



Factores anti-angiogénicos y preeclampsia. (*Anti-angiogenic factors and preeclampsia*)

Eduardo Reyna-Villasmil¹✉

¹ Servicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Central "Dr. Urquinaona". Maracaibo. Estado Zulia, Venezuela

Recibido: 22 de Octubre de 2017.

Aceptado: 21 de Marzo de 2018.

Publicado online: 12 de Mayo de 2018

[ARTÍCULO DE REVISIÓN]

PII: S2477-9369(17)0704-R

Resumen (español)

La preeclampsia es secundaria a la disfunción endotelial sistémica materna causada por el desarrollo placentario anormal. Los mecanismos específicos de esta alteración aún se desconocen. Se han identificado factores de riesgo epidemiológicos y disfunciones inmunológicas que favorece la placentación anormal y la preeclampsia. Por otra parte, la angiogénesis placentaria anormal durante el embarazo, resultante de altos niveles de factores anti-angiogénicos, ha sido implicada en la patogénesis del síndrome, lo cual permite interconectar a la placentación anormal con la disfunción endotelial. La producción excesiva de estos factores anti-angiogénicos induce una disfunción endotelial al modificar la función de los factores pro-angiogénicos circulantes. Hasta ahora, se han propuesto numerosos factores placentarios, pero ninguno ha sido capaz de inducir un fenotipo típico real de preeclampsia. Descubrir los mecanismos de los factores angiogénicos alterados en la preeclampsia también puede proporcionar ideas sobre nuevas opciones preventivas y terapéuticas.

Palabras clave (español)

Angiogénesis; Disfunción endotelial; Pre-eclampsia; Hipertensión; Factores anti-angiogénicos

Abstract (english)

Preeclampsia is secondary to maternal systemic endothelial dysfunction caused by abnormal placental development. The specific mechanisms to this alteration are still unknown. Epidemiological risk factors and immunological dysfunctions have been identified that favor abnormal placentation and preeclampsia. On the other hand, abnormal placental angiogenesis during pregnancy, resulting from high levels of anti-angiogenic factors, has been implicated in the pathogenesis of the syndrome, which allows for the interconnection of abnormal placentation with endothelial dysfunction. Excessive production of these anti-angiogenic factors induces endothelial dysfunction by modifying the function of circulating pro-angiogenic factors. Until now, numerous placental factors have been proposed, yet none has been able to induce a typical phenotype of preeclampsia. Discovering the mechanisms of altered angiogenic factors in preeclampsia may also provide insights into new preventive and therapeutic options.

Keywords (english)

Angiogenesis; Endothelial dysfunction; Pre-eclampsia; Hypertension; Anti-angiogenic factors.

Introducción

Durante el embarazo normal, la placenta produce y coordina cambios en la vascularización que permiten la circulación sanguínea materno-fetal. Este proceso incluye la vasculogénesis y angiogénesis (1). Todo esto necesita de un delicado equilibrio de factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos (2).

La preeclampsia, un trastorno del embarazo caracterizado por hipertensión y proteinuria después las 20 semanas de gestación, afecta del 7 al 10% de las embarazadas y es una de las causas principales de mortalidad materna y fetal (3). Se ha demostrado que la remoción de la placenta resuelve los síntomas clínicos del síndrome, lo que sugiere que esta desempeña un papel central en la patogénesis (4). En las preeclámpticas, la placenta produce varios factores anti-angiogénicos, como la tirosina-quinasa 1 similar al fms soluble (sFLT-1) y la endoglina soluble (sEng), en cantidades superiores a las observadas en embarazadas normales (5). Se considera que el desequilibrio entre los factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos observados en la preeclampsia son la causa de la vascularización placentaria anormal.

Se siguen proponiendo hipótesis para explicar el origen de la alteración de los factores anti-angiogénicos en la preeclampsia. El objetivo de esta revisión se enfoca en discutir el desarrollo vascular normal durante el embarazo y el papel que juega el desequilibrio de los factores anti-angiogénicos en la disfunción endotelial en la preeclampsia.

Vasculogénesis y angiogénesis placentaria

El desarrollo vascular placentario incluye mecanismos de vasculogénesis y angiogénesis (1). La vasculogénesis (diferenciación de precursores

endoteliales en células endoteliales que recubren los vasos) comienza en las primeras semanas del embarazo. Durante este proceso, una sub población de células precursoras mesenquimales se transforma en precursores hemangioblásticos endoteliales. Esta diferenciación celular lleva a la aparición de los nuevos vasos sanguíneos placentarios (6).

La vasculogénesis es seguida por la angiogénesis (formación de nuevos capilares a partir de los ya existentes). Desde el día 21 del embarazo, los factores angiogénicos solubles, expresados por trofoblasto placentario, la decidua y los macrófagos actúan en la formación de capilares dentro de las vellosidades coriónicas placentarias (7,8). Estos lechos capilares se expanden continuamente hasta la semana 26 de gestación. Desde la semana 26 hasta el término del embarazo, el crecimiento vascular de las vellosidades se limita principalmente a la formación de vellosidades intermedias maduras que contienen bucles capilares poco ramificados (6).

La angiogénesis está estrictamente controlada por factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos. El desequilibrio en este proceso puede conducir a respuestas angiogénicas excesivas o insuficientes, que se ha asociado con diferentes patologías (1). Estudios en humanos y modelos animales han demostrado que factor de crecimiento y transformante neta (TGF-beta) y factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) señalización desempeñar un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis vascular fisiológica mediante la modulación de la función de las células endoteliales (9,10). Entre los factores angiogénicos expresados por la placenta durante esta fase, el sFLT-1 y la sENG desempeñan un papel central en este proceso.

FLT-1 completa

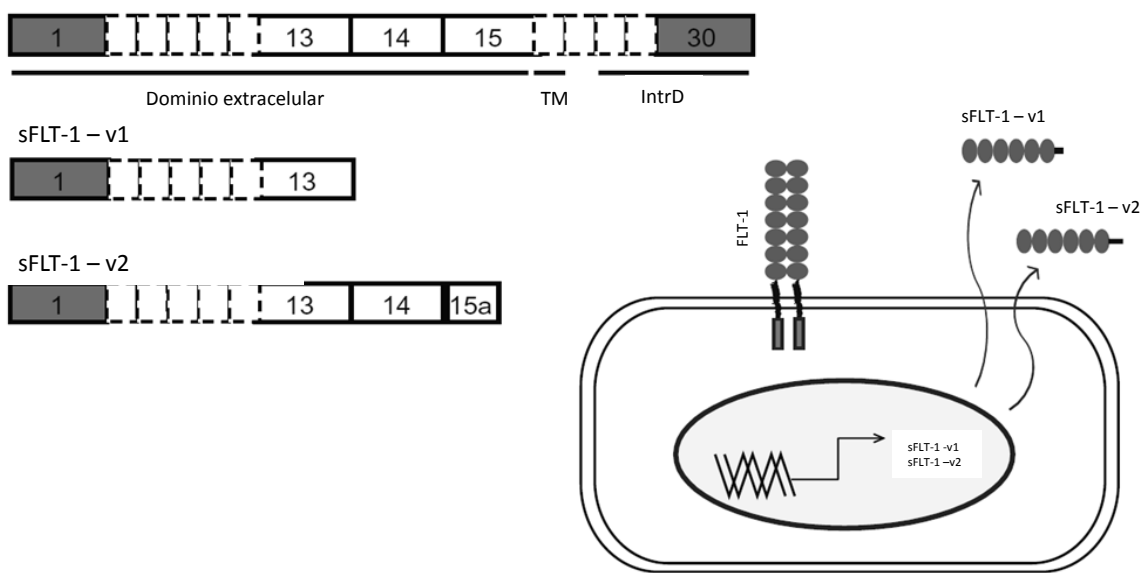


Figura 1. Diferentes formas de transcripción y generación de sFLT-1.

Factor de crecimiento vascular endotelial

La familia del VEGF es un grupo de moléculas multifuncionales que participan en diversos procesos biológicos durante el desarrollo y en condiciones tanto fisiológicas como patológicas. Sus miembros son incluye VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C y VEGF-D (11). La forma predominante, VEGF-A, es un factor que actúa en el ciclo de división celular endotelial específico, tienen propiedades pro-angiogénicas y anti-angiogénicas y se expresa en tres isoformas diferentes (12). Tres tipos de receptores de VEGF (VEGF-R) se activan luego de la unión con el factor: FLT-1, Flk1 (VEGF-R2) y FLT-4 (VEGF-R3). Dos co-receptores, neuropilinas y proteoglicanos de heparán sulfato, modifican la actividad de los receptores en diversas formas (13). El FLT-1 se une al VEGF-A, VEGF-B y factor de crecimiento placentario (PlGF), mientras que Flk1 se une a VEGF-A y VEGF -C y FLT-4 se unen a VEGF-C y VEGF -D (14).

El VEGF y sus receptores son cruciales para el desarrollo vascular normal y la formación de vasos linfáticos. Los VEGF-R poseen un dominio extracelular, un dominio trans-membrana y un dominio tirosina-quinasa intracelular. La unión de diferentes factores conduce a dimerización del receptor y activación de la tirosina-quinasa, iniciando diferentes vías de señalización intracelulares que modulan las funciones biológicas y vasculares. El FLT-1 y el Flk1 regulan la

señalización de la función de las células endoteliales, tales como proliferación, migración, formación de túbulos y ramificaciones (15). La señalización de VEGF-R3 es importante para el desarrollo de los vasos linfáticos (16). El VEGF induce el desarrollo vascular placentario a través de sus interacciones con alta afinidad a los receptores FLT-1 y Flk1, activando la tirosina-quinasa de las células placentarias (17). Se ha demostrado que el VEGF regula la estabilidad de las células endoteliales, la función de las células endoteliales y la permeabilidad periventricular cerebral (18).

La importancia de FLT-1 y Flk1 en la función vascular se volvió evidente a partir del estudio de ratones que carecían de estas estructuras. En ausencia de FLT-1 o Flk1 produjo muerte embrionaria por alteración del funcionamiento vascular, pero con diferencias para cada uno de los fenotipos. Los ratones con ausencia de FLT-1 mostraron organización vascular irregular caracterizada por proliferación de células endoteliales, mientras que embriones con ausencia de Flk1 mostraron ausencia de islas y vasos sanguíneos (19). El dominio extracelular de ambos receptores consta de siete dominios homólogos extracelulares. Solo el segundo dominio homólogo es suficiente para permitir la unión de VEGF a FLT-1, mientras que Flk1 requiere del segundo y tercer dominio homólogos para una unión adecuada (20). El VEGF-A tiene mayor afinidad por el FLT-1 que por el Flk1, esto puede ser explicado por las diferencias en los dominios extracelulares de unión. Sin embargo, la actividad

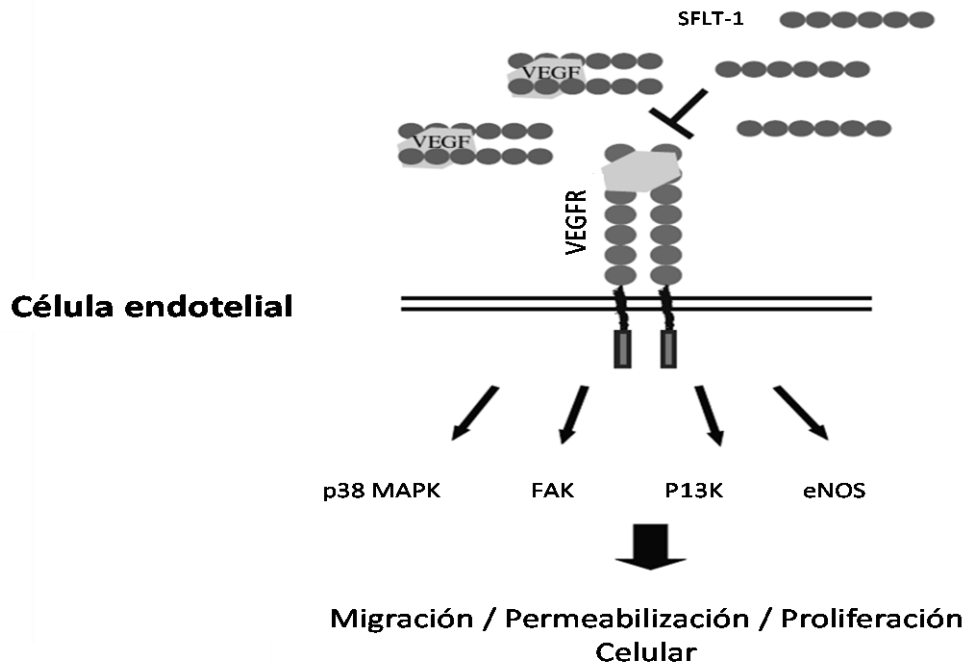


Figura 2. Señalización VEGF/FLT-1 y efectos del sFLT-1.

tirosina-quinasa de la FLT-1 en respuesta a la unión con VEGF-A es débil (21), posiblemente porque el dominio yuxtamembrana en la región intracelular reprime la activación (22).

Los ratones que carecen del dominio tirosina-quinasa asociado al FLT-1 en la membrana, pero con el dominio de unión al ligando intacto, no mostraron defectos en el desarrollo vascular, lo cual sugiere que esta no es necesaria para cumplir este paso (23). En conjunto, estos datos sugieren que FLT-1 puede funcionar como señuelo receptor de VEGF-A, regulando la biodisponibilidad de unirse a Flk1 (15). La PlGF se une directamente a FLT-1 y acentúa la angiogénesis secundaria al efecto del VEGF a sobre el Flk1 (24). El PlGF puede competir con VEGF-A para unirse a FLT-1, promoviendo indirectamente la señalización VEGF-A / Flk1 al aumentar la

disponibilidad del factor para unirse al receptor (25). Por otra parte, evidencia experimental indica que FLT-1 no sólo sirve para potenciar el eje VEGF-A / Flk1, sino que también está involucrado directamente en la señalización. Tanto el VEGF-A como el PlGF producen fosforilación del receptor FLT-1 alterando la señalización (24).

La pérdida de la actividad de la tirosina-quinasa de la FLT-1 produce inflamación y angiogénesis deficiente en enfermedades como aterosclerosis, metástasis pulmonar y artritis reumatoide (26). Además, puede actuar como regulador negativo de la célula endotelial durante el proceso de brotación y ramificación vascular (27). Hasta la fecha, la función del FLT-1 en la angiogénesis es evidente, pero la señalización exacta aún debe determinarse.

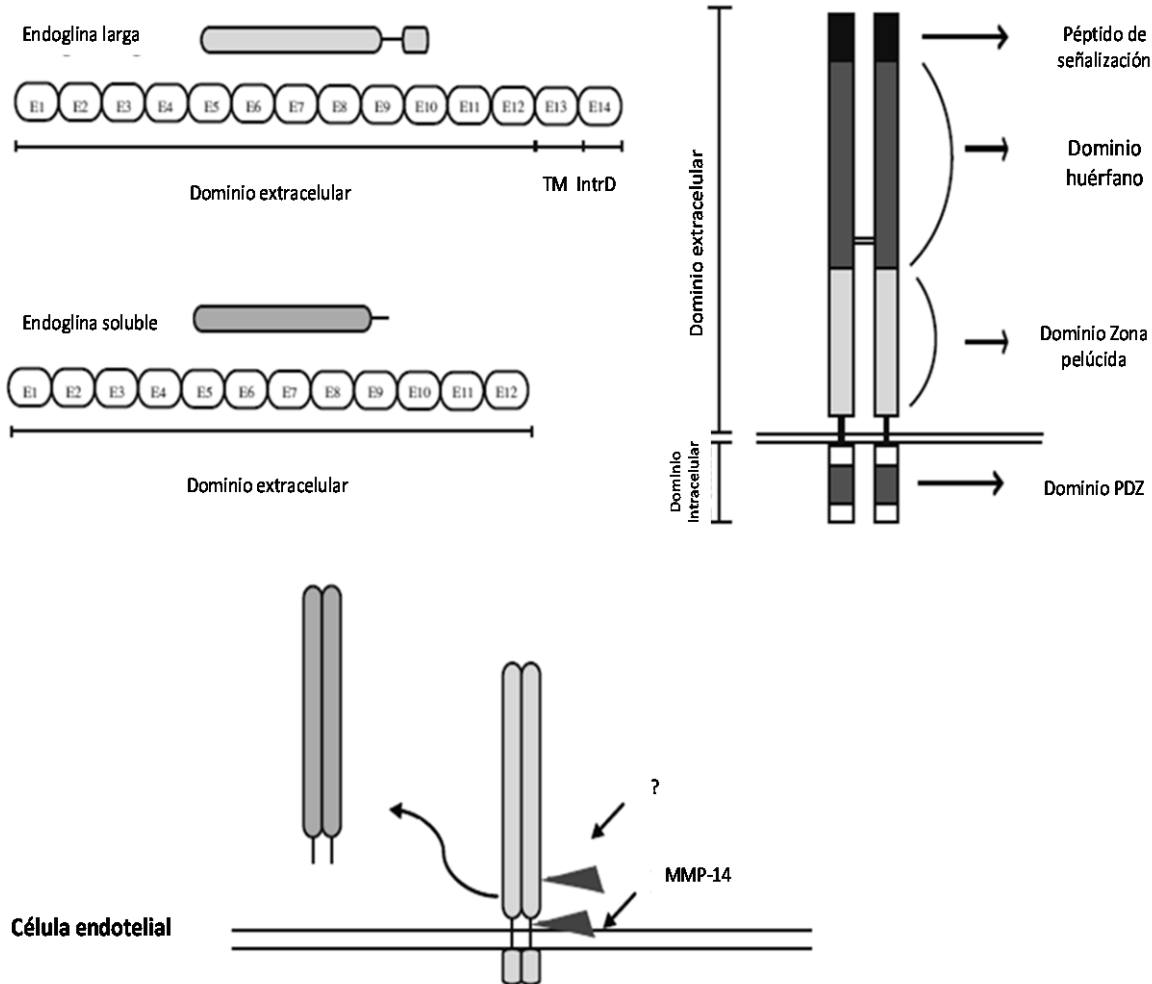


Figura 3. Diferentes formas y generación de la endoglina

El FLT-1 está codificado por 30 exones. El sFLT-1 es una variante que no está unida a la membrana celular y se genera a través de empalmes alternativos de los exones 1 al 13 (fig. 1) (28). Tanto sFLT-1 como FLT-1 comparten los primeros seis dominios homólogos, que son esenciales para su actividad (17). La aparición del sFLT-1 es posiblemente regulado por hipoxia y la desmetilasas de histonas jumonji (29). Diferentes estudios han descrito variantes adicionales del sFLT-1, (denominado sFLT-1-v2, sFLT-1-v3, sFLT-1-v4). Todos comparten el dominio extracelular seguido de una cola corta C-terminal pero poseen diferentes composiciones (30). A diferencia de las otras variantes, se ha descrito que el sFLT-1-v2 tiene expresión elevada en tejidos placentarios como una forma de sFLT-1 no endotelial de (31). No obstante, su importancia en la función placentaria in

vivo aún no ha sido investigada. Además del empalme alternativo, se ha encontrado otra versión de sFLT-1 producto de la escisión proteolítica y expresado por las células encontradas en cuadros de leucemia (32). No se conoce si este mecanismo proteolítico también contribuye a al aumento de las concentraciones en la preeclampsia.

La SFLT-1 secuestra al VEGF-A, VEGF-B y PlGF circulante (fig. 2) (24). Además, puede formar un complejo estable con el dominio extracelular del Flk1, interfiriendo con la dimerización del receptor y la señalización intracelular (33). Debido a la neutralización del sFLT-1 a sus ligandos naturales, se ha desarrollado un señuelo que contiene los primeros tres dominios homólogos (34). Se ha demostrado que tanto el sFLT-1 como el señuelo actúan como

reguladores negativos de la función endotelial (35) y la angiogénesis (36).

Endogлина soluble

La endogлина es una glicoproteína unida a la membrana que funciona como un co-receptor auxiliar para los miembros de la familia del TGF-beta (37). Esta super-familia incluye, además, activinas y proteínas morfogenéticas óseas (BMP) que actúan sobre varios tipos celulares. Las señales de estos factores se realizan a través de los receptores de complejos de tipo I y tipo II de serina/treonina proteína quinasa (TβRI / II) (38). La endogлина tiene un dominio extracelular, un único dominio transmembrana y un pequeño dominio citoplasmático (39). El dominio extracelular está formado por un péptido de señalización, un dominio huérfano y un dominio de zona pelúcida involucradas en la oligomerización. Los dominios extracelular e intracelular median las interacciones heterodiméricas con los TβRI / TβRII (40). El TGF-beta sólo se une a la endogлина en complejo con TβRII, mientras que BMP-9 se une directamente al dominio

huérfano (41).

La endogлина está estrechamente relacionada con el co-receptor betaglicano. Este último se une a TGF-beta1 y beta3, mientras betaglicano interactúa con las tres isoformas TGF-beta (9). Los efectos específicos del TGF-beta por tipo celular están mediados por los receptores auxiliares que poseen patrones diferenciales de expresión e interactúan con diferente afinidad a cada isoformas. Debido a división diferencial de ARN mensajero, existen dos formas de endogлиnas: la endogлина de forma larga (L-endogлина) y la endogлина de forma corta (S-endogлина). La L-endogлина es la isoforma expresada en forma más abundante (42). Aparte de las formas ligadas a la membrana, la endogлина puede existir como una forma soluble (fig. 3).

La endogлина se expresa escasamente en las células endoteliales senescentes, pero se expresa activamente en las células endoteliales proliferativas. Además de las células endoteliales, también se expresa en el sincitiotrofoblasto (43), células estromales (44), hematopoyéticas y placentarias a término (45). Su expresión es inducida y regulada por la hipoxia, TGF-

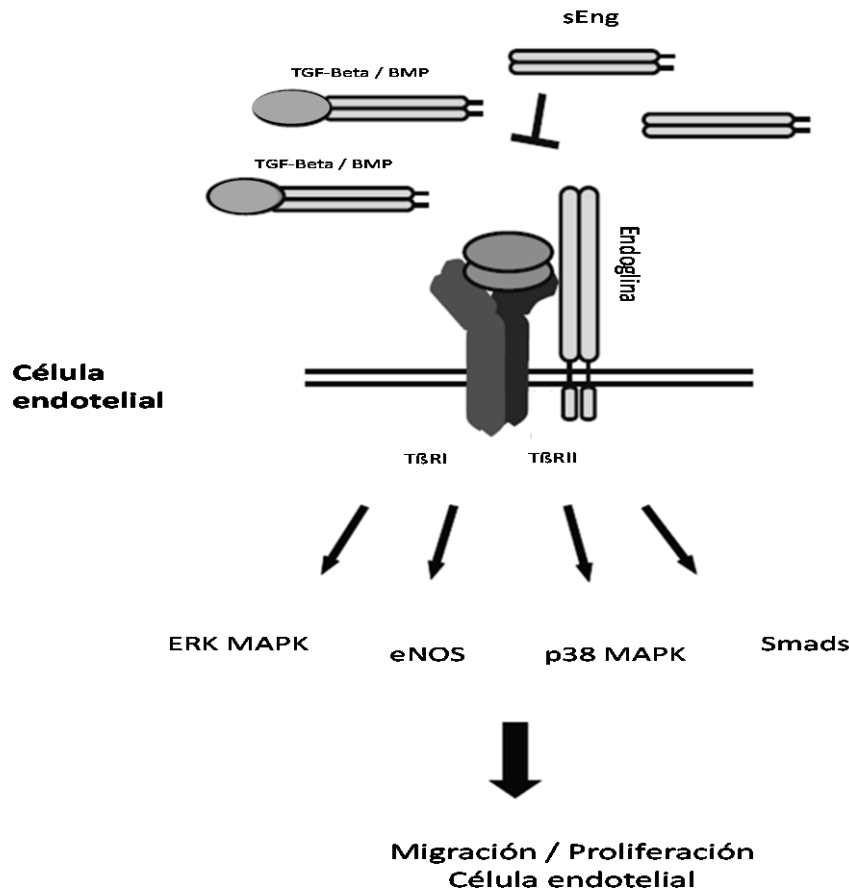


Figura 4. Señalización de TGF-beta / BMP / endogлина y efectos de la sEng.

beta1, TGF-beta3 y BMP-9 (41). Las células endoteliales aórticas de ratones que carecen de endogлина muestran proliferación, migración, secreción de VEGF reducida y expresión disminuida de la sintasa de óxido nítrico endotelial (46). También se demostró que las células endoteliales derivadas de embriones sin endogлина tienen alteraciones de la proliferación (38). El aumento de la expresión de endogлина protege a las células endoteliales de la apoptosis inducida por TGF-beta1 (46). Su importancia en la biología vascular se demostró por su papel en la muerte embrionaria debido a la angiogénesis defectuosa in vivo de ratones que carecen de endogлина (47).

Las concentraciones séricas de sEng están elevadas en las preeclámpticas (48, 49), así como en pacientes con cáncer de mama y colorrectal (50), provocando una respuesta angiogénica anormal. Se ha informado de que sEng se genera a través de la metaloproteinasa (MMP)-14 que interviene en la separación de la endogлина en la membrana en pacientes con cáncer colorrectal, en un sitio cercano al dominio transmembrana de endogлина (fig. 3) (50). Este sEng posee todo el dominio extracelular y mantiene su capacidad de unión a TGF-beta y BMP-9 (5, 41). Por lo tanto, el desprendimiento local es una fuente potencial de sEng, que posteriormente puede afectar la angiogénesis en el microambiente tumoral. Se ha comprobado que MMP-14 participa en la generación de sEng en pacientes con preeclampsia. Esta se expresa en el sincitiotrofoblasto e interactúa dentro de la placenta de las preeclámpticas. El tratamiento de las células trofoblásticas con inhibidores de MMP-14 atenúa la producción de sEng (51).

Se ha demostrado que sEng inhibe la angiogénesis en estudios ex vivo (50, 52). La sEng puede ejercer efectos anti-angiogénicos en las células endoteliales a través de la modulación de la señalización de TGF-beta / BMP (48, 52). Estudios in vitro han demostrado que interfiere con la señalización de TGF-beta y la actividad de la sintasa de óxido nítrico (48). La explicación para estos hallazgos es que la sEng funciona como bloqueador de los factores circulantes, afectando el equilibrio de la señalización vascular de TGF-beta / BMP. También es posible que por la unión a los receptores de TGF-beta, la sEng interfiera con la disponibilidad de la TGF-beta para unirse a los receptores unidos a la membrana (fig. 4) (52).

Desarrollo vascular normal en el embarazo

A medida que avanza el embarazo, el citotrofoblasto migra hacia las arterias espirales uterinas y las arteriolas deciduales. En esta etapa, también sufren una transformación fenotípica de las características epiteliales a endoteliales. El citotrofoblasto invasor disminuye la expresión de moléculas de adhesión (caderina-E y $\alpha 6\beta 4$) y comienzan a producir moléculas de adhesión específicas de células endoteliales (caderina vascular endotelial y $\alpha V\beta 3$) (53). El reemplazo de la capa endotelial de las arterias espirales uterinas disminuye su capacidad de resistencia y, por lo tanto, aumenta el flujo sanguíneo placentario. Este proceso es fundamental para proporcionar nutrientes - oxígeno a la placenta y al feto en desarrollo (54). Se ha propuesto que la remodelación de las arterias espirales también es regulada por los factores angiogénicos angiopietina-1 y angiopietina-2 (49). Se están realizando investigaciones para descubrir aquellos mecanismos subyacentes en la progresión de la vasculogénesis y la angiogénesis durante la placentación normal y las razones de la tolerancia materna a la invasión de citotrofoblasto.

Desarrollo vascular anormal en la preeclampsia

En las preeclámpticas, las altas concentraciones circulantes de factores anti-angiogénicos de origen placentario contribuyen a la disfunción endotelial materna y a las manifestaciones clínicas observadas en la preeclampsia (55). La expresión placentaria y las concentraciones circulantes de sFLT-1 y sEng están marcadamente aumentadas en las preeclámpticas (5, 48, 49, 56). La elevación de las concentraciones de estos factores precede a la aparición clínica del síndrome y se correlaciona con la severidad de la preeclampsia (49, 56, 57).

El sFLT-1 placentario es producido en cantidades superiores a las embarazadas normotensas, aproximadamente 5 semanas antes de la aparición clínica de la preeclampsia (56). Se considera que compromete la angiogénesis al unirse al VEGF y PlGF circulantes, inhibiendo las acciones mitogénicas y homeostáticas en las células endoteliales (58). Existen varias vías para regular la producción de sFLT-1: hipoxia placentaria, anomalías genéticas, estrés oxidativo, inflamación y deficiencia de catecol-O-metil transferasa (59). En ratas gestantes a las que se les administró sFLT-1 exógeno desarrollaron sintomatología de preeclampsia, incluyendo hipertensión, proteinuria y endoteliosis glomerular (5). Se ha demostrado que los anticuerpos contra VEGF

inducen daño endotelial glomerular y proteinuria en ratones no gestantes (60). Además, estudios *in vitro* han demostrado que los anticuerpos exógenos contra sFLT-1 pueden revertir el estado anti-angiogénico causado por el plasma de las preeclámpticas (58). Se ha propuesto que también contribuye al aumento del riesgo de preeclampsia en embarazos molares (10,61) y gemelares (62). El uso de inhibidores de VEGF para el tratamiento de la angiogénesis en pacientes con cáncer se ha asociado con aparición de hipertensión, proteinuria, elevación de la concentración de enzimas hepáticas circulantes, edema cerebral y leucoencefalopatía posterior reversible – hallazgos similares a los observados en pacientes con preeclampsia y eclampsia (63, 64). Estos estudios recalcan el papel central de sFLT-1 y la alteración de la señalización del VEGF en el desarrollo de la preeclampsia.

Se han descubierto varias variantes de sFLT-1 sólo se encuentra en los primates (65). La expresión de la isoforma e15a del sFLT-1 se incrementa marcadamente en las preeclámpticas (65, 66). Esta se produce principalmente en porciones anormales del sincitiotrofoblasto degenerado, conocidos como “nudos sincitiales” (65). Se ha propuesto que, en los humanos, esta isoforma de sFLT-1 puede haber aparecido para proteger a los diferentes órganos de la señalización negativa del VEGF.

Aunque sFLT-1 tiene un papel importante en la patogénesis de la preeclampsia, es poco probable que por sí sola controlen la aparición y desarrollo del

síndrome. La sEng está aumentada en la preeclampsia y actúa en conjunto con sFLT-1 provocando disfunción endotelial (48). En forma similar a sFLT-1, las concentraciones circulantes de sEng están elevadas semanas antes de la aparición del síndrome (49). Los animales tratados con sFLT-1 y sEng muestran signos de preeclampsia severa, incluyendo síndrome HELLP (hemólisis, aumento de las enzimas hepáticas y trombocitopenia) (48). Los efectos de sEng pueden ser mediados por el bloqueo de la vasodilatación dependiente de óxido nítrico, lo que sugiere que la actividad de la sintasa de óxido nítrico y/o la producción de este puede ser inhibida por la sEng (67).

Factores antiangiogénicos como biomarcadores circulantes para la preeclampsia

Dado que la hipertensión y la proteinuria no son síntomas exclusivos de la preeclampsia, un marcador diagnóstico específico es necesario para el diagnóstico y la prevención temprana de la preeclampsia. Con este fin, una serie de biomarcadores han sido objeto de estudio (68). La expresión de sFLT-1 y sEng se incrementa en las preeclámpticas antes de la aparición del síndrome clínico, lo que indica su valor predictivo. Sin embargo, las concentraciones de la primera durante el embarazo son variables, por lo que es difícil interpretar su precisión pronóstica.

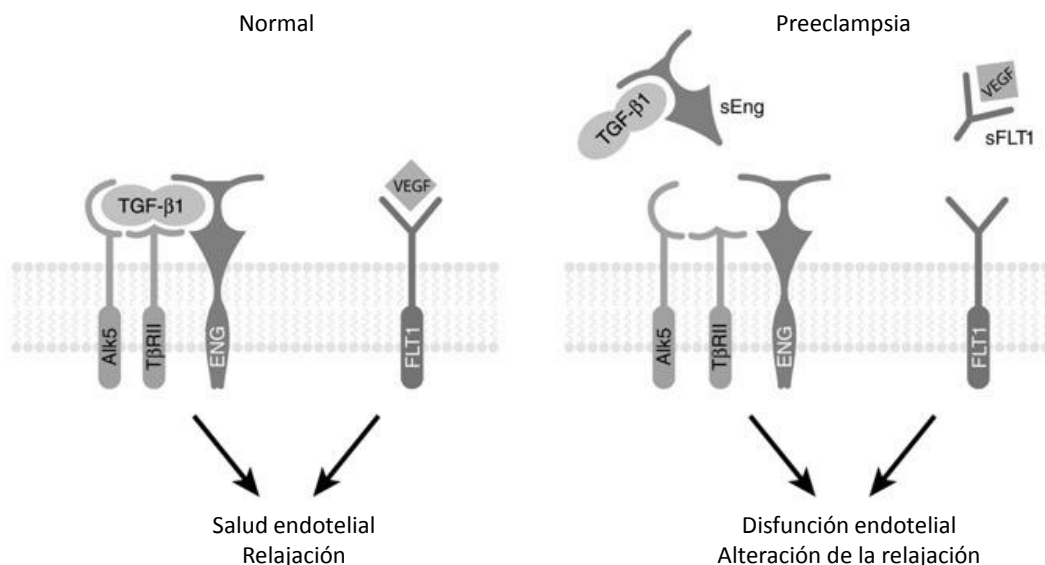


Figura 5. El sFLT-1 y sEng causan disfunción endotelial antagonizando la señalización de VEGF y TGF-beta1.

Varios estudios recientes han analizado la relación sFLT-1 / PIGF para evaluar su capacidad como indicador para el inicio de la enfermedad. Esta proporción aumenta antes de la aparición de la preeclampsia, pero no distingue a las preeclámpticas de las embarazadas con hipertensión gestacional. Además de las concentraciones aumentadas de sFLT-1, las concentraciones de sEng también están aumentadas en las preeclámpticas con cambios en la relación (49). Se ha demostrado que el aumento de las concentraciones de sEng permite discriminar a las preeclámpticas de las embarazadas con hipertensión gestacional y de las hipertensas crónicas (69).

Las pruebas de determinación disponibles para la detección de sFLT-1 están compuestas por anticuerpos que no distinguen las diferentes isoformas que se expresan en forma diferencial en la placenta (31). El uso de pruebas discriminantes podría evaluar específicamente las funciones potenciales de diferentes isoformas en la patogénesis de la preeclampsia. Con respecto a la detección de sEng, se han descrito diferentes pesos moleculares. Esto parece ser variable en diferentes entornos experimentales. Para validar el valor de predicción de sEng, se necesitan más estudios para entender la fuente de diferentes formas.

Importancia clínica.

A medida que el papel del desequilibrio angiogénico en la preeclampsia se vuelve más claro, nuevas vías para el diagnóstico, predicción y tratamiento están disponibles. En las preeclámpticas, los cambios en las concentraciones plasmáticas de los factores anti-angiogénicos también pueden ser útiles en la predicción de recién nacidos pequeños para la edad gestacional (70).

También se han sugerido estrategias terapéuticas para abordar el desequilibrio angiogénico en la preeclampsia. En un modelo animal, el tratamiento con VEGF-121 mejora la tasa de filtración glomerular y la función endotelial, disminuyendo la hipertensión asociada con isquemia placentaria (71) y a la sobre expresión de sFLT-1 (72). Las estrategias terapéuticas para tratar el desequilibrio angiogénico pueden reducir significativamente la mortalidad materna y neonatal asociada a la enfermedad

Conclusión

Existe evidencia sustancial que apoya el papel de sFLT-1, sEng y otras proteínas anti-angiogénicas en el desarrollo de la preeclampsia. Por otra parte, aún quedan varios aspectos importantes pendientes para su exploración. Por ejemplo, como los polimorfismos, las variaciones del número de reproducciones o cambios epigenéticos afectan el balance de los factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos producidos por la placenta en la preeclampsia. También se necesita definir mejor la regulación del desarrollo vascular placentario y la expresión de estos factores en embarazos normales y patológicos. A medida que se continúen haciendo descubrimientos, es de esperar que sea posible crear herramientas de diagnóstico que puedan detectar la aparición de la enfermedad antes del inicio de los síntomas y desarrollar terapias que modifiquen su curso.

Conflicto de interés

El autor declara no tener ningún conflicto

Referencias

1. Reyna-Villasmil E, Briceño-Pérez C, Torres-Cepeda D. Vasculogénesis y angiogénesis durante el embarazo normal y en la preeclampsia. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 2010; 70: 265-79. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
2. Burton GJ, Fowden AL. The placenta: a multifaceted, transient organ. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2015; 370: 20140066. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
3. Stocks G. Preeclampsia: pathophysiology, old and new strategies for management. *Eur J Anaesthesiol.* 2014; 31: 183-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
4. Cheng SB, Sharma S. Preeclampsia and health risks later in life: an immunological link. *Semin Immunopathol.* 2016; 38: 699-708. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
5. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003; 111: 649-58. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
6. Sahay AS, Sundrani DP, Joshi SR. Regional changes of placental vascularization in preeclampsia: a review. *IUBMB Life.* 2015; 67: 619-25. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
7. Zhao H, Ozen M, Wong RJ, Stevenson DK. Heme oxygenase-1 in pregnancy and cancer: similarities in cellular invasion, cytoprotection, angiogenesis, and immunomodulation. *Front Pharmacol.* 2015; 5: 295. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
8. Castejón O, Succes M, Rivas A, Molina R. Vasculogénesis en la vellosidad placentaria humana de nueve semanas.

- Gac Med Caracas. 2002; 110: 504-11. [\[Google Scholar\]](#)
9. Rathouska J, Jezkova K, Nemeckova I, Nachtigal P. Soluble endoglin, hypercholesterolemia and endothelial dysfunction. *Atherosclerosis*. 2015; 243: 383-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 10. Koga K, Osuga Y, Tajima T, Hirota Y, Igarashi T, Fujii T, Yano T, Taketani Y. Elevated serum soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) level in women with hydatidiform mole. *Fertil Steril*. 2010; 94: 305-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 11. Jeltsch M, Leppänen VM, Saharinen P, Alitalo K. Receptor tyrosine kinase-mediated angiogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013; 5: a009183. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 12. Guyot M, Pagès G. VEGF Splicing and the role of VEGF splice variants: from physiological-pathological conditions to specific pre-mrna splicing. *Methods Mol Biol*. 2015; 1332: 3-23. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 13. Lampropoulou A, Ruhrberg C. Neuropilin regulation of angiogenesis. *Biochem Soc Trans*. 2014; 42: 1623-28. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 14. Gacche RN, Meshram RJ. Angiogenic factors as potential drug target: efficacy and limitations of anti-angiogenic therapy. *Biochim Biophys Acta*. 2014; 1846: 161-79. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 15. Simons M, Gordon E, Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2016; 17: 611-25. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 16. Kukk E, Lymboussaki A, Taira S, Kaipainen A, Jeltsch M, Joukov V, Alitalo K. VEGF-C receptor binding and pattern of expression with VEGFR-3 suggests a role in lymphatic vascular development. *Development*. 1996; 122: 3829-37. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 17. Shibuya M. VEGFR and type-V RTK activation and signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013; 5: a009092. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 18. Jerkic M, Letarte M. Increased endothelial cell permeability in endoglin-deficient cells. *FASEB J*. 2015; 29: 3678-88. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 19. Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M, Breitman ML. Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. *Nature*. 1995; 376: 66-70. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 20. Anisimov A, Leppänen VM, Tvorogov D, Zarkada G, Jeltsch M, Holopainen T, Kaijalainen S, Alitalo K. The basis for the distinct biological activities of vascular endothelial growth factor receptor-1 ligands. *Sci Signal*. 2013; 6: ra52. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 21. Sawano A, Iwai S, Sakurai Y, Ito M, Shitara K, Nakahata T, Shibuya M. Flt-1, vascular endothelial growth factor receptor 1, is a novel cell surface marker for the lineage of monocyte-macrophages in humans. *Blood*. 2001; 97: 785-91. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 22. Gille H, Kowalski J, Yu L, Chen H, Pisabarro MT, Davis-Smyth T, Ferrara N. A repressor sequence in the juxtamembrane domain of Flt-1 (VEGFR-1) constitutively inhibits vascular endothelial growth factor-dependent phosphatidylinositol 3'-kinase activation and endothelial cell migration. *EMBO J*. 2000; 19: 4064-73. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 23. Hiratsuka S, Minowa O, Kuno J, Noda T, Shibuya M. Flt-1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95: 9349-54. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 24. Autiero M, Waltenberger J, Communi D, Kranz A, Moons L, Lambrechts D, Kroll J, Plaisance S, De Mol M, Bono F, Kliche S, Fellbrich G, Ballmer-Hofer K, Maglione D, Mayr-Beyrle U, Dewerchin M, Dombrowski S, Stanimirovic D, Van Hummelen P, Dehio C, Hicklin DJ, Persico G, Herbert JM, Communi D, Shibuya M, Collen D, Conway EM, Carmeliet P. Role of PlGF in the intra- and intermolecular cross talk between the VEGF receptors Flt1 and Flk1. *Nat Med*. 2003; 9: 936-43. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 25. Sawano A, Takahashi T, Yamaguchi S, Aonuma M, Shibuya M. Flt-1 but not KDR/Flk-1 tyrosine kinase is a receptor for placenta growth factor, which is related to vascular endothelial growth factor. *Cell Growth Differ*. 1996; 7: 213-21. [\[Google Scholar\]](#)
 26. Roh YJ, Jee D, Rho CR, Cho WK, Kang S. Anti-angiogenic effect of ALS-L1023, an extract of *Melissa officinalis* L., on experimental choroidal neovascularization in mice. *Clin Exp Ophthalmol*. 2016; 44: 43-51. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 27. Li S, Zhou XL, Dang YY, Kwan YW, Chan SW, Leung GP, Lee SM, Hoi MP. Basal Flt1 tyrosine kinase activity is a positive regulator of endothelial survival and vascularization during zebrafish embryogenesis. *Biochim Biophys Acta*. 2015; 1850: 373-84. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 28. Kondo K, Hiratsuka S, Subbalakshmi E, Matsushima H, Shibuya M. Genomic organization of the flt-1 gene encoding for vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor-1 suggests an intimate evolutionary relationship between the 7-Ig and the 5-Ig tyrosine kinase receptors. *Gene*. 1998; 208: 297-305. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 29. Palmer KR, Tong S, Tuohey L, Cannon P, Ye L, Hannan NJ, Brownfoot FC, Illanes SE, Kaitu'u-Lino TJ. Jumonji domain containing protein 6 is decreased in human preeclamptic placentas and regulates sflt-1 splice variant production. *Biol Reprod*. 2016; 94: 59. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 30. Heydarian M, McCaffrey T, Florea L, Yang Z, Ross MM, Zhou W, Maynard SE. Novel splice variants of sFlt1 are upregulated in preeclampsia. *Placenta*. 2009; 30: 250-5. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 31. Nikuei P, Malekzadeh K, Rajaei M, Nejatizadeh A, Ghasemi N. The imbalance in expression of angiogenic and anti-angiogenic factors as candidate predictive biomarker in preeclampsia. *Iran J Reprod Med*. 2015; 13: 251-62. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 32. Rahimi N, Golde TE, Meyer RD. Identification of ligand-induced proteolytic cleavage and ectodomain shedding of VEGFR-1/FLT1 in leukemic cancer cells. *Cancer Res*. 2009; 69: 2607-14. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 33. Shibuya M, Yamaguchi S, Yamane A, Ikeda T, Tojo A, Matsushima H, Sato M. Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase gene (flt) closely related to the fms family. *Oncogene*. 1990; 5: 519-24. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 34. Holash J, Davis S, Papadopoulos N, Croll SD, Ho L, Russell M, Boland P, Leidich R, Hylton D, Burova E, Ioffe E, Huang T, Radziejewski C, Bailey K, Fandl JP, Daly T, Wiegand SJ, Yancopoulos GD, Rudge JS. VEGF-Trap: a VEGF blocker with potent antitumor effects. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99: 11393-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 35. Zhou Q, Qiao FY, Zhao C, Liu HY. Hypoxic trophoblast-derived sFlt-1 may contribute to endothelial dysfunction: implication for the mechanism of trophoblast-endothelial dysfunction in preeclampsia. *Cell Biol Int*. 2011; 35: 61-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 36. Lai CM, Estcourt MJ, Wikstrom M, Himbeck RP, Barnett NL, Brankov M, Tee LB, Dunlop SA, Degli-Esposti MA, Rakoczy EP. rAAV.sFlt-1 gene therapy achieves lasting reversal of retinal neovascularization in the absence of a strong immune response to the viral vector. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009; 50: 4279-87. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)

37. Awwad K, Hu J, Shi L, Mangels N, Abdel Malik R, Zippel N, Fisslthaler B, Eble JA, Pfeilschifter J, Popp R, Fleming I. Role of secreted modular calcium-binding protein 1 (SMOC1) in transforming growth factor β signalling and angiogenesis. *Cardiovasc Res.* 2015; 106: 284-94. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
38. Gudey SK, Wallenius A, Landström M. Regulated intramembrane proteolysis of the TGF β type I receptor conveys oncogenic signals. *Future Oncol.* 2014; 10: 1853-61. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
39. Gougos A, Letarte M. Biochemical characterization of the 44G4 antigen from the HOON pre-B leukemic cell line. *J Immunol.* 1988; 141: 1934-40. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
40. Kamato D, Burch ML, Piva TJ, Rezaei HB, Rostam MA, Xu S, Zheng W, Little PJ, Osman N. Transforming growth factor- β signalling: role and consequences of Smad linker region phosphorylation. *Cell Signal.* 2013; 25: 2017-24. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
41. Scharpfenecker M, van Dinther M, Liu Z, van Bezooijen RL, Zhao Q, Pukac L, Löwik CW, ten Dijke P. BMP-9 signals via ALK1 and inhibits bFGF-induced endothelial cell proliferation and VEGF-stimulated angiogenesis. *J Cell Sci.* 2007; 120: 964-72. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
42. Pomeranec L, Hector-Greene M, Ehrlich M, Blobe GC, Henis YI. Regulation of TGF- β receptor hetero-oligomerization and signaling by endoglin. *Mol Biol Cell.* 2015; 26: 3117-27. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
43. Gougos A, St Jacques S, Greaves A, O'Connell PJ, d'Apice AJ, Bühring HJ, Bernabeu C, van Mourik JA, Letarte M. Identification of distinct epitopes of endoglin, an RGD-containing glycoprotein of endothelial cells, leukemic cells, and syncytiotrophoblasts. *Int Immunol.* 1992; 4: 83-92. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
44. Meurer SK, Tihaa L, Lahme B, Gressner AM, Weiskirchen R. Identification of endoglin in rat hepatic stellate cells: new insights into transforming growth factor beta receptor signaling. *J Biol Chem.* 2005; 280: 3078-87. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
45. Lastres P, Bellon T, Cabañas C, Sanchez-Madrid F, Acevedo A, Gougos A, Letarte M, Bernabeu C. Regulated expression on human macrophages of endoglin, an Arg-Gly-Asp-containing surface antigen. *Eur J Immunol.* 1992; 22: 393-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
46. Warrington K, Hillarby MC, Li C, Letarte M, Kumar S. Functional role of CD105 in TGF-beta1 signalling in murine and human endothelial cells. *Anticancer Res.* 2005; 25: 1851-64. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
47. Sorensen LK, Brooke BS, Li DY, Urness LD. Loss of distinct arterial and venous boundaries in mice lacking endoglin, a vascular-specific TGFbeta coreceptor. *Dev Biol.* 2003; 261: 235-50. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
48. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, Bdoah Y, Lim KH, Yuan HT, Libermann TA, Stillman IE, Roberts D, D'Amore PA, Epstein FH, Sellke FW, Romero R, Sukhatme VP, Letarte M, Karumanchi SA. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med.* 2006; 12: 642-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
49. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, Karumanchi SA; CPEP Study Group. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med.* 2006; 355: 992-1005. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
50. Kumar S, Pan CC, Bloodworth JC, Nixon AB, Theuer C, Hoyt DG, Lee NY. Antibody-directed coupling of endoglin and MMP-14 is a key mechanism for endoglin shedding and deregulation of TGF- β signaling. *Oncogene.* 2014; 33: 3970-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
51. Kaitu'u-Lino TJ, Tuohey L, Ye L, Palmer K, Skubisz M, Tong S. MT-MMPs in preeclamptic placenta: relationship to soluble endoglin production. *Placenta.* 2013; 34: 168-73. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
52. Kienast Y, Jucknischke U, Scheiblich S, Thier M, de Wouters M, Haas A, Lehmann C, Brand V, Bernicke D, Honold K, Lorenz S. Rapid activation of bone morphogenic protein 9 by receptor-mediated displacement of pro-domains. *J Biol Chem.* 2016; 291: 3395-410. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
53. Fisher SJ. Why is placental abnormal in preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol.* 2015; 213: S115-22. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
54. Maynard SE, Karumanchi SA. Angiogenic factors and preeclampsia. *Semin Nephrol.* 2011; 31: 33-46. [[PubMed](#)]
55. Contreras F, Martínez J, Fouilloux C, Colmenares Y, Guevarra E, Torres D. Endotelio y trastornos hipertensivos en el embarazo. *Rev Fac Med (Caracas).* 2002; 25: 121-9. [[Google Scholar](#)]
56. Leañós-Miranda A, Campos-Galicia I, Isordia-Salas I, Rivera-Leañós R, Romero-Arauz JF, Ayala-Méndez JA, Ulloa-Aguirre A. Changes in circulating concentrations of soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor measured by automated electrochemiluminescence immunoassays methods are predictors of preeclampsia. *J Hypertens.* 2012; 30: 2173-81. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
57. Chaiworapongsa T, Romero R, Kim YM, Kim GJ, Kim MR, Espinoza J, Bujold E, Gonçalves L, Gomez R, Edwin S, Mazor M. Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 concentration is elevated prior to the clinical diagnosis of pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005; 17: 3-18. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
58. Munaut C, Lorquet S, Pequeux C, Blacher S, Berndt S, Frankenne F, Foidart JM. Hypoxia is responsible for soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) but not for soluble endoglin induction in villous trophoblast. *Hum Reprod.* 2008; 23: 1407-15. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
59. Erlandsson L, Nääv Å, Hennessy A, Vaiman D, Gram M, Åkerström B, Hansson SR. Inventory of novel animal models addressing etiology of preeclampsia in the development of new therapeutic/intervention opportunities. *Am J Reprod Immunol.* 2016; 75: 402-10. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
60. Sugimoto H, Hamano Y, Charytan D, Cosgrove D, Kieran M, Sudhakar A, Kalluri R. Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. *J Biol Chem.* 2003; 278: 12605-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
61. Kanter D, Lindheimer MD, Wang E, Borromeo RG, Bousfield E, Karumanchi SA, Stillman IE. Angiogenic dysfunction in molar pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2010; 202: 184.e1-5. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
62. Faupel-Badger JM, McElrath TF, Lauria M, Houghton LC, Lim KH, Parry S, Cantonwine D, Lai G, Karumanchi SA, Hoover RN, Troisi R. Maternal circulating angiogenic factors in twin and singleton pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2015; 212: 636.e1-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
63. Usui J, Glezerman IG, Salvatore SP, Chandran CB, Flombaum CD, Seshan SV. Clinicopathological spectrum of kidney diseases in cancer patients treated with vascular endothelial growth factor inhibitors: a report of 5 cases and review of literature. *Hum Pathol.* 2014; 45: 1918-27. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

64. Patel TV, Morgan JA, Demetri GD, George S, Maki RG, Quigley M, Humphreys BD. A preeclampsia-like syndrome characterized by reversible hypertension and proteinuria induced by the multitargeted kinase inhibitors sunitinib and sorafenib. *J Natl Cancer Inst.* 2008; 100: 282-4. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
65. Sela S, Itin A, Natanson-Yaron S, Greenfield C, Goldman-Wohl D, Yagel S, Keshet E. A novel human-specific soluble vascular endothelial growth factor receptor 1: cell-type-specific splicing and implications to vascular endothelial growth factor homeostasis and preeclampsia. *Circ Res.* 2008; 102: 1566-74. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
66. Palmer KR, Kaitu'u-Lino TJ, Hastie R, Hannan NJ, Ye L, Binder N, Cannon P, Tuohey L, Johns TG, Shub A, Tong S. Placental-specific sFLT-1 e15a protein is increased in preeclampsia, antagonizes vascular endothelial growth factor signaling, and has antiangiogenic activity. *Hypertension.* 2015; 66: 1251-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
67. Sandrim VC, Palei AC, Metzger IF, Gomes VA, Cavalli RC, Tanus-Santos JE. Nitric oxide formation is inversely related to serum levels of antiangiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endoglin in preeclampsia. *Hypertension.* 2008; 52: 402-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
68. van Helden J, Weiskirchen R. Analytical evaluation of the novel soluble fms-like tyrosine kinase 1 and placental growth factor assays for the diagnosis of preeclampsia. *Clin Biochem.* 2015; 48: 1113-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
69. Aggarwal PK, Chandel N, Jain V, Jha V. The relationship between circulating endothelin-1, soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endoglin in preeclampsia. *J Hum Hypertens.* 2012; 26: 236-41. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
70. Romero R, Nien JK, Espinoza J, Todem D, Fu W, Chung H, Kusanovic JP, Gotsch F, Erez O, Mazaki-Tovi S, Gomez R, Edwin S, Chaiworapongsa T, Levine RJ, Karumanchi SA. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2008; 21: 9-23. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
71. Spradley FT, Tan AY, Joo WS, Daniels G, Kussie P, Karumanchi SA, Granger JP. Placental growth factor administration abolishes placental ischemia-induced hypertension. *Hypertension.* 2016; 67: 740-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
72. Mateus J, Bytautiene E, Lu F, Tamayo EH, Betancourt A, Hankins GD, Longo M, Saade GR. Endothelial growth factor therapy improves preeclampsia-like manifestations in a murine model induced by overexpression of sVEGFR-1. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011; 301: H1781-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Como citar este artículo: Reyna-Villasmil E Factores anti-angiogénicos y preeclampsia. *Avan Biomed* 2018; 7: 23-34.



Avances en Biomedicina se distribuye bajo la Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 3.0 Venezuela, por lo que el envío y la publicación de artículos a la revista son completamente gratuitos.