

Aus dem Institut/der Klinik für Geburtsmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Plazentare Expression von sFlt-1 und PLGF
bei früh einsetzender placentarer Dysfunktion:
Vergleich mit gesunden Schwangeren**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Alice Elaine Höller

aus Herrenberg

Datum der Promotion: 14.09.2018

1. ZUSAMMENFASSUNG	2
1.1 ABSTRACTS	2
1.1.1 <i>Abstract Deutsch</i>	2
1.1.2 <i>Abstract Englisch</i>	3
1.2 EINLEITUNG	4
1.3 MATERIAL UND METHODEN	5
1.3.1 <i>Studienpopulation</i>	5
1.3.2 <i>Proben</i>	7
1.3.2.1 <i>Maternales Serum</i>	7
1.3.2.2 <i>Plazentare Gewebeproben</i>	7
1.3.3 <i>Methoden</i>	7
1.3.3.1 <i>mRNA Isolation and q-PCR</i>	7
1.3.3.2 <i>Protein Isolation and ELISA</i>	8
1.3.3.3 <i>Immunhistochemie</i>	8
1.3.3.4 <i>Fluoreszenz-Färbungen</i>	8
1.3.3.5 <i>Semiquantitative Auswertung</i>	9
1.3.3.6 <i>Statistische Datenauswertung</i>	9
1.4 ERGEBNISSE	10
1.4.1 <i>Studienpopulation</i>	10
1.4.2 <i>Maternale Serumkonzentrationen von sFlt-1, PIGF und des sFlt-1/PIGF Quotienten</i>	11
1.4.3 <i>Plazentare sFlt-1 und PLGF-mRNA-Expression</i>	11
1.4.4 <i>Plazentare sFlt-1 und PLGF-Protein-Expression</i>	12
1.4.5 <i>Plazentare Lokalisierung der Proteine Flt-1 und PIGF</i>	12
1.4.6 <i>Expressionsintensität von Flt-1 und PIGF im villösen Trophoblast</i>	12
1.4.7 <i>Referenzwerte für sFlt-1, PIGF und sFlt-1/PIGF</i>	13
1.4.8 <i>sFlt-1, PIGF und sFlt-1/PIGF Werte bei unkomplizierten Schwangerschaften versus Plazentadysfunktion (PE+IUGR) und reine PE</i>	13
1.4.9 <i>Cut-off Werte für sFlt-1/PIGF</i>	14
1.5 DISKUSSION	14
1. 6 LITERATURVERZEICHNIS	19
2. ANTEILSERKLÄRUNG	23
3. PUBLIKATIONEN	24
3.1 PUBLIKATION 1	24
3.2 PUBLIKATION 2	35
3.3 PUBLIKATION 3	47
4. LEBENS LAUF	53
5. PUBLIKATIONS LISTE	54
6. EIDESSTÄTTLICHE VERSICHERUNG	56
7. DANKSAGUNGEN	57

1. Zusammenfassung

1.1 Abstracts

1.1.1 Abstract Deutsch

Der sFlt-1/PIGF Quotient ist in der Diagnose und Prognose plazentarer Dysfunktion vielfach als Marker mit hoher Spezifität und Sensitivität beschrieben worden und findet in der klinischen Routine Anwendung [1-4].

Ziel: Ziel der Studien war es, die plazentare Expression von sFlt-1 und PIGF jeweils in einer Kohorte früh einsetzender plazentarer Dysfunktion <34 SSW (1, Hoeller et al.) und spät einsetzender plazentarer Dysfunktion >37 SSW (2, Ehrlich et al.) sowie den altersentsprechenden Kontrollen zu analysieren. Es sollte weiterhin untersucht werden, ob die plazentare Expression mit der klinischen Manifestation korreliert. In einem weiteren Schritt sollte die Genauigkeit des Kryptor® Compact Plus System für sFlt-1 und PIGF sowie dessen Möglichkeiten in der klinischen Anwendung untersucht werden (3, Droege et al.).

Methodik: Für die Studien (1) und (2) wurden in einer frühen und späten Vergleichsgruppe sowohl maternale Blutproben als auch plazentare Gewebeproben von jeweils 19 Patientinnen gewonnen. Die plazentare Expression von sFlt-1 und PIGF wurde mittels q-PCR (mRNA), ELISA (Proteinquantifizierung) sowie Fluoreszenz- und Immunhistochemie untersucht. Für Studie (3) wurden Proben von 169 unkomplizierten Schwangerschaften mittels Kryptor® Compact Plus System analysiert und Normwerte für sFlt-1/PIGF etabliert. In einer Fall-Kontroll-Studie wurden Cut-off Werte für die genaue Diagnose von Präeklampsie berechnet.

Ergebnisse: Weder die plazentare PIGF mRNA- noch die Proteinexpression zeigte sich bei Fällen plazentarer Dysfunktion im Vergleich zu Kontrollen verändert. Bei spät einsetzender Präeklampsie war die trophoblastäre PIGF Expression erhöht. Die longitudinale Auswertung der Normverteilung des sFlt-1/PIGF Quotienten mittels Kryptor® assay ist vergleichbar mit anderen Messsystemen und zeigt in der Diagnose von Präeklampsie eine hohe diagnostische Genauigkeit.

Schlussfolgerung: Hohe maternale Serumkonzentrationen des antiangiogenen Proteins sFlt-1 scheinen sowohl bei früh als auch bei spät einsetzender plazentarer Dysfunktion erniedrigte PIGF Konzentrationen zu bedingen. Die Messung des sFlt-1/PIGF Quotienten mittels Kryptor® Compact Plus System scheint für den klinischen Alltag eine Alternative zu etablierten Messsystemen darzustellen.

1.1.2 Abstract Englisch

The sFlt-1/PIGF ratio has been described as a serum marker in the diagnosis and prediction in cases of placental dysfunction like preeclampsia or intrauterine growth restriction [1-4].

Aims: Object of this analysis was the evaluation of placental expression of sFlt-1 and PIGF in a cohort of early onset placental dysfunction <34 weeks (1, Hoeller et al.) and in a cohort of late onset placental dysfunction >37 weeks (2, Ehrlich et al.), each in comparison to age-matched controls. Also, this investigation intended to assess whether differences in clinical presentation can be explained by differential placental expression patterns of sFlt-1 and PIGF. Furthermore, the diagnostic accuracy of the Kryptor® Compact Plus System for sFlt-1 and PIGF was analyzed in maternal serum samples of uneventful singleton pregnancies and subjects with preeclampsia and preeclampsia-related outcomes (3, Droege et al.).

Methods: For the studies (1) and (2) maternal blood samples and placental tissues from an early and late cohort consisting of each 19 patients were collected and studied for mRNA and protein levels as well as protein localization and expression intensity. In (3) blood sampled from 169 uncomplicated pregnancies were evaluated with the Kryptor® assay to calculate a normal distribution for sFlt-1, PIGF and the sFlt-1/PIGF ratio. In the case control study cut-off values were generated and diagnostic accuracy was examined.

Results: Neither placental PIGF mRNA nor protein expression was altered in preeclampsia or fetal growth restriction compared to controls. In late onset preeclampsia PIGF expression of villous trophoblast was increased. Longitudinal reference ranges of the sFlt-1 and PIGF level in healthy pregnancies were comparable with those levels measured with other immunoassays. Comparison of the sFlt-1/PIGF ratio between cases and controls showed a high diagnostic accuracy.

Conclusion: High sFlt-1 concentrations may account for diminished maternal serum PIGF levels. Analysis of sFlt-1, PIGF and the sFlt-1/PIGF ratio with Kryptor® assay has shown to be an alternative to previously existing assays.

1.2 Einleitung

Unter plazerter Dysfunktion versteht man schwangerschafts-assoziierte Komplikationen aufgrund chronischer plazerter Fehl- oder Unterfunktionen. Klinische Manifestationen können unter anderem eine Präeklampsie (PE) als vorrangig maternale Erkrankung, intrauterine fetale Wachstumsrestriktion (IUGR) als vorrangig fetale Manifestation oder eine Kombination aus PE und IUGR sein [5].

Präeklampsie ist eine Schwangerschafts-assoziierte Multi-Systemerkrankung, welche in 2-8 % aller Schwangerschaften auftritt und als neu aufgetretene Hypertonie ≥ 140 mmHg systolisch oder ≥ 90 mmHg diastolisch in Kombination mit einer signifikanten Proteinurie ≥ 3 g im 24 Stunden Sammelurin oder 2++ im Urin-Stix, jenseits der 20. Schwangerschaftswoche definiert ist [6]. Klinische Folgen können unter anderem maternale zerebrale Blutungen, Krampfanfälle und das HELLP-Syndrom (Leberversagen mit Hämolyse und Thrombozytopenie) sowie fetale intrauterine Wachstumsretardierung oder vorzeitige Plazentalösung sein [7]. Insgesamt sind hypertensive Schwangerschaftskomplikationen weltweit für 26% der mütterlichen Sterblichkeit verantwortlich [8, 9], IUGR ist für 43% der Fälle perinataler Sterblichkeit verantwortlich [10]. Eine intrauterine Wachstumsrestriktion liegt vor, wenn das fetale genetische Wachstumspotential nicht ausgeschöpft werden kann [11]. Obwohl die exakte Pathophysiologie der PE beziehungsweise IUGR nicht endgültig geklärt ist, scheinen frühe Ereignisse bereits während der trophoblastären Invasion in das Myometrium sowie ein fehlerhaftes Spiralarterien-Remodeling eine Rolle zu spielen [7]. Maynard et al. beschrieben 2003 eine mögliche Beteiligung des anti-angiogenen Faktor sFlt-1 (soluble fms-like tyrosin kinase-1) an der Pathogenese [12]. Die Entbindung stellt nach wie vor die einzige endgültige Therapie der PE dar und kann bei IUGR aufgrund fetaler Mangelzustände notwendig sein, daher ist insbesondere der Zeitpunkt der Erstmanifestation sowie eine genaue Diagnostik von geburtshilflicher Relevanz [1]. Bei spät auftretender Erstmanifestation von PE oder IUGR (>37. SSW) sollte gemäß der AWMF Leitlinie zur Diagnostik und Therapie hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen generell die Entbindung angestrebt werden [1]. Eine früh einsetzende Präeklampsie (13% aller Präeklampsien [13]) kann mit schwerer fetaler Mangelentwicklung oder maternaler Morbidität assoziiert sein, sodass eine vorzeitige Entbindung sowie die Schwangerenbetreuung in einer spezialisierten Geburtsklinik mit Perinatalzentrum notwendig ist [1]. In Hinblick auf drohende Komplikationen hat die klinische

Einschätzung mittels Blutdruckmessung und Quantifizierung der Proteinurie nur eine eingeschränkte Aussagekraft [14]. Der klinisch-wissenschaftliche Fokus in den letzten Jahren lag daher auf der Identifizierung von Serummarkern, welche die Diagnose sowie die Genauigkeit einer Prognose verbessern können [4, 14]. Levine et al. konnten 2004 zeigen, dass Serumkonzentrationen des antiangiogenen Faktors sFlt-1 bei PE im Gegensatz zur unkomplizierten Schwangerschaft erhöht (PE: 4382 pg/ml versus Kontrollen: 1643 pg/ml) und die des angiogenen Faktors PIGF vermindert sind (PE: 137 pg/ml versus Kontrollen: 669 pg/ml) [2]. Unsere Arbeitsgruppe konnte bereits 2010 eine automatisierte Methode (ElecSys® Roche Diagnostics) zur schnellen Bestimmung des sFlt-1/PIGF-Quotienten etablieren und Cut-off Werte für sFlt-1/PIGF zur genauen Diagnose von Präeklampsie bestimmen [3]. Während sich für früh einsetzende PE ein Median sFlt-1/PIGF Wert von 424 versus 3.68 für gesunden Kontrollen zeigte, war dieser bei spät einsetzender PE mit 129 versus 16.2 für Kontrollen deutlich geringer. Phasenspezifische Cut-off Werte wurden jeweils für frühe und späte PE definiert [15]. Unterschiede in der maternalen Serumkonzentration angiogener und antiangiogener Faktoren konnten nicht nur zwischen früh einsetzender und spät einsetzender PE, sondern auch zwischen PE und IUGR festgestellt werden [14, 16]

Zielsetzung

Ziel der Studien (1) und (2) war es, die plazentare Expression von sFlt-1 und PIGF jeweils in gestationsalter-genormten Kohorten - bestehend aus PE, IUGR und Kontrollen - zu analysieren, und zu evaluieren, ob die klinische Präsentation mit der plazentaren Expression der genannten Faktoren korreliert. In einem weiteren Schritt sollte die Genauigkeit des Kryptor® Compact Plus System für sFlt-1 und PIGF sowie dessen Möglichkeiten in der klinischen Anwendung untersucht werden (Droege et al.).

1.3 Material und Methoden

1.3.1 Studienpopulation

Die Studienpopulationen der drei Veröffentlichungen wurden im Rahmen von zwei Forschungsprojekten über den Zeitraum von September 2007 bis Juni 2010 sowie von März 2013 bis Juli 2014 jeweils an der Klinik für Geburtsmedizin, Charité-Campus Virchow Klinikum, Berlin, rekrutiert. Die Studienprotokolle wurden zuvor

durch die Ethik-Kommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin genehmigt. Alle Probandinnen wurden über die Zielsetzung des Projekts, mögliche Risiken und Komplikationen im Rahmen der Probengewinnung sowie über die Anonymisierung der Patienten-Daten aufgeklärt, dies wurde in Form einer schriftlichen Einwilligungserklärung festgehalten. Präeklampsie wurde gemäß der „International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP) 2000“ definiert als neu aufgetretene Hypertonie ≥ 140 mmHg systolisch oder ≥ 90 mmHg diastolisch in Kombination mit einer signifikanten Proteinurie ≥ 3 g im 24 Stunden Sammelurin oder 2++ im Urin-Stix, jenseits der 20. Schwangerschaftswoche [6]. Die Diagnose der IUGR wurde durch die antepartale fetale Biometrie gestellt und definiert als: Fetales Schätzwicht $< 5.$ Perzentile, in Kombination mit einer reduzierten Fruchtwassermenge (Oligohydramnion) oder einem erhöhten Pulsatilitäts-Index der Arteria umbilicales $> 95.$ Perzentile [11, 14, 16, 17]. Als Kontroll-Kohorte wurden Schwangerschaften definiert, bei denen keine Form der placentaren Dysfunktion nachgewiesen werden konnte. Für die Studie (1) wurde über den Zeitraum von März 2013 bis Juli 2014 eine Studienkohorte bestehend aus 19 Patientinnen rekrutiert. Die einzelnen Kohorten umfassten dabei: 1. früh einsetzende Präeklampsie < 34 SSW, $n=6$; 2. früh einsetzende IUGR < 34 SSW; $n=7$, 3. Kontrollen $< 34.$ SSW, $n=6$. Für die Studie (2) wurde ebenfalls im Zeitraum von März 2013 bis Juli 2014 eine Studienkohorte bestehend aus insgesamt 19 Patientinnen rekrutiert. Die einzelnen Kohorten umfassen dabei: 1. spät einsetzende Präeklampsie > 37 SSW, $n= 7$; 2. spät einsetzende IUGR $> 37.$ SSW, $n=5$; 3. Kontrollen $> 37.$ SSW, $n=7$. Die Studienpopulation für Studie (3) umfasste zwei Anteile: Im ersten Teil wurden 235 longitudinale Proben von $n=169$ Patientinnen mit unkomplizierten Schwangerschaften gesammelt und analysiert. Es sollten Normwerte für sFlt-1, PIGF und den sFlt-1/PIGF-Quotienten mittels Kryptor® immunoassay zu unterschiedlichen Zeitpunkten in der Schwangerschaft berechnen werden (20.-23. SSW: $n=41$; 24.-28. SSW: $n=51$; 29.-33. SSW: $n=74$; 34.-36. SSW: 40; $> 37.$ SSW: $n=30$). Im zweiten Teil der Datenauswertung wurde eine Kohorte von $n=46$ Schwangerschaften welche mit placentarer Dysfunktion (PE oder IUGR) assoziiert waren, sowie eine Kohorte von $n=33$ Schwangerschaften, die allein durch PE kompliziert waren, mit einer Kohorte von $n=167$ beziehungsweise $n=132$ gesunden, altersgenormten Schwangerschaften verglichen.

1.3.2 Proben

1.3.2.1 *Maternales Serum*

Jeweils zwei maternale Blutproben wurden zu je zwei Zeitpunkten aus einer peripheren Vene gewonnen: 1. zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Geburtsklinik und 2. unmittelbar vor oder spätestens eine Stunde nach der Entbindung. In einer Probe wurden im Labor Berlin unmittelbar die Faktoren sFlt-1, PlGF und der sFlt-1/PlGF-Quotient mittels Elecsys® (Roche Diagnostics) bestimmt. In der zweiten maternalen Blutprobe wurden - nach Zentrifugation mit 3500 rpm für 10 Minuten bei 4°C und anschließender Kryokonservierung des Serums - mittels Kryptor® Compact Plus System ebenfalls Werte für sFlt-1, PlGF und der sFlt-1/PlGF Quotient bestimmt.

1.3.2.2 *Plazentare Gewebeproben*

Plazentare Gewebeproben wurden unmittelbar nach Extraktion der Plazenta entnommen. Da die Plazenta in ihrer Oberflächenstruktur und Beschaffenheit sehr heterogen ist, erfolgte die Entnahme der Proben anhand eines randomisierten Protokolls. Für die mRNA und Proteinquantifizierung wurden jeweils drei etwa 0.5cm³ große Proben in flüssigem Stickstoff kryokonserviert. Für die immunhistochemische Aufarbeitung wurde jeweils ein etwa 3cm³ großes Gewebestück entnommen und in 4% Formalin-Lösung fixiert. Das Umbetten in Paraffin-Blöcke erfolgte am Institut für Pathologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin. Um systematische Fehler in der Auswertung auszuschließen, wurden die Proben verblindet.

1.3.3 Methoden

1.3.3.1 *mRNA Isolation and q-PCR*

Die mRNA aus den plazentaren Gewebeproben wurde mittels Qiagen (Hilden, Deutschland), RNeasy mini kit und RNase-Free DNase Set isoliert und die RNA Quantität wurde mittels NanoDrop UV/VIS-Spektrometer (PegLab, Erlagen, Deutschland) verifiziert. Durch das High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) wurde mRNA reverse in DNA transkribiert. Die DNA wurde mit Hilfe des Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR-System analysiert, zur besseren Vergleichbarkeit wurden die Werte als arbiträre Einheiten (engl.: arbitrary units, AU) berechnet. Der 18s Teil der ribosomalen RNA wurde als endogene Kontrolle benutzt. Die entsprechenden Primer wurden durch PrimerExpress 2.0 (Applied Biosystems) hergestellt.

1.3.3.2 Protein Isolation and ELISA

Plazentare Gewebeproben (100 bis 350 mg) wurden in einem Lysepuffer lysiert, mit Percelly 24 (PegLab) homogenisiert und im Anschluss bei 4°C und 12.000 g für 11 Minuten zentrifugiert. Im Überstand wurden nach Bradford die Proteinkonzentrationen gemessen und auf 1µg/µl verdünnt. sFlt-1 und Flt-1 Konzentrationen wurden mittels Elecsys® sFlt-1 (Roche) bestimmt, dabei war eine Differenzierung zwischen der löslichen und der membranständigen Form der Thyrosin-Kinase nicht möglich. PlGF Konzentrationen wurden mittels Elecsys® PlGF (Roche) ermittelt.

1.3.3.3 Immunhistochemie

Plazentare Gewebeproben, welche zuvor in 4% Formalinlösung fixiert und am Institut für Pathologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin in Paraffin überführt worden waren, wurden mit einer Schnittdicke von 4µm auf Objektträger übertragen und nach Standardprotokoll entwacht und rehydriert. Zur Renaturierung der Antigene (Antigendemaskierung) wurden die Schnitte in einem Citrat Puffer, pH 6, über 7 Minuten auf 120°C erhitzt und für die Färbungen zunächst in 10% Tris Puffer mit 0.05% Tween (TBS/T) überführt. Das Färbeprotokoll wurde automatisiert durch den Lab Vision Autostainer™ durchgeführt. Endogene Peroxidasen wurden durch den Hydrogen Peroxidase Block (UltraVision, Thermo Scientific, USA) inaktiviert und unspezifische Reaktionen wurden mit Hilfe eines Protein Blocks (UltraVision, Thermo Scientific, USA) blockiert. Im nächsten Schritt erfolgte die Inkubation mit dem primären Antikörper, welcher sich entweder gegen den intrazellulären C-Terminus von Flt-1 (0.33 µg/ml, rabbit polyclonal anti-human, Acris, Germany) oder gegen PlGF (2.47 µg/ml, rabbit polyclonal anti-human, Proteintech) richtete. Im Anschluss wurde das UltraVision detection system HRP polymer kit angewandt, zur Visualisierung erfolgte die weitere Inkubation mit einem AEC Chromogen. Zellkerne wurden mit Hämalaun gegengefärbt. Negativ Kontrollen wurden mit einem rabbit IgG negativ control antibody (Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA) durchgeführt.

1.3.3.4 Fluoreszenz-Färbungen

Gewebeproben wurden entweder mit einem Antikörper gegen Flt-1 (6.6 µg/ml) oder PlGF (2.47 µg/ml), jeweils in Kombination mit einem Antikörper gegen Trophoblast-Zellen (Cytokeratin 7, 1 µg/ml, monoclonal mouse anti-human, ThermoScientific,

USA), Endothel-Zellen (CD 34, 0.23 µg/ml, monoclonal mouse anti-human, DakoCytomation, Denmark) oder Hofbauer-Zellen (CD 163, 20 µg/ml, monoclonal mouse anti-human, ThermoScientific, USA) inkubiert. In einem zweiten Schritt erfolgte die Inkubation mit dem Fluoreszenz-markiertem Sekundärantikörper (goat anti-mouse, 10 µg/ml, Alexa Fluor®555 conjugate, ThermoScientific, USA oder goat anti-rabbit 10 µg/ml, Alexa Fluor®488 conjugate, ThermoScientific, USA). Nuclei wurden mit DAPI (2.5 µg/ml, Invitrogen, United Kingdom) gefärbt.

1.3.3.5 *Semiquantitative Auswertung*

Die Bildanalyse der zuvor verblindeten immunhistochemischen Färbungen erfolgte mit einem Leica DM 6000B Mikroskop mit einer Olympus DP 72 Kamera, ausgestattet mit der Visiomorph Software (Visiopharm, Denmark). Von jedem Objektträger wurden systematisch und randomisiert 20 Bilder aufgenommen, 8 Bilder wurden mit Hilfe eines 16x12 Punkte-Gitters ausgewertet (newCAST software, Visiopharm), dabei wurde die entsprechende Färbung eines jeden Punktes einer der folgenden Kategorien zugeordnet: (1) villöser Trophoblast: starke Färbung, vTr+++, (2) villöser Trophoblast: moderate Färbung, vTr ++, (3) villöser Trophoblast: schwache Färbung, vTr +, (4) villöser Trophoblast: keine Färbung, vTr -, (5) Stroma, (6) Intervillöser Raum. Um diese Form der Semiquantifizierung vergleichen und darstellen zu können, wurde der folgende Algorithmus etabliert:

$$\begin{aligned}
 vTr(+++) &= n(vTr +++) \times [n(vTr +++) + n(vTr ++) + n(vTr +) + n(vTr -)]/192 \\
 vTr(++) &= n(vTr ++) \times [n(vTr +++) + n(vTr ++) + n(vTr +) + n(vTr -)]/192 \\
 vTr(+) &= n(vTr +) \times [n(vTr +++) + n(vTr ++) + n(vTr +) + n(vTr -)]/192 \\
 vTr(-) &= n(vTr -) \times [n(vTr +++) + n(vTr ++) + n(vTr +) + n(vTr -)]/192
 \end{aligned}$$

Dieser Algorithmus berücksichtigt die geschätzte gefärbte trophoblastäre Oberfläche im Verhältnis zu der gesamt-trophoblastären Oberfläche, welche innerhalb der Plazenta variieren kann. Im Folgenden wird dies als Färbeintensität bezeichnet werden.

1.3.3.6 *Statistische Datenauswertung*

Alle Daten wurden mittels Kolmogorov-Smirnov Test auf Normalverteilung analysiert. Kontinuierliche Daten wurden als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben, kategorische Daten in Häufigkeiten und Prozentangaben. In der Arbeit von Hoeller et

al. und von Ehrlich et al. wurde die statistische Datenauswertung mit der GraphPad Prism 5 Software (GraphPad, La Jolla, CA, USA) durchgeführt. Normalverteilte Daten wurden mit dem One-way ANOVA und Turkey oder Dunnett's Posttest getestet. Alternativ wurde der Dunn's Test durchgeführt. Für ein p-Wert <0.05 wurde statistische Signifikanz angenommen. Die Datenanalyse in der Studie (3) wurde mit der Statistical Package for Social Sciences 22 (SPSS) Software durchgeführt. Serumkonzentrationen von sFlt-1, PIGF und dem sFlt-1/PIGF Quotienten wurden als Median und Interquartilen (IQ) ausgewertet. Im ersten, longitudinalen Teil der Studie wurde jeweils die Höhe des sFlt-1/PIGF berechnet und als Perzentilen-Wert angegeben (5./10./50./95.). Im zweiten Teil der Datenauswertung wurden Schwangerschaften mit plazerter Dysfunktion (PE oder IUGR) oder mit isolierter Präeklampsie mit gesunden Schwangerschaften verglichen. Der Kolmogorov-Smirnov Test zeigte eine nicht normalverteilte Kohorte, daher wurden die kategorischen Daten mittels two-tailed exact Fisher Test und kontinuierliche Daten mittels Mann-Whitney Test ausgewertet. Um einen diagnostischen Cut-off Wert für sFlt-1/PIGF in Schwangerschaften mit plazerter Dysfunktion oder isolierter PE im Vergleich zu gesunden Schwangerschaften zu etablieren, wurden Receiver-Operating-Characteristic-Kurven (ROC-Kurven) für den sFlt-1/PIGF Quotienten mit einer Area under the curve (AUC) erstellt. Die Schnittstelle zwischen maximaler Sensitivität und Spezifität wurde als Cut-off Werte definiert.

1.4 Ergebnisse

1.4.1 Studienpopulation

In der frühen Vergleichsgruppe von Hoeller et al. zeigten sich keine Unterschiede bezogen auf das mütterliche Alter, Body-Mass-Index (BMI) sowie das Gestationsalter bei Entbindung. Sowohl der systolische als auch diastolische Blutdruck waren bei PE am höchsten, in der IUGR Gruppe wurden bei drei Schwangeren ebenfalls erhöhte Blutdruckwerte dokumentiert, allerdings nicht in Kombination mit einer Proteinurie. Eine signifikante Proteinurie bestand bei allen Fällen von früher PE und in zwei Fällen von IUGR. Das fetale Schätzwicht zeigte zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede, allerdings lag es bei allen Fällen von IUGR und bei 50% der Fälle von PE unter der 5. Perzentile. In zwei Fällen lag eine PE in Kombination mit IUGR vor, diese Fälle wurden der PE-Gruppe zugeteilt (Tabelle 1 aus Hoeller et al.). In der späten Vergleichsgruppe zeigten sich für PE signifikant höhere

Blutdruckwerte gegenüber IUGR und Kontrollen, eine Proteinurie wurde in allen Fällen von PE und in keinem der Fälle von IUGR oder Kontrollen beobachtet. Das fetale Schätzwicht war bei PE und IUGR signifikant erniedrigt gegenüber Kontrollen, allerdings lag es nur bei IUGR < 5. Perzentile (Tabelle 1 aus Ehrlich et al.).

1.4.2 Maternale Serumkonzentrationen von sFlt-1, PIGF und des sFlt-1/PIGF Quotienten

Maternale Serumkonzentrationen von sFlt-1, PIGF und des sFlt-1/PIGF Quotienten wurden jeweils für früh einsetzende als auch spät einsetzende plazentare Dysfunktion im Vergleich zu den entsprechenden gesunden Kontroll-Schwangerschaften, welche weder mit PE noch mit IUGR assoziiert waren, verglichen. Für früh einsetzende PE konnte ein signifikanter Anstieg von sFlt-1 im Vergleich zu früh einsetzender IUGR und Kontrollen gezeigt werden (PE: 10416 ± 6066 ng/l versus IUGR: 5134 ± 2188 ng/l und Kontrollen 4045 ± 2507 ng/l). PIGF Konzentrationen waren bei früher PE und IUGR im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollen signifikant niedriger (PE: 50.7 ± 69.1 und IUGR: 28.3 ± 29.6 ng/l versus Kontrollen: 183.2 ± 88.8 ng/l). Der sFlt-1/PIGF Quotient war bei früher PE und IUGR im Vergleich zu Kontrollen signifikant erhöht (PE: 743.4 ± 944.2 und IUGR: 322.2 ± 222.6 versus Kontrollen: 37.6 ± 33.5) (Graphik 1 aus Hoeller et al.). Die entsprechenden Serumkonzentrationen der späten Kohorte >37. SSW wurden von Ehrlich et al. in den Graphiken 1A, 4A und 7A dargestellt. Signifikante Unterschiede in den Serumkonzentrationen konnten hier nur in der Vergleichsgruppe der spät einsetzenden PE gegenüber IUGR und der Kontrollgruppe gezeigt werden. Der sFlt-1/PIGF Quotient war bei PE verglichen mit Kontrollen und IUGR erhöht.

1.4.3 Plazentare sFlt-1 und PLGF-mRNA-Expression

Zunächst erfolgte die Bestimmung des sFlt-1 und PIGF mRNA Gehalts plazentarer Gewebeproben, die Ergebnisse sind für die Vergleichsgruppe früh einsetzender PE und IUGR <34 SSW in Graphik 2 aus Hoeller et al., für die späte Vergleichsgruppe >37. SSW in den Graphiken 1B, 4B aus Ehrlich et al. dargestellt. In Schwangerschaften, bei denen sich <34. SSW eine PE manifestierte, zeigten sich im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höhere Mengen an sFlt-1 mRNA (PE: 4.11 ± 3.38 AU versus Kontrollen: 0.62 ± 0.63 AU). Zusätzlich konnte eine positive

Korrelation zu maternalen sFlt-1 Serumkonzentrationen berechnet werden (Graphik S3, Online supplementary data aus Hoeller et al.). Für früh einsetzende IUGR konnte kein signifikanter Unterschied im Vergleich mit PE oder Kontrollen festgestellt werden. Die plazentare Expression von PIGF mRNA zeigte sich zwischen den frühen Vergleichsgruppen <34. SSW unverändert (PE: 1.29 ± 0.61 AU, IUGR: 0.84 ± 0.43 AU, Kontrollen: 1.05 ± 0.60 AU). Bei spät einsetzender PE zeigten sich im Vergleich zu spät einsetzender IUGR und gesunden Schwangerschaften eine signifikant erhöhte plazentare Expression von sFlt-1 mRNA (PE: 1.05 ± 0.34 AU versus IUGR: 0.32 ± 0.16 AU und Kontrollen: 0.31 ± 0.06 AU). Die Expression von PIGF mRNA war analog zur frühen Vergleichsgruppe <34 SSW unverändert (PE: 1.06 ± 0.37 AU, IUGR: 1.04 ± 0.42 AU, Kontrollen: 0.95 ± 0.18 AU).

1.4.4 Plazentare sFlt-1 und PLGF-Protein-Expression

Während sich in der frühen Vergleichsgruppe <34 SSW im Vergleich zu gesunden Kontrollen erhöhte sFlt-1 Proteinkonzentrationen bei PE und bei IUGR (PE: 6653 ± 3983 ng/l, IUGR: 7875 ± 5818 ng/l versus Kontrollen: 2745 ± 2046 ng/l) zeigten, konnten in der späten Vergleichsgruppe keine Unterschiede festgestellt werden.

Es konnten weder für die frühe Vergleichsgruppe <34 SSW noch für die späte Gruppe >37 SSW Unterschiede in der plazentaren Expression des Proteins PIGF festgestellt werden: Frühe Gruppe: PE 118.4 ± 79.0 ng/l, IUGR 135.7 ± 58.7 ng/l, Kontrollen 123.7 ± 62.6 ng/l (Graphik 3B aus Hoeller et al.); Späte Gruppe: PE 161.50 ± 79.93 ng/l, IUGR 121.00 ± 67.95 ng/l, Kontrollen 128.30 ± 37.97 ng/l (Graphik 4C aus Ehrlich et al.).

1.4.5 Plazentare Lokalisierung der Proteine Flt-1 und PIGF

Eine Expression von Flt-1 konnte in villösem Trophoblast, größeren Gefäßen, wenigen Hofbauer Zellen sowie weiteren Stroma-Zellen, welche nicht charakterisiert wurden, dargestellt werden. PIGF wurde im villösen Trophoblast entweder nicht oder sehr gering exprimiert, ebenfalls wurde in Gefäßen und Hofbauer-Zellen keine PIGF Expression beobachtet (Graphik 4 und 6 aus Hoeller et al. und Graphik 2 und 6 aus Ehrlich et al.).

1.4.6 Expressionsintensität von Flt-1 und PIGF im villösen Trophoblast

Da der villöse Trophoblast einen Kontakt zwischen mütterlichem und fetalem

Kreislauf ermöglicht, wurde dieser gesondert betrachtet: Dessen Expression von Flt-1 und PlGF wurde semiquantitativ ausgewertet und entsprechende Expressionsintensitäten wurden berechnet. Flt-1 konnte in allen Proben im villösen Trophoblast in einer starken oder moderaten Intensität dargestellt werden, ein Unterschied in der Expressionsintensität zwischen den Vergleichsgruppen PE, IUGR und Kontrollen konnte weder in der frühen noch in der späten Gruppe festgestellt werden (Graphik 5 aus Hoeller et al. und Graphik 3 aus Ehrlich et al.). PlGF wurde vom villösen Trophoblast in allen Gewebeproben entweder gering oder nicht exprimiert. In der frühen Vergleichsgruppe <34.SSW zeigten sich in der trophoblastären PlGF Expression keine Intensitätsunterschiede (Graphik 7 aus Hoeller et al.). In der späten Vergleichsgruppe war der Trophoblast insgesamt ebenfalls nur gering angefärbt oder negativ, allerdings zeigte sich für PE im Vergleich zu Kontrollen mehr Trophoblast mit einer leichten Färbung (Graphik 6 aus Ehrlich et al.).

1.4.7 Referenzwerte für sFlt-1, PlGF und sFlt-1/PlGF

Bis zur vollendeten 33. SSW zeigten sich relativ stabile Serumkonzentrationen von sFlt-1, wohingegen sich >33SSW ein Konzentrationsanstieg zeigte (50. Perzentile, P50, jeweils in der 20.-23.SSW: 1028.00 pg/ml; 24.-28.SSW: 1523.00 pg/ml; 29.-33.SSW: 1501.50 pg/ml; 34.-36.SSW: 2749,5 pg/ml; >37. SSW: 3255.00 pg/ml). Weiterhin konnte für unkomplizierte Schwangerschaften >33. SSW ein Abfall der PlGF Serumkonzentrationen (P50 jeweils in der 20.-23.SSW: 231.50 pg/ml; 24.-28.SSW: 318.50 pg/ml; 29.-33.SSW: 277.50 pg/ml; 34.-36.SSW: 124.30 pg/ml; >37.SSW: 107.40 pg/ml) sowie ein Anstieg des sFlt-1/PlGF Quotienten gezeigt werden (P50 jeweils in der 20.-23.SSW: 4.66; 24.-28.SSW: 4.54; 29.-33.SSW: 6.33; 34.-36.SSW: 24.32; >37.SSW: 33.52).

1.4.8 sFlt-1, PlGF und sFlt-1/PlGF Werte bei unkomplizierten Schwangerschaften versus Plazentadysfunktion (PE+IUGR) und reine PE

Der Median der sFlt-1 Konzentrationen von durch PE oder PE+IUGR komplizierten Schwangerschaften war im Vergleich zu den entsprechenden gesunden Kontrollen etwa vier Mal höher (PE: 8643 ± 8566 pg/ml versus Kontrollen: 2238 ± 2164 pg/ml, $p < 0.001$ und PE+IUGR: 8695 ± 7149 pg/ml versus Kontrollen: 1921 ± 2026 pg/ml, $p < 0.001$). Maternale PlGF-Serumkonzentrationen waren bei PE und bei PE+IUGR

jeweils im Vergleich zu der entsprechenden Kontrollgruppe signifikant niedriger (PE: 40 ± 33 pg/ml versus Kontrollen: 190 ± 282 pg/ml; PE+IUGR: 29 ± 29.24 pg/ml versus Kontrollen: 210 ± 271 pg/ml). Der sFlt-1/PIGF Quotient war entsprechend sowohl in der Gruppe von PE als auch in der Gruppe von PE+IUGR signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht (PE: 286.19 ± 444.0 versus Kontrollen: 40.86 ± 10.0 ; PE+IUGR: 286.0 ± 441 versus 8.32 ± 21.34) (Tabelle 3 aus Droege et. al.)

1.4.9 Cut-off Werte für sFlt-1/PIGF

In der Analyse der ROC-Kurven für den sFlt-1/PIGF Quotienten zeigte sich eine Area under the curve (AUC) zwischen Patientinnen und Kontrollen von 0.917 (95% CI 0.862 - 0.972), zwischen PE und Kontrollen von AUC of 0.919 (0.856-0.982, 95% CI). Anhand der ROC-Kurven wurde ein für die Messung mittels Kryptor® assay optimaler Cut-off für beide Fallgruppen (reine PE und PE+IUGR) definiert: Ein Cut-off von 103 zeigte in der Fallgruppe von PE+IUGR bei einer Sensitivität von 84.78% eine Spezifität von 93.41%, für isolierte PE bei einer Sensitivität von 87.88% eine Spezifität von 91.67 % (Tabelle 3 aus Droege et al.).

1.5 Diskussion

In der Analyse angiogener und antiangiogener Faktoren im mütterlichen Serum konnten Hoeller et al. einen signifikanten Anstieg des antiangiogenen sFlt-1 bei früh einsetzender Präeklampsie jeweils im Vergleich zu früher IUGR und den gestationsalter-genormten Kontrollen beobachten. Ehrlich et al. konnten für die Gruppe spät einsetzender PE ebenfalls erhöhte Konzentrationen von sFlt-1 im Vergleich zu IUGR und Kontrollen darstellen. Diese Ergebnisse sind kongruent zu den bereits vielfach in der Literatur beschriebenen erhöhten mütterlichen Serumkonzentrationen von sFlt-1 bei PE [2, 12, 18, 19]. Mütterliche Serumkonzentrationen des angiogenen Faktors PIGF waren sowohl bei früher PE und IUGR, als auch bei später PE signifikant niedriger und der sFlt-1/PIGF Quotient erhöht im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollen. Für spät einsetzende IUGR konnten keine signifikanten Veränderungen in den entsprechenden Serumkonzentrationen beobachtet werden. Kongruent zu den Ergebnissen von Hoeller et al., war der sFlt-1/PIGF Quotient in den Untersuchungen von Wallner et al. und Stephan et al. bei beiden Entitäten früher plazentarer Dysfunktion signifikant erhöht. Ein Anstieg der mütterlichen Serumkonzentration von sFlt-1 konnte nicht nur

für früh einsetzende PE, sondern auch für früh einsetzende fetale Wachstumsrestriktion beobachtet werden [14, 20]. In Übereinstimmung mit den Analysen von Ehrlich et al. konnten Herraiz et al. bei spät einsetzender IUGR weder für sFlt-1 noch PIGF signifikante Änderungen der maternalen Plasmakonzentrationen nachweisen, allerdings war der sFlt-1/PIGF Quotient signifikant gegenüber den Kontrollen erhöht [21]. Wie bereits andere zuvor [12, 22-24], konnten Hoeller et al. eine erhöhte plazentare Expression von sFlt-1 mRNA bei früh einsetzender PE gegenüber gestationsalter-genormten Kontrollen beobachten. In der späten Kohorte konnten für PE im Vergleich zu IUGR und Kontrollen ebenfalls signifikant höhere Mengen an plazentarer sFlt-1 mRNA nachgewiesen werden. Für frühe IUGR konnten im Vergleich zu Kontrollen signifikant erhöhte plazentare Proteinmengen des antiangiogenen sFlt-1 beobachtet werden, in der späten Kohorte zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Als wichtigstes Ergebnis konnten Hoeller et al. und Ehrlich et al. zeigen, dass die plazentare Expression von PIGF auf mRNA- und Proteinebene weder bei früh noch bei spät einsetzender plazentarer Dysfunktionen verändert ist. Dabei konnten auch im Vergleich von PE zu IUGR keine Unterschiede festgestellt werden. PIGF wurde vom villösen Trophoblast in allen Gewebeproben entweder gering oder nicht exprimiert. In der frühen Kohorte ergaben sich dabei keine Unterschiede zwischen Kontrollen und Fällen. In der späten Kohorte zeigte sich für PE im Vergleich zu Kontrollen quantitativ mehr Trophoblast mit einer leichten Färbung. Dies sind neue Erkenntnisse in der plazentaren Expressionsanalyse von PIGF, welche in starkem Kontrast zu der bisher vermuteten verringerten plazentaren Synthese und Expression von PIGF stehen [24-27]. Bisher sind reduzierte maternale Serumkonzentrationen von PIGF bei PE und IUGR auf zwei Mechanismen zurückgeführt worden: 1. durch eine reduzierte plazentare Synthese von PIGF und 2. durch das Binden von freiem PIGF durch den löslichen VEGF-Rezeptor sFlt-1 [2, 5, 12]. Wallner et al. schlugen - unter der Hypothese, dass die Plazenta der Ursprungsort von PIGF ist - vor, dass eine gewichtsadaptierte Freisetzung von PIGF bei IUGR (mit mengenmäßig kleineren Plazenten als bei gesunden Schwangerschaften) in Kombination mit dem Binden von PIGF durch sFlt-1, ursächlich für reduzierte maternale PIGF Serumkonzentrationen ist [20, 28]. Diese Hypothese können wir weder bestätigen noch widerlegen. Unsere Ergebnisse führen uns jedoch zu der Schlussfolgerung, dass die plazentare Expression von PIGF weder bei früher noch bei später plazentarer Dysfunktion reduziert ist und somit nicht die

Ursache für die reduzierten maternalen Serumkonzentrationen sein kann. Obgleich wir keinen plazentaren Phänotyp mit eindeutigen Expressionsmustern von sFlt-1 und PlGF für PE oder IUGR definieren konnten, ist es uns gelungen, neue Erkenntnisse in der Bedeutung der Plazenta sowie deren Rolle in der Pathophysiologie plazentarer Dysfunktionen mit konsekutiv veränderten Serumkonzentrationen angiogener und antiangiogener Faktoren zu gewinnen. Unsere Ergebnisse unterstreichen die Hypothese der gemeinsamen Pathophysiologie von früher PE und IUGR im Vergleich zur späten PE und IUGR [5, 29]. Die klinische Verflochtenheit dieser beiden Krankheitsentitäten früher plazentarer Dysfunktion wird in der Studienpopulation von Hoeller et al. deutlich: In 50% der Fälle von früher PE zeigte sich zusätzliche eine fetale Wachstumsrestriktion. Für frühe IUGR zeigte sich im Vergleich zu Kontrollen eine Erhöhung des systolischen Blutdrucks von 30 mmHg, eine signifikante Proteinurie bestand bei zwei von sieben Patientinnen.

In der Arbeit von Hoeller et al. wurde die plazentare Expression von sFlt-1 und PlGF gezielt in Kohorten von früh einsetzender Plazentadysfunktion in Form von PE oder IUGR untersucht und mit gestationsalter-genormten Kontrollen verglichen. Infolge des prospektiven Studienaufbaus und der gezielten Patientenrekrutierung konnten homogene Kohorten generiert werden. Aufgrund inhomogener Kohortenstrukturen bei ähnlichem Studienaufbau gibt es nach unserer Kenntnis bisher keine vergleichbaren Daten [23, 30]. Um IUGR Feten von „small for gestational age“ (SGA) Feten zu unterscheiden, wurden sehr strenge Kriterien zur Diagnose von IUGR angewandt. Dies ist von äußerster Relevanz, da Nevo et al. in vorherigen Studien zeigen konnten, dass die plazentare Expression angiogener und antiangiogener Faktoren bei IUGR, nicht aber bei SGA, verändert ist [31]. Die Tatsache, dass Autoren in vorherigen Studien unterschiedliche Einschlusskriterien für IUGR benutzt haben, erschwert den Vergleich dieser Studien untereinander [24, 28, 31]. Die Expression von sFlt-1 und PlGF wurde jeweils auf verschiedenen Ebenen analysiert: Mütterliches Serum, plazentare mRNA, plazentare Proteinmenge und Proteinlokalisierung sowie semiquantitative Auswertung. Insbesondere die semiquantitative Auswertung mit der Etablierung eines Algorithmus zur Berechnung der Expressionsintensität des villösen Trophoblasten ist ein Fortschritt zu konservativer Immunhistochemie [22, 23, 30-32]. In Hinblick auf die Beurteilung der plazentaren Expression von sFlt-1 muss auf eine Unsicherheit im experimentellen Studienaufbau hingewiesen werden: Während der mRNA-Primer spezifisch für sFlt-1

war, wurde mittels Elecsys® sFlt-1 (Roche) neben sFlt-1 auch membranständiges Flt-1 erfasst. Der Antikörper für die Immunhistochemie richtete sich ausschließlich gegen die membranständige Tyrosinkinase Flt-1. Insofern sind die Ergebnisse der verschiedenen Methoden zur Beurteilung der Expression von sFlt-1 - anders als in der Analyse von PIGF - nicht lückenlos vergleichbar.

Hoeller et al. konnten für früh einsetzende Präeklampsie (PE) - als vorrangig maternale Erkrankung - zeigen, dass mütterliche Serumkonzentrationen von sFlt-1 erhöht, die von PIGF reduziert und der sFlt-1/PIGF Quotient gegenüber Kontrollen erhöht ist. In der plazentaren Expressionsanalyse konnten signifikant höhere Mengen an sFlt-1 mRNA sowie eine Tendenz zu höheren Proteinmengen von sFlt-1 beobachtet werden. In der Beurteilung der trophoblastären Expressionsintensität konnten keine Unterschiede festgestellt werden. Die Analyse der Expression von PIGF kam zu dem Ergebnis, dass zwischen Fällen und Kontrollen weder auf mRNA-, Protein- noch trophoblastärer Expressionsebene Veränderungen bestehen. Für früh einsetzende Präeklampsie lässt sich auf der Grundlage dieser Ergebnisse die Schlussfolgerung ziehen, dass das Binden von PIGF durch den in hoher Konzentration vorhandenen antiangiogenen Faktor sFlt-1 ursächlich für reduzierte maternale Serumkonzentrationen ist. Für früh einsetzende IUGR - als vorrangig fetale Manifestation - konnten keine Veränderungen in den mütterlichen Serumkonzentrationen von sFlt-1 beobachtet werden, indes ließ sich eine signifikante Reduktion von PIGF sowie ein signifikant erhöhter sFlt-1/PIGF Quotient darstellen. Die plazentare Expressionsanalyse ergab für IUGR lediglich einen signifikanten Anstieg der absoluten sFlt-1 Proteinmenge, während keine Veränderungen von sFlt-1 mRNA beobachtet werden konnten. Analog zu früh einsetzender PE war die Expression von PIGF auf mRNA-, Protein- und trophoblastärer Expressionsebene unverändert. Mit insgesamt wenigen signifikanten Veränderungen in der plazentaren Expression von sFlt-1 und keinen Veränderungen von PIGF müssen, insbesondere im Fall von früh einsetzender IUGR, alternative Quellen für veränderte Serumkonzentrationen von angiogenen- und antiangiogenen Faktoren identifiziert und in Betracht gezogen werden [5].

Als limitierenden Faktor dieser Studie sind die relativ kleinen Fallzahlen zu bedenken, die Überlegungen von Hoeller et al. sollten daher in der Zukunft in einem größeren Studienkollektiv überprüft werden. In weiteren Studien sollte neben

plazentarem auch maternales Gewebe, wie beispielsweise Endothel oder perivaskuläres Fettgewebe analysiert werden.

In der Studie von Droege et al. wurde die Güte des Kryptor® Compact Plus System für sFlt-1 und PIGF beurteilt. Es konnten analog zu der Messung mittels Elecsys® steigende mütterliche sFlt-1 Konzentrationen, sinkende PIGF Konzentrationen und steigende Werte des sFlt-1/PIGF Quotienten im Verlauf einer unkomplizierten Schwangerschaft beschrieben werden [3]. Dies ist kongruent mit den Ergebnissen von Salahuddin et al. und Andersen et al. [33, 34]. Die bereits etablierten Cut-off Werte zur Diagnose einer Präeklampsie mittels Roche Elecsys® immunoassay von 33, 38 und 85 zeigten für die Messung mittels Kryptor® Compact Plus System bei vergleichbarer Sensitivität (33 und 38: 90.91%; 85: 87.88%) eine geringere Spezifität (33: 73.48%; 38: 75.76%; 85:88.64%). Ein Cut-off von 103 zeigte in der Fallgruppe von PE+IUGR bei einer Sensitivität von 84.78% eine Spezifität von 93.41%, für isolierte PE bei einer Sensitivität von 87.88% eine Spezifität von 91.67 %. In der Vergleichsstudie von Van Helden et al. konnte eine positive Korrelation zwischen dem Elecsys® und Kryptor® assay beobachtet werden. Der vorgeschlagene Cut-off Wert für den sFlt-1/PIGF Quotienten zur Diagnose von PE von 99 ist vergleichbar zu dem von Droege et al. ermittelten optimalen Cut-off von 103 [35]. Insgesamt konnten keine Unterschiede in der diagnostischen Qualität von PE zwischen Kryptor® und Elecsys® festgestellt werden.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass maternale PIGF Konzentrationen bei früher PE und IUGR sowie bei später PE reduziert sind. Für diese Veränderungen konnte kein Korrelat in der plazentaren Expression von PIGF gefunden werden. Erhöhte mütterliche Serumkonzentrationen von sFlt-1 scheinen bei früher und später PE die Hauptursache reduzierter PIGF Konzentrationen zu sein. Bei früh einsetzender IUGR sind weitere Studien notwendig, um eine mögliche Beteiligung mütterlicher Ursachen für reduzierte PIGF Konzentrationen zu analysieren.

Die Anwendung des Kryptor® Compact Plus System stellt in der Diagnose von PE oder PE+IUGR eine valide Alternative zu bereits etablierten Messsystemen dar, hierbei sollte ein Cut-off des sFlt-1/PIGF Quotienten von 103 gewählt werden.

1. 6 Literaturverzeichnis

1. S1-Leitlinie: Diagnostik und Therapie hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen aktueller Stand: 12/2013 Zugriff am 15.09.2017.
2. Levine, R.J., S.E. Maynard, C. Qian, K.H. Lim, L.J. England, K.F. Yu, E.F. Schisterman, R. Thadhani, B.P. Sachs, F.H. Epstein, B.M. Sibai, V.P. Sukhatme and S.A. Karumanchi, *Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia*. N Engl J Med, 2004. **350**(7): p. 672-83.
3. Verlohren, S., A. Galindo, D. Schlembach, H. Zeisler, I. Herraiz, M.G. Moertl, J. Pape, J.W. Dudenhausen, B. Denk and H. Stepan, *An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 2010. **202**(2): p. 161 e1-161 e11.
4. Rana, S., C.E. Powe, S. Salahuddin, S. Verlohren, F.H. Perschel, R.J. Levine, K.H. Lim, J.B. Wenger, R. Thadhani and S.A. Karumanchi, *Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia*. Circulation, 2012. **125**(7): p. 911-9.
5. Huppertz, B., Maternal-fetal interactions, predictive markers for preeclampsia, and programming. J Reprod Immunol, 2015. **108**: p. 26-32.
6. Brown, M.A., M.D. Lindheimer, M. de Swiet, A. Van Assche and J.M. Moutquin, 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**(1): p. IX-XIV.
7. (Hrsg.), D.J., Praktische Geburtshilfe mit geburtshilflichen Operationen; 21. überarbeitete Auflage; DE GRUYTER; ISBN 978-3-11-022868-7; S. 56, 70-79.
8. Khan, K.S., D. Wojdyla, L. Say, A.M. Gulmezoglu and P.F. Van Look, *WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review*. Lancet, 2006. **367**(9516): p. 1066-74.
9. Duley, L., The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. Semin Perinatol, 2009. **33**(3): p. 130-7.
10. Gardosi, J., S.M. Kady, P. McGeown, A. Francis and A. Tonks, Classification of stillbirth by relevant condition at death (ReCoDe): population based cohort study. BMJ, 2005. **331**(7525): p. 1113-7.
11. Intrauterine growth restriction. Guideline of the German Society of Gynecology and Obstetrics (S2k, A.-R.-N., October 2016). <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/III/015-080.html>; Zugriff am 15.09.2017.

12. Maynard, S.E., J.Y. Min, J. Merchan, K.H. Lim, J. Li, S. Mondal, T.A. Libermann, J.P. Morgan, F.W. Sellke, I.E. Stillman, F.H. Epstein, V.P. Sukhatme and S.A. Karumanchi, *Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia*. J Clin Invest, 2003. **111**(5): p. 649-58.
13. Pettit, F., G. Mangos, G. Davis, A. Henry and M.A. Brown, Pre-eclampsia causes adverse maternal outcomes across the gestational spectrum. Pregnancy Hypertens, 2015. **5**(2): p. 198-204.
14. Stepan, H., A. Unversucht, N. Wessel and R. Faber, Predictive value of maternal angiogenic factors in second trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion. Hypertension, 2007. **49**(4): p. 818-24.
15. Verlohren, S., I. Herraiz, O. Lapaire, D. Schlembach, H. Zeisler, P. Calda, J. Sabria, F. Markfeld-Erol, A. Galindo, K. Schoofs, B. Denk and H. Stepan, New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia. Hypertension, 2014. **63**(2): p. 346-52.
16. Schoofs, K., U. Grittner, T. Engels, J. Pape, B. Denk, W. Henrich and S. Verlohren, The importance of repeated measurements of the sFlt-1/PIGF ratio for the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction. J Perinat Med, 2014. **42**(1): p. 61-8.
17. Turan, S., J. Miller and A.A. Baschat, Integrated testing and management in fetal growth restriction. Semin Perinatol, 2008. **32**(3): p. 194-200.
18. Lam, C., K.H. Lim and S.A. Karumanchi, Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. Hypertension, 2005. **46**(5): p. 1077-85.
19. Verlohren, S., I. Herraiz, O. Lapaire, D. Schlembach, M. Moertl, H. Zeisler, P. Calda, W. Holzgreve, A. Galindo, T. Engels, B. Denk and H. Stepan, *The sFlt-1/PIGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients*. Am J Obstet Gynecol, 2012. **206**(1): p. 58 e1-8.
20. Wallner, W., R. Sengenberger, R. Strick, P.L. Strissel, B. Meurer, M.W. Beckmann and D. Schlembach, Angiogenic growth factors in maternal and fetal serum in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. Clin Sci (Lond), 2007. **112**(1): p. 51-7.
21. Herraiz, I., L.A. Droge, E. Gomez-Montes, W. Henrich, A. Galindo and S. Verlohren, Characterization of the soluble fms-like tyrosine kinase-1 to placental

growth factor ratio in pregnancies complicated by fetal growth restriction. *Obstet Gynecol*, 2014. **124**(2 Pt 1): p. 265-73.

22. Kumazaki, K., M. Nakayama, N. Suehara and Y. Wada, Expression of vascular endothelial growth factor, placental growth factor, and their receptors Flt-1 and KDR in human placenta under pathologic conditions. *Hum Pathol*, 2002. **33**(11): p. 1069-77.

23. Tsatsaris, V., F. Goffin, C. Munaut, J.F. Brichant, M.R. Pignon, A. Noel, J.P. Schaaps, D. Cabrol, F. Franckenne and J.M. Foidart, *Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: pathophysiological consequences*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003. **88**(11): p. 5555-63.

24. Shibata, E., A. Rajakumar, R.W. Powers, R.W. Larkin, C. Gilmour, L.M. Bodnar, W.R. Crombleholme, R.B. Ness, J.M. Roberts and C.A. Hubel, Soluble fms-like tyrosine kinase 1 is increased in preeclampsia but not in normotensive pregnancies with small-for-gestational-age neonates: relationship to circulating placental growth factor. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005. **90**(8): p. 4895-903.

25. Gu, Y., D.F. Lewis and Y. Wang, Placental productions and expressions of soluble endoglin, soluble fms-like tyrosine kinase receptor-1, and placental growth factor in normal and preeclamptic pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008. **93**(1): p. 260-6.

26. Andraweera, P.H., G.A. Dekker, J.A. Laurence and C.T. Roberts, Placental expression of VEGF family mRNA in adverse pregnancy outcomes. *Placenta*, 2012. **33**(6): p. 467-72.

27. Weed, S., J.A. Bastek, L. Anton, M.A. Elovitz, S. Parry and S.K. Srinivas, Examining the correlation between placental and serum placenta growth factor in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 2012. **207**(2): p. 140 e1-6.

28. Schlembach, D., W. Wallner, R. Sengenberger, E. Stiegler, M. Mortl, M.W. Beckmann and U. Lang, Angiogenic growth factor levels in maternal and fetal blood: correlation with Doppler ultrasound parameters in pregnancies complicated by preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2007. **29**(4): p. 407-13.

29. Nelson, D.B., M.S. Ziadie, D.D. McIntire, B.B. Rogers and K.J. Leveno, *Placental pathology suggesting that preeclampsia is more than one disease*. *Am J Obstet Gynecol*, 2014. **210**(1): p. 66 e1-7.

30. Helske, S., P. Vuorela, O. Carpen, C. Hornig, H. Weich and E. Halmesmaki, Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies. *Mol Hum Reprod*, 2001. **7**(2): p. 205-10.
31. Nevo, O., A. Many, J. Xu, J. Kingdom, E. Piccoli, S. Zamudio, M. Post, A. Bocking, T. Todros and I. Caniggia, Placental expression of soluble fms-like tyrosine kinase 1 is increased in singletons and twin pregnancies with intrauterine growth restriction. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008. **93**(1): p. 285-92.
32. Chung, J.Y., Y. Song, Y. Wang, R.R. Magness and J. Zheng, Differential expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), endocrine gland derived-VEGF, and VEGF receptors in human placentas from normal and preeclamptic pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. **89**(5): p. 2484-90.
33. Anderson, U.D., M.G. Olsson, K.H. Kristensen, B. Akerstrom and S.R. Hansson, *Review: Biochemical markers to predict preeclampsia*. *Placenta*, 2012. **33 Suppl**: p. S42-7.
34. Salahuddin, S., J.B. Wenger, D. Zhang, R. Thadhani, S.A. Karumanchi and S. Rana, KRYPTOR-automated angiogenic factor assays and risk of preeclampsia-related adverse outcomes. *Hypertens Pregnancy*, 2016. **35**(3): p. 330-45.
35. van Helden, J. and R. Weiskirchen, 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**(16-17): p. 1113-9.

2. Anteilserklärung

Alice Höller hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: *Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PIGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, Hypertension in Pregnancy*

Beitrag im Einzelnen: Planung und Organisation des Studiendesigns, Rekrutierung geeigneter Patienten, Organisation der Patientenaufklärung, Probengewinnung, laborchemische Probenbearbeitung, Datensammlung, Datenauswertung inkl. statistischer Auswertung, Literaturrecherche, Dateninterpretation, Erstellung und Überarbeitung des Manuskripts

Publikation 2: *Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PIGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy*

Beitrag im Einzelnen: Planung und Organisation des Studiendesigns, Rekrutierung geeigneter Patienten, Organisation der Patientenaufklärung, Probengewinnung, laborchemische Probenbearbeitung, Datensammlung, Datenauswertung inkl. statistischer Auswertung, Literaturrecherche, Dateninterpretation, kritische Durchsicht des Manuskripts

Publikation 3: *Lisa Antonia Dröge, Alice Höller, Laura Ehrlich, Stefan Verlohren, Wolfgang Henrich, Frank Holger Perschel (2017): Diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction with the sFlt-1/PIGF ratio: Diagnostic accuracy of the automated immunoassay Kryptor®*

Beitrag im Einzelnen: Rekrutierung geeigneter Patienten, Organisation der Patientenaufklärung, Probengewinnung, Datensammlung, kritische Durchsicht des Manuskripts

Unterschrift betreuenden Hochschullehrers: Berlin, den _____

Unterschrift der Doktorandin: Berlin, den _____

3. Publikationen

3.1 Publikation 1

Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, *Hypertension in Pregnancy*

DOI: 10.1080/10641955.2016.1273363

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1273363>

Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, Hypertension in Pregnancy

DOI: 10.1080/10641955.2016.1273363

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1273363>

Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, *Hypertension in Pregnancy*

DOI: 10.1080/10641955.2016.1273363

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1273363>

Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, Hypertension in Pregnancy

DOI: 10.1080/10641955.2016.1273363

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1273363>

Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, Hypertension in Pregnancy

DOI: 10.1080/10641955.2016.1273363

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1273363>

Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, Hypertension in Pregnancy

DOI: 10.1080/10641955.2016.1273363

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1273363>

Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, Hypertension in Pregnancy

DOI: 10.1080/10641955.2016.1273363

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1273363>

Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, Hypertension in Pregnancy

DOI: 10.1080/10641955.2016.1273363

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1273363>

Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, *Hypertension in Pregnancy*

DOI: 10.1080/10641955.2016.1273363

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1273363>

Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, Hypertension in Pregnancy

DOI: 10.1080/10641955.2016.1273363

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1273363>

Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies, Hypertension in Pregnancy

DOI: 10.1080/10641955.2016.1273363

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1273363>

3.2 Publikation 2

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PIGF expression in late-onset preeclampsia, *Hypertension in Pregnancy*, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PIGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PIGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PIGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PIGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PlGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PIGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PIGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PlGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PIGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PlGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PIGF expression in late-onset preeclampsia, Hypertension in Pregnancy, DOI: 10.1080/10641955.2017.1291673

<http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2017.1291673>

3.3 Publikation 3

Lisa Antonia Dröge, Alice Höller, Laura Ehrlich, Stefan Verlohren, Wolfgang Henrich, Frank Holger Perschel (2017): Diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction with the sFlt-1/PlGF ratio: Diagnostic accuracy of the automated immunoassay Kryptor®

<http://dx.doi.org/10.1016/j.preghy.2017.02.005>

Lisa Antonia Dröge, Alice Höller, Laura Ehrlich, Stefan Verlohren, Wolfgang Henrich, Frank Holger Perschel (2017): Diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction with the sFlt-1/PlGF ratio: Diagnostic accuracy of the automated immunoassay Kryptor®

<http://dx.doi.org/10.1016/j.preghy.2017.02.005>

Lisa Antonia Dröge, Alice Höller, Laura Ehrlich, Stefan Verlohren, Wolfgang Henrich, Frank Holger Perschel (2017): Diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction with the sFlt-1/PlGF ratio: Diagnostic accuracy of the automated immunoassay Kryptor®

<http://dx.doi.org/10.1016/j.preghy.2017.02.005>

Lisa Antonia Dröge, Alice Höller, Laura Ehrlich, Stefan Verlohren, Wolfgang Henrich, Frank Holger Perschel (2017): Diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction with the sFlt-1/PlGF ratio: Diagnostic accuracy of the automated immunoassay Kryptor®

<http://dx.doi.org/10.1016/j.preghy.2017.02.005>

Lisa Antonia Dröge, Alice Höller, Laura Ehrlich, Stefan Verlohren, Wolfgang Henrich, Frank Holger Perschel (2017): Diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction with the sFlt-1/PIGF ratio: Diagnostic accuracy of the automated immunoassay Kryptor®

<http://dx.doi.org/10.1016/j.preghy.2017.02.005>

Lisa Antonia Dröge, Alice Höller, Laura Ehrlich, Stefan Verlohren, Wolfgang Henrich, Frank Holger Perschel (2017): Diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction with the sFlt-1/PIGF ratio: Diagnostic accuracy of the automated immunoassay Kryptor®

<http://dx.doi.org/10.1016/j.preghy.2017.02.005>

4. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

5. Publikationsliste

Originalarbeiten

- Alice Hoeller, Laura Ehrlich, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Monika Siwetz, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Placental expression of sFlt-1 and PIGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies
Hypertension in Pregnancy, Impact factor 1.211; Published online:
10 February 2017
- Laura Ehrlich, Alice Hoeller, Michaela Golic, Florian Herse, Frank H. Perschel, Wolfgang Henrich, Ralf Dechend, Berthold Huppertz & Stefan Verlohren (2017): Increased placental sFlt-1 but unchanged PIGF expression in late-onset preeclampsia
Hypertension in Pregnancy, Impact factor 1.211; Published online: 11 May 2017
- Lisa Antonia Dröge, Alice Höller, Laura Ehrlich, Stefan Verlohren, Wolfgang Henrich, Frank Holger Perschel (2017): Diagnosis of preeclampsia and fetal growth restriction with the sFlt-1/PIGF ratio: Diagnostic accuracy of the automated immunoassay Kryptor®
Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health, Impact factor 3,93; Published online: 1 March 2017

Kongressbeiträge

- Posterpräsentation mit dem Namen „Placental expression of angiogenic and antiangiogenic factors in early onset preeclampsia and/or intrauterine growth restriction: comparison to healthy pregnant women“ im Rahmen des 8. Internationalen DIP Symposiums

- Posterpräsentation mit dem Namen „Plazentare Expression angiogener und antiangiogener Faktoren bei Patientinnen mit early-onset Präeklampsie und früher intrauteriner Wachstumsretardierung – Vergleich mit gesunden Schwangeren“ im Rahmen des 16. Deutscher Gestose-Kongress der Arbeitsgemeinschaft Schwangerschaftshochdruck und Gestose (AGSG) der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG)
- Posterpräsentation mit dem Namen „Massiv erhöhter sFlt-1/PIGF – Quotient bei Patientin in 23+3 SSW mit schwerer Plazentadysfunktion“ im Rahmen des 16. Deutscher Gestose-Kongress der Arbeitsgemeinschaft Schwangerschaftshochdruck und Gestose (AGSG) der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG)

6. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Alice Höller, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Plazentare Expression von sFlt-1 und PLGF bei früh einsetzender placentarer Dysfunktion: Vergleich mit gesunden Schwangeren“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

7. Danksagungen

Herrn Professor Wolfgang Henrich danke ich für die Möglichkeit an seiner Klinik wissenschaftlich zu arbeiten.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Stefan Verlohren für die Überlassung des Themas. Als Doktorvater hat er mich in den letzten Jahren mit großem Engagement begleitet und mich stets mit seiner positiven Energie und Begeisterung für das Thema, sowie durch seine fachliche Expertise, über die Maßen hinaus gefördert und mich in meinem wissenschaftlichen Denken nachhaltig geprägt.

Der Arbeitsgruppe Präeklampsie der Charité-Universitätsmedizin Berlin danke ich für die durchgehend kollegiale Zusammenarbeit, bei der ich immer das Gefühl hatte, mich auf die Unterstützung der anderen verlassen zu können. Insbesondere danke ich Frau Laura Ehrlich für die hervorragende Teamarbeit der letzten Jahren, bei der wir uns perfekt ergänzt haben.

Ausdrücklich danken möchte ich auch Herrn Professor Berthold Huppertz für die Möglichkeit, unter seiner Betreuung experimentell arbeiten zu dürfen, und für die stets sehr bereichernde, kritische Diskussion meiner Arbeit. Von ganzem Herzen danke ich Frau Monika Siwetz für die über die Maßen kompetente und freundschaftliche Einarbeitung in die Immunhistochemie.

Meinen Freunden danke ich für ihre emotionale Unterstützung und Bekräftigung während des gesamten Studiums, sowie während der Anfertigung dieser Arbeit.

Meinen Eltern danke ich für ihren ständigen Rückhalt und das Vertrauen, das sie in mich gelegt haben.

Zu guter Letzt danke ich meinem Mann David für seine endlose Unterstützung und die fortwährende Bekräftigung, meine Lebensziele zu verwirklichen.