria uterina ad alta resistenza al primo trimestre e controlli.
Diab et al. (52)	Malondialdeide (cut-off non specificato) e PI >1,6	La malondialdeide è significativamente aumentata in donne destinate a sviluppare PE rispetto a donne che non la sviluppano, le une e le altre con parametri Doppler anormali alle 20–23 settimane.
Savvidou et al. (69)	CRP (cut-off non specificato) e "notches" bilaterali dell'arteria uterina	Nessuna differenza significativa nelle concentrazioni di CRP alla 23^–25^ settimane tra donne con Doppler/esito normale e donne con Doppler patologico, che svilupperanno PE.
Savvidou et al. (70)	Adiponectina e leptina (cut-off non specificato) e "notches" bilaterali dell'arteria uterina	Le concentrazioni di adiponectina e leptina nel plasma materno al secondo trimestre in gravidanze (inizialmente con parametri Doppler patologici) che svilupperanno in seguito PE e/o ritardo di crescita intrauterino non sono significativamente differenti da quelle in gravidanze prive di esito negativo.
Tommaselli et al. (71)	Leptina (cut-off non specificato) e IR ≥0,68 o >1 "notch" dell'arteria uterina	Al terzo, ma non al secondo, trimestre le concentrazioni di leptina mostravano differenze significative tra donne con Doppler/esito normali e donne con Doppler patologico che hanno in seguito sviluppato PE.
Leal et al. (33)	TNF-R1 (cut-off non specificato) (1° trimestre), PI (cut-off non specificato) (1° trimestre) e fattori materni (razza, indice di massa corporea, metodo di concepimento)	Sebbene l'analisi della regressione abbia dimostrato un contributo significativo alla identificazione della PE da parte di fattori materni, TNF-R1 e PI, nell'analisi della regressione multipla non si evidenziava un contributo significativo del TNF-R1 (P=0,07) alla capacità di predirre fornita da fattori materni e PI (sensibilità 32%, specificità 95%).

sFlt1, tirosina chinasi 1 solubile "fms-like"; PI, indice di pulsatilità dell'arteria uterina; sVEGFR-1, recettore 1 del fattore solubile di crescita vascolare endoteliale; PIGF, fattore di crescita placentare; PAI, inibitore dell'attivatore del plasminogeno; SGA, "small for gestational age", piccolo per l'età gestazionale; VEFG, fattori di crescita vascolare endoteliale; ADMA, dimetilarginina asimmetrica; IR, indice di resistenza; CRP, proteina C-reattiva; TNF-R1, recettore 1 del "tumor necrosis factor".

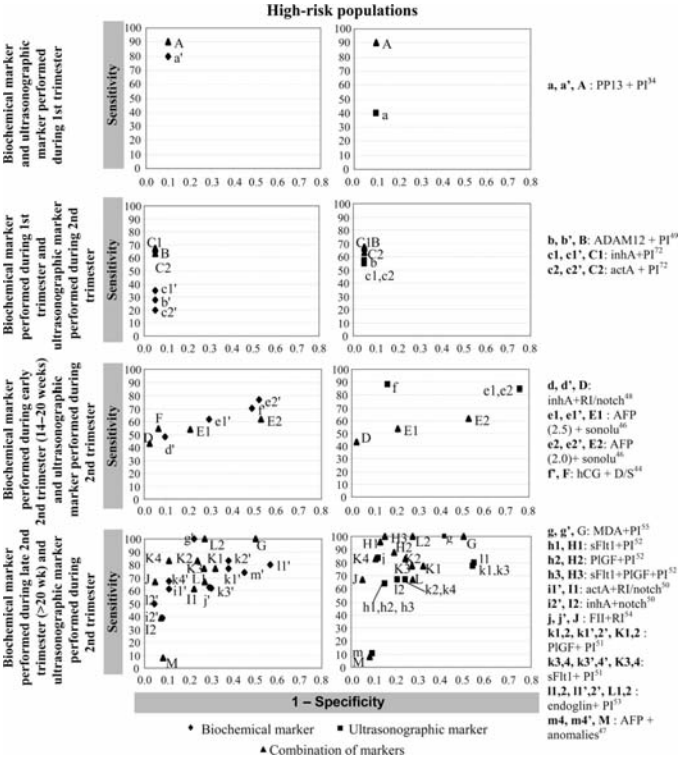


Figura 3
Caratteristiche cliniche dei marcatori biochimici ed ecografici presi da soli o in combinazione per la predizione di preeclampsia in popolazioni ad alto rischio.
I numeri soprascritti rappresentano le citazioni dalla bibliografia.

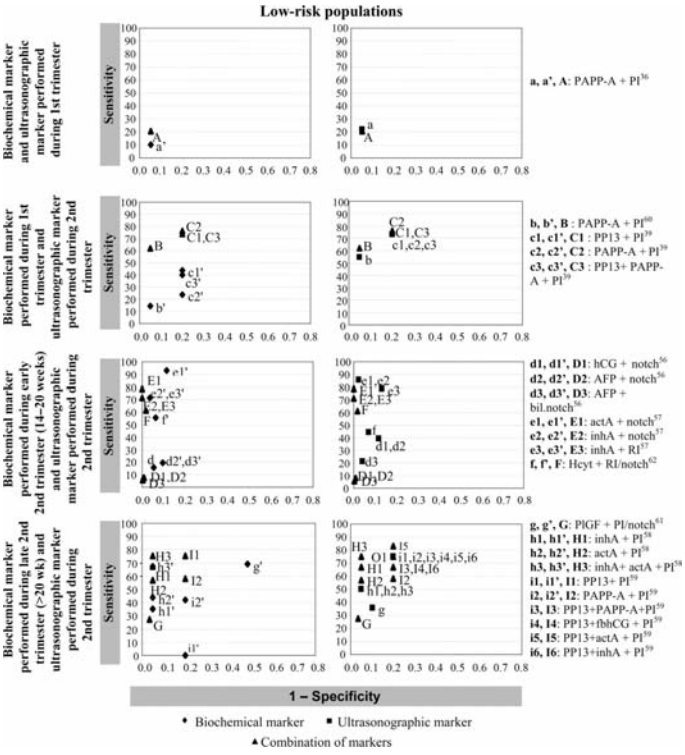


Figura 4
Caratteristiche cliniche dei marcatori biochimici ed ecografici presi da soli o in combinazione per la predizione di preeclampsia in popolazioni a basso rischio.
I numeri soprascritti rappresentano le citazioni dalla bibliografia.

ed ecografici del primo trimestre può essere utile nel predire la PE precoce; l'aggiunta delle caratteristiche materne agli algoritmi predittivi può ulteriormente migliorare la loro efficienza (33, 35-37).

Questa rassegna sistematica ha numerosi punti di forza: a) una copertura esauriente della letteratura esistente a partire da solide e riconosciute banche dati; b) una valutazione di articoli pubblicati non solo in lingua inglese e c) una valutazione di qualità degli studi basata su criteri riconosciuti (30, 31). D'altro canto, riconosciamo anche numerose limitazioni: a) la definizione di PE è cambiata nel tempo e tra gli studi che usano differenti linee guida nazionali, rendendo eterogenea la classificazione della sindrome; b) la variabilità dei criteri di inclusione accresce ulteriormente l'eterogeneità degli studi; c) la variazione da studio a studio dei criteri che definiscono il livello di rischio di una data popolazione: alcuni studi su popolazioni a "basso rischio" mostravano tassi di incidenza di PE più alti di quelli di popolazioni ad "alto rischio" incluse in altri studi, d) una molteplicità di potenziali esami, combinazioni di esami e momenti di campionamento durante la gravidanza che ostacolano l'analisi dettagliata e e) una carenza di precise informazioni in molti studi, disegni e/o condotte degli studi non ben definiti, anche se non è chiaro come ciò possa influenzare i risultati di una rassegna sistematica o di una metaanalisi dell'accuratezza diagnostica (40, 41). Per ogni studio su una combinazione di marcatori sarebbe stato utile avere accesso diretto ai risultati della loro efficienza diagnostica. L'assenza di tali dati ci ha portato a rimuovere numerosi studi dall'analisi finale. L'estrazione dei dati dalle curve ROC e la produzione di dati di sensibilità basati su un dato livello di specificità (per esempio 80% o 95%) hanno limitato la possibilità di valutare fino in fondo l'accuratezza degli esami proposti. Tra i punti più deboli degli studi valutati, che influiscono sull'interpretazione dei dati, era l'assenza di un approccio sistematico nel riportare la valutazione sull'efficienza dei marcatori, soli o combinati, e l'assenza di una definizione standardizzata della sindrome.

La presente rassegna dimostra che è veramente necessario sviluppare approcci sperimentali che permettano il confronto tra le possibili combinazioni di biomarcatori. Questa informazione verosimilmente migliorerebbe la potenza statistica e la nostra capacità di trovare una procedura di screening che possa meglio identificare le donne a rischio. Studi prospettici più ampi che includano un maggior numero di pazienti il cui esito di malattia sia chiaramente specificato potrebbero portare a conclusioni più significative. Studi condotti durante il primo trimestre potrebbero guidare la valutazione di nuovi interventi preventivi (come l'uso dell'acido acetilsalicilico) nelle donne a rischio (23). In tali studi, particolare attenzione dovrebbe essere dedicata a: 1) descrivere la popolazione (includendo livello di rischio, mezzi di arruolamento, "follow-up") e gli aspetti metodologici (includendo una definizione chiara e riconosciuta di PE, un'adeguata identificazione degli esiti in accordo con linee guida internazionali e un'approfondita descrizione dei test), 2) differenziare tra malattia lieve e severa, ad insorgenza precoce o tardiva, fattori che comportano diverse morbilità e mortalità materne e fetali e 3) riportare tutti i dati relativi ai singoli marcatori applicando cut-off simili per facilitare il confronto tra studi. I criteri di cui sopra devono essere rispettati, come stabilito dall'OMS nella sua rassegna sistematica sulla PE (24) e dall'iniziativa "Standards for Reporting Diagnostic Accuracy" (STARD) (42) su come riportare l'accuratezza degli esami diagnostici valutati. Inoltre, è stato recentemente dimostrato che l'inclusione di parametri materni, come indice di massa corporea, razza e anamnesi materna generale e ostetrica, negli algoritmi predittivi migliora ulteriormente l'accuratezza predittiva delle combinazioni di marcatori biochimici ed ecografici (35-37). L'aggiunta di variabili così facilmente ottenibili che aumentano la sensibilità, e quindi diminuiscono i risultati falsi negativi, è di grande importanza.

Sono stati pubblicati numerosi articoli sui potenziali biomarcatori per l'identificazione delle donne predisposte allo sviluppo di PE prima della comparsa dei sintomi clinici. Dal momento che la comprensione della fisiopatologia della PE è in costante miglioramento, è necessario che vengano sviluppati nuovi esami che contribuiscano a migliorare le caratteristiche di predittività di un modello di rischio per PE. Inoltre, questo riesame sistematico sottolinea il bisogno di ricerche ben condotte che integrino i vari parametri candidati (clinici, biochimici, ecografici) in algoritmi capaci di identificare le donne a rischio di PE all'inizio della gravidanza così da poter mettere in atto misure preventive. Dal punto di vista della medicina integrata c'è una chiara necessità di studi prospettici su larga scala con criteri rigorosi applicati al disegno dello studio al fine di determinare l'utilità clinica delle combinazioni di biomarcatori nelle differenti zone geografiche e condizioni assistenziali. Nel condurre tali studi sarà essenziale incorporare una definizione universalmente accettata di "disordini ipertensivi della gravidanza". Il risultato ultimo di tali sforzi di ricerca sarà lo sviluppo di una procedura di screening efficiente, basata sull'evidenza, che impieghi un algoritmo multivariato di caratteristiche materne selezionate e misure di marcatori biochimici ed ecografici per identificare le donne a rischio di PE che potrebbero trarre beneficio da precoci interventi preventivi mirati.

BIBLIOGRAFIA

1. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. Lancet 2005;365:785-99.
2. Lewis G, ed. Confidential enquiry into maternal and child health. Why mothers die 2000–2002. The sixth report of the confidential enquiries into maternal deaths in the United Kingdom. London: RCOG Press, 2004.
3. Moodley J. Maternal deaths due to hypertensive disorders in pregnancy: Saving Mothers report 2002–2004. Cardiovasc J Afr 2007;18:358-61.
4. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, et al. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). Hypertens Pregnancy 2001;20:9-14.
5. Report of the National High Blood Pressure Education

Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. Am J Obstet Gynecol 2000;183:S1-22.
6. Forest JC, Girouard J, Masse J, et al. Early occurrence of metabolic syndrome after hypertension in pregnancy. Obstet Gynecol 2005;105:1373-80.
7. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, et al. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis. Br Med J 2007;335:974.
8. Pouta A, Hartikainen AL, Sovio U, et al. Manifestations of metabolic syndrome after hypertensive pregnancy. Hypertension 2004;43:825-31.
9. McDonald SD, Malinowski A, Zhou Q, et al. Cardiovascular sequelae of preeclampsia/eclampsia: a systematic review and meta-analyses. Am Heart J 2008;156:918-30.
10. World Health Organization. Programme Budget 2004-2005. Department of Reproductive Health and Research. Geneva: WHO, 2004.
11. Broughton Pipkin F, Rubin PC. Pre-eclampsia: the "disease of theories". Br Med Bull 1994;50:381-96.
12. Widmer M, Villar J, Benigni A, et al. Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review. Obstet Gynecol 2007;109:168-80.
13. Sibai BM. Hypertensive disorders of pregnancy: the United States perspective. Curr Opin Obstet Gynecol 2008;20:102-6.
14. Ilekis JV, Reddy UM, Roberts JM. Preeclampsia-a pressing problem: an executive summary of a National Institute of Child Health and Human Development workshop. Reprod Sci 2007;14:508-23.
15. Chandiramani M, Shennan A. Hypertensive disorders of pregnancy: a UK-based perspective. Curr Opin Obstet Gynecol 2008;20:96-101.
16. von Dadelszen P, Magee L. What matters in preeclampsia are the associated adverse outcomes: the view from Canada. Curr Opin Obstet Gynecol 2008;20:110-5.
17. Lockwood C. Predicting premature delivery: no easy task. N Engl J Med 2002;346:282-4.
18. Liu A, Wen S, Bottomley J, et al. Utilization of health care services of pregnant women complicated by preeclampsia in Ontario. Hypertens Pregnancy 2009;28:76-84.
19. Duley L, Henderson-Smart DJ, Meher S, et al. Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. Cochrane Database Syst Rev 2007;18:CD004659.
20. Hofmeyr G, Duley L, Atallah A. Dietary calcium supplementation for prevention of pre-eclampsia and related problems: a systematic review and commentary. BJOG 2007;114:933-43.
21. Bar J, Ben-Haroush A, Feldberg D, et al. The pharmacologic approach to the prevention of preeclampsia: from antiplatelet, antithrombosis and antioxidant therapy to anticonvulsants. Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents 2005;3:181-5.
22. Ferrazzani S, D'Alessio MC, Fatigante G, et al. Prophylaxis of recurrent preeclampsia: low-molecular-weight heparin plus low-dose aspirin versus low-dose aspirin alone. Hypertens Pregnancy 2006;25:115-27.
23. Bujold E, Morency AM, Roberge S, et al. Acetylsalicylic acid for the prevention of preeclampsia and intra-uterine growth restriction in women with abnormal uterine artery Doppler: a systematic review and meta-analysis. J Obstet Gynaecol Can 2009;31:818-26.
24. Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. Obstet Gynecol 2004;104:1367-91.
25. Cnossen JS, van der Post JA, Mol BW, et al. Prediction of pre-eclampsia: a protocol for systematic reviews of test accuracy. BMC Pregnancy Childbirth 2006;19:6-29.
26. Meads CA, Cnossen JS, Meher S, et al. Methods of prediction and prevention of pre-eclampsia: systematic reviews of accuracy and effectiveness literature with economic modelling. Health Technol Assess 2008;12:iii-iv, 1-270.
27. Thangaratinam S, Coomarasamy A, Sharp S, et al. Tests for predicting complications of pre-eclampsia: a protocol for systematic reviews. BMC Pregnancy Childbirth 2008;8:38.
28. Papanna R, Mann LK, Kouides RW, Glantz JC. Protein/creatinine ratio in preeclampsia: a systematic review. Obstet Gynecol 2008;112:135-44.
29. Whiting P, Rutjes AW, Dinnes J, et al. Development and validation of methods for assessing the quality of diagnostic accuracy studies. Health Technol Assess 2004;8:iii, 1-234.
30. Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, et al. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. BMC Med Res Methodol 2003;3:25.
31. Whiting PF, Weswood ME, Rutjes AW, et al. Evaluation of QUADAS, a tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. Med Res Methodol 2006;6:9.
32. Akolekar R, Minekawa R, Veduta A, et al. Maternal plasma inhibin A at 11–13 weeks of gestation in hypertensive disorders of pregnancy. Prenatal Diagn 2009;29:753-60.
33. Leal AM, Poon LC, Frisova V, et al. First-trimester maternal serum tumor necrosis factor receptor-1 and pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2009;33:135-41.
34. Nicolaides KH, Bindra R, Turan OM, et al. A novel approach to first-trimester screening for early pre-eclampsia combining serum PP-13 and Doppler ultrasound. Ultrasound Obstet Gynecol 2006;27:13-7.
35. Poon LC, Kametas NA, Maiz N, et al. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. Hypertension 2009;53:812-8.
36. Poon LC, Maiz N, Valencia C, et al. First-trimester maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A and pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2009;33:23-33.
37. Poon LC, Nekrasova E, Anastassopoulos P, et al. First-trimester maternal serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and adverse pregnancy outcome. Prenatal Diagn 2009;29:553-9.
38. Romero R, Kusanovic JP, Than NG, et al. First-trimester maternal serum PP13 in the risk assessment for preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2008;199:122 e1-11.
39. Spencer K, Cowans NJ, Chefetz I, et al. First-trimester maternal serum PP-13, PAPP-A and second-trimester uterine artery Doppler pulsatility index as markers of pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2007;29:128-34.
40. Leeflang M, Reitsma J, Scholten R, et al. Impact of adjustment for quality on results of metaanalyses of diagnostic accuracy. Clin Chem 2007;53:164-72.
41. Rutjes AW, Reitsma JB, Di Nisio M, et al. Evidence of bias and variation in diagnostic accuracy studies. CMAJ 2006;174:469-76.
42. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, et al. The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. The Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy Group. Croat Med J 2003;44:639-50.
43. Jauniaux E, Gulbis B, Tunkel S, et al. Maternal serum testing for alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin in high-risk pregnancies. Prenat Diagn 1996;16:1129-35.
44. Merviel P, Muller F, Guibourdenche J, et al. Correlations between serum assays of human chorionic gonadotropin (hCG) and human placental lactogen (hPL) and pre-eclampsia or intrauterine growth restriction (IUGR) among nulliparas younger than 38 years. Eur J Obstet Gynecol

Reprod Biol 2001;95:59-67.
45. Chung JE, Cho JS, Han SS, et al. Uterine artery Doppler velocimetry in the prediction of adverse obstetric outcomes in unexplained MSAFP elevations. Yonsei Med J 2000;41:17-21.
46. Kuo PL, Lin CC, Lin YH, et al. Placental sonolucency and pregnancy outcome in women with elevated second trimester serum alpha-fetoprotein levels. J Formos Med Assoc 2003;102:319-25.
47. Williams MA, Hickok DE, Zingheim RW, et al. Elevated maternal serum alpha-fetoprotein levels and midtrimester placental abnormalities in relation to subsequent adverse pregnancy outcomes. Am J Obstet Gynecol 1992;167:1032-7.
48. Aquilina J, Thompson O, Thilaganathan B, et al. Improved early prediction of pre-eclampsia by combining second-trimester maternal serum inhibin-A and uterine artery Doppler. Ultrasound Obstet Gynecol 2001;17:477-84.
49. Spencer K, Cowans NJ, Stamatopoulou A. ADAM12s in maternal serum as a potential marker of pre-eclampsia. Prenatal Diagn 2008;28:212-6.
50. Florio P, Reis FM, Pezzani I, et al. The addition of activin A and inhibin A measurement to uterine artery Doppler velocimetry to improve the early prediction of pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2003;21:165-9.
51. Stepan H, Unversucht A, Wessel N, et al. Predictive value of maternal angiogenic factors in second trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion. Hypertension 2007;49:818-24.
52. Diab AE, El-Behery MM, Ebrahiem MA, et al. Angiogenic factors for the prediction of pre-eclampsia in women with abnormal midtrimester uterine artery Doppler velocimetry. Int J Gynaecol Obstet 2008;102:146-51.
53. Stepan H, Geipel A, Schwarz F, et al. Circulatory soluble endoglin and its predictive value for preeclampsia in second-trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion. Am J Obstet Gynecol 2008;198:175 e1-e6.
54. Florio P, D'Aniello G, Sabatini L, et al. Factor II: C activity and uterine artery Doppler evaluation to improve the early prediction of pre-eclampsia on women with gestational hypertension. J Hypertens 2005;23:141-6.
55. Anastasakis E, Papantoniou N, Daskalakis G, et al. Screening for pre-eclampsia by oxidative stress markers and uteroplacental blood flow. J Obstet Gynaecol 2008;28:285-9.
56. Audibert F, Benchimol Y, Benattar C, et al. Prediction of preeclampsia or intrauterine growth restriction by second trimester serum screening and uterine Doppler velocimetry. Fetal Diagn Ther 2005;20:48-53.
57. Ay E, Kavak ZN, Elter K, et al. Screening for pre-eclampsia by using maternal serum inhibin A, activin A, human chorionic gonadotropin, unconjugated estriol, and alpha-fetoprotein levels and uterine artery Doppler in the second trimester of pregnancy. Aust N Z J Obstet Gynaecol 2005;45:283-8.
58. Spencer K, Yu CK, Savvidou M, et al. Prediction of pre-eclampsia by uterine artery Doppler ultrasonography and maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A, free beta-human chorionic gonadotropin, activin A and inhibin A at 22 + 0 to 24 + 6 weeks' gestation. Ultrasound Obstet Gynecol 2006;27:658-63.
59. Spencer K, Cowans NJ, Chefetz I, et al. Second-trimester uterine artery Doppler pulsatility index and maternal serum PP13 as markers of pre-eclampsia. Prenatal Diagn 2007;27:258-63.
60. Spencer K, Yu CK, Cowans NJ, et al. Prediction of pregnancy complications by first-trimester maternal serum PAPP-A and free beta-hCG and with second-trimester uterine artery Doppler. Prenatal Diagn 2005;25:949-53.
61. Espinoza J, Romero R, Nien JK, et al. Identification of patients at risk for early onset and/or severe preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and placental growth factor. Am J Obstet Gynecol 2007;196:326 e1-13.
62. Onalan R, Onalan G, Gunenc Z, et al. Combining 2nd-trimester maternal serum homocysteine levels and uterine artery Doppler for prediction of preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. Gynecol Obstet Invest 2006;61:142-8.
63. Liu SS, Lee FK, Lee JL, et al. Pregnancy outcomes in unselected singleton pregnant women with an increased risk of first-trimester Down's syndrome. Acta Obstet Gynecol Scand 2004;83:1130-4.
64. Savvidou MD, Yu CK, Harland LC, et al. Maternal serum concentration of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and vascular endothelial growth factor in women with abnormal uterine artery Doppler and in those with fetal growth restriction. Am J Obstet Gynecol 2006;195:1668-73.
65. Parra M, Rodrigo R, Barja P, et al. Screening test for preeclampsia through assessment of uteroplacental blood flow and biochemical markers of oxidative stress and endothelial dysfunction. Am J Obstet Gynecol 2005;193:1486-91.
66. Yu CK, Lakasing L, Papageorghiou AT, et al. Uterine artery Doppler and mid-trimester maternal plasma homocysteine in subsequent pre-eclampsia. J Matern Fetal Neonatal Med 2004;16:134-9.
67. Savvidou MD, Noori M, Anderson JM, et al. Maternal endothelial function and serum concentrations of placental growth factor and soluble endoglin in women with abnormal placentation. Ultrasound Obstet Gynecol 2008;32:871-6.
68. Prefumo F, Thilaganathan B, Whitley GS. First-trimester uterine artery resistance and maternal serum concentration of asymmetric dimethylarginine. Ultrasound Obstet Gynecol 2008;31:153-7.
69. Savvidou MD, Lees CC, Parra M, et al. Levels of C-reactive protein in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. BJOG 2002;109:297-301.
70. Savvidou MD, Sotiriadis A, Kaihura C, et al. Circulating levels of adiponectin and leptin at 23–25 weeks of pregnancy in women with impaired placentation and in those with established fetal growth restriction. Clin Sci 2008;115:219-24.
71. Tommaselli GA, Pighetti M, Nasti A, et al. Serum leptin levels and uterine Doppler flow velocimetry at 20 weeks' gestation as markers for the development of pre-eclampsia. Gynecol Endocrinol 2004;19:160-5.
72. Spencer K, Cowans NJ, Nicolaides KH. Maternal serum inhibin-A and activin-A levels in the first trimester of pregnancies developing pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2008;32:622-6.