

Aus der Klinik für Geburtsmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Der automatisierte Elecsys®-Assay zur Messung von sFlt1, PlGF und ihrem
Quotienten sFlt1/PlGF in der Diagnose hypertensiver
Schwangerschaftserkrankungen

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Theresa Engels

aus Oldenburg (Oldb)

Datum der Promotion: 14.02.2014

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	ii
Abstrakt	1
Abstract	2
1 Einleitung	3
<i>1.1 Die Schwangerschaft des Menschen</i>	3
<i>1.2 Präeklampsie</i>	3
1.2.1 Definition der hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen	4
1.2.2 Epidemiologie und Risikofaktoren	5
1.2.3 Management und Therapie	6
1.2.4 Langfristige Mortalität und Morbidität	7
<i>1.3 Ätiologie der Präeklampsie</i>	8
1.3.1 Gestörte Plazentation	8
1.3.2 Endotheliale Dysfunktion	9
1.3.3 Zirkulierende angiogene und antiangiogene Faktoren	10
1.3.3.1 Vascular endothelial growth factor (VEGF)	11
1.3.3.2 Placental growth factor (PlGF)	11
1.3.3.3 Soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt1)	11
1.3.3.4 Andere pathophysiologische Faktoren	12
1.3.4 Die Bedeutung der angiogenen und antiangiogenen Faktoren für die Diagnose und Prädiktion der Präeklampsie	13
2 Herleitung der Aufgabenstellung	15
3 Methodik	17
<i>3.1 Untersuchungsgruppen</i>	17
<i>3.2 Untersuchungsmaterial</i>	19
<i>3.3 Immunassay</i>	20
3.3.1 Chemikalien und Geräte: sFlt1	20
3.3.2 Chemikalien und Geräte: PlGF	21
3.3.3 Testprinzip	21
<i>3.4 Statistische Analyse</i>	22

4 Ergebnisse	23
4.1 Patientengruppen: klinische Daten	23
4.2 sFlt1, PIGF und Quotient in der gesunden Schwangerschaft	26
4.3 sFlt1, PIGF und Quotient bei Präeklampsie	28
4.3.1 Vergleich aller Präeklampsie-Fälle mit der Kontrollgruppe	28
4.3.1.1 Deskriptive Statistik	28
4.3.1.2 ROC-Kurven	28
4.3.2 Vergleich chronischer Hypertonus, schwangerschaftsinduzierter Hypertonus, Gestationsproteinurie, milde und schwere Präeklampsie, Propf-Präeklampsie, HELLP-Syndrom und Kontrollgruppe	32
4.3.2.1 Deskriptive Statistik	32
4.3.2.2 ROC-Kurven	35
4.3.3 Vergleich früh bzw. spät einsetzende Präeklampsie und jeweilige Kontrollgruppe	41
4.3.3.1 Deskriptive Statistik	41
4.3.3.2 ROC-Kurven	42
4.4 Cutoff-Werte	46
4.4.1 Spezifitäten und Sensitivitäten	46
4.4.2 Logistische Regression	46
5 Diskussion	48
5.1 Angiogene und antiangiogene Faktoren im maternalen Serum gesunder und präeklampsischer Frauen: Assays im Vergleich	48
5.1.1 Veränderung von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in der gesunden Schwangerschaft	49
5.1.2 Abweichende Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in Präeklampsie	50
5.1.3 Betrachtung der Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in Untergruppen der Präeklampsie	51
5.1.3.1 Unterschiedliche Ausprägung der Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in milder und schwerer Präeklampsie	52
5.1.3.2 Unterschiedliche Ausprägung der Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in schwangerschaftsinduzierter Hypertonie, chronischer Hypertonie, Propf-Präeklampsie und Gestationsproteinurie	53
5.1.3.3 Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in Fällen von HELLP-Syndrom	55
5.1.3.4 Unterschiedliche Ausprägung der Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in früh und spät einsetzender Präeklampsie	55
5.2 Vergleich der diagnostischen Aussagekraft des sFlt1/PIGF-Quotienten mit den einzelnen Faktoren sFlt1 und PIGF	57
5.3 Die Bestimmung von Cutoff-Werten für angiogene und antiangiogene Faktoren und deren Bedeutung für den	

<i>klinischen Alltag in der Behandlung der Präeklampsie</i>	59
<i>5.4 Schlussfolgerungen und Ausblick</i>	61
6 Zusammenfassung	62
Literaturverzeichnis	64
Eidesstattliche Erklärung	77
Lebenslauf	80
Publikationsliste	81
Danksagung	83

Abstrakt

Einleitung: In Vorarbeiten konnte die Bedeutung der automatisierten Messung von dem angiogenen Faktor PIGF (*placental growth factor*) und seinem antiangiogenen Gegenspieler sFlt1 (*soluble fms-like tyrosine kinase 1*) in der Diagnose der Präeklampsie (PE) aufgezeigt werden. Ziel der vorliegenden Studie war es, die Messung der einzelnen Parameter sFlt1 und PIGF dem Quotienten (sFlt1/PIGF) in der Differentialdiagnostik hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen gegenüber zu stellen.

Methodik: 64 Frauen mit PE/HELLP, 16 Frauen mit schwangerschaftsinduziertem Hypertonus (SIH), 17 Frauen mit Gestationsproteinurie (GP), 2 Frauen mit chronischem Hypertonus (cHT) und 184 Kontrollen wurden untersucht. Zur Differenzierung der PE/HELLP wurde zwischen milder PE (mPE; n = 31), schwerer PE (sPE; n = 20), Propf-PE (pPE; n = 7) und HELLP-Syndrom (n = 6) sowie zwischen früh (frPE, n = 24) und spät einsetzender PE (spPE, n = 40) unterschieden. Die Bestimmung von sFlt1 und PIGF erfolgte im Serum mittels des automatisierten Elecsys®-ELISAs (engl., *enzyme linked immunosorbant assay*) von Roche Diagnostics (Penzberg, Deutschland).

Ergebnisse: Frauen mit PE/HELLP zeigten höhere Werte für sFlt1 und sFlt1/PIGF bzw. niedrigere Werte für PIGF vs. Kontrollen (10888 ± 878 vs. 2685 ± 138 ; 277 ± 39 vs. 18 ± 3 und 68 ± 6 vs. 496 ± 45 , $p < 0,001$). Die ROC-Analyse ergab die höchste diagnostische Genauigkeit für sFlt1/PIGF (AUC 96 % vs. sFlt1 92 %; PIGF 92 %). Frauen mit pPE, mPE, sPE und HELLP zeigten signifikant höhere sFlt1/PIGF als Kontrollen (203 ± 110 ; 137 ± 27 ; 497 ± 91 und 254 ± 72 vs. 18 ± 3 , jeweils $p < 0,001$); AUC der ROC-Kurven: 93 %, 94 %, 99 % und 98 %. Frauen mit SIH und GP unterschieden sich signifikant von Kontrollen ($p \leq 0,031$), Frauen mit mPE ($p \leq 0,044$), sPE ($p < 0,001$) und HELLP ($p \leq 0,046$). Frauen mit cHT unterschieden sich signifikant von mPE, sPE und HELLP ($p \leq 0,046$), nicht jedoch von Kontrollen und pPE. Frauen mit frPE und spPE zeigten signifikant erhöhte sFlt1/PIGF vs. Kontrollen (497 ± 82 vs. 12 ± 3 , $p < 0,001$ und 131 ± 15 vs. 29 ± 5 , $p < 0,001$), AUC der ROC-Kurven: frPE: AUC 99 % vs. sFlt1 98 %; PIGF 97 %; spPE: 91 % vs. sFlt1 82 %; PIGF 88 %. Ein Cutoff-Wert von 70 für sFlt1/PIGF ergab eine Spezifität von 94 % und eine Sensitivität von 78 % (PE/HELLP vs. Kontrollen); bei sPE und HELLP vs. Kontrollen bei gleicher Spezifität eine Sensitivität von 100 %.

Schlussfolgerung: Die Bestimmung von sFlt1/PIGF durch automatisierte Messung ist vor allem für schwerwiegende Formen der PE ein zuverlässiges Mittel zur Differentialdiagnose und kann als zusätzliche, schnell zugreifbare Information das klinische Management direkt beeinflussen.

Abstract

Introduction: Previous works could show the importance of automatic measurement of the angiogenic factor PIGF (*placental growth factor*) and its antiangiogenic opponent sFlt1 (*soluble fms-like tyrosine kinase 1*) in the diagnosis of preeclampsia (PE). Aim of the current study was to compare automatic measurement of the single markers sFlt1 and PIGF versus its ratio (sFlt1/PIGF) in the differential diagnosis of hypertensive pregnancy disorders.

Methods: 64 women with PE/HELLP, 16 women with pregnancy induced hypertension (PIH), 17 women with gestational proteinuria (GP), 2 women with chronic hypertension (cHT) and 184 controls were investigated. The PE/HELLP group was subdivided into mild PE (mPE; n = 31), severe PE (sPE; n = 20), superimposed PE (supPE; n = 7) and HELLP syndrome (HELLP, n = 6) as into early onset PE (eoPE, n = 24) and late onset PE (loPE, n = 40). The measurement of sFlt1 and PIGF in serum samples was performed using the automatic Elecsys® ELISA (engl., *enzyme linked immunosorbant assay*) of Roche Diagnostics (Penzberg, Germany).

Results: Women with PE/HELLP had higher serum concentrations of sFlt1 and sFlt1/PIGF and lower concentrations of PIGF vs. controls, respectively (10888 ± 878 vs. 2685 ± 138 ; 277 ± 39 vs. 18 ± 3 and 68 ± 6 vs. 496 ± 45 , $p < 0.001$ respectively). A ROC analysis revealed highest diagnostic power for sFlt1/PIGF (AUC 96 % vs. sFlt1 92 %; PIGF 92 %). Women with supPE, mPE, sPE and HELLP had significantly higher concentrations of sFlt1/PIGF vs. controls (203 ± 110 ; 137 ± 27 ; 497 ± 91 and 254 ± 72 vs. 18 ± 3 , $p < 0.001$ respectively); AUC of ROC analysis: 93 %, 94 %, 99 % and 98 %, respectively. Women with PIH and GP differed significantly from controls ($p \leq 0.031$), women with mPE ($p \leq 0.044$), sPE ($p < 0.001$) and HELLP ($p \leq 0.046$) but not from supPE. Women with cHT differed significantly from mPE, sPE and HELLP ($p \leq 0.046$), but not from controls and supPE. Women with eoPE and loPE had significantly higher concentrations of sFlt1/PIGF vs. controls (497 ± 82 vs. 12 ± 3 , $p < 0.001$ and 131 ± 15 vs. 29 ± 5 , $p < 0.001$ respectively), AUC of ROC analysis: eoPE: ratio 99 % vs. sFlt1 98 %; PIGF 97 %; loPE: ratio 91 % vs. sFlt1 82 %; PIGF 88 %. A cutoff of 70 for sFlt1/PIGF resulted in a specificity of 94 % and sensitivity of 78 % (PE/HELLP vs. controls); in sPE and HELLP vs. controls in a specificity of 94 % and sensitivity of 100 %, respectively.

Conclusion: Determination of sFlt1/PIGF by automatic measurement constitutes a reliable tool in differential diagnosis of hypertensive pregnancy disorders, especially in severe forms and may directly influence clinical management by additive and quickly available information.

1 Einleitung

1.1 Die Schwangerschaft des Menschen

Die Schwangerschaft des Menschen dauert in der Regel etwa 267 Tage (38 Entwicklungswochen [EW]). Da der genaue Zeitpunkt der Befruchtung schwer zu bestimmen ist, wird der 1.Tag der letzten Menstruation als Beginn der Schwangerschaft angegeben. In diesem Modell dauert die Schwangerschaft 282 Tage (40 Schwangerschaftswochen [SSW]).

Der Verlauf der Schwangerschaft wird in ein erstes, zweites und drittes Trimenon zu jeweils drei Monaten eingeteilt. In der Präembryonalperiode (1. bis 3. EW) findet die Befruchtung der Eizelle durch ein Spermium und die Verschmelzung des maternalen und paternalen Zellkernes statt.

Nach ersten Teilungen der Zygote (Morula) und Bildung der freien Blastozyste, findet in der 2. EW die Implantation der Blastozyste in das Endometrium des Uterus statt. Hiermit beginnt der Aufbau der Plazenta, die eine Kommunikationsschicht zwischen Embryo und Mutter bildet und aus einem embryonalen (Throphoblast) und einem maternalen (Dezidua) Anteil besteht.

In der folgenden Embryonalperiode (4. bis 8. EW) findet der Großteil der Organogenese statt, während die Fetalperiode (9. bis 38. EW) hauptsächlich durch Wachstumsvorgänge gekennzeichnet ist.¹

1.2 Präeklampsie

Die Präeklampsie (PE) ist eine Erkrankung der Schwangerschaft und stellt weltweit einen der führenden Gründe für maternale und neonatale Mortalität und Morbidität dar.²

Die Eklampsie (griechisch: *eklämpein*; „*ek*“ für *hervor, heraus* und „*lampein*“ für *leuchten, blitzen*) wurde bereits in der alten ägyptischen, chinesischen und griechischen medizinischen Literatur als ein während der Schwangerschaft auftretendes Krampfleiden beschrieben, das mit der Entbindung ausheilte.³ Erst Mitte des 19. Jahrhunderts entdeckte man, dass die Eklampsie mit Hypertonie und Proteinurie vergesellschaftet war und dass diese nicht nur während der Erkrankung, sondern auch dieser vorausgehend auftraten.³ Proteinurie und Hypertonie, die während der Schwangerschaft auftraten, wurden folglich als Präeklampsie bezeichnet und galten als Risikofaktoren für das Auftreten lebensbedrohlicher Komplikationen von Mutter und Kind.⁴

Die moderne Forschung bemühte sich in der Aufklärung der Pathogenese lange um die Nierendysfunktion und die Hypertonie, während in jüngerer Zeit das Bild einer

Multisystemerkrankung mit multifaktorieller Genese entstanden ist, das bis zum heutigen Tage in seiner Komplexität nicht vollständig erklärt werden kann.

1.2.1 Definition der hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen

Die Leitsymptome einer PE sind definitionsgemäß das Neuauftreten von Hypertonie (≥ 140 mmHg systolischer Blutdruck und/oder ≥ 90 mmHg diastolischer Blutdruck) und Proteinurie (≥ 300 mg/24Std).⁴⁻⁶ Typischerweise treten diese zwischen der 20. SSW und 48 Stunden postpartum auf.⁷ Die in der ehemaligen Definition enthaltenen Kriterien von Ödemen und einer Blutdruckveränderung von ≥ 30 mmHg systolisch bzw. ≥ 15 mmHg diastolisch wurden als zu unspezifisch befunden.⁴

Mögliche Symptome der PE können abdominale Schmerzen (rechter Oberbauch, epigastrisch, retrosternal), Erbrechen und Übelkeit, Kurzatmigkeit, medikamentös nicht zu behebende Kopfschmerzen und Sehstörungen sein.⁴

Die Diagnosestellung der PE erscheint zunächst unkompliziert und eindeutig, doch präsentiert sich die Erkrankung in einem sehr breiten Spektrum, was die Erstellung einheitlicher Diagnosekriterien schwierig gestaltet und zu länderabhängigen Unterschieden führt.⁸

Klinisch wird eine schwere Form von einer leichten Form der PE unterschieden, internationale Definitionen sind sich jedoch in der Diagnose der schweren PE uneinig. Im Allgemeinen wird sie ab einem persistierenden Blutdruck von ≥ 160 - 170 mmHg systolisch oder ≥ 110 mmHg diastolisch gestellt.^{5, 9-11} Die schwere PE ist mit einem erhöhten Risiko für vaskuläre Geschehnisse, im Besonderen mit einem Insult und anderen zentral-nervösen Komplikationen, verbunden.^{5, 11}

Zeitlich wird eine früh einsetzende PE von einer spät einsetzenden PE unterschieden. Auch hier bestehen keine einheitlichen Definitionen, meist wird aber ein Auftreten der Erkrankung vor der 34. SSW als früh einsetzende PE bezeichnet, während der Krankheitsbeginn ≥ 34 . SSW als spät einsetzende PE bezeichnet wird.^{10, 12} Fälle von früh einsetzender PE sind mit einem wesentlich höheren Risiko für Komplikationen von Mutter und Kind verbunden, da diese oft schwere Ausprägungsgrade mit sich bringen und häufig eine frühe Entbindung notwendig machen.¹³⁻¹⁵

Die Diagnose der Propf-PE wird bei vorbestehender Hypertonie, also persistierenden Blutdruckwerten von ≥ 140 mmHg systolisch und/oder ≥ 90 mmHg diastolisch präkonzeptionell bzw. vor der 20. SSW, und Neuauftreten von Proteinurie gestellt.¹⁶ Gleiches gilt, wenn bei vorbestehender Hypertonie und Proteinurie vor der 20. SSW ein plötzlicher Anstieg des Blutdrucks oder der Proteinurie beobachtet wird.¹⁶ Die Propf-PE ist mit einem größeren Risiko

für Mutter und Kind assoziiert als eine de novo PE.⁴

Eine Komplikation der PE ist das sogenannte HELLP-Syndrom, bestehend aus der Symptomtrias einer Hämolyse (engl. *hemolysis*), pathologisch erhöhten Leberenzymen (engl. *elevated liver enzymes*) und erniedrigter Thrombozytenzahl (engl. *low platelets count*).^{10, 11} Die Kriterien zur Feststellung dieser drei zur Diagnose führenden Befunde sind nicht einheitlich definiert, beinhalten jedoch folgende Parameter: pathologische Blutaussstriche (Schistozyten, Echinozyten), erhöhtes indirektes Bilirubin (Serum), erniedrigtes Haptoglobin (Serum), erhöhtes LDH (*Laktatdehydrogenase*), signifikanter Abfall des Hämoglobins, erhöhte Werte für AST (*Aspartat-Aminotransferase*) und ALT (*Alanin-Aminotransferase*) sowie erniedrigte Thrombozytenzahl.¹⁷ Das HELLP-Syndrom tritt häufig im Rahmen einer PE auf, in 12-18% liegt jedoch keine Hypertonie und in 13% keine Proteinurie vor.¹⁸⁻²¹

Die Eklampsie ist eine schwerwiegende Verlaufsform der PE, die durch das Hinzukommen von tonisch-klonischen Krampfanfällen, die keiner anderen Ursache zugeordnet werden können, charakterisiert ist.^{10, 11, 16} Diese können während der Schwangerschaft, der Entbindung und bis 48 Stunden nach der Entbindung auftreten.⁴ In bis zu einem Drittel der Fälle sind die Hauptsymptome Hypertonie oder Proteinurie nicht nachweisbar, vor allem bei postpartaler Eklampsie.²²⁻²⁴

Schließlich sei auf die atypischen Verläufe der PE hingewiesen. In den meisten Fällen manifestiert sich eine PE durch die oben beschriebene typische Hypertonie und Proteinurie, die jeweils nach der 20. SSW und vor 48 Stunden postpartal auftreten. In einigen Fällen zeigt sich jedoch weder eine Hypertonie noch eine Proteinurie oder die Befunde werden außerhalb des angegebenen Zeitraumes erhoben. Die Diagnosestellung erweist sich hier als besonders schwierig und zeigt die Notwendigkeit eines zusätzlichen diagnostischen Parameters zur Blutdruckmessung und Proteinausscheidung im Urin auf.⁷

1.2.2 Epidemiologie und Risikofaktoren

Die PE betrifft weltweit 3-5 % der schwangeren Frauen^{2, 25} und stellt vor allem in den Entwicklungsländern, in denen der Zugang zu medizinischer Versorgung begrenzt ist, den Hauptgrund für Müttersterblichkeit dar.² Bis zu 42 % der Todesfälle werden dort auf PE und Eklampsie zurückgeführt.²⁶ In Ländern mit hohem Einkommen fällt die absolute Zahl der mütterlichen Todesfälle sehr viel geringer aus, anteilig werden jedoch auch hier bis zu 16 % auf hypertensive Schwangerschaftserkrankungen zurückgeführt.²⁷

Die PE wird als Erkrankung der ersten Schwangerschaft gesehen, da sie hier besonders häufig

auftritt.²⁸ Bei ansonsten gesunden Erstgebärenden weisen jedoch etwa 75 % der Fälle einen milden Verlauf und ein geringes Risiko für Mortalität und Morbidität auf.²⁹⁻³²

Verschiedene Beobachtungen weisen auf eine immunologische und genetische Komponente im Krankheitsgeschehen hin: Dem Sexualpartner bzw. dem Kohabitationsverhalten mit diesem wird eine bedeutende Rolle für das Risiko einer PE zugesprochen. Das Risiko steigt bei jenen Frauen an, die vor Konzeption dem Sperma des befruchtenden Partners nur kurzzeitig ausgesetzt waren; mit sich wiederholenden vorausgehenden Spermienkontakten (vaginal, oral) sinkt das Risiko.³³⁻³⁵

Dies könnte auch das erhöhte Risiko für junge Patientinnen erklären.³⁶ Ein vorausgegangener Abort (spontan oder induziert) bzw. eine stattgehabte gesunde Schwangerschaft erniedrigen bei gleichbleibendem Partner das Risiko für eine PE in einer darauffolgenden Schwangerschaft; dieser protektive Effekt wird jedoch durch einen Partnerwechsel wieder aufgehoben.^{37, 38}

Partnerwechsel und großer Intervall zwischen zwei Schwangerschaften werden als Risikofaktoren gewertet,^{39, 40} wobei ein Zusammenhang beider Faktoren nicht auszuschließen ist.^{41, 42} Des Weiteren wird vom sogenannten „gefährlichen Vater“^{43, 44} gesprochen: Männer, die bereits eine präeklampsische Schwangerschaft gezeugt haben, verdoppeln das Risiko einer PE in einer neuen Partnerschaft.⁴³ Das Risiko einer Frau mit einem solchen Risikopartner an einer PE zu erkranken ist fast so hoch wie das der Erstschwangerschaft.⁴³

Es wurden zudem Risikoprofile der Frau ermittelt, die die Auftretenswahrscheinlichkeit und den Schweregrad der Erkrankung deutlich erhöhen: sehr junges oder fortgeschrittenes Alter,^{45, 46} Mehrlingsschwangerschaften,^{47, 48} vorausgegangene PE (insbesondere früh einsetzende PE),⁴⁹⁻⁵¹ Vorkommen einer PE bei erstgradig Verwandten (als Hinweis auf genetische Beteiligung am Krankheitsgeschehen),⁵² chronische Hypertonie oder Nierenerkrankungen,^{49, 53} Übergewicht und Insulinresistenz⁵⁴⁻⁵⁶ und vorbestehender Diabetes Mellitus⁴⁹. Rauchen ist negativ mit dem Auftreten einer PE assoziiert.⁵⁷⁻⁵⁹

1.2.3 Management und Therapie

Trotz voranschreitender Forschung bezüglich der Pathogenese der PE bleibt die einzige kausale Therapie weiterhin die Schwangerschaftsbeendigung mit Entfernung der Plazenta. Für die Mutter bedeutet diese im Allgemeinen die Beendigung der Erkrankung, während es für den Feten, je nach Gestationsalter, erhebliche Komplikationen mit sich bringen kann.²⁹ Das Hauptziel sollte die Sicherheit der Mutter und schließlich die Geburt eines reifen Neugeborenen sein, der keiner intensiven und langandauernden neonatalen Pflege bedarf.²⁹ Ob entbunden oder ein abwartendes Verhalten gewählt wird, hängt unter anderem von dem Schweregrad der

Erkrankung, von dem Gestationsalter und von dem maternalen und fetalen Status ab.²⁹

Richtige und angemessene pränatale Versorgung sind im Management der PE von großer Wichtigkeit.^{5, 11, 29} Antenatale maternale Überwachung beinhaltet die Identifizierung von Frauen mit Risikoprofil und die frühe Erkennung von klinischen Zeichen und Symptomen bzw. der Progression zu schweren Krankheitsverläufen.^{5, 11, 29}

Bisher gibt es keinen Bluttest zur Diagnosestellung einer PE; diese beschränkt sich auf die Feststellung der oben angegebenen Parameter.⁶⁰ Nach Diagnosestellung werden regelmäßig Blutentnahmen vorgenommen, um die Entwicklung von Thrombozytopenie, Hämolyse, Leber- oder Nierenbeteiligung zu überprüfen.⁶⁰ Engmaschige Überwachung des Feten wird durch Ultraschall und Kardiotokographie (engl. *cardiotocography*, kurz CTG) gewährleistet.⁶⁰

Eine medikamentöse antihypertensive Therapie wird ab Blutdrücken von ≥ 170 mmHg systolisch oder ≥ 110 mmHg diastolisch empfohlen; bei vorbestehenden Erkrankungen (Hypertonie, Nierenerkrankungen, Diabetes mellitus) sollte bereits ab Blutdrücken von ≥ 160 mmHg systolisch oder ≥ 100 mmHg diastolisch behandelt werden.^{5, 6, 61, 62} Mittel der ersten Wahl ist α -Methyldopa.⁶ Alternativ können Nifedipin, Dihydralazin oder β -1-selektive Rezeptorblocker wie Metoprolol verwendet werden.⁶ In schweren Fällen kann alternativ zu Nifedipin und Dihydralazin auch Uradipil gegeben werden.^{6, 63-65} Magnesiumsulfat wird zur Prävention von Konvulsionen besonders in schweren Krankheitsverläufen empfohlen.⁶⁶ Die Therapie mit Dexamethason wird zur Lungenreifeinduktion empfohlen.⁶⁷

Bei milden Krankheitsverläufen kann bis zur 37. SSW abgewartet und danach entbunden werden.²⁹ Bei schweren Krankheitsverläufen kann mit engmaschiger Überwachung von Mutter und Kind abwartend vorgegangen werden bis a) es Anhaltspunkte für die Entwicklung eines HELLP-Syndroms oder einer Eklampsie gibt, b) der maternale Blutdruck nicht mehr medikamentös zu kontrollieren ist, c) der fetale Status kritisch wird oder d) die 34. SSW erreicht wurde und das Risiko der Mutter das des Kindes überwiegt.²³ Das abwartende Vorgehen in Fällen von schwerer PE vor der 34. SSW wird diskutiert, es gibt jedoch Hinweise darauf, dass es für das Kind Vorteile bezüglich der Morbidität bringt.⁶⁸⁻⁷⁰

1.2.4 Langfristige Mortalität und Morbidität

Das Krankheitsbild der PE heilt mit der Entfernung der Plazenta im Normalfall aus, doch gibt es Hinweise darauf, dass das Langzeitrisiko für kardio- und zerebrovaskuläre Erkrankungen bei Frauen mit PE in der Krankheitsgeschichte deutlich erhöht ist.⁷¹ Im Besonderen werden schwere PE, rezidivierende PE, PE vor der 37. SSW und PE mit fetaler Wachstumsrestriktion mit zukünftigen

zerebrovaskulären Ereignissen verbunden.⁷²

Die PE und kardiovaskuläre Erkrankungen teilen ähnliche Risikofaktoren: chronische Hypertonie, Diabetes Mellitus, Adipositas, Nierenerkrankungen und metabolisches Syndrom.²⁵

Doch auch wenn dies die Rolle der PE für das zerebrovaskuläre Risiko in Frage stellen könnte, scheint die PE an sich ein Risikofaktor für zukünftige zerebrovaskuläre Ereignisse darzustellen: Das Risiko ist auch bei Frauen erhöht, die vor stattgefundener PE keine bekannten vaskulären Risikofaktoren aufwiesen.²⁵

1.3 Ätiologie der Präeklampsie

Die Pathogenese der PE ist trotz intensiver Forschung bisher noch nicht vollständig geklärt. In den letzten 10 Jahren wurden jedoch erhebliche Fortschritte gemacht, die vielversprechende Ansätze für diagnostische Mittel, Screening-Tests und Therapiemöglichkeiten bieten.⁶⁰

Die PE ist eine systemische Erkrankung der Schwangerschaft, die von multifaktorieller Genese und einem komplexen Bild der Pathophysiologie gekennzeichnet ist. Die Plazenta nimmt in der Pathogenese der PE eine zentrale Rolle ein.^{60, 73} Das Auftreten von PE bei Blasenmole weist darauf hin, dass nicht ein Fetus, sondern die Plazenta ausschlaggebend zur Entstehung der Erkrankung ist.⁷⁴ Im Falle einer PE bei extrauteriner Schwangerschaft führte erst die Entfernung von Trophoblastenmaterial zum Abklingen der Symptome.⁷⁵ Fälle von post partum Eklampsie wurden mit verbleibenden Plazentaresten in Verbindung gebracht.⁷⁶ Die Plazenten von PE-Patientinnen weisen typische, pathologische Zeichen auf, die ebenfalls für eine Plazentabeteiligung sprechen: plazentare Hypoperfusion, Ischämie, akute Atherome, vaskuläre Obstruktionen, Fibrinablagerungen, Endothelschädigungen sowie Plazentainfarkte.⁷⁷

Oft wird die PE als eine Zwei-Phasen-Erkrankung gesehen: die präklinische, asymptomatische Phase mit gestörter Plazentation und die klinische Phase mit generalisierter endothelialer Dysfunktion.^{78, 79}

1.3.1 Gestörte Plazentation

Während normaler früher Plazentaentwicklung invadieren extravillöse Zytotrophoblasten fetalen Ursprungs die uterinen Spiralarterien der Dezidua und des Myometriums. Sie machen dabei die sogenannte Pseudovaskulogenese (auch vaskuläres Mimicry genannt) durch, welche durch den Wechsel vom epithelialen zum endothelialen Phänotyp für Zelloberflächenmoleküle gekennzeichnet ist.⁸⁰ Die Zytotrophoblasten ersetzen so die endotheliale Schicht der Spiralarterien und wandeln diese von kleinen Hochwiderstandsgefäßen zu großkalibrigen

Gefäßen um, die die adäquate Plazentaperfusion und damit die Versorgung des Feten ermöglichen.⁸⁰

Bei der PE ist die Umwandlung der Spiralarterien gestört. Die Zytotrophoblasteninvasion erfolgt nur oberflächlich und die Segmente der Spiralarterien im Myometrium bleiben kleinkalibrig.⁸¹ Bei Frauen mit PE können die Zytotrophoblasten den Wechsel der Oberflächenmoleküle, also das vaskuläre Mimicry, nicht vornehmen, was die fehlerhafte Invasion der Spiralarterien erklären könnte.^{82, 83} Das Ergebnis der gestörten Zytotrophoblasteninvasion ist eine plazentare Minderperfusion und kann im Laufe der Schwangerschaft zu plazentarer Hypoxie und Ischämie führen.⁷³ Es wird diskutiert, ob Hypoxie und Ischämie Ursache oder Folge der fehlerhaften Plazentation darstellen.⁸⁴

Die Frage nach den Ursachen für die Fehlentwicklung der Plazenta kann bisher nicht abschließend beantwortet werden. Es wird von genetischen und immunologischen Faktoren sowie von Umweltfaktoren ausgegangen (siehe Risikofaktoren).

Bezüglich der genetischen Faktoren sei an dieser Stelle auf das Transkriptionsfaktor-Gen STOX1 verwiesen, das mit PE in Verbindung gebracht wurde.^{85, 86}

Aus immunologischer Sicht wird die PE mit einer überschießenden Immunreaktion in Verbindung gebracht: In der normalen Schwangerschaft sind natürliche Killerzellen (NK), Makrophagen und dendritische Zellen an der Immunreaktion der Mutter auf den allogenen Fetus beteiligt. Bei der PE liegen Makrophagen, Chemokine und dendritische Zellen vermehrt vor und führen zur Entstehung eines inflammatorischen Milieus, welches eine immunologische Maladaptation und eine fehlerhafte Zytotrophoblasteninvasion bewirkt.^{87, 88} Des Weiteren wird natürlichen Killerzellen an der fetomaternalen Grenzschicht eine Rolle in dem Krankheitsgeschehen zugesprochen: In genetischen Studien zu Polymorphismen der maternalen NK-Rezeptoren und fetalen Lymphozyten-Rezeptoren wurde die Kombination eines KIR-AA-Genotyps (engl. *killer immunoglobulin receptor*) der Mutter und einem HLA-C2-Genotyp (engl. *fetal human leukocyte antigen*) des Feten mit einem erhöhten Risiko für PE in Verbindung gebracht.^{89, 90}

Oxidativer Stress stellt einen weiteren möglichen Mechanismus zur gestörten Plazentation dar, ist jedoch bezüglich seiner Bedeutung in der Pathogenese der PE bisher nicht eindeutig einzuordnen.⁹¹

1.3.2 Endotheliale Dysfunktion

Die fehlerhafte Plazentation und die Minderperfusion scheinen die Freisetzung verschiedener

löslicher Faktoren zu bewirken, welche schließlich eine systemische, inflammatorische Reaktion der Mutter hervorrufen und somit zur zweiten Phase der Erkrankung führen: Eine generalisierte endotheliale Dysfunktion,^{92, 93} die das klinische Bild der PE begründet.^{94, 95} Der Verlust endothelialer Gefäßtonuskontrolle führt zu Hypertonie, erhöhte glomeruläre Gefäßpermeabilität führt zu Proteinurie.⁹⁶

Als Zeichen der Endothelaktivierung sind Marker wie von-Willebrand-Faktor, zelluläres Fibronectin, löslicher Tissue-Faktor, lösliches E-Selektin, Plättchen-Wachstumsfaktor und Endothelin im Serum verändert.^{97, 98}

Die Hypertonie ist unter anderem auf eine erhöhte Sensitivität für Angiotensin II und für Norepinephrin zurückzuführen.^{99, 100} Die Heterodimerisierung von Bradykininrezeptoren (B2) und Angiotensin II Typ 1 Rezeptoren (AT1) ist ein Mechanismus, der zu erhöhter Sensitivität für Angiotensin II führt,¹⁰¹ während die Bildung von Autoantikörpern gegen den Angiotensin II Typ 1 Rezeptor (AT1-AA) einen weiteren Mechanismus darstellt.^{102, 103} Genannte Autoantikörper verursachen des Weiteren oxidativen Stress und scheinen die Throphlasteninvasion direkt zu hemmen.^{104, 105} Den AT1-AA wird in der Pathogenese der PE eine entscheidende Rolle zugesprochen.

Die in der Niere typischerweise zu beobachtende Läsion ist die sogenannte glomeruläre Endotheliose: Sie zeichnet sich durch Schwellung und Vakuolisierung der Endothelzellen im Glomerulum, Verlust kapillaren Raumes, Ablagerung von Fibrin und Abnahme der glomerulären Fenestrierung aus.^{106, 107} Die beschriebenen Veränderungen führen zu der für die PE typischen Proteinurie.

Grundsätzlich können alle Organe betroffen sein. Typische Läsionen treten neben den Nieren in Leber, Lunge und Gehirn auf und können auf Hypoperfusion sowie kapillares Leck zurückgeführt werden.⁶⁰ Dies führt zu den möglichen Komplikationen HELLP-Syndrom und Eklampsie.

1.3.3 Zirkulierende angiogene und antiangiogene Faktoren

Zirkulierende angiogene Faktoren stellen nach aktuellen Erkenntnissen die Verbindung zwischen fehlerhafter Plazentation und generalisierter endothelialer Dysfunktion dar. Es wurde gezeigt, dass bei der PE die Balance aus angiogenen und antiangiogenen Faktoren gestört ist.¹⁰⁸⁻¹¹⁰ Die angiogenen Faktoren VEGF (engl. *vascular endothelial growth factor*) und PlGF (engl. *placental growth factor*) liegen in freier Form erniedrigt vor,¹¹¹⁻¹¹⁵ während die antiangiogenen Faktoren sFlt1 (engl. *soluble fms-like tyrosine kinase 1*)^{110, 114, 115} und sEng (engl. *soluble Endoglin*)¹¹⁶

erhöht sind.

1.3.3.1 Vascular endothelial growth factor (VEGF)

VEGF hat angiogene, vasodilatatorische und mitogene Eigenschaften. Es dient der Erhaltung der Integrität von endothelialen Zellen reifer mütterlicher Blutgefäße und scheint besonders wichtig zur Stabilisierung und Fenestrierung des Endothels in der Niere, der Leber und dem Gehirn zu sein.^{108, 117, 118} Des Weiteren scheint es in der placentaren Angio- und Vaskulogenese eine Rolle zu spielen.¹¹⁹

VEGF wird unter anderem von Podozyten, Hepatozyten, dem Choroidplexusepithel und von Geweben mit besonders ausgeprägter metabolischer oder sekretorischer Funktion exprimiert.¹²⁰ Es konnte auch in Zytotrophoblasten und sogenannten Hofbauerzellen (ortsständige Makrophagen der Plazenta) nachgewiesen werden.¹¹⁹ Es wirkt über die Rezeptoren VEGF-R1 und VEGF-R2, auch genannt Flt1 und KDR/Flk-1 (engl. *kinase insert domain-containing receptor/fetal liver kinase*), die sich auf Zellen VEGF-exprimierender Gewebe und auf vaskulären und angiogenen Vorläuferzellen befinden.^{120, 121} Es wird von einer para- und autokrinen Wirkweise ausgegangen.^{119, 120}

Der Blockade von VEGF wird eine bedeutende Rolle in der Pathogenese der PE zugesprochen: In VEGF-Knockout-Mäusen konnten Proteinurie und glomeruläre Endotheliose beobachtet werden.¹²² Die Gabe von VEGF-Antikörpern an nicht-trächtige Mäuse verursachte glomeruläre Endothelschäden mit Proteinurie.¹²³ Menschen, die zur antiangiogenen Krebstherapie Anti-VEGF (Avastatin® bzw. Bevacizumab, ein monoklonaler Antikörper zur Antiangiogenese bei Tumoren) einnahmen, entwickelten Bluthochdruck und Proteinurie.^{124, 125}

1.3.3.2 Placental growth factor (PlGF)

PlGF hat strukturelle Ähnlichkeit mit VEGF und stellt einen potenten angiogenen Faktor dar, der die Wirkung von VEGF amplifiziert.¹²⁶ Er wird von der Plazenta sowie von Endothelzellen synthetisiert und bindet vor allem an dem VEGF-R1 (Flt1).¹²⁷

PlGF scheint die Angiogenese in Situationen von Ischämie, Inflammation und Wundheilung zu stimulieren und könnte an dem Entstehungsprozess von Atherosklerose beteiligt sein.^{126, 128}

Im Rattenmodell der Schwangerschaft wurde deutlich, dass die gleichzeitige Blockade von PlGF und VEGF notwendig ist, um ein der PE ähnliches Syndrom hervorzurufen.¹⁰⁸

1.3.3.3 Soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt1)

sFlt1 ist die lösliche, durch alternatives Splicing entstandene Form des membrangebundenen Flt1

und besitzt zwar die extrazelluläre ligandenbindende Domäne, nicht jedoch die transmembranalen, zytoplasmatischen Anteile.^{129, 130} Es wird sowohl von Synzytiotrophoblasten als auch von Monozyten sezerniert und liegt frei im maternalen Serum vor.^{131, 132}

sFlt1 antagonisiert sowohl VEGF als auch PlGF, in dem es sie bindet und eine Interaktion mit ihren membranständigen Rezeptoren verhindert.¹²⁹ sFlt1 wird eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der PE zugesprochen: Bei Frauen mit PE ist eine erhöhte Serumkonzentration von sFlt1 mit der erniedrigten Konzentration von freiem VEGF und PlGF assoziiert.

In einem Tierversuch wurde eine Überexpression von sFlt1 in schwangeren und nicht schwangeren Ratten mittels eines adenoviralen Vektors initiiert, was eine der PE ähnliche Erkrankung provozierte, die durch Hypertonie, Proteinurie und glomeruläre Endotheliose gekennzeichnet war.¹⁰⁸

Die Gene für sFlt1 und Flt1 liegen auf dem Chromosom 13. Dies könnte das vermehrte Auftreten von PE bei Frauen, die ein Kind mit Trisomie 13 austragen, erklären.¹³³ Des Weiteren wurde eine primatenspezifische Variante von sFlt1 entdeckt (sFlt14), die eine besonders hohe Affinität zu VEGF besitzt und den bei PE typischerweise auftretenden Endothelschaden in peripheren Organen bewirken könnte.^{134, 135}

Des Weiteren ist das vermehrte Vorliegen von sFlt1 und somit vermindert frei und wirksam vorliegende PlGF sowie VEGF mit dem Auftreten einer IUGR (*intrauterine growth restriction*, Definition siehe unten) assoziiert.^{136, 137}

Eine Pilotstudie¹³⁸ zur sFlt1-Aphärese bei Frauen mit PE zeigte, dass die extrakorporale Entfernung von sFlt1 zu einer Linderung der Symptome und zur möglichen Verlängerung der Schwangerschaft führte und bekräftigt die zentrale Rolle von sFlt1 in dem Krankheitsgeschehen der PE.

1.3.3.4 Andere pathophysiologische Faktoren

sEng ist eine gekürzte Form von Endoglin, einem Oberflächenrezeptor für TGF- β (engl. *transforming growth factor beta*) und ist bei PE, ähnlich dem sFlt1, hochreguliert.¹¹⁶ Im Rattenmodell amplifiziert sEng den durch sFlt1 verursachten Endothelschaden und führt zu einem Krankheitsbild, das jenem einer schweren PE und dem HELLP-Syndrom ähnlich ist.¹⁰⁹

Interessanterweise ist sEng auch in Schwangerschaften erhöht, die durch SGA (engl. *small for gestational age*), nicht jedoch durch PE gekennzeichnet sind.^{116, 137} Die genaue Bedeutung von sEng im Krankheitsgeschehen der PE und seine Beziehung zu sFlt1 wird erforscht.

NO (engl. *nitric oxide*; Stickstoffmonoxid), welches vasodilatatorische Eigenschaften hat und in der Schwangerschaft den peripheren Gefäßwiderstand reguliert, wird als Mediator von VEGF

und TGF- β gesehen und könnte in die Pathogenese der PE involviert sein.¹³⁹ Bei Patienten mit PE wurde eine veränderte NO-Produktion beobachtet, die mit zirkulierendem sFlt1 und sEng invers korrelierte.¹⁴⁰

1.3.4 Die Bedeutung der angiogenen und antiangiogenen Faktoren für die Diagnose und Prädiktion der Präeklampsie

Bis zum heutigen Tage konnte kein effektiver und verlässlicher Bluttest für PE bestätigt werden.¹⁴¹ Den Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren wird jedoch eine vielversprechende Funktion in der Diagnose und Prädiktion der PE zugesprochen.

Während in der gesunden Schwangerschaft die Serumkonzentration von sFlt1 etwa bis zur 33. SSW gleich bleibt und schließlich bis zur Entbindung stetig ansteigt,^{110, 142} kann bei Frauen, die eine PE entwickeln, bereits ab der 20. SSW eine erhöhte Serumkonzentration nachgewiesen werden.¹¹⁰ Vor der 20. SSW sind keine Unterschiede zwischen Kontrollen und präeklampsischen Schwangerschaften festzustellen.^{114, 143} Signifikante Unterschiede in der Serumkonzentration von sFlt1 zeigen sich bereits 5 bis 6 Wochen vor Auftreten klinischer Symptomatik.^{110, 143, 144} Die Höhe der Serumkonzentration von sFlt1 korreliert dabei mit dem Schweregrad der Erkrankung.^{108, 110, 142}

Für die Serumkonzentration von PlGF gilt in normaler Schwangerschaft ein stetiger Anstieg bis zur 29.-32. SSW, gefolgt von einem Abfall bis zum Ende der Schwangerschaft.^{110, 145} Dieser Abfall wird der Zunahme der sFlt1-Serumkonzentrationen zugeschrieben.¹¹⁰ In Fällen von PE ist die Serumkonzentration von PlGF bereits im frühen zweiten Trimester (10.-11. SSW) niedriger als in gesunder Schwangerschaft.^{110, 111, 114, 145-151} Ein Abfall der Serumkonzentration von PlGF ist bereits 9 bis 11 Wochen vor Auftreten von Hypertonie und Proteinurie zu beobachten, wobei sich ab 5 Wochen vor Beginn der PE ein eindeutiger Abfall bemerkbar macht.¹¹⁰ In einer Studie zu PlGF-Serumkonzentrationen in der 21. bis 32. SSW konnten erniedrigte Werte in Fällen von früh einsetzender PE (vs. spät einsetzende PE), von schwerer PE (vs. milder PE) und von PE mit SGA-Feten vs. PE mit AGA-Feten (engl. *appropriate size for gestational age*) festgestellt werden.¹¹⁰ Die Serumkonzentrationen von PlGF verhalten sich umgekehrt proportional zu dem Schweregrad der Erkrankung.¹⁴⁵

Für die Bestimmung der Serumkonzentrationen von VEGF ist es bedeutsam zu wissen, dass die erhältlichen Testverfahren zum Teil freies, zum Teil gesamtes VEGF messen und somit zu scheinbar voneinander abweichenden Ergebnissen führen: Während die Serumkonzentration von gesamtem VEGF in präeklampsischen Schwangerschaften im Vergleich zu gesunden

Schwangerschaften erhöht ist, ist die Serumkonzentration von freiem, also nicht durch sFlt1 gebundenem und somit wirksamem VEGF hier erniedrigt.¹⁰⁸ Da zudem VEGF vor allem lokal wirkt und der zirkulierende Anteil niedrig ist, ist die Messung von VEGF als diagnostischer Marker der PE nicht als vorteilhaft einzustufen.

Die hier beschriebenen Veränderungen der Serumkonzentrationen von sFlt1 und PlGF zeigen die Möglichkeiten zur Diagnose- und Prädiktionshilfe der PE auf. In diversen Studien wurden die Faktoren diesbezüglich untersucht.^{96, 110, 111, 114, 137, 143-145, 147, 149, 151-157} Es werden unterschiedliche Odds Ratios, Sensitivitäten und Spezifitäten für variierende Cutoff-Werte für PlGF und sFlt1 in verschiedenen Zeitfenstern beschrieben, die insgesamt für eine mögliche Bedeutung in der Diagnose und Prädiktion der PE sprechen. Alle verweisen jedoch auf die Notwendigkeit größerer Studien.

In den genannten Studien wurden die Serum- bzw. Urinkonzentrationen von PlGF und sFlt1 ausschließlich mit einem ELISA (engl., *enzyme linked immunosorbant assay*) von R&D Systems (Minneapolis, Minnesota, USA) bestimmt. In einer Studie wurde ein automatisiertes Immunoassay (Beckman Coulter, Fullerton, California) verwendet, welches jedoch einen noch zu entwickelnden Prototyp darstellte und in weiterer Testung nicht bestehen konnte.¹⁵⁸ In weiteren Studien wurde erstmals ein automatisiertes System (Elecsys®, Roche, Penzberg, Deutschland) verwendet, das bereits auf dem Markt erhältlich ist.¹⁵⁹⁻¹⁶¹

2 Herleitung der Aufgabenstellung

Die PE ist eine schwerwiegende Erkrankung der Schwangerschaft, die mit einer weltweiten Inzidenz von 3-5% auch heute noch eine der Hauptursachen für fetale und maternale Morbidität und Mortalität darstellt. In Entwicklungsländern macht sie 42% der Müttersterblichkeit und 15% der Frühgeburtslichkeit aus. Trotz intensiver Forschung ist die Ursache der PE noch ungeklärt, es wird bisher von einer multifaktoriellen Genese ausgegangen.

Die Diagnosestellung der PE erfolgt durch Messung des arteriellen Blutdrucks und der Proteinausscheidung über den Urin, doch haben sich diese beiden Parameter angesichts atypischer Verlaufsformen der PE als nicht ausreichend erwiesen. Zudem bilden sich maternale und fetale Morbidität und Mortalität durch diese Parameter nur unzureichend ab.

Das klinische Bild der PE reicht von milden, terminnahen Verläufen bis zu schweren, früh auftretenden und rasch voranschreitenden Formen, die eine Beendigung der Schwangerschaft und somit die Entbindung eines unreifen Kindes notwendig machen.

Die frühzeitige Erkennung von Hochrisikopatientinnen ist von großer Bedeutung, da diese von engmaschiger Überwachung und Einweisung in spezialisierte Zentren besonders profitieren. Eine frühe und zuverlässige Diagnosestellung ermöglicht neben der Verordnung von Bettruhe die medikamentöse Behandlung mit Steroiden (zur Induktion der fetalen Lungenreife), Magnesium (zur Krampfprophylaxe) und Antihypertensiva (zur Kontrolle schwerer Hypertonie). Die Veränderungen von angiogenen bzw. antiangiogenen Faktoren im Serum, denen eine Bedeutung in der Pathogenese der PE zugesprochen wird, könnten eine zukünftige Bedeutung in der Diagnosestellung einnehmen. So wurde nachgewiesen, dass bei Frauen mit PE die Serumkonzentration des angiogenen Faktors PlGF erniedrigt ist, während der des antiangiogenen Faktors sFlt1 erhöhte Serumkonzentrationen aufweist. Diese Veränderungen zeigen sich vor Manifestation der Erkrankung und eröffnen die Möglichkeit einer Früherkennung der Erkrankung. PlGF zeigt sich bereits in der 13. – 16. SSW verändert und sFlt1 zeigt frühestens 5 Wochen vor Manifestation der Erkrankung eine Veränderung.

Durch die sich immer eindeutiger abzeichnende Bedeutung von sFlt1 und PlGF in der Diagnose und Prädiktion der PE wird die Notwendigkeit eines validen und im klinischen Alltag schnell durchführbaren Testverfahrens dieser Parameter deutlich. Es stehen ELISA zur Verfügung, die jedoch nur im experimentellen Rahmen eine Rolle spielen können. Bisher wurden kaum Testverfahren für den klinischen Kontext mit breiter Verwendung evaluiert.

In der vorliegenden Arbeit sollen mittels des für den klinischen Alltag entwickelten Elecsys®-

Testsystems (Roche Diagnostics, Penzberg) die Serumkonzentrationen von sFlt1 und PlGF in normaler und präeklampsischer Schwangerschaft bestimmt und verglichen werden.

Im Einzelnen wird folgenden Hypothesen nachgegangen:

- 1) Der automatisierte Elecsys-Test zur Messung von sFlt1 und PlGF unterscheidet signifikant zwischen präeklampsischen und gesunden Schwangerschaften.
 - a) Alle Präeklampsiefälle versus alle Kontrollen.
 - b) Unterformen der Präeklampsie (milde PE, schwere PE, Propf-PE und HELLP) versus alle Kontrollen.
 - c) Unterformen der Präeklampsie (frühe PE und späte PE) versus jeweilige Kontrollen.
- 2) Der Quotient sFlt1/PlGF ist aussagekräftiger als die einzelnen Parameter sFlt1 bzw. PlGF.
- 3) Die Bestimmung eines Cutoff-Wertes für den Quotienten sFlt1/PlGF besitzt einen Nutzen im klinischen Alltag und im Management der PE.

3 Methodik

3.1 Untersuchungsgruppen

Im Rahmen einer Multicenterstudie von Roche Diagnostics (Penzberg, Deutschland) wurden am Charité Campus Virchow Klinikum Berlin von August 2007 bis Juni 2010 Frauen mit Einlingsschwangerschaften in die Studie eingeschlossen. Zunächst wurde die Zustimmung der Ethikkommission eingeholt. Des Weiteren gab jede Probandin vor Teilnahme eine schriftliche Einwilligungserklärung. Zur Erfassung der Hintergrundinformationen jeder Probandin wurde ein einheitliches Protokoll (*Case Report Form*; CRF) verwendet. Insgesamt wurden 338 Probandinnen in die Studie eingeschlossen: hiervon 232 Einlingsschwangerschaften mit normalem Schwangerschaftsverlauf (Kontrollen, siehe Definition unten), 64 Einlingsschwangerschaften mit pathologischem Schwangerschaftsverlauf im Sinne einer PE (Fälle, siehe Definition unten) und 42 Einlingsschwangerschaften mit schwangerschaftsinduzierter Hypertonie (SIH), chronischer Hypertonie (cHT) bzw. Gestationsproteinurie (GP).

Die Frauen wurden bei Aufnahme in den Kreißaal oder im Rahmen der ambulanten Schwangerschaftsberatung auf die Studie aufmerksam gemacht und nach Einholung der schriftlichen Einwilligungserklärung wurden eine Datenerfassung mit Hilfe der CRFs sowie eine Blutentnahme durchgeführt. Bei mehreren Visits zu einer Patientin wurde jeweils nur der erste in die Auswertung einbezogen. So resultieren insgesamt 338 Blutproben, 232 davon von gesunden Frauen (Kontrollgruppe), 64 von Frauen mit PE bzw. HELLP-Syndrom (Fallgruppe) und 18 von Frauen mit SIH, 2 von Frauen mit cHT und 22 von Frauen mit GP.

Einschlusskriterien für die Fallgruppe waren das Vorhandensein der schriftlichen Einwilligungserklärung, maternales Alter > 16 Jahre und das Vorhandensein von PE laut unten aufgeführter Definition. Ausschlusskriterien waren fehlende Einwilligungserklärung, fehlende Daten zur Entbindung, multiple Schwangerschaft, Antiphospholipidsyndrom, systemischer Lupus erythematodes, andere Autoimmunkrankheiten, HIV, chronische Hepatitis und chronische Behandlung mit Kortikosteroiden oder nicht steroidalen Antiinflammatorien außer niedrig dosiertem Aspirin < 150 mg/Tag.

Einschlusskriterien für die Kontrollgruppe waren das Vorhandensein der schriftlichen Einwilligungserklärung, maternales Alter > 16 Jahre und ein normaler Schwangerschaftsverlauf.

Ein normaler Schwangerschaftsverlauf ist hier definiert als Schwangerschaft mit Blutdruck < 140 mmHg systolische bzw. < 90 mmHg diastolisch und einer Proteinausscheidung von < 300 mg/24Std bzw. < „+“ für Protein im U-Stix. Ausschlusskriterien waren die Diagnose einer PE oder eines HELLP-Syndroms bei der Mutter, eine IUGR bei dem Kind und alle weiteren Kriterien, die für die Fallgruppe gelten.

Eine PE wurde nach der „International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP)“¹⁶ definiert. Nach dieser Klassifikation liegt eine PE bei Neuauftreten von Hypertonie und Proteinurie nach der 20. SSW vor. Hypertonie ist definiert als RR \geq 140 mmHg systolisch und/oder \geq 90 mmHg diastolisch in wiederholten Messungen, die mindestens 6 Std., jedoch höchstens 1 Woche auseinander liegen²⁹. Eine signifikante Proteinurie wird definiert als \geq 300 mg Protein/24 Std (oder in Ausnahmefällen ein U-Stix von Protein \geq „+“ in mehr als einem Fall bzw. 30 mg/dL Protein in einer Urinprobe, falls keine 24 Std.-Urinsammlung erfolgen konnte)⁵. Alle Patientinnen, die diese Kriterien erfüllten, wurden in die Fallgruppe eingeschlossen. Für die Auswertung wurde diese weiter unterteilt.

Eine SIH wurde definiert als das alleinige Auftreten von Hypertonie nach der 20. SSW, während ein cHT als Bestehen bzw. Auftreten von Hypertonie vor der 20. SSW definiert wurde. Eine GP wurde definiert als Auftreten von Proteinurie ohne Hypertonie definiert.

Es erfolgte eine Unterteilung der Fallgruppe in milde PE (mPE, n = 31), schwere PE (sPE, n = 20), Propf-PE (pPE, n = 7) und HELLP-Syndrom (HELLP, n = 6). Eine schwere PE wurde nach dem „American Congress of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)“¹⁰ definiert als Symptome einer PE plus eine der folgenden Kriterien: nach der 20. SSW neu aufgetretene Hypertonie von \geq 160 mmHg systolisch und/oder \geq 110 mmHg diastolisch, eine Proteinurie von \geq 5g /24Std, neurologische Symptome (persistierende, schwere Kopfschmerzen, die nicht mit Analgetika zu behandeln sind; persistierende visuelle Störungen), Oligurie von < 0,5 L/24Std, erhöhte Transaminasen (mehr als das Doppelte des höchsten Wertes des Referenzintervalls), Thrombozytopenie von \leq 100 /nL oder IUGR (Definition siehe unten).

Eine Propf-PE wurde nach der „National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy“⁵ definiert als cHT plus eines der folgenden Kriterien: neu aufgetretene Proteinurie nach der 20. SSW, plötzlicher Anstieg der Hypertonie, Auftreten von Thrombozytopenie und/oder erhöhten Transaminasen. Bei vorbestehender Proteinurie wurde ein plötzlicher Anstieg der Proteinurie als eine Propf-PE definiert.

Das HELLP-Syndrom wurde definiert als erhöhte Transaminasen (mehr als das Doppelte des höchsten Wertes des Referenzintervalls), Thrombozytopenie von \leq 100 /nL plus ein Zeichen der

Hämolyse: erhöhtes LDH (mehr als das Doppelte des höchsten Wertes des Referenzintervalls), erhöhtes indirektes Bilirubin von $> 1,2$ mg/dL oder verringertes Haptoglobin von $< 0,3$ g/L.

Als milde PE wurden alle Fälle definiert, auf die die Kriterien der schweren PE, Propf-PE und HELLP-Syndrom nicht zutrafen.

Eine Eklampsie wurde nach der „National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy“⁵ definiert als Krämpfe, die mit einer schwangerschaftsassozierten Hypertonie (SIH) auftreten und auf keine andere Pathogenese zurückzuführen waren. In dieser Studie lag kein Fall einer Eklampsie vor.

Eine IUGR ist nach dem Studienprotokoll definiert als geschätztes Fetalgewicht oder Abdomenumfang < 5 . Perzentile (angepasst an Geschlecht und Ethnie nach den am Klinikum verwendeten Referenztabelle) in Anwesenheit von Oligohydramnion (engl. *amniotic fluid index*, AFI < 10 . Perzentile) oder pathologischem Fluss der Arteria umbilicalis (engl. *pulsatility index*, PI > 95 . Perzentile). Die Gruppe der IUGR wurde in dieser Studie nicht untersucht.

Untergewichtige bzw. zu kleine Neugeborene (engl. *small for gestational age*; SGA) wurden definiert als geschätztes Fetalgewicht oder Abdomenumfang < 5 . Perzentile (angepasst an Geschlecht und Ethnie nach den am Klinikum verwendeten Tabellen) in Abwesenheit einer Pathologie. Die Gruppe der SGA wurde in dieser Studie nicht untersucht.

Eine weitere Unterteilung der gesamten Fallgruppe erfolgte nach dem Zeitpunkt des Auftretens: Alle Fälle mit Beginn der Erkrankung $< 34+0$ SSW wurden als früh einsetzende PE (frPE), alle Fälle $\geq 34+0$ SSW als spät einsetzende PE (spPE) klassifiziert.

Da der früheste eingeschlossene Fall in der 24. SSW (in Tagen 164) auftrat, wurden für alle Vergleiche zwischen Kontrollen und Fällen nur jene Patientinnen eingeschlossen, die frühestens an dem 164. Tag der Schwangerschaft rekrutiert wurden. Somit ergab sich eine Kontrollgruppe von 184 Frauen und insgesamt 35 Frauen mit SIH ($n = 16$), GP ($n = 17$) oder cHT ($n = 2$).

3.2 Untersuchungsmaterial

Das Datum der Blutabnahme wurde im CRF dokumentiert. Die venöse Blutabnahme wurde gemäß den allgemeinen Standardprozeduren in Rückenlage durchgeführt. Alle Schritte wurden ohne Zeitverzögerung durchgeführt, freier Blutfluss unter milder Aspiration wurde sichergestellt, um Hämolyse zu vermeiden.

10ml Blut wurden aus der Kubitalvene in eine Sarstedt S-Monovette oder ein gleichartiges Standardblutabnahmegefäß entnommen. Nach Füllung des Abnehmeröhrchens wurde die Vermischung von Blut und Antikoagulanzen durch dreimaliges Umkehren gewährleistet.

Frühestens 30 min, spätestens 180 min nach der venösen Blutabnahme, wurde das Serum durch Zentrifugation für 10 min bei 2000 x g bei Raumtemperatur in einer ungekühlten Zentrifuge gewonnen.

Das Serum (4-5 ml) wurde mit Hilfe einer Eppendorf Pipette in die Probenröhrchen überführt. Dabei wurde darauf geachtet, das Serum ohne Sediment oder Pellet abzupipettieren.

Die Probenröhrchen wurden zum Einfrieren mit den entsprechenden Serum-Barcodelabels versehen. Das Barcodelabel mit der identischen Patientenummer wurde auf dem entsprechenden CRF aufgeklebt. Das Serum wurde spätestens 6 Std nach der Blutabnahme eingefroren.

Für Lagerung über einen Zeitraum von 2 Wochen hinaus wurden die Proben in einem -80 °C Gefrierschrank untergebracht. Lagerung bei -20 °C erfolgte nur bis zu 2 Wochen.

Die Bestimmung der Konzentrationen von sFlt1 und PlGF einer Probe wurde parallel bestimmt. Die gesamte Messung wurde mit einem Elecsys® MODULAR ANALYTICS E170 durchgeführt. Für jede Probe wurde die sFlt1/PlGF-Ratio errechnet.

3.3 Immunassay

3.3.1 Chemikalien und Geräte: sFlt1

- Streptavidin- beschichtete Mikropartikel (transparente Kappe, 1 Flasche, 6,5 mL) 0,72 mg/mL; Konservierungsmittel.
- Biotinylierte, monoklonale Anti-sFlt1-Antikörper (Maus) (graue Kappe, 1 Flasche, 9 mL) 0,5 mg/L; Phosphatpuffer 100 mmol/L, pH 7,2; Konservierungsmittel.
- Monoklonale Anti-sFlt1-Antikörper (Maus) (schwarze Kappe, 1 Flasche, 9 mL), markiert mit einem Rutheniumkomplex (Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-complex ($\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$) 1,0 mg/L; Phosphatpuffer 100 mmol/L, pH 7,2; Konservierungsmittel.
- Roche Best.-Nr. 05109531190, sFlt1 CalSet für 4 x 1 mL
- Roche Best.-Nr. 05156394190, PreciControl sFlt1, für 2 x 1 mL jew. PreciControl sFlt1 1+2
- Zusätzlich:
- Roche Elecsys® MODULAR ANALYTICS E170
- Allgemein übliche Laborausüstung
- Roche Best.-Nr. 12135019, ProCell M, 2 x 2 L Systempuffer

- Roche Best.-Nr. 12135027, CleanCell M, 2 x 2 L Messzellen-Reinigungslösung
- Roche Best.-Nr. 03023141, PC/CC-Cups, 12 Gefäße zum Vortemperieren von ProCell M und CleanCell M
- Roche Best.-Nr. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 mL Reinigungslösung für den Runabschluss und zum Spülen bei Reagenzwechsel
- Roche Best.-Nr. 03004899, PreClean M, 5 x 600 mL Detektions-Reinigungslösung
- Roche Best.-Nr. 12102137, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 Magazine je 84 Reaktionsgefäße bzw. Pipettenspitzen, Abfallbeutel
- Roche Best.-Nr. 03023150, WasteLiner, Abfallbeutel
- Roche Best.-Nr. 03027651, SysClean Adapter M
- Roche Best.-Nr. 11298500, Elecsys® SysClean, 5 x 100 mL, System-Reinigungslösung

3.3.2 Chemikalien und Geräte: PIGF

- Streptavidin- beschichtete Mikropartikel (transparente Kappe, 1 Flasche, 6,5 mL) 0,72 mg/mL; Konservierungsmittel.
- Biotinylierte, monoklonale Anti-PIGF-Antikörper (Maus) (graue Kappe, 1 Flasche, 8 mL) 0,6 mg/L; Phosphatpuffer 50 mmol/L, pH 6,0; Konservierungsmittel.
- Monoklonale Anti-PIGF-Antikörper (Maus) (schwarze Kappe, 1 Flasche, 8 mL), markiert mit einem Rutheniumkomplex (Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-complex ($\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$) 4,0 mg/L; Phosphatpuffer 50 mmol/L, pH 6,0; Konservierungsmittel.
- Roche Best.Nr. 05144701190, PIGF CalSet, für 4 x 1 mL
- Roche Best.Nr. 05144728190, PreciControl PIGF, für 2 x 1 mL jeweils von PreciControl PIGF 1+2
- Zusätzliche Chemikalien bzw. Geräte siehe unter 3.3.1

3.3.3 Testprinzip

Die durchgeführten Immunassays für sFlt1 und PIGF erfolgen nach selben Prinzip. Der Assay ist ein Sandwich-Assay mit einer Gesamtdauer von 18 min. Während der ersten Inkubation bilden 20 µL der sFlt1-Probe bzw. 50 µL der PIGF-Probe, ein biotinylierter monoklonaler sFlt1- bzw. PIGF-spezifischer Antikörper und ein mit Ruthenium-Komplex markierter monoklonaler sFlt1- bzw. PIGF-spezifischer Antikörper einen Sandwich-Komplex. Während der zweiten Inkubation

wird nach Zugabe von mit Streptavidin beschichteten Mikropartikeln der Komplex durch Biotin-Streptavidin Wechselwirkung an die Festphase gebunden. Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle überführt, wo die Mikropartikel durch magnetische Wirkung an der Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Danach werden die ungebundenen Substanzen mit ProCell entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen. Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt. Diese wird durch eine 2-Punkt-Kalibration und eine über den Reagenzbarcode mitgelieferte Masterkurve gerätespezifisch generiert.

Der Messbereich für sFlt1 ist 10-85.000 pg/mL, mit einer Nachweisgrenze von 10 pg/mL und einer Bestimmungsgrenze von < 15 pg/mL.

Für PIGF ist der Messbereich 3-10.000 pg/mL, mit einer Nachweisgrenze von 3 pg/mL und einer Bestimmungsgrenze von < 10 pg/mL.

3.4 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte unter Anwendung von SPSS für Windows, Version 19,0 SPSS Inc., Chicago, USA.

Zur Testung der einzelnen Parameter auf Normalverteilung wurden die Daten statistisch anhand des Kolmogorov-Tests überprüft. Der Pearson's chi-square-Test wurde verwendet zum Vergleich kategorialer Daten. Zur statistischen Testung kontinuierlich skalierten Variablen wurde der Kruskal-Wallis-Test bzw. Mann-Whitney U-Test verwendet, da die Daten nicht normalverteilt waren.

Zur multivariaten statistischen Analyse der Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer PE bei einem sFlt1/PIGF von mindestens 70 wurde die logistische Regression im Vorwärtsmodell verwendet.

Das statistische Signifikanzniveau wurde als zweiseitiges Alpha von 0,05 definiert, d.h. eine Signifikanz wurde angenommen, wenn der errechnete p-Wert < 0,05 war. Der p-Wert ist ein Maß für die Wahrscheinlichkeit der Null-Hypothese. Die Null-Hypothese besagt, dass zwei zu vergleichende Gruppen hinsichtlich des zu untersuchenden Merkmals vergleichbar sind. Die Null-Hypothese wird abgelehnt, wenn der p-Wert < 0,05 ist. In diesem Fall ist von einem signifikanten Unterschied zwischen den zu vergleichenden Gruppen auszugehen.

4 Ergebnisse

4.1 Patientengruppen: klinische Daten

Um einen Überblick über die untersuchten Gruppen zu bekommen, wurden zunächst die klinischen Daten der gesamte Fallgruppe (n = 64) mit der Kontrollgruppe (n = 184) verglichen. Schließlich erfolgte die Unterteilung der Fallgruppe in milde PE (n = 31), schwere PE (n = 20), Propf-PE (n = 7) und HELLP-Syndrom (n = 6); der Vergleich wurde jeweils zur gesamten Kontrollgruppe gezogen. Eine weitere Unterteilung der Fallgruppe erfolgte in früh einsetzende PE (n = 24) und spät einsetzende PE (n = 40), die jeweils mit einer für das Gestationsalter bei Blutentnahme gematchte frühe (n = 121) und eine späte (n = 63) Kontrollgruppe verglichen wurden.

Die Tabellen 1 und 2 machen deutlich, dass sich die untersuchten Gruppen in ihren Basischarakteristika teils eindeutig unterschieden. Das Alter und die Größe waren insgesamt nicht signifikant unterschiedlich, die Gruppe des HELLP-Syndroms unterschied sich in der Größe als einzige signifikant von der Kontrollgruppe und den anderen Fallgruppen (milde, schwere und Propf-PE). Bei Betrachtung des Gewichts und des BMI vor Schwangerschaft traten im Besonderen die Gruppen der früh einsetzenden PE, der milden PE und der Propf-PE mit signifikant höheren Werten im Vergleich zu den Kontrollen bzw. zu der Gruppe der schweren PE hervor. Der diastolische und systolische Blutdruck war in allen Fallgruppen signifikant höher als in den Kontrollgruppen. Untereinander verglichen waren die Blutdruckwerte der früh einsetzenden PE Gruppe signifikant höher als jene in der spät einsetzenden PE Gruppe, während in der anderen Aufteilung der Fallgruppe vor allem die Gruppen der schweren PE und der Propf-PE mit signifikant höheren Werten des systolischen Blutdrucks hervortraten. Bei Betrachtung von Gestationsalter bei Entbindung und Geburtsgewicht waren signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe vor allem von den Gruppen der früh einsetzenden PE und der schweren PE zu beobachten, wobei sich die früh einsetzende PE Gruppe zusätzlich von der spät einsetzenden PE Gruppe signifikant unterschied und die schwere PE signifikante Unterschiede zu milder PE und Propf-PE aufwies. Zusammenfassend sei festgehalten, dass die Gruppen der früh einsetzenden PE und der schweren PE die schwersten Verläufe der Erkrankung und die damit verbundenen Komplikationen aufwiesen.

Es ist für die Auswertung im Folgenden wichtig darauf hinzuweisen, dass sich das

Tabelle 1: Vergleich klinischer Daten von allen Fällen und den Gruppen milde PE, schwere PE, Propf-PE und HELLP-Syndrom versus alle Kontrollen

	Kontrollen	alle Fälle	milde PE	schwere PE	Propf-PE	HELLP
Alter (Jahre), MW ± SF	30,8 ± 6,3	29,8 ± 6,7	29,5 ± 7,2	30,2 ± 5,7	32,0 ± 7,7	27,5 ± 6,8
Gewicht vor Grav. (Kg), MW ± SF	62,6 ± 11,7	70,9 ± 16,9*	74,7 ± 18,1*	61,8 ± 10,5	81,3 ± 20,3*	67,0 ± 9,7
Größe (cm), MW ± SF	167,0 ± 6,6	167,2 ± 7,4	167,0 ± 6,7	166,4 ± 7,0	164,0 ± 8,6	174,7 ± 7,9 *
Prä-BMI (kg/m²), MW ± SF	22,4 ± 3,6	25,4 ± 6,1*	26,8 ± 6,8*	22,5 ± 3,6	30,0 ± 6,4 *	21,9 ± 2,5
diastolischer Blutdruck (mmHg), MW ± SF	68,0 ± 9,1	96,1 ± 10,9*	94,0 ± 6,4*	101,2 ± 12,6*	94,3 ± 12,7 *	91,7 ± 17,5 *
systolischer Blutdruck (mmHg), MW ± SF	109,3 ± 11,4	148,1 ± 13,8*	143,1 ± 8,9 *	155,4 ± 16,5*	153,4 ± 11,3 *	143,3 ± 17,5 *
Geburtsgewicht (g), MW ± SF	2895,7 ± 903,8	2433,4 ± 1134,4*	3032,9 ± 812,1	1464,1 ± 668,4*	2757,1 ± 1484,3	2189,5 ± 1308,6
SSW bei Geburt (Woche), MW ± SF	37,3 ± 4,0	35,5 ± 4,8*	37,8 ± 3,2	32,5 ± 4,4*	35,3 ± 6,3	33,9 ± 6,2
SSW bei Visit (Woche), MW ± SF	31,8 ± 5,3	34,8 ± 4,9*	36,9 ± 3,4*	31,7 ± 4,6	35,1 ± 6,4	33,7 ± 6,6
PE in voriger Grav., absolute Zahl (%)	Ja 3 (1,6) nein 181 (98,4)	10 (15,6) 54 (84,4)	4 (12,9) 27 (87,1)	- 20 (100,0)	4 (57,1) 3 (42,9)	- 6 (100,0)
PE in Familie, absolute Zahl (%)	Ja 2 (1,1) nein 160 (87,0) unbek. 22 (12,0)	8 (12,5) 48 (75,0) 8 (12,5)	2 (6,5) 24 (77,4) 5 (16,1)	4 (20,0) 15 (75,0) 1 (5,0)	1 (14,3) 4 (57,1) 2 (28,6)	1 (16,7) 5 (83,3) -
Präexistenter DM, absolute Zahl (%)	Ja 1 (0,5) nein 183 (99,5)	4 (6,3) 60 (93,8)	2 (6,5) 29 (93,5)	- 20 (100,0)	2 (28,6) 5 (71,4)	- 6 (100,0)
Rauchverhalten	aktuell 23 (12,5) ehemals 53 (28,8) Nie 103 (56,0) unbek. 5 (2,7)	3 (4,7) 16 (25,0) 44 (68,8) 1 (1,6)	2 (6,5) 4 (12,9) 24 (77,4) 1 (3,2)	- 7 (35,0) 13 (65,0) -	1 (14,3) 2 (28,6) 4 (57,1) -	- 3 (50,0) 3 (50,0) -
n	184	64	31	20	7	6

Angewandte Tests: Mann-Whitney-U-Test bzw. Pearson's chi-square-Test, alle Angaben in absoluten Zahlen (± Standardfehler bzw. Angaben in Prozent), * p<0,05 im Vergleich zu Kontrollen, PE = Präeklampsie, HELLP = haemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count, MW = Mittelwert, SF = Standardfehler, Grav. = Gravidität, BMI = body mass index, prä-BMI = BMI vor Schwangerschaft, SSW = Schwangerschaftswoche, unbek. = unbekannt, DM = Diabetes mellitus, n = Anzahl

Tabelle 2: Vergleich klinischer Daten von früh bzw. spät einsetzender PE versus frühe und späte Kontrollen

		frühe Kontrollen	frPE	späte Kontrollen	spPE
Alter (Jahre), MW ± SF		30,46 ± 6,23	31,0 ± 6,1	31,54 ± 6,34	29,1 ± 7,0
Gewicht vor Grav. (Kg), MW ± SF		61,58 ± 11,6	69,5 ± 17,8 ^A	64,62 ± 11,66	71,7 ± 16,5 ^B
Größe (cm), MW ± SF		166,78 ± 6,7	165,4 ± 8,1	167,39 ± 6,5	168,4 ± 6,8
Prä-BMI (kg/m ²), MW ± SF		22,10 ± 3,69	25,5 ± 6,3 ^A	23,03 ± 3,49	25,3 ± 6,1
diastolischer Blutdruck (mmHg), MW ± SF		66,45 ± 9,04	102,2 ± 11,8 ^{A,C}	71,11 ± 8,49	92,4 ± 8,6 ^B
systolischer Blutdruck (mmHg), MW ± SF		107,07 ± 11,30	156,3 ± 14,3 ^{A,C}	113,65 ± 10,40	143,1 ± 11,0 ^B
Geburtsgewicht (g), MW ± SF		2660,65 ± 958,00	1334,3 ± 813,6 ^{A,C}	3347,14 ± 565,55	3092,9 ± 706,5
SSW bei Geburt (Woche), MW ± SF		36,04 ± 4,22	30,5 ± 4,0 ^{A,C}	39,79 ± 1,80	38,5 ± 2,0 ^B
SSW bei Visit (Woche), MW ± SF		28,62 ± 3,07	29,5 ± 3,5	38,06 ± 2,41	38,0 ± 2,04
PE in voriger Grav., absolute Zahl (%)	ja	-	4 (16,7)	3 (4,8)	4 (10,0)
	nein	121 (100,0)	20 (83,3)	60 (95,2)	36 (90,0)
PE in Familie, absolute Zahl (%)	ja	2 (1,7)	5 (20,8)	-	3 (7,5)
	nein	101 (83,5)	17 (70,8)	59 (93,7)	31 (77,5)
	unbek.	18 (14,9)	2 (8,3)	4 (6,3)	6 (15,0)
Präexistenter DM, absolute Zahl (%)	ja	1 (0,8)	1 (4,2)	-	3 (7,5)
	nein	120 (99,2)	23 (95,8)	63 (100,0)	37 (92,5)
Rauchverhalten	aktuell	15 (12,4)	-	8 (12,7)	3 (7,5)
	ehemals	34 (28,1)	7 (29,2)	19 (30,2)	9 (22,5)
	nie	68 (56,2)	16 (66,7)	35 (55,6)	28 (70,0)
	unbek.	4 (3,3)	1 (4,2)	1 (1,6)	-
Anzahl insgesamt		121	24	63	40

Angewandte Tests: Mann-Whitney-U-Test bzw. Pearson's chi-square-Test, alle Angaben in absoluten Zahlen (\pm Standardfehler bzw. Angaben in Prozent), ^A $p < 0,05$ im Vergleich zu den frühen Kontrollen, ^B $p < 0,05$ im Vergleich zu den späten Kontrollen, ^C $p < 0,05$ im Vergleich zu spät einsetzender Präeklampsie; MW = Mittelwert, SF = Standardfehler; frPE = früh einsetzende Präeklampsie; spPE = spät einsetzende Präeklampsie, PE = Präeklampsie; Grav. = Gravidität, BMI = body mass index, prä-BMI = BMI vor Schwangerschaft, SSW = Schwangerschaftswoche, unbek. = unbekannt, DM = Diabetes mellitus

Gestationsalter bei Blutentnahme in der gesamten Fallgruppe bzw. der Untergruppe milde PE signifikant von jenem der Kontrollgruppe unterschied.

Abschließend ist festzuhalten, dass sich die Fallgruppen in den für die PE relevanten Daten wie BMI, Blutdruck und Proteinurie eindeutig von den Kontrollgruppen unterschieden.

4.2 sFlt1, PIGF und Quotient in der gesunden Schwangerschaft

Um die Werte der Fallgruppe bzw. ihren Untergruppen vergleichen und interpretieren zu können, wurde zunächst eine getrennte Betrachtung der Werte für sFlt1, PIGF und ihrem Quotienten (sFlt1/PIGF) in der gesamten Kontrollgruppe (n = 232, d.h. inklusive jener, die vor dem 164. Tag der Schwangerschaft eingeschlossen wurden) vorgenommen. Dadurch sollte eine Aussage über ihren zeitlichen Verlauf in der gesunden Schwangerschaft möglich gemacht werden. Hierzu wurden Streudiagramme mit Anpassungslinie (quadratisch, mit 5., 50. und 95. Perzentile) erstellt (Abbildungen 1 A-C).

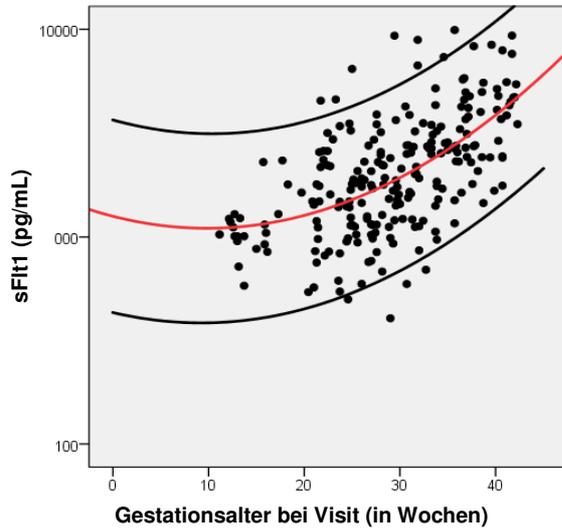
In Abbildung 1 A wird deutlich, dass der gemessene Wert im Serum für sFlt1 etwa bis zur 30. SSW leicht zunahm, während ein deutlich stärkerer Anstieg von hier bis zum Ende der Schwangerschaft festzustellen war. Der Mittelwert \pm Standardfehler lag bei $2455,73 \pm 116,81$ pg/mL (95 % KI 2225,57-2685,88 pg/mL, Minimum 405,90 pg/mL; Maximum 9921,00 pg/mL).

Bei den Serumkonzentrationen von PIGF (Abbildung 1 B) war eine dem sFlt1 annähernd gegenläufige Veränderung zu beobachten: Anstieg bis zur 30. SSW, schließlich rascheres Absinken bis zum Ende der Schwangerschaft. Der Mittelwert \pm Standardfehler lag bei $439,27 \pm 36,75$ pg/mL (95 % KI 366,87-511,68 pg/mL; Minimum 31,44 pg/mL, Maximum 6444,0 pg/mL).

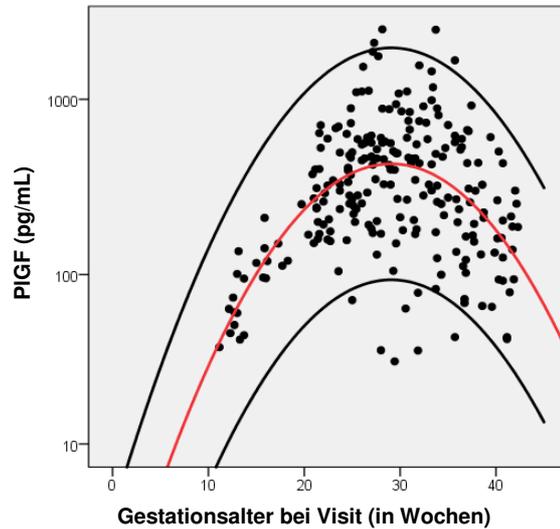
Der sFlt1/PIGF-Quotient (Abbildung 1 C) hatte einen Mittelwert \pm Standardfehler von $16,46 \pm 2,25$ pg/mL (95 % KI 12,02-20,90 pg/mL; Minimum 0,40 pg/mL, Maximum 296,44 pg/mL) und wies in der logarithmischen Darstellungsform einen U-förmigen Verlauf über die Schwangerschaft auf.

Abbildung 1: Serumkonzentrationen von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF in der gesunden Schwangerschaft

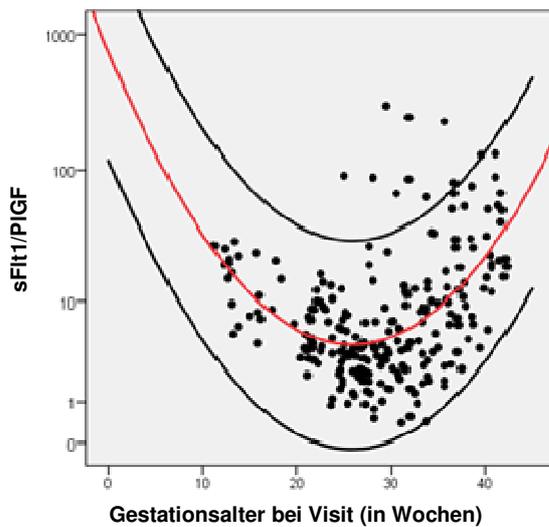
A sFlt1 (alle Kontrollen)



B PIGF (alle Kontrollen)



C sFlt1/PIGF (alle Kontrollen)



Maternale Serumkonzentration von A) sFlt1, B) PIGF und C) dem errechneten Quotienten sFlt1/PIGF im jeweiligen Gestationsalter bei gesunden Schwangerschaften.

Schwarze Punkte = Serumkonzentrationen von Individuen; Linien = Anpassungskurven, quadratisch, mit 5. (untere schwarze Linie), 50. (rote Linie) und 95. (obere schwarze Linie) Perzentil, sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor

4.3 sFlt1, PIGF und Quotient bei Präeklampsie

4.3.1 Vergleich aller Präeklampsie-Fälle mit der Kontrollgruppe

4.3.1.1 Deskriptive Statistik

Zunächst wurde die deskriptive Statistik der Werte für sFlt1, PIGF und ihrem Quotienten von der Kontrollgruppe (n = 184) jener der gesamten Fallgruppe (n = 64) gegenübergestellt (Tabelle 3). Dabei wurden signifikante Unterschiede deutlich: Sowohl sFlt1 als auch der sFlt1/PIGF-Quotient war signifikant erhöht (in pg/mL; sFlt1: Fälle $10887,85 \pm 878,37$ vs. Kontrollen $2684,80 \pm 138,41$, bzw. Quotient: Fälle $276,97 \pm 38,86$ vs. Kontrollen $18,03 \pm 2,82$; jeweils $p < 0,001$), während PIGF in der Fallgruppe signifikant niedriger war (in pg/mL; $67,74 \pm 5,53$ vs. $496,27 \pm 44,96$, $p < 0,001$).

Verglich man die Konzentrationen von sFlt1, PIGF und ihrem Quotienten im Laufe der Schwangerschaft bei Kontrollen und Fällen, so wurde deutlich, dass sich jeweils ein unterschiedliches Profil dabei ergab (siehe Abbildungen 2 A-C).

Um die Bedeutung der jeweiligen Ausreißer bei sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF zu untersuchen, wurden einmalig nur jene Werte ≤ 30.000 für sFlt1, ≤ 2500 für PIGF und ≤ 850 für sFlt1/PIGF mit jenen der Kontrollgruppe verglichen. Auch hier wurde dieses hohe Signifikanzniveau erreicht, was auf einen zu vernachlässigen Einfluss der Ausreißer schließen ließ.

4.3.1.2 ROC-Kurven

Um die diagnostische Genauigkeit mit entsprechender Sensitivität und Spezifität zu untersuchen, wurden ROC-Kurven erstellt (siehe Abbildung 3A-C). Für sFlt1 ergab sich hier eine AUC (*area under the curve*) von 0,92, für PIGF eine AUC von 0,94. Für ihren Quotienten (sFlt1/PIGF) ergab sich die größte AUC von 0,96.

Tabelle 3: deskriptive Statistik der Serumkonzentrationen von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF

		Kontrollgruppe	Fallgruppe	
sFlt1, pg/mL	Mittelwert ± Standardfehler	2684,80 ± 138,41	10887,85 ± 878,37*	
	95% KI des Mittelwerts	Untergrenze	2411,72	9132,56
		Obergrenze	2957,88	12643,14
	5% getrimmtes Mittel	2476,05	10458,27	
	Median	2196,00	8665,50	
	Standardabweichung	1877,45	7026,98	
	Minimum	405,90	292,40	
	Maximum	9921,00	30349,00	
PIGF, pg/mL	Mittelwert ± Standardfehler	496,27 ± 44,96	67,74 ± 5,53*	
	95% KI des Mittelwerts	Untergrenze	407,55	56,70
		Obergrenze	584,98	78,79
	5% getrimmtes Mittel	414,71	63,90	
	Median	342,70	54,44	
	Standardabweichung	609,90	44,23	
	Minimum	31,44	12,73	
	Maximum	6444,00	200,90	
sFlt1/PIGF	Mittelwert ± Standardfehler	18,03 ± 2,82	276,97 ± 38,86*	
	95% KI des Mittelwerts	Untergrenze	12,46	190,31
		Obergrenze	23,59	345,63
	5% getrimmtes Mittel	11,56	225,29	
	Median	5,47	153,59	
	Standardabweichung	38,25	310,89	
	Minimum	0,40	10,02	
	Maximum	296,44	1335,05	

*Angewandter Test: Mann-Whitney-U-Test; alle Angaben in absoluten Zahlen, * p < 0,001 im Vergleich zu der Kontrollgruppe, sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor, KI = Konfidenzintervall*

Abbildung 2: Serumkonzentrationen von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich aller Fälle mit allen Kontrollen

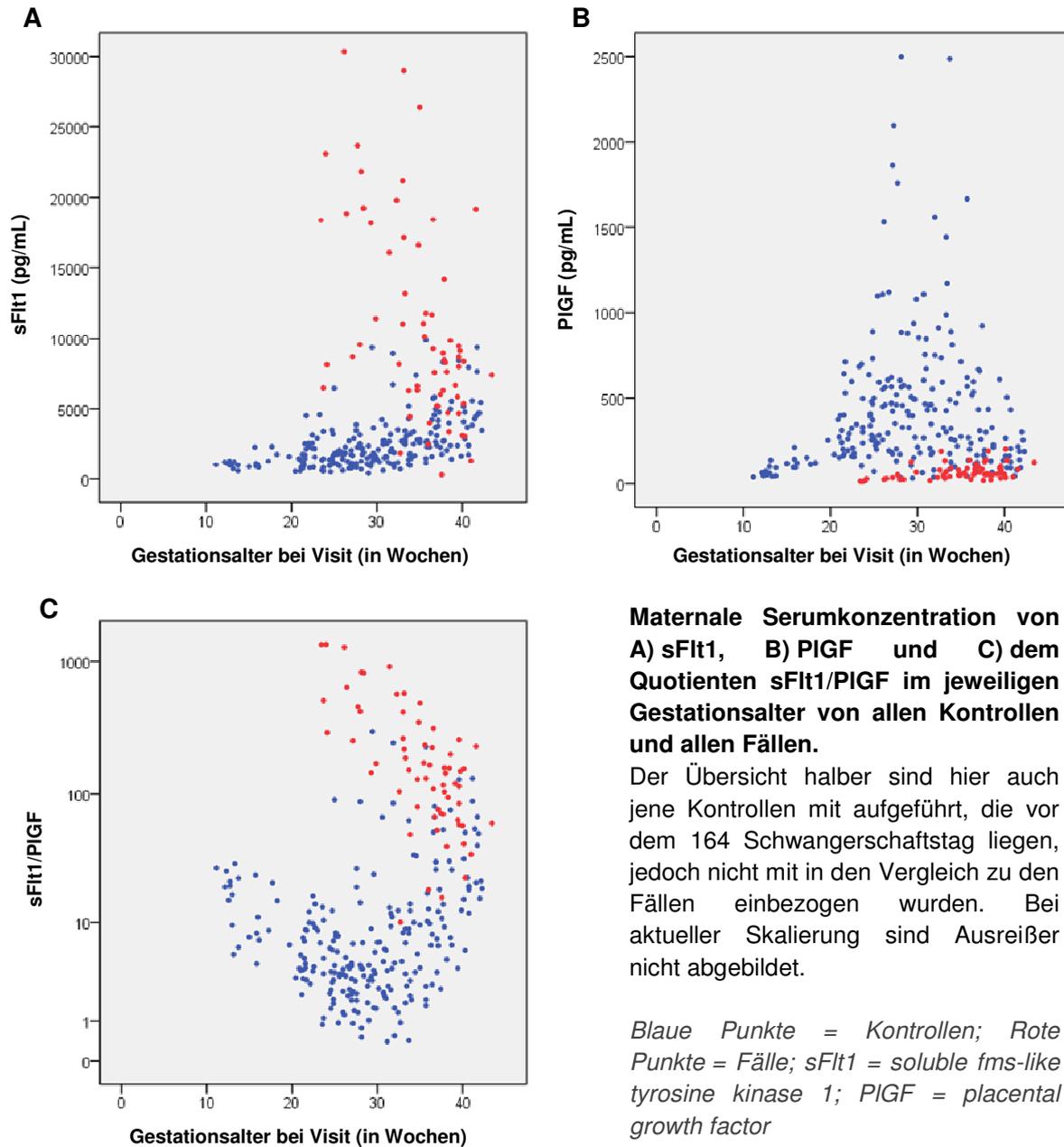
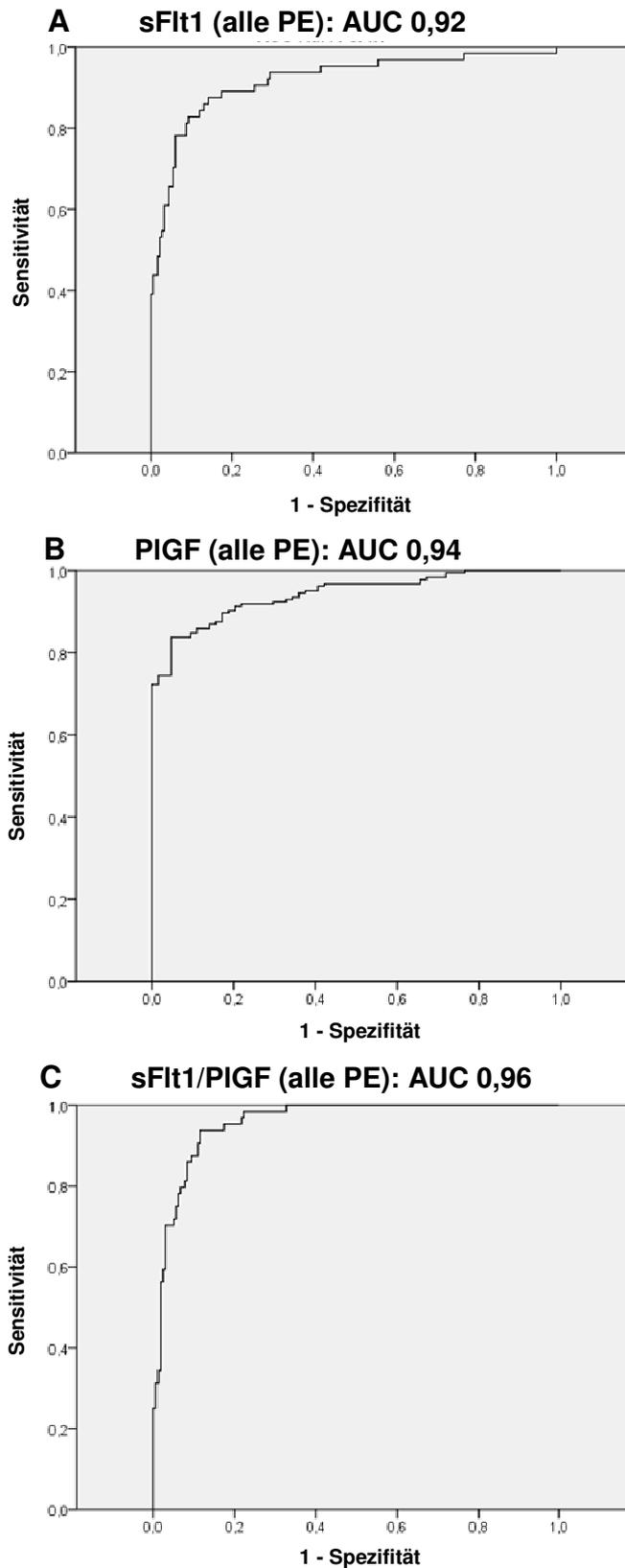


Abbildung 3: ROC-Kurven von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich aller Fälle mit allen Kontrollen



Receiver operating characteristic (ROC) Kurven zur Unterscheidung von gesunden und präeklamp-tischen Schwangerschaften anhand von A) sFlt1, b) PIGF und C) sFlt1/PIGF.

x-Achse = 1-Spezifität bzw. Falsch-Positiv-Rate; y-Achse = Sensitivität bzw. Richtig-Positiv-Rate; PE = Präeklampsie; sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor, AUC = area under the curve

4.3.2 Vergleich chronischer Hypertonus, schwangerschaftsinduzierter Hypertonus, Gestationsproteinurie, milde und schwere Präeklampsie, Propf-Präeklampsie, HELLP-Syndrom und Kontrollgruppe

4.3.2.1 Deskriptive Statistik

Auch für die Untergruppen der PE wurde deskriptive und analytische Statistik durchgeführt, um die Aussagekraft der Marker in den einzelnen Gruppen zu vergleichen. Tabelle 4 zeigt die jeweiligen Mittelwerte (\pm Standardfehler) der einzelnen Gruppen für sFlt1, PIGF und den Quotienten sFlt1/PIGF, Tabelle 5 führt die jeweiligen p-Werte im Vergleich aller Gruppen zueinander auf.

Bei Betrachtung der Tabelle 5 wird deutlich, dass sich bei den Konzentrationen von sFlt1, PIGF und dem Quotienten ein signifikanter Unterschied aller Falluntergruppen im Vergleich zu der Kontrollgruppe abzeichnete (jeweils $p < 0,001$, außer für sFlt1 bei Propf-PE vs. Kontrolle: $p = 0,108$). Auch die Gruppen der SIH und GP unterschieden sich in allen Parametern signifikant von der Kontrollgruppe (SIH: p jeweils $< 0,001$, GP: $p \leq 0,031$). Für die Gruppe der cHT waren dagegen keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe festzustellen.

Im Vergleich der Gruppen cHT, SIH und GP untereinander waren keine signifikanten Unterschiede festzustellen, während im Vergleich dieser zu den Falluntergruppen größtenteils signifikante Unterschiede zu beobachten waren. Eine Ausnahme bildete hier die Gruppe der Propf-PE, die sich nur für PIGF signifikant von den Gruppen der cHT, SIH und GP unterschied. Des Weiteren war für die milde PE kein signifikanter Unterschied für PIGF vs. der Gruppe der SIH festzustellen.

Im Vergleich der Falluntergruppen untereinander war nur im Vergleich milde vs. schwere PE für alle Parameter ein signifikanter Unterschied auszumachen. sFlt1 unterschied des Weiteren signifikant die Gruppen der Propf-PE und des HELLP-Syndroms von der schweren PE, während PIGF die Gruppen der Propf-PE und des HELLP-Syndroms von der milden PE signifikant unterschied. Der Quotient sFlt1/PIGF war zum einen signifikant unterschiedlich im Vergleich der Gruppe der Propf-PE zur Gruppe der schweren PE, zum anderen im Vergleich der Gruppe des HELLP-Syndroms zur Gruppe der milden PE. Die Gruppe der Propf-PE unterschied sich in keinem der Parameter von der des HELLP-Syndroms.

Tabelle 4: sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich der PE-Untergruppen

	Kontroll- gruppe	cHT	SIH	GP	Milde PE	Schwere PE	Propf-PE	HELLP- Syndrom
sFlt1 (pg/mL); MW ± SF	2684,80 ± 138,41	2410,50 ± 1074,50	5270,29 ± 659,75 ^A	4361,31 ± 827,59 ^A	8809,48 ± 897,06 ^{ABCD}	16592,15 ± 1666,86 ^{ABCD}	6602,20 ± 2744,16	7611,67 ± 650,85 ^{ABCD}
PIGF (pg/mL); MW ± SF	496,27 ± 44,96	248,10 ± 82,30	145,38 ± 29,79 ^A	249,91 ± 53,65 ^A	91,69 ± 8,51 ^{ABD}	46,60 ± 6,20 ^{ABCD}	41,01 ± 6,86 ^{ABCD}	45,68 ± 12,48 ^{ABCD}
sFlt1/PIGF; MW ± SF	18,03 ± 2,81	12,53 ± 8,49	71,52 ± 19,31 ^A	77,42 ± 31,71 ^A	137,40 ± 26,99 ^{ABCD}	497,36 ± 90,89 ^{ABCD}	202,84 ± 109,68 ^A	253,96 ± 71,97 ^{ABCD}
n	184	2	16	17	31	20	7	6

Angewandter Test: Mann-Whitney-U-Test; alle Angaben in absoluten Zahlen (MW = Mittelwert ± SF = Standardfehler), ^A p ≤ 0,05 im Vergleich zu Kontrollen; ^B p ≤ 0,05 im Vergleich zu cHT; ^C p ≤ 0,05 im Vergleich zu SIH; ^D p ≤ 0,05 im Vergleich zu GP; PE = Präeklampsie, cHT = chronische Hypertonie, SIH = schwangerschaftsinduzierte Hypertonie, GP = Gestationsproteinurie, HELLP = haemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count, sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor; n = Anzahl

Tabelle 5: p-Werte für sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich aller Gruppen zueinander

p-Werte: sFlt1	cHT	SIH	GP	milde PE	schwere PE	Propf- PE	HELLP- Syndrom
Kontrolle	0,979	< 0,001	0,031	< 0,001	< 0,001	0,108	< 0,001
cHT		0,092	0,425	0,023	0,030	0,558	0,046
SIH			0,168	0,009	< 0,001	0,894	0,046
GP				0,001	< 0,001	0,634	0,017
milde PE					< 0,001	0,110	0,869
schwere PE						0,006	0,005
Propf-PE							0,199
p-Werte: PIGF	cHT	SIH	GP	milde PE	schwere PE	Propf- PE	HELLP- Syndrom
Kontrolle	0,460	< 0,001	0,010	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
cHT		0,206	0,790	0,035	0,022	0,040	0,046
SIH			0,368	0,121	< 0,001	0,004	0,027
GP				0,044	< 0,001	0,001	0,010
milde PE					< 0,001	0,006	0,015
schwere PE						0,912	0,903
Propf-PE							0,886
p-Werte: sFlt1/PIGF	cHT	SIH	GP	milde PE	schwere PE	Propf- PE	HELLP- Syndrom
Kontrolle	0,544	< 0,001	0,009	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
cHT		0,122	0,507	0,029	0,022	0,079	0,046
SIH			0,235	0,022	< 0,001	0,256	0,004
GP				0,005	< 0,001	0,061	0,006
milde PE					< 0,001	0,749	0,048
schwere PE						0,015	0,114
Propf-PE							0,253

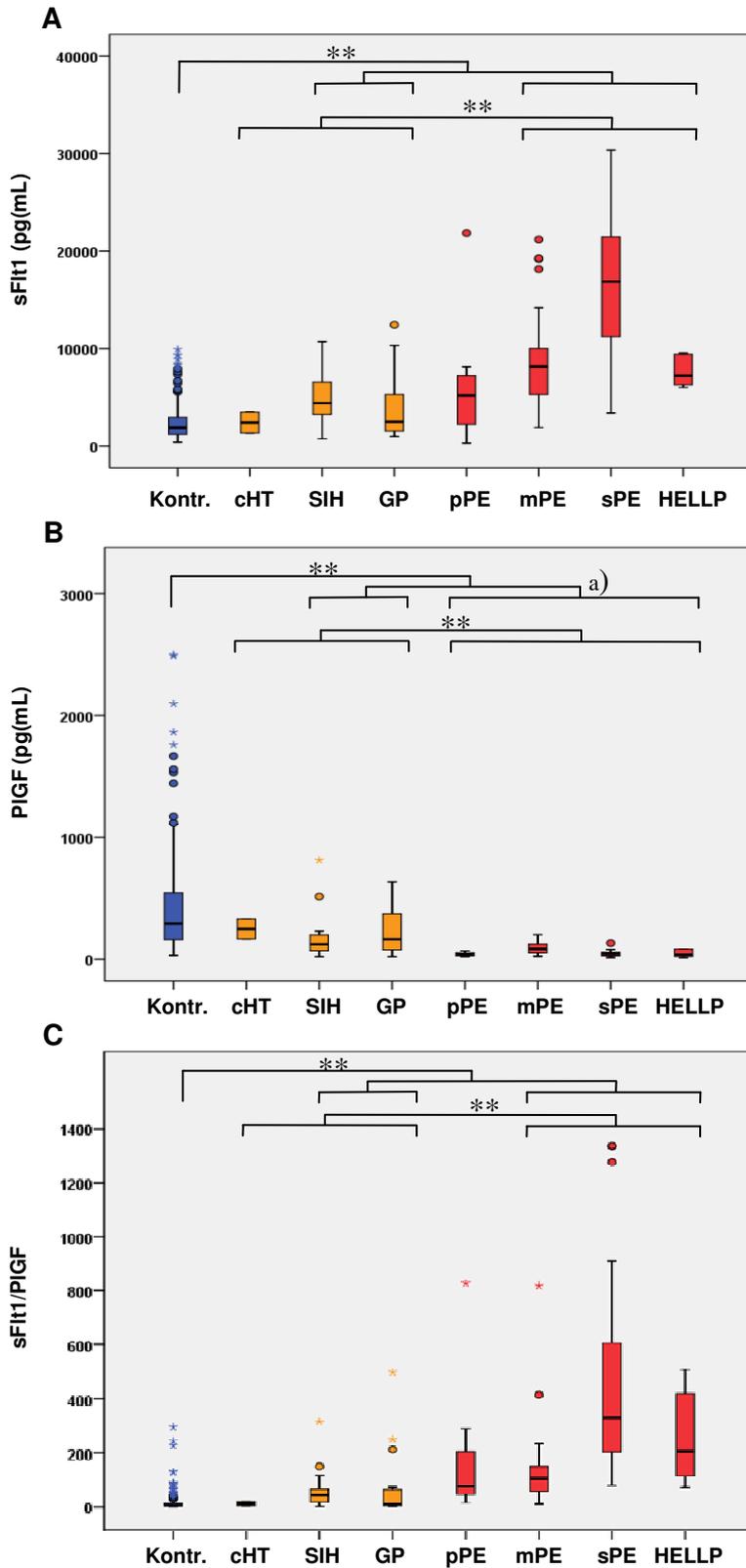
Angewandter Test: Mann-Whitney-U-Test, PE = Präeklampsie, cHT = chronische Hypertonie, SIH = schwangerschaftsinduzierte Hypertonie, GP = Gestationsproteinurie; HELLP = haemolysis, elevated liver enzymes level, low platelet count, sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor

Insgesamt ist somit vor allem die Gruppe der schweren PE herauszuheben, die von allen Gruppen die höchsten Werte für sFlt1 und den Quotienten aufzeigte, während die Gruppe der Propf-PE die niedrigsten Werte für PlGF aufzeigte. Eine Übersicht gibt die Abbildung 4 A-C in Boxplots.

4.3.2.2 ROC-Kurven

Wie bereits im Vergleich aller Fälle vs. Kontrollen wurden auch für die Unterteilung der Fallgruppe in milde PE, schwere PE, Propf-PE und HELLP-Syndrom ROC-Kurven erstellt, um die diagnostische Aussagekraft zu testen (Abbildungen 5-8). Hierbei ergaben sich für den Quotienten sFlt1/PlGF jeweils im Vergleich zu den Kontrollen AUC-Werte von 0,93 bei Propf-PE, 0,94 bei milder PE, 0,99 bei schwerer PE und 0,98 bei HELLP-Syndrom. Damit lagen die AUC für den Quotienten insgesamt höher als jeweils für sFlt1 und PlGF, eine Ausnahme bildete die Propf-PE (AUC für jeweils: Propf-PE vs. Kontrolle: sFlt1 0,68 und PlGF 0,98, milde PE vs. Kontrolle: sFlt1 0,92 und PlGF 0,91, schwere PE vs. Kontrolle: sFlt1 0,98 und PlGF 0,97, HELLP-Syndrom vs. Kontrolle: sFlt1 0,96 und PlGF 0,97).

Abbildung 4: Boxplots der Serumkonzentrationen von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich von PE-Untergruppen, SIH, cHT, GP und Kontrollen



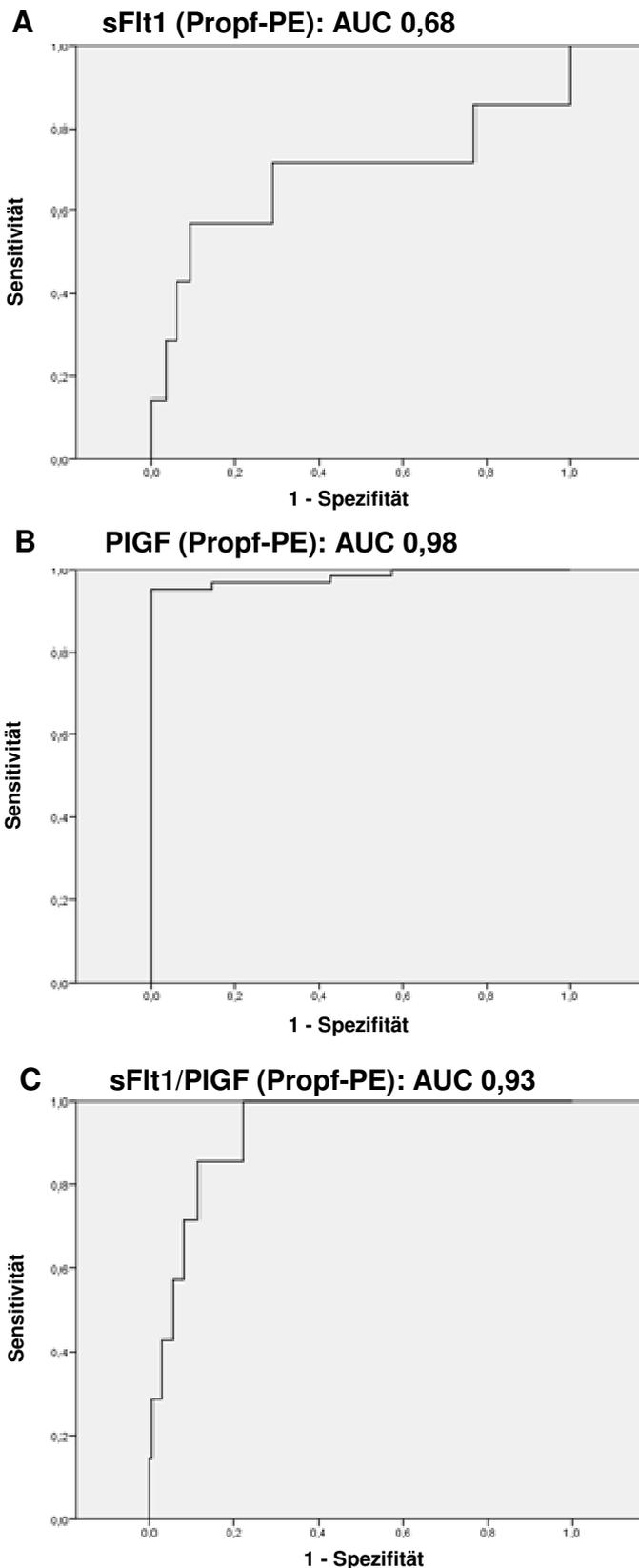
Boxplots der Verteilung der Serumkonzentrationen von A) sFlt1, B) PIGF und C) des sFlt1/PIGF-Quotienten in cHT, SIH, GP, Propf-PE, milder PE, schwerer PE und HELLP-Syndrom.

2 Frauen mit cHT, 16 Frauen mit SIH, 17 Frauen mit GP, 31 Frauen mit milder PE, 20 Frauen mit schwerer PE, 7 Frauen mit Propf-PE und 6 Frauen mit HELLP-Syndrom wurden mit den Kontrollen (n = 184) verglichen.

Boxen = Interquartilsabstand (IQA); Schweife = 1,5-fache des IQA; Mittellinie = Median, Kreise = Ausreißer, Sterne = Extreme, PE = Präeklampsie, sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor, Kontr. = Kontrollen, cHT = chronische Hypertonie, SIH = schwangerschaftsinduzierte Hypertonie, GP = Gestationsproteinurie, pPE = Propf-PE, mPE = milde PE, sPE = schwere PE, HELLP = haemolysis, elevated liver enzymes level, low platelet count.

** $p < 0,05$, ^{a)} außer milde PE vs. SIH, genaue p-Werte in Tabelle 5 (siehe oben).

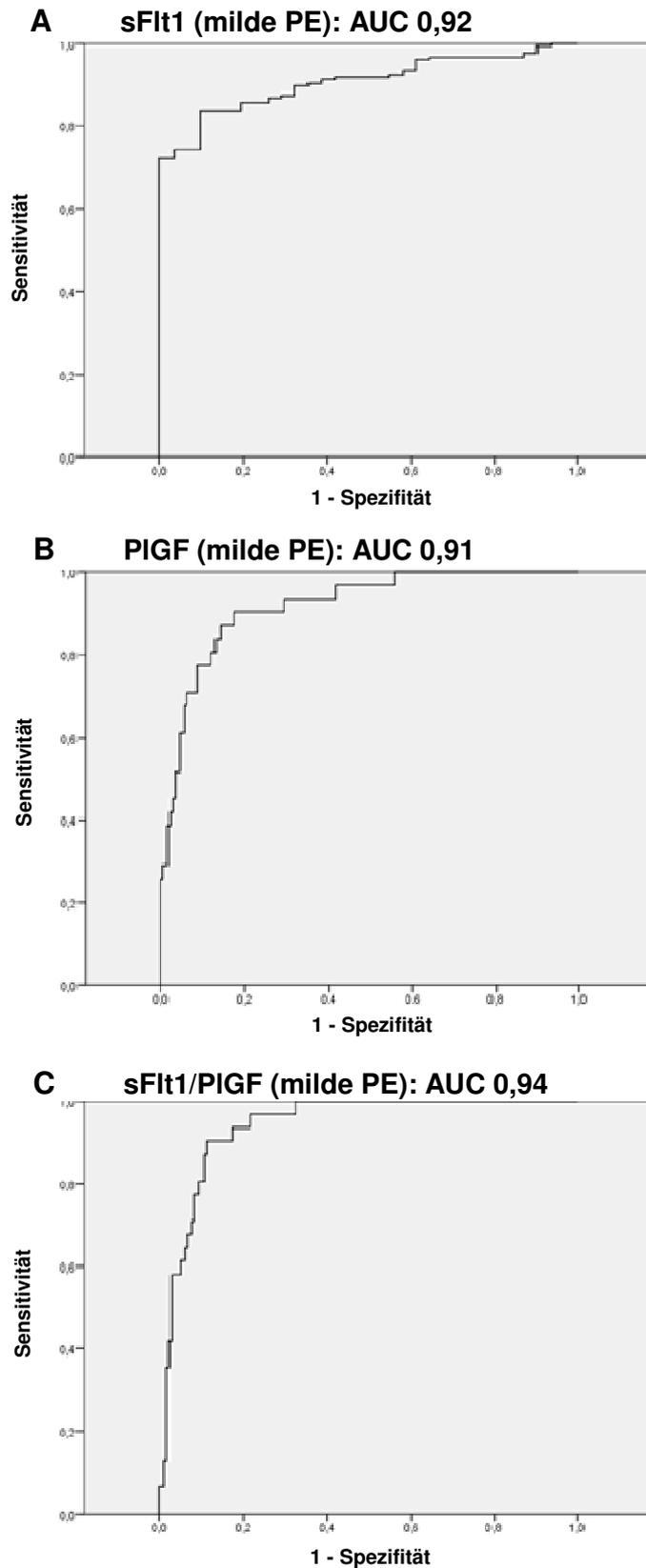
Abbildung 5: ROC-Kurven von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich Propf-PE vs. Kontrollen



Receiver operating characteristic (ROC) Kurven zur Unterscheidung von gesunden Schwangerschaften und jenen mit Propf-PE anhand von A) sFlt1, b) PIGF und C) sFlt1/PIGF.

x-Achse = 1-Spezifität bzw. Falsch-Positiv-Rate; y-Achse = Sensitivität bzw. Richtig-Positiv-Rate; PE = Präeklampsie, sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor, AUC = area under the curve

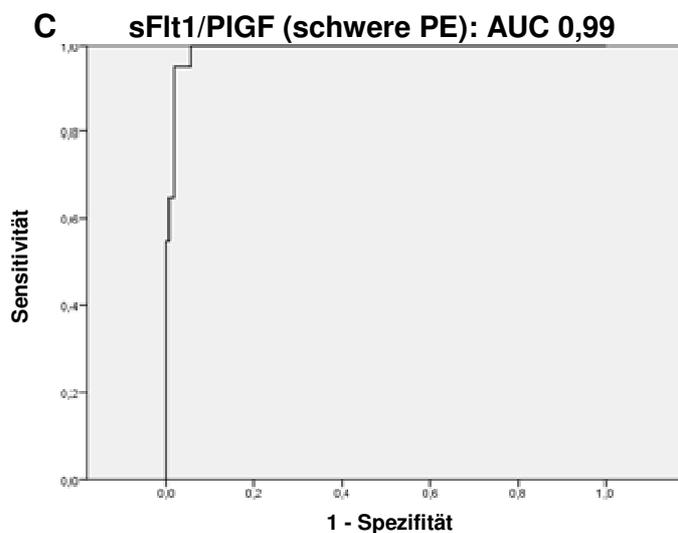
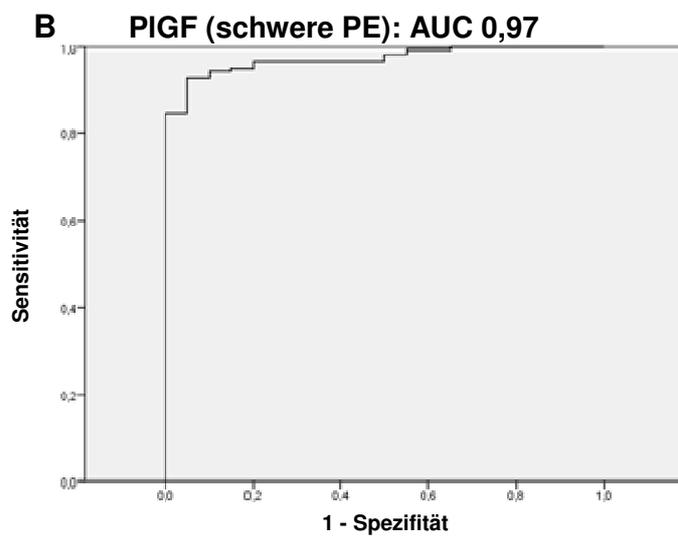
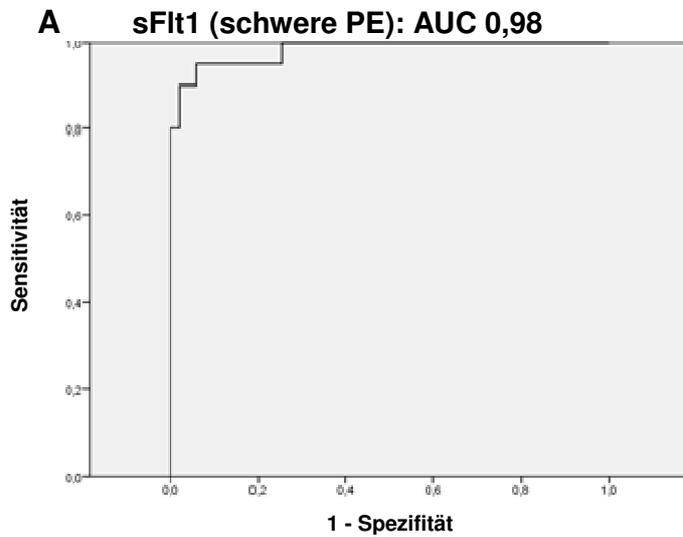
Abbildung 6: ROC-Kurven von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich milde PE vs. Kontrollen



Receiver operating characteristic (ROC) Kurven zur Unterscheidung von gesunden Schwangerschaften und jenen mit milder PE anhand von A) sFlt1, b) PIGF und C) sFlt1/PIGF.

x-Achse = 1-Spezifität bzw. Falsch-Positiv-Rate; y-Achse = Sensitivität bzw. Richtig-Positiv-Rate; PE = Präeklampsie, sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor, AUC = area under the curve

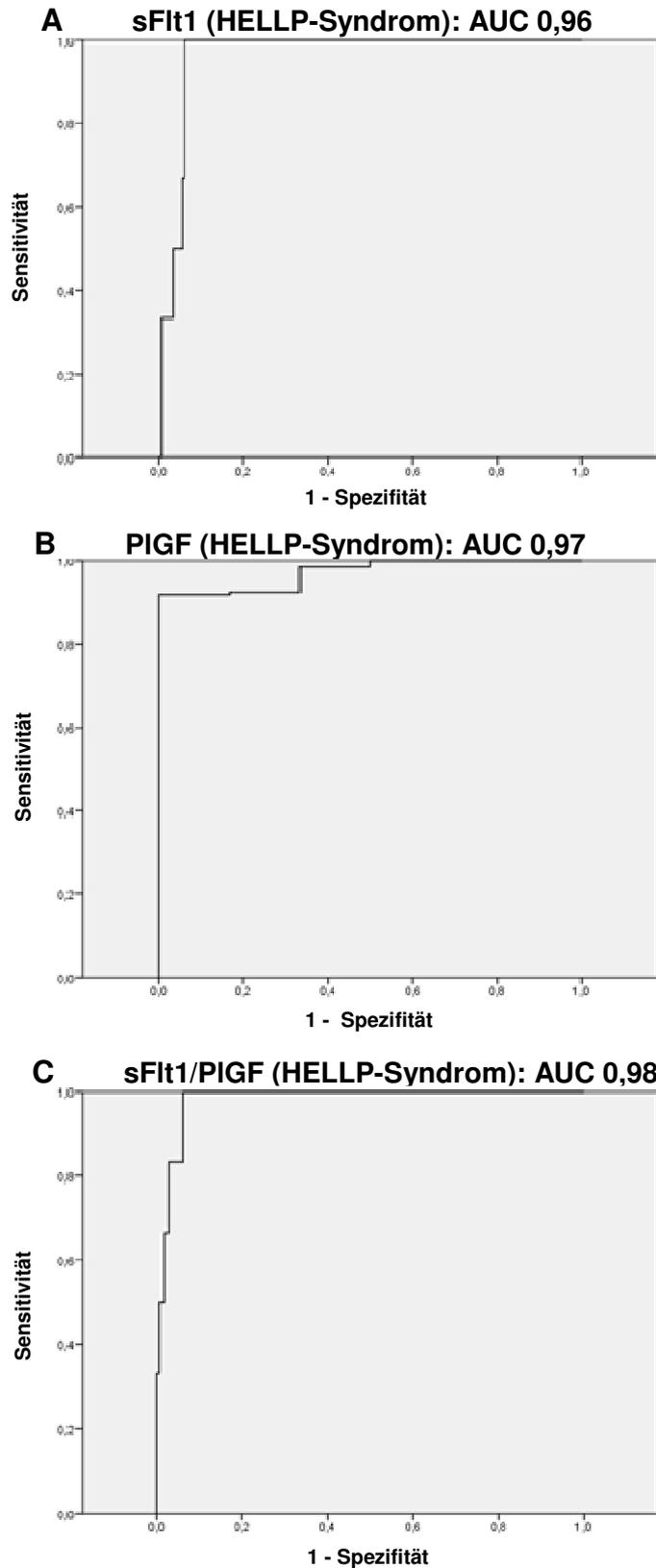
Abbildung 7: ROC-Kurven von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich schwere PE vs. Kontrollen



Receiver operating characteristic (ROC) Kurven zur Unterscheidung von gesunden Schwangerschaften und jenen mit schwerer PE anhand von A) sFlt1, b) PIGF und C) sFlt1/PIGF.

x-Achse = 1-Spezifität bzw. Falsch-Positiv-Rate; y-Achse = Sensitivität bzw. Richtig-Positiv-Rate; PE = Präeklampsie, sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor, AUC = area under the curve

Abbildung 8: ROC-Kurven von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich HELLP-Syndrom vs. Kontrollen



Receiver operating characteristic (ROC) Kurven zur Unterscheidung von gesunden Schwangerschaften und jenen mit HELLP-Syndrom anhand von A) sFlt1, b) PIGF und C) sFlt1/PIGF.

x-Achse = 1-Spezifität bzw. Falsch-Positiv-Rate; y-Achse = Sensitivität bzw. Richtig-Positiv-Rate; HELLP = haemolysis, elevated liver enzymes level, low platelet count, sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor, AUC = area under the curve

4.3.3 Vergleich früh bzw. spät einsetzende Präeklampsie und jeweilige Kontrollgruppe

4.3.3.1 Deskriptive Statistik

Um die Bedeutung von der Messung von sFlt1, PlGF und ihrem Quotienten in der Unterscheidung früh und spät einsetzender PE zu untersuchen, wurde deskriptive und analysierende Statistik durchgeführt (Tabelle 6).

Tabelle 6: sFlt1, PlGF und Quotient bei früh und spät einsetzender PE

	frühe Kontrollen	frPE	späte Kontrollen	spPE
sFlt1 (pg/mL); MW ± SF 95% KI	2060,88 ± 131,14 1801,25 – 2320,52	15249,21 ± 1573,53 ^{A C} 11994,12 – 18504,30	3883,13 ± 256,90 ^A 3369,59 – 4396,66	8271,04 ± 806,10 ^B 6640,55 – 9901,52
PlGF (pg/mL); MW ± SF 95% KI	595,46 ± 64,25 468,25 – 722,67	52,23 ± 8,95 ^{A C} 33,71 – 70,75	305,75 ± 34,52 ^A 236,74 – 374,76	77,05 ± 6,69 ^B 63,52 – 90,58
sFlt1/PlGF; MW ± SF 95% KI	12,31 ± 3,38 5,62 – 19,00	496,73 ± 81,95 ^{A C} 327,21 – 666,25	29,01 ± 4,81 ^A 19,40 – 38,63	130,72 ± 15,46 ^B 99,45 – 161,99
n	121	24	63	40

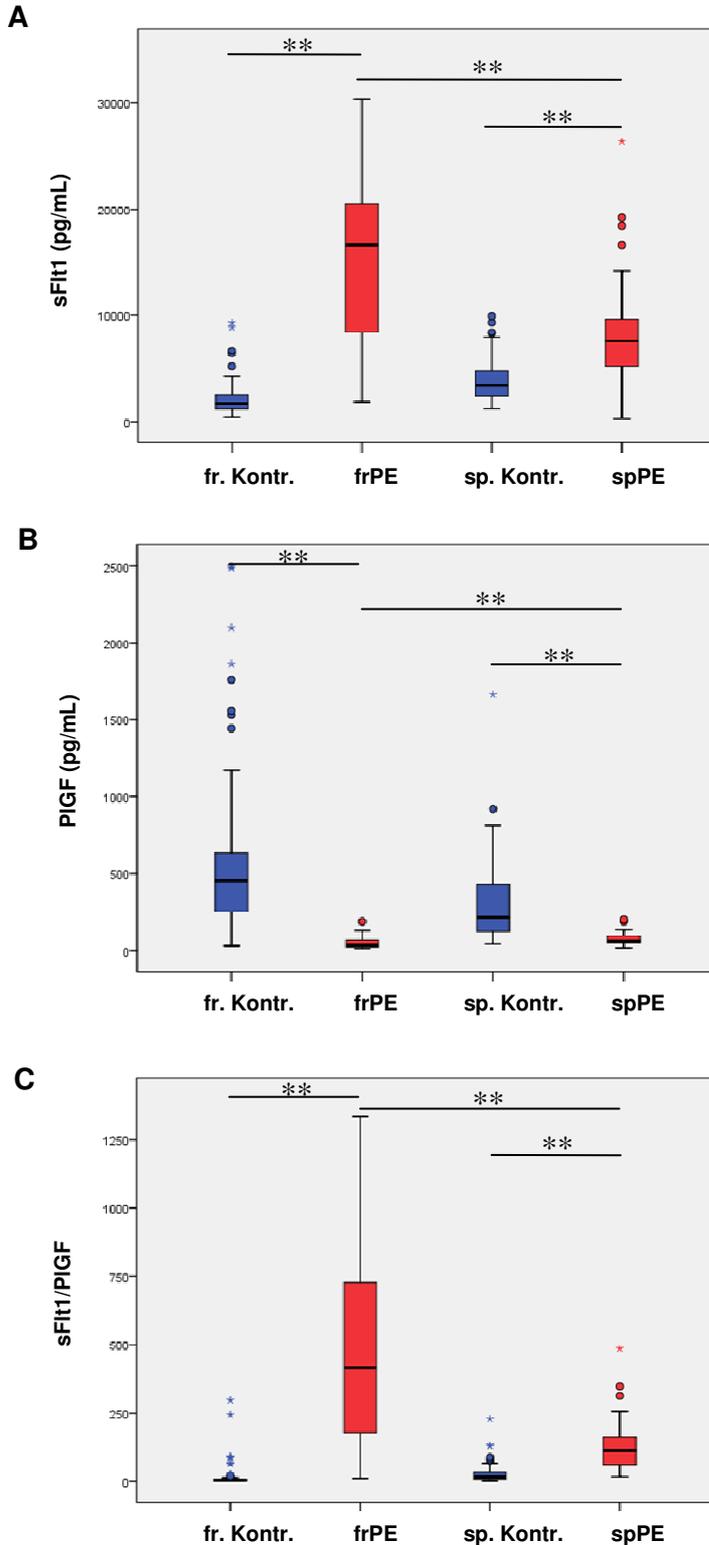
Angewandter Test: Mann-Whitney U; alle Angaben in absoluten Zahlen (MW = Mittelwert ± SF = Standardfehler); ^A p < 0,001 im Vergleich zu frühen Kontrollen; ^B p < 0,001 im Vergleich zu späten Kontrollen; ^C p < 0,002 im Vergleich zu spät einsetzender Präeklampsie; frPE = früh einsetzende Präeklampsie, spPE = spät einsetzende Präeklampsie, sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PlGF = placental growth factor; KI = Konfidenzintervall; n = Anzahl

Vergleich man hier die Konzentrationen der Parameter (Tabelle 6), so ergaben sich zunächst im Vergleich beider Fallgruppen zur jeweiligen Kontrollgruppe signifikante Unterschiede (Mittelwerte ± Standardfehler; jeweils p < 0,001): **sFlt1 (in pg/mL)** 15249,21 (frPE) vs. 2060,88 (frühe Kontrollgruppe) und 8271,04 (spPE) vs. 3883,13 (späte Kontrollgruppe); **PlGF (in pg/mL)** 52,23 (frPE) vs. 595,46 (frühe Kontrollgruppe) und 77,05 (spPE) vs. 305,75 (späte Kontrollgruppe); **sFlt1/PlGF** 496,73 (frPE) vs. 12,31 (frühe Kontrollgruppe) und 130,72 (spPE) vs. 29,01 (späte Kontrollgruppe). Im Vergleich beider Fallgruppen untereinander ergab sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied: sFlt1 und sFlt1/PlGF jeweils p < 0,001 bzw. PlGF p = 0,002. Abbildungen 9A-C veranschaulichen diesen Zusammenhang in Form von Boxplots.

4.3.3.2 ROC-Kurven

Um die diagnostische Genauigkeit der Messung von sFlt1 und PlGF bzw. ihres Quotienten zu überprüfen, wurden für die Gruppen frPE und spPE ROC-Kurven erstellt (Abbildungen 10 A-C und 11 A-C). Die Werte für die AUC von sFlt1 bzw. PlGF betragen 0,98 bzw. 0,97 (frPE vs. frühe Kontrollen) und 0,82 bzw. 0,88 (spPE vs. späte Kontrollen). Für den Quotienten sFlt1/PlGF ergaben sich die vergleichsweise größten Werte für die AUC: 0,99 in der Gruppe der frPE vs. frühe Kontrollen, 0,91 für die Gruppe von spPE vs. späte Kontrollen.

Abbildung 9: Boxplots der Serumkonzentrationen von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich früh bzw. spät einsetzende PE mit jeweiligen Kontrollen

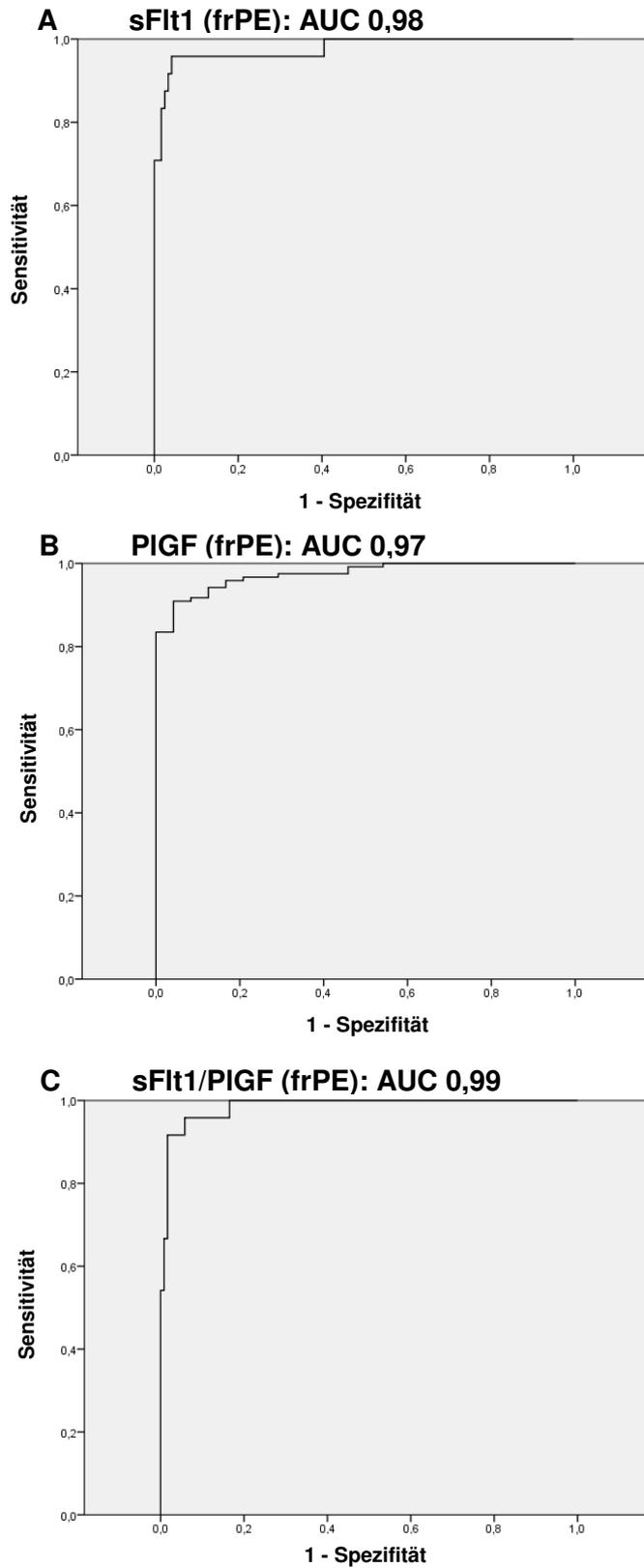


Boxplots der Verteilung von A) sFlt1, B) PIGF und C) des sFlt1/PIGF-Quotienten bei früh bzw. spät einsetzender PE und jeweiligen Kontrollen.

24 Frauen mit früh einsetzender PE wurden mit 115 Kontrollen desselben mittleren Gestationsalters und 40 Frauen mit spät einsetzender PE wurden mit 63 Kontrollen desselben mittleren Gestationsalters verglichen.

*Boxen = Interquartilsabstand (IQA); Schweife = 1,5-fache des IQA; Mittellinie = Median, Kreise = Ausreißer, Sterne = Extreme, fr. Kontr. = frühe Kontrollen, frPE = früh einsetzende Präeklampsie; sp. Kontr. = späte Kontrollen, spPE = spät einsetzende PE; sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor. ** $p < 0,001$*

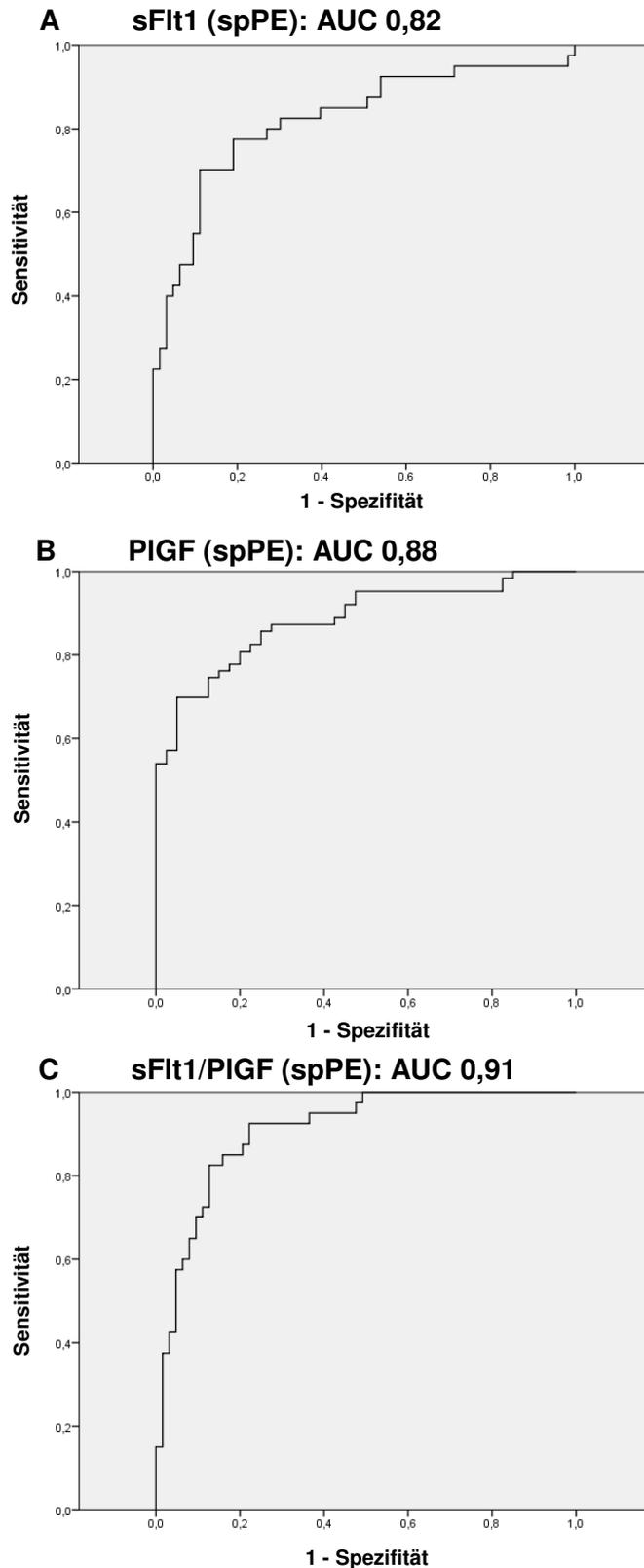
Abbildung 10: ROC-Kurven von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich früh einsetzende PE mit frühen Kontrollen



Receiver operating characteristic (ROC) Kurven zur Unterscheidung von gesunden Schwangerschaften und jenen mit früh einsetzender PE anhand von A) sFlt1, b) PIGF und C) sFlt1/PIGF

x-Achse = 1-Spezifität bzw. Falsch-Positiv-Rate; y-Achse = Sensitivität bzw. Richtig-Positiv-Rate; PE = Präeklampsie; frPE = früh einsetzende Präeklampsie; sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor, AUC = area under the curve

Abbildung 11: ROC-Kurven von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF im Vergleich spät einsetzende PE mit späten Kontrollen



Receiver operating characteristic (ROC) Kurven zur Unterscheidung von gesunden Schwangerschaften und jenen mit spät einsetzender PE anhand von A) sFlt1, b) PIGF und C) sFlt1/PIGF

x-Achse = 1-Spezifität bzw. Falsch-Positiv-Rate; y-Achse = Sensitivität bzw. Richtig-Positiv-Rate; PE = Präeklampsie; spPE= spät einsetzende Präeklampsie; sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor, AUC = area under the curve

4.4 Cutoff-Werte

4.4.1 Spezifitäten und Sensitivitäten

Um ein praktikables Umgehen mit dem Quotienten sFlt1/PIGF zu gewährleisten, wurde ein Cutoff-Wert berechnet. Ziel dabei war, eine Spezifität von etwa 95 % zu erreichen. Anhand der bestimmten ROC-Kurven wurde so ein Cutoff-Wert von 70 (sFlt1/PIGF) bestimmt. Für den Vergleich aller Fälle vs. Kontrollen erreichte der Cutoff-Wert von 70 (sFlt1/PIGF) eine Spezifität von 94,0 % bei einer Sensitivität von 78,1 %. Für den Vergleich von frPE vs. frühe Kontrollen ergab sich für den selben Cutoff eine Spezifität von 95,9 % und eine Sensitivität von 91,7 %, während im Vergleich spPE vs. späte Kontrollen eine Spezifität von 90,5 % bei einer Sensitivität von 70,0 % erreicht werden konnte.

Da die Gruppen Propf-PE, milde PE, schwere PE und HELLP-Syndrom mit derselben Kontrollgruppe verglichen wurden, ergaben sich für den Cutoff von 70 (sFlt1/PIGF) jeweils eine gleiche Spezifität von 94,0 % bei Sensitivitäten von 57,1 % (Propf-PE), 64,5 % (milde PE), 100 % (schwere PE) und 100 % (HELLP-Syndrom).

4.4.2 Logistische Regression

Schließlich wurde eine logistische Regression in Vorwärtsselektion durchgeführt, um die Einflussfaktoren auf den Quotienten zu überprüfen (siehe Tabelle 7). Dazu wurde das Patientengut in zwei Gruppen eingeteilt: Gruppe 1 mit Werten für sFlt1/PIGF < 70 und Gruppe 2 mit Werten von sFlt1/PIGF ≥ 70 . Es wurde mit folgenden Faktoren adjustiert: Alter (in Jahren), Rauchverhalten (nie, ehemals, aktuell), BMI (in kg/m^2) vor der Schwangerschaft, PE in vorangegangener Schwangerschaft (ja/nein), präexistenter Diabetes (ja/nein), systolischer und diastolischer Blutdruck (in mmHg), Gestationsalter bei Blutentnahme (in Wochen), Gestationsalter bei Entbindung (in Wochen), Gewicht des Neugeborenen (in g) und pathologischer Outcome (ja/nein). Die Familienanamnese zur PE wurde angesichts 34 fehlender Angaben nicht einbezogen.

Tabelle 7: Logistische Regression in Vorwärtsselektion; Cutoff von 70 (sFlt1/PIGF)

Cutoff sFlt1/PIGF 70	Differenz	p-Wert	Odds Ratio	95% KI
PE	ja/nein	0,001	15,69	3,23 – 76,35

PE = Präeklampsie; sFlt1 = soluble fms-like tyrosine kinase 1; PIGF = placental growth factor, KI = Konfidenzintervall

Die Tabelle 7 zeigt, dass bei einem Wert von über 70 für den Quotienten sFlt1/PIGF unabhängig von allen in die Regressionsanalyse einbezogenen möglichen Einflussfaktoren eine fast 16-fach erhöhte Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer PE bestand.

5 Diskussion

Die PE gehört zu den für Mutter und Kind riskanten Schwangerschaftserkrankungen und kann nach wie vor in seiner Pathogenese und Ätiologie nicht vollständig erklärt werden. Da weiterhin die Entbindung die einzige kausale Therapiemöglichkeit darstellt, ist es um so bedeutender, eine rechtzeitige und zuverlässige Diagnose stellen zu können, um eine Überweisung in spezialisierte Geburtskliniken und somit eine bestmögliche Versorgung von Mutter und Kind zu ermöglichen. Die vorliegende Studie beschreibt und untersucht den klinischen Nutzen der Messung von sFlt1 und PIGF mittels des automatisierten Elecsys® sFlt1- und Elecsys® PIGF- Tests (Roche Diagnostics, Penzberg, Deutschland). Zum einen wurde der Verlauf der Parameter sFlt1 bzw. PIGF und ihres Quotienten sFlt1/PIGF in der gesunden Schwangerschaft beschrieben, zum anderen konnten signifikante Unterschiede der Parameter und ihres Quotienten bei Frauen mit hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen im Vergleich zu gesunden Schwangerschaften sowie zueinander gezeigt werden. Des Weiteren wurde der praktische Nutzen der automatisierten Messungen im klinischen Alltag durch Ermittlung eines Cutoff-Wertes für sFlt1/PIGF aufgezeigt.

5.1 Angiogene und antiangiogene Faktoren im maternalen Serum gesunder und präeklampsischer Frauen: Assays im Vergleich

Der aktuelle Forschungsstand weist auf eine erhebliche Bedeutung von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in der Pathogenese der PE hin.^{96, 110, 137, 142, 147, 162-165} Eine Dysbalance der angiogenen und antiangiogenen Faktoren wird darüber hinaus bei IUGR, SGA, fetalem Tod ungeklärter Ursache, fetofetalem Transfusionssyndrom und bei dem Mirror-Syndrom beobachtet.^{116, 137, 155, 165-169} Das einzig verfügbare Messverfahren für Serumkonzentrationen von sFlt1 und PIGF blieb über lange Zeit der ELISA von R&D Systems, welches in seiner Messgenauigkeit sehr gut untersucht ist. Zum Vergleich zahlreichen Studien, die den genannten ELISA verwendeten, ist es wichtig darauf hinzuweisen, dass eine neue Normierung des Assays der ersten Generation im Jahre 2005 zu einer Veränderung des Wertebereichs führte (mündliche Mitteilung, S.A. Karumanchi, MD, PhD, April 2006). Insgesamt ist der ELISA auf Grund seiner aufwendigen Durchführung nicht in den klinischen Alltag integrierbar. Seit 2009 sind die Elecsys® PIGF- bzw. sFlt1-Assays (Roche Diagnostics, Penzberg, Deutschland) erhältlich, die

sich vor allem in der einfachen und schnellen Durchführung unterscheiden und in ersten Studien untersucht wurden.^{159, 161}

5.1.1 Veränderung von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in der gesunden Schwangerschaft

Um die Beurteilung von pathologischen Veränderungen der Serumkonzentrationen der Parameter vornehmen zu können, ist eine Betrachtung ihres physiologischen Verlaufs unabdinglich. Eine der ersten größeren Studien wurde 2004 von Levine et al.¹¹⁰ durchgeführt, in der 120 Kontrollen und 120 PE-Patientinnen im Verlauf der Schwangerschaft (Mittelwert des Gestationsalters bei Blutentnahme jeweils etwa 17. SSW) untersucht wurden. Hier wurden in der gesunden Schwangerschaft konstante Werte von sFlt1 bis zur 29.-32. SSW (etwa 1000 pg/mL) und nachfolgend einen Anstieg von etwa 145 pg/mL pro Woche bis zur Entbindung (etwa 2000 pg/mL) beschrieben. Der Mittelwert lag bei 1643 pg/mL. Dagegen wurde für die Werte von PlGF ein Anstieg bis zur 29.-32. SSW (8.-12. SSW etwa 50 pg/mL bis 900 pg/mL in der 29.-32. SSW) und ein Abfallen bis zur Entbindung beschrieben (etwa 400 pg/mL in der 37.-41. SSW). Der Mittelwert lag hier bei 137 pg/mL. Ähnliche Feststellungen machten Taylor et al.¹⁴⁵ 2009 konnten auch Verlohren et al.¹⁵⁹ unter Verwendung der Elecsys®-Assays zeigen, dass in der gesunden Schwangerschaft die Serumkonzentrationen von PlGF bis etwa zur 30. SSW anstiegen und bis zur Entbindung abfielen, während die Serumkonzentrationen von sFlt1 bis zur 30. SSW relativ konstant blieben, schließlich stärker anstiegen und bei Entbindung ihr Maximum erreichten. Dies stimmt mit den Beobachtungen diverser Studien überein und zeigt das umgekehrt proportionale Verhältnis beider Parameter.^{110, 142, 145}

In der vorliegenden Studie konnte ein ähnlicher Verlauf der Serumkonzentrationen für sFlt1 und PlGF festgestellt werden. Die Mittelwerte lagen insgesamt höher bei 2455 pg/mL (Minimum 405 pg/mL, Maximum 9921 pg/mL) für sFlt1 und 439 pg/mL (Minimum 31 pg/mL, Maximum 6444 pg/mL) für PlGF. Levine et al.¹¹⁰ und Taylor et al.¹⁴⁵ verwendeten den ELISA der ersten Generation, so dass ein direkter Vergleich der Absolutwerte nicht sinnvoll ist.

Der hier beschriebene Verlauf der einzelnen Parameter stellt einen groben Überblick über den Verlauf in der gesunden Schwangerschaft dar, erhebt jedoch nicht den Anspruch auf Erstellung von Referenzwertebereichen. Verlohren et al.¹⁵⁹ dagegen erstellten Referenzwertebereiche abhängig vom Gestationsalter und beschrieben Mittelwerte für sFlt1 von 1445 pg/mL in der 10.-14. SSW bis 4400 pg/mL > 37. SSW, für PlGF Mittelwerte von 62 pg/mL in der 10.-14. SSW mit einem Maximum von 439 pg/mL in der 29.-33. SSW. Schiettecatte et al.¹⁶¹ beschrieben in

einer multizentrischen Evaluationsstudie für die Elecsys®-Tests 2010 ähnliche Werte (Median) für sFlt1 von 1107 pg/mL im 1. Trimester, 1437 pg/mL im 2. Trimester und 2395 pg/mL im 3. Trimester der gesunden Schwangerschaft. Für PlGF wurden hier Werte von 30 pg/mL im 1. Trimester, 279 pg/mL im 2. Trimester, maximale Werte in der 29.-32. SSW (626 pg/mL) und abfallende Werte bis zur Entbindung (340 pg/mL) beschrieben.

In der vorliegenden Arbeit wurde auch der Quotient aus sFlt1/PlGF berechnet. Bei Anwendung einer logarithmischen Skalierung beschreibt dieser einen U-förmigen Verlauf über die gesunde Schwangerschaft und stimmt damit mit anderen Studien überein.^{157, 159} Schiettecatte et al.¹⁶¹ stellten höchste Werte im 1. Trimester (Median: 28) fest und beschrieben konstante Werte im 2. Trimester (Median: 4,7) und 3. Trimester (Median: 5,1). Die Mittelwerte lagen bei Verlohren et al.¹⁵⁹ bei 27,7 in der 10.-14. SSW, bei 3,8 in der 24.-28. SSW und bei 26,2 in der > 37. SSW. In unserer Arbeit wurde ein Mittelwert von $16,46 \pm 2,25$ mit einem Minimum von 0,40 und einem Maximum von 296,44 bestimmt, der, wie oben beschrieben, stark abhängig vom mittleren Gestationsalter bei Blutentnahme war.

Insgesamt konnten in unserer Studie somit ähnliche Serumkonzentrationen von sFlt1, PlGF und sFlt1/PlGF im Verlauf der gesunden Schwangerschaft festgestellt werden wie in den Studien, die denselben Assay von Roche Diagnostics verwendeten.^{159, 161}

5.1.2 Abweichende Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in Präeklampsie

Die Serumkonzentrationen von sFlt1 und PlGF in der präeklampsischen Schwangerschaft wurde in diversen Studien untersucht. Levine et al.¹¹⁰ stellten erhöhte Mittelwerte für sFlt1 von 4382 pg/mL vs. 1643 pg/mL in der gesunden Schwangerschaft fest. Für PlGF hingegen wurde bei Frauen mit PE eine niedrigere Serumkonzentration mit einem Mittelwert von 137 pg/mL vs. 669 pg/mL (gesunde Schwangerschaften) festgestellt. Shibata et al.¹¹⁵ ermittelten ähnliche Werte von 5221 pg/mL vs. 1857 pg/mL (PE vs. Kontrollen) für sFlt1 und 86 pg/mL vs. 228 pg/mL (PE vs. Kontrollen) für PlGF. Diverse weitere Studien konnten signifikante Unterschiede in der Serum- bzw. Plasmakonzentration von sFlt1 bestätigen.^{142, 163, 170} Ogge et al.¹⁷¹ weisen auf die Unterschiede bei Messungen in Plasma oder Serum hin und machen eine diesbezüglich notwendige Standardisierung deutlich. Die bisher genannten Studien verwendeten den ELISA der ersten Generation von R&D Systems (Minneapolis, Minnesota, USA).

Verlohren et al.¹⁵⁹ stellten unter Verwendung der Elecsys®-Tests Mittelwerte von 12981 (± 965) vs. 2641 ($\pm 100,5$) für sFlt1 fest (Fälle vs. Kontrollen; in pg/mL (\pm Standardabweichung);

$p < 0,001$). Ebenfalls bestimmten sie bei Frauen mit PE deutlich niedrigere Serumkonzentration von PIGF (in pg/mL (\pm Standardabweichung): $76,06 \pm 10,71$ pg/mL bei PE-Patientinnen vs. $341,5 \pm 13,57$ pg/mL bei Kontrollen ($p < 0,001$)).

Schiettecatte et al.¹⁶¹ beschrieben unter Verwendung des Elecsys®-Assay bei Frauen mit PE ebenfalls deutlich erhöhte Werte für sFlt1 ($6894\text{-}34362$ pg/mL) bzw. deutlich erniedrigte Werte für PIGF ($9,2\text{-}80$ pg/mL) im Vergleich zu den oben aufgeführten Serumkonzentrationen bei gesunden Schwangerschaften.

Wir konnten diese Beobachtungen mit unserer Studie bestätigen: Die Mittelwerte für sFlt1 waren signifikant höher (in pg/mL [\pm Standardfehler]: $10887,85$ [$\pm 878,37$] vs. $2684,80$ [$\pm 138,41$]; $p < 0,001$), jene von PIGF signifikant niedriger (in pg/mL [\pm Standardfehler]: $67,74$ [$\pm 5,53$] vs. $496,27$ [$\pm 44,96$]; $p < 0,001$) als bei den Kontrollen. Damit liegen die Werte für PIGF insgesamt etwas höher als bei oben genannten Studien, unterscheiden sich aber signifikant im Vergleich zu gesunden Schwangeren.

Bezüglich des Quotienten sFlt1/PIGF konnten in mehreren Studien ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen PE-Patientinnen und Kontrollen festgestellt werden. Verlohren et al.¹⁵⁹ stellten bei Frauen mit PE Werte von $354,5 \pm 44,84$ pg/mL fest, während bei Kontrollen Werte von $19,43 \pm 2,82$ pg/mL gemessen wurden. Schiettecatte et al.¹⁶¹ stellten Werte von 461 (PE) vs. 3,6 (Kontrollen) fest ($p < 0,001$).

In unserer Studie wurden vergleichbare Werte gemessen: $276,97 \pm 38,86$ bei Frauen mit PE vs. $18,03 \pm 2,74$ bei Kontrollen (Mittelwerte in pg/mL \pm Standardfehler). Die SSW bei Blutentnahme unterscheidet sich in dem von uns untersuchten Kollektiv (alle Fälle vs. alle Kontrollen mit Tag der Schwangerschaft ≥ 164) signifikant voneinander, die Durchführung einer logistischen Regression konnte jedoch zeigen, dass der Quotient sich unabhängig vom Gestationsalter signifikant in beiden Gruppen unterschied (Daten nicht aufgeführt).

Somit konnten unsere Daten insgesamt die Leistungsfähigkeit des Elecsys®-Assay im Vergleich zu dem ELISA von R&D belegen.

5.1.3 Betrachtung der Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in Untergruppen der Präeklampsie

In diversen Studien wurden die Serum- bzw. Plasmakonzentrationen von sFlt1 und PIGF in verschiedenen hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen untersucht.^{108, 110, 113, 142} Dabei konnte gezeigt werden, dass die Höhe der Serumkonzentrationen von sFlt1 und PIGF mit dem Schweregrad der Erkrankung positiv bzw. negativ korreliert.

5.1.3.1 Unterschiedliche Ausprägung der Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in milder und schwerer Präeklampsie

Bei Betrachtung der milden und schweren PE konnte von diversen Studien folgendes Verhältnis beobachtet werden: Konzentrationen von sFlt1: Kontrollen < milde PE < schwere PE und Konzentrationen von PlGF: Kontrollen > milde PE > schwere PE.^{108, 110, 142} Robinson et al.¹⁷⁰ untersuchten die Serumkonzentrationen von sFlt1 und PlGF in Fällen von milder und schwerer PE sowie von HELLP-Syndrom und konnten jeweils signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe feststellen. Für PlGF konnten 3-fach erniedrigte Werte in der Gruppe schwerer PE vs. milder PE festgestellt werden, die das Signifikanzniveau von $p < 0,02$ erreichten. Für sFlt1 konnten zwar 1,5-fach erhöhte Werte im Vergleich schwere vs. milde PE beobachtet werden, jedoch erreichten diese kein Signifikanzniveau von $p < 0,05$. Das HELLP-Syndrom wurde in dieser Studie mit der schweren PE verglichen, wobei keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden konnten. Ähnliche Beobachtungen konnten bereits von Levine et al.¹¹⁰ und Maynard et al.¹⁰⁸ gemacht werden.

Chaiworapongsa et al.¹⁴² untersuchten die Plasmakonzentration von sFlt1 und konnten ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen milder und schwerer PE feststellen. Alle genannten Studien verwendeten den ELISA von R&D Systems zur Messung der Parameter, weswegen auch an dieser Stelle kein direkter Vergleich mit den von uns gemessenen Werten vorgenommen werden kann.

Wir konnten jedoch ebenfalls signifikante Unterschiede in der Serumkonzentration von sFlt1, PlGF und ihrem Quotienten sFlt1/PlGF zwischen milder PE bzw. schwerer PE und der Kontrollgruppe aufzeigen (jeweils $p < 0,001$). Des Weiteren konnte ein signifikanter Unterschied ($p < 0,001$) in sFlt1, PlGF und Quotient im Vergleich milde vs. schwere PE beobachtet werden. Wichtig ist an dieser Stelle darauf hinzuweisen, dass das Gestationsalter bei Blutentnahme in der Gruppe der milden PE signifikant höher liegt als in der Kontrollgruppe. Es ist jedoch anzunehmen, dass die veränderten Serumkonzentrationen von sFlt1 und PlGF unabhängig vom unterschiedlichen Gestationsalter auch durch das Vorliegen der Präeklampsie bedingt sind.

Insgesamt konnte die Annahme, dass die Serumkonzentrationen von sFlt1 und PlGF den Schweregrad der Erkrankung widerspiegeln, somit bestätigt werden.

5.1.3.2 Unterschiedliche Ausprägung der Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in schwangerschaftsinduzierter Hypertonie, chronischer Hypertonie, Propf-Präeklampsie und Gestationsproteinurie

Diverse Studien haben untersucht, in wie fern die Messung der Serumkonzentrationen von sFlt1 und PlGF zur Differentialdiagnose von alleiniger SIH, cHT oder GP und Vollbildern der Präeklampsie dienlich sein kann. Woolcock et al.¹⁷² untersuchten unter Verwendung des ELISA von R&D Systems die Serumkonzentrationen von sFlt1 in Fällen von Propf-PE im Vergleich zu Kontrollen und Patienten mit SIH bzw. cHT. Sie stellten signifikant erhöhte Werte sowohl bei Patienten mit Propf-PE als auch bei Patienten mit SIH im Vergleich zu Kontrollen fest, zudem unterschieden sich Patienten, die zum Zeitpunkt der Messung noch keine PE aufwiesen, jedoch später eine PE entwickelten, signifikant von Patienten mit alleiniger SIH oder cHT.

Salahuddin et al.¹⁷³ untersuchten ebenfalls unter Verwendung des ELISA von R&D Systems die Aussagekraft von sFlt1 und sEng als Diagnosehilfe von PE, SIH und cHT. Die Serumkonzentrationen von sFlt1 waren bei Frauen mit PE signifikant höher als bei Frauen mit SIH, cHT oder gesunden Frauen ($74,7 \pm 83,3$ ng/mL vs. $23,5 \pm 14,9$ ng/mL bzw. $15,4 \pm 12,7$ ng/mL bzw. $16,6 \pm 11,0$ ng/mL, $p < 0,01$). Des Weiteren lagen die sFlt1-Serumkonzentrationen bei Frauen mit SIH signifikant höher als jene der Kontrollen, während für cHT keine signifikanten Unterschiede gefunden werden konnten.

Hirashima et al.¹⁷⁴ untersuchten ihr Patientenkollektiv mit SIH, Hypertonie vor dem Vollbild der PE (h-PE) und PE auf den Quotienten sFlt1/PlGF und sEng und stellten für h-PE und PE jeweils erhöhte Werte vs. Kontrollen wie auch vs. SIH fest. Die Gruppe der SIH wies ebenfalls erhöhte Werte für sFlt1/PlGF und sEng im Vergleich zu Kontrollen auf.

Sunderji et al.¹⁷⁵ untersuchten unter Verwendung eines automatisierten Assays (Beckman Coulter, Fullerton, California) die Serumkonzentrationen von sFlt1 und PlGF in Patientinnen mit chronischer Hypertonie und Propf-PE. Sie beobachteten signifikante Unterschiede für sFlt1 und PlGF im Vergleich PE vs. Kontrollen, während kein Unterschied für cHT vs. Kontrollen festgestellt werden konnte.

In unserer Studie konnte kein signifikanter Unterschied von sFlt1 im Vergleich Propf-PE vs. Kontrollen bzw. vs. SIH oder cHT festgestellt werden. Für PlGF konnte hingegen sowohl im Vergleich Propf-PE vs. Kontrolle als auch vs. SIH bzw. vs. cHT signifikante Unterschiede beobachtet werden. Der Quotient sFlt1/PlGF unterschied nur die Propf-PE von den Kontrollen signifikant. Dagegen konnten für den Vergleich von SIH vs. Kontrollen sowohl für sFlt1, als auch für PlGF und den Quotienten sFlt1/PlGF signifikante Unterschiede bestimmt werden. cHT

unterschied sich in allen Parametern nicht signifikant von den Kontrollen. Damit ergibt sich aus unseren Daten eine Überlegenheit von PIGF in der Differenzierung von cHT, SIH und Propf-PE im Vergleich zu sFlt1 bzw. dem Quotienten sFlt1/PIGF. Dabei sei darauf hingewiesen, dass die Gruppe von cHT mit der niedrigen Fallzahl von $n = 2$ in unserer Studie zu vernachlässigen ist.

Insgesamt ist somit festzuhalten, dass sich unsere Beobachtungen mit den bisherigen Studien decken, die die SIH in manchen Fällen als eine Vorstufe der PE darstellen, während der cHT auf eine andere Ätiologie zurückgeführt werden könnte.

Masuyama et al.¹⁷⁶ untersuchten unter Verwendung des ELISA von R&D Systems die Serumkonzentrationen von sFlt1 und PIGF zum einen in Patientengruppen mit PE bzw. GP vs. Kontrollen, zum anderen in Patientinnen mit chronischer Glomerulonephritis mit oder ohne Propf-PE. Im Vergleich PE bzw. GP vs. Kontrollen konnten sowohl für sFlt1 als auch für PIGF signifikant unterschiedliche Serumkonzentrationen festgestellt werden. Des Weiteren unterschied sich die Gruppe der PE signifikant sowohl in sFlt1 als auch in PIGF von der Gruppe der GP. Bei Patientinnen mit chronischer Glomerulonephritis konnte im Vergleich Propf-PE vs. keine Propf-PE (normaler klinischer Verlauf bzw. alleinige Verschlechterung der Proteinurie ohne Hypertonie) sowohl für sFlt1 als auch für PIGF ein signifikanter Unterschied beobachtet werden. Zudem konnte in der Gruppe der Propf-PE bei Patientinnen mit Verschlechterung der renalen Funktion signifikant niedrigere Serumkonzentrationen von sFlt1 und signifikant höhere Serumkonzentrationen von PIGF im Vergleich zu Patientinnen mit keiner Verschlechterung der renalen Funktion bestimmt werden, was darauf hinweisen könnte, dass Patientinnen mit verschlechterter renaler Funktion fälschlicherweise als Propf-PE diagnostiziert werden, obwohl es eine alleinige Exazerbation der chronischen Glomerulonephritis darstellen könnte.

Ohkuchi et al.¹⁷⁷ untersuchten Frauen mit PE, GP und Kontrollen auf sFlt1, PIGF, sFlt1/PIGF und sEng und stellten fest, dass der Quotient sFlt1/PIGF sowie sEng in der Gruppe der GP im Vergleich zu Kontrollen deutlich erhöht waren, während sich die Gruppen der PE und der GP vor allem durch PIGF und sFlt1/PIGF voneinander unterschieden. Mögliche Schlussfolgerungen waren zum einen, dass die GP eine subklinische Form der Präeklampsie darstellen könnte und zum anderen, dass für die Entstehung einer Hypertonie vor allem PIGF von Bedeutung sein könnte.

In unserer Studie wurden unter Verwendung des Elecsys®-Assays ähnliche Beobachtungen gemacht. Die Gruppe der GP unterschied sich im Vergleich zu Kontrollen mit signifikant niedrigeren Werten für PIGF und signifikant höheren Werten für sFlt1 und sFlt1/PIGF. Im Vergleich der GP zu allen Fallgruppen konnten sowohl für sFlt1 als auch für PIGF und ihren

Quotienten sFlt1/PlGF signifikante Unterschied festgestellt werden; eine Ausnahme bildet der Vergleich zur Propf-PE: alleinig für PlGF konnte im Vergleich GP vs. Propf-PE ein signifikanter Unterschied beobachtet werden, während sFlt1 und sFlt1/PlGF keine signifikanten Unterschiede aufweisen. Somit können wir in unserer Studie die Annahme bestätigen, dass die GP eine Vorstufe der PE darstellen könnte und anhand der Parameter sFlt1, PlGF und ihrem Quotienten sFlt1/PlGF deutlich von Kontrollen wie auch von PE zu unterscheiden ist.

5.1.3.3 Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in Fällen von HELLP-Syndrom

Das HELLP-Syndrom ist eine häufig mit der PE vergesellschaftete Erkrankung, die jedoch auch ohne Hypertonie und Proteinurie auftreten kann. Wie sich die angiogenen und antiangiogenen Faktoren in Frauen mit HELLP-Syndrom und begleitender PE bzw. mit alleinigem HELLP-Syndrom verhalten, ist bisher nicht untersucht.

Young et al.¹⁷⁸ untersuchten unter Verwendung des ELISA von R&D Systems die Serumkonzentrationen von sEng, sFlt1, PlGF und sFlt1/PlGF bei Patientinnen mit HELLP-Syndrom, PE bzw. Thrombozytopenie und bei normotensiven Kontrollen. Dabei konnten für sFlt1 und sFlt1/PlGF signifikant höhere Werte und für PlGF signifikant niedrigere Werte im Vergleich HELLP-Syndrom bzw. PE vs. Thrombozytopenie festgestellt werden. In den Gruppen PE und HELLP-Syndrom konnten ähnliche Werte festgestellt werden, auch die Patientinnen mit Thrombozytopenie und die normotensiven Kontrollen zeigten vergleichbare Werte.

In unserer Studie konnten im Vergleich HELLP-Syndrom vs. Kontrollen ebenfalls signifikante Unterschiede für sFlt1, PlGF und sFlt1/PlGF beobachtet werden. Im Vergleich zu anderen Fallgruppen konnten signifikante Unterschiede für PlGF und sFlt1/PlGF im Vergleich zur milden PE bestimmt werden, während für sFlt1 ein signifikanter Unterschied zur schweren PE beobachtet wurde.

5.1.3.4 Unterschiedliche Ausprägung der Veränderungen von angiogenen und antiangiogenen Faktoren in früh und spät einsetzender Präeklampsie

Die früh einsetzende PE zeichnet sich im Vergleich zur spät einsetzenden PE mit schwereren Verläufen aus und wurde in mehreren, folgend aufgeführten Studien auf die Serumkonzentrationen von sFlt1 und PlGF untersucht. Masuyama et al.¹⁷⁹ untersuchten unter Verwendung des ELISA von R&B die Serumkonzentrationen von PlGF, sFlt1 und sFlt1/PlGF in insgesamt 110 Patientinnen und konnten signifikante Unterschiede zwischen früh bzw. spät einsetzender PE und ihren jeweiligen Kontrollgruppen feststellen: früh einsetzende PE vs.

Kontrollen: PIGF 56,8 pg/mL vs. 751,1 pg/mL, sFlt1 6433,3 pg/mL vs. 510,4 pg/mL und sFlt1/PIGF 114,3 vs. 3,9; spät einsetzende PE vs. Kontrollen: PIGF 118,3 pg/mL vs. 251,0 pg/mL, sFlt1 4644,5 pg/mL vs. 1433,8 pg/mL und sFlt1/PIGF 43,3 vs. 6,4. Dabei unterschieden sich nicht nur beide Fallgruppen signifikant von ihren jeweiligen Kontrollgruppen in PIGF, sFlt1 und sFlt1/PIGF, sondern auch die Fallgruppen im Vergleich zueinander (früh vs. spät einsetzende PE) in sFlt1 und sFlt1/PIGF. Alle eingeschlossenen Patientinnen mit PE hatten eine schwere Form der PE (sowohl früh einsetzende PE [n = 17] als auch spät einsetzende PE [n = 38]).

Wikström et al.¹¹³ untersuchten unter Verwendung des ELISA von R&B hingegen die Plasmakonzentrationen der Parameter in Fällen von früh und spät einsetzender PE im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollen und stellten ähnliche Unterschiede fest, die für die früh einsetzende PE Gruppe deutlicher ausfiel. In der Gruppe der früh einsetzenden PE konnten 43-fach höhere Werte für sFlt1 und 21-fach erniedrigte Werte für PIGF im Vergleich zu der jeweiligen Kontrollgruppe bestimmt werden. In der Gruppe der spät einsetzenden PE hingegen fiel der Unterschied zur Kontrollgruppe geringer aus, war jedoch weiterhin signifikant (sFlt1: 3-fache Erhöhung, PIGF: 5-fache Absenkung). Beide Studien verwendeten zur Messung den ELISA von R&D Systems, so dass ein direkter Vergleich nicht möglich ist, sich jedoch ein ähnliches Bild abzeichnet.

Verlohren et al.¹⁵⁹, die den Elecsys®-Assay verwendeten, konnten ebenfalls signifikante Unterschiede in der Serumkonzentration von sFlt1, PIGF und ihrem Quotienten sFlt1/PIGF zwischen früh bzw. spät einsetzender PE und ihren jeweiligen Kontrollgruppen feststellen.

In unserer Studie konnten diese Beobachtungen insgesamt bestätigt werden. Signifikante Unterschiede der Serumkonzentrationen von sFlt1 und PIGF konnten sowohl im Vergleich der früh und spät einsetzenden PE untereinander als auch im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollgruppen festgestellt werden. Im Vergleich von früher Kontrollgruppe vs. früh einsetzende PE wurden knapp 7-fach erhöhte Serumkonzentrationen von sFlt1 (2060,88 vs. 15.249,21 pg/mL), 11-fach erniedrigte Serumkonzentrationen von PIGF (595,46 vs. 52,23 pg/mL) und 41-fach erhöhte Werte für den Quotienten sFlt1/PIGF (12,31 vs. 496,73) bestimmt, während im Vergleich der späten Kontrollgruppe vs. spät einsetzende PE die Unterschiede weniger stark ausgeprägt, jedoch immer noch signifikant waren (sFlt1: 3883,13 vs. 8271,04 pg/mL; PIGF: 305,75 vs. 77,05 pg/mL und sFlt1/PIGF 29,01 vs. 130,72). Somit konnte hier gezeigt werden, dass vor allem die Gruppe der früh einsetzenden PE stark abweichende Serumkonzentrationen der Parameter aufweist.

5.2 Vergleich der diagnostischen Aussagekraft des sFlt1/PIGF-Quotienten mit den einzelnen Faktoren sFlt1 und PIGF

In mehreren Studien wurde neben den einzelnen Parametern sFlt1 und PIGF auch der Quotient sFlt1/PIGF untersucht und Referenzwerte erstellt.^{116, 179, 180} Dabei wurden neben Serum- und Plasmakonzentrationen auch Urinkonzentrationen bestimmt.^{156, 181} Dabei ist sFlt1 ein zu großes Molekül, um bei gesunden Nieren im Urin ausgeschieden werden zu können¹⁸², während die von Buhimschi et al.^{156, 181} gemessene sFlt1-Urin-Konzentration auf eine krankheitsbedingte Nierenfunktionsverminderung zurückzuführen sein könnte.

Insgesamt konnte festgestellt werden, dass der Quotient sFlt1/PIGF als gleichzeitige Darstellung der erniedrigten PIGF-Konzentrationen und der erhöhten sFlt1-Konzentration eine bessere Aussagekraft als die einzelnen Faktoren hat. Viele Studien untersuchten den Quotienten auf seine prädiktive Aussagekraft.^{116, 154, 182-186} In der vorliegenden Arbeit soll jedoch die Aussagekraft des Quotienten in der Diagnosehilfe von hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen untersucht werden.

Ohkuchi et al.¹⁷⁷ untersuchten in ihrer Studie 7 Patientinnen mit GP und 34 Patientinnen mit PE auf die Serumkonzentrationen von sEng, PIGF und sFlt1/PIGF und bestimmten den prozentualen Anteil derer, die mit ihren Werten über der 95. Perzentile (sEng und sFlt1/PIGF) bzw. unter der 5. Perzentile (PIGF) von Referenzwertkurven lagen. Es konnte beobachtet werden, dass 94 % der Patientinnen mit PE einen Wert des Quotienten sFlt1/PIGF über der 95. Perzentile aufwiesen, während nur 77 % erniedrigte Werte für PIGF unter der 5. Perzentile zeigten. Der einzelne Serumparameter sFlt1 wurde in dieser Studie nicht bestimmt.

Buhimschi et al.¹⁸¹ verglichen die jeweiligen Urinkonzentrationen von uFlt1/PIGF (*urinary soluble fms-like tyrosine kinase/placental growth factor*) und sEng als Diagnosehilfe bei schwerer PE und stellten fest, dass der Quotient zu besseren Ergebnissen in der ROC-Analyse führte: AUC 0,88 vs. 0,75 für sEng in Fällen schwerer PE und AUC 0,94 vs. 0,83 (sEng) in Fällen schwerer PE vor der 37. SSW. In einer anderen Studie konnte dieselbe Arbeitsgruppe zeigen, dass die Urinkonzentration von sFlt1/PIGF am bei einem Cutoff von > 2,1 zu einer Sensitivität von 88 % und einer Spezifität von 100 % führte.¹⁵⁶

Alle bisher genannten Studien verwendeten den ELISA von R&D Systems. Sunderji et al.¹⁷⁵ bestimmten unter Verwendung des automatisierten Assays von Beckman Coulter (Fullerton,

California) anhand von ROC-Kurven-Analysen die diagnostische Aussagekraft von sFlt1 bzw. PIGF vs. den Quotienten sFlt1/PIGF. Die AUC für sFlt1/PIGF war mit 0,99 größer als jene der einzelnen Parameter sFlt1 bzw. PIGF (AUC jeweils 0,98).

Da in der vorliegenden Arbeit das automatisierte Elecsys®-Assay angewendet wurde, können die Ergebnisse am besten mit jenen Studien verglichen werden, die denselben Assay verwendeten. Schiettecatte et al.¹⁶¹ konnten einen sehr viel höheren Medianwert für sFlt1/PIGF in der PE-Gruppe als in der Kontrollgruppe bestimmen: 461 vs. 3,6 ($p < 0,001$). Damit unterschied der Quotient noch deutlicher zwischen Kontrollen und PE als die einzelnen Parameter. Verlohren et al.¹⁵⁹ konnten in der ROC-Analyse für den Quotienten eine AUC von 0,95 bestimmen, während diese für PIGF bei 0,92 und für sFlt1 bei 0,91 lag. Noch bessere Werte des Quotienten konnten für die AUC bei früh einsetzender PE gemessen werden: 0,97 (vs. AUC 0,89 bei spät einsetzender PE). Auch Ohkuchi et al.¹⁶⁰ evaluierten den automatisierten Elecsys®-Test und untersuchten die Aussagekraft der einzelnen Parameter sFlt1, und PIGF bzw. des Quotienten sFlt1/PIGF. Sie konnten zeigen, dass der Quotient im Vergleich zu den einzelnen Parametern die beste diagnostische Aussagekraft sowohl für alle Fälle von PE als auch für früh und spät einsetzende PE hatte, am deutlichsten war diese jedoch bei früh einsetzender PE.

In der vorliegenden Studie konnten die genannten Beobachtungen bestätigt werden. Die AUC der gesamten PE-Gruppe war für sFlt1/PIGF 0,96, während jene für sFlt1 und PIGF bei 0,92 und bei 0,94 lagen. Bei der früh einsetzenden PE lag die AUC für sFlt1/PIGF bei 0,99, während jene für die spät einsetzende PE bei 0,91 lag. Im Vergleich dazu waren die AUC bei früh einsetzender PE für sFlt1 und PIGF 0,98 und 0,97, bei spät einsetzender PE 0,82 und 0,88. Die größte AUC insgesamt konnte bei der Gruppe der schweren PE festgestellt werden: AUC für sFlt1/PIGF 0,99; 0,98 bei HELLP-Syndrom, 0,94 bei milder PE und 0,93 bei Propf-PE. Damit ist auch bei Betrachtung aller PE-Untergruppen die Aussagekraft des Quotienten sFlt1/PIGF im Vergleich zu den einzelnen Parametern am größten. Eine Ausnahme bildet die Gruppe der Propf-PE. Hier ist die AUC mit 0,98 für PIGF am größten (vs. 0,93 für sFlt1/PIGF und vs. 0,68 für sFlt1).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass der Quotient sFlt1/PIGF den einzelnen Parametern in seiner Aussagekraft als Diagnosehilfe überlegen ist.

5.3 Die Bestimmung von Cutoff-Werten für angiogene und antiangiogene Faktoren und deren Bedeutung für den klinischen Alltag in der Behandlung der Präeklampsie

Die klinische Bedeutung von sFlt1 und PlGF wurde in diversen Studien untersucht und bestätigt.^{110, 116, 137, 187} Bisher stand zur Messung dieser Parameter vor allem der ELISA von R&D Systems zur Verfügung, der auf Grund seiner ausschließlich manuellen und zeitaufwendigen Durchführung nur im experimentellen Rahmen eine Rolle spielen konnte. Mit dem Elecsys® Testsystem steht nun eine vollautomatisierte Plattform zur Verfügung, die in Messgeräten verwendet werden kann, die in vielen Krankenhauslaboratorien vorhanden sind. Die Dauer des Assays beträgt 18 Minuten und bietet damit schnelle Ergebnisse, die die klinische Handlungsentscheidung direkt beeinflussen können.

Obwohl die PE eine klar definierte Erkrankung zu sein scheint, ist das klinische Bild sehr heterogen und kann unterschiedliche Dynamiken zeigen. Die derzeit verwendeten Diagnosemittel (Blutdruckmessung und Bestimmung der Proteinausscheidung im Urin) ermöglichen zwar die präzise und relativ einfach durchzuführende Diagnosestellung der PE, jedoch haben sie eine geringe Spezifität und Sensitivität bezüglich der Prädiktion für schwere Verläufe der PE und für das Risiko für Mutter und Kind.^{7, 188} Des Weiteren können andere Erkrankungen wie chronische Nierenerkrankungen und Autoimmunerkrankungen klinisch schwer von einer PE zu unterscheiden sein.^{7, 137} Somit stellt der Quotient sFlt1/PlGF ein nützliches weiteres Diagnosemittel dar, soweit er im klinischen Alltag schnell und sicher zu bestimmen ist. Die Differentialdiagnose bei hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen könnte vereinfacht werden und Mutter und Kind könnten von der sicheren und schnellen Diagnosestellung profitieren. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass die Verwendung von sFlt1/PlGF in der Diagnose und Behandlung der PE zu erheblichen Kostensenkungen in der Gesundheitsversorgung führte.¹⁸⁹

Die Bestimmung eines Cutoff-Wertes ist für die Anwendung von Laborparametern im klinischen Alltag unabdinglich. So haben diverse Studien Cutoff-Werte für den Quotienten sFlt1/PlGF bestimmt, um eine möglichst hohe Sensitivität und Spezifität zu erreichen.

Verlohren et al.¹⁵⁹ bestimmten einen Cutoff-Wert von 85 für sFlt1/PlGF und erreichten damit eine Sensitivität von 82 % bei einer Spezifität von 95 % für alle PE Fälle. Für die Gruppen der früh einsetzenden PE erreichten sie bei gleichem Cutoff-Wert von 85 eine Sensitivität von 89 %

bei einer Spezifität von 97 %, für die Gruppe der spät einsetzenden PE hingegen eine Sensitivität von 74 % bei einer Spezifität von 89 %.

Ohkuchi et al.¹⁶⁰ konnten mit einem Cutoff-Wert von 45 für alle PE-Fälle auf eine Sensitivität von 97 % und eine Spezifität von 95 % und für die Gruppe der früh einsetzenden PE sogar auf eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 95 % gelangen.

Salahuddin et al.¹⁷³ bestimmten durch ROC-Kurvenanalyse Cutoff-Werte für die alleinige Serumkonzentrationen von sFlt1 zur Diagnose der PE vs. Kontrollen, bzw. zur Differenzialdiagnose von SIH bzw. cHT vs. PE. Für PE vs. Kontrollen ermittelten sie bei einem Cutoff-Wert von 23,5 ng/mL eine Sensitivität und Spezifität von jeweils 90 % mit einer AUC von 0,94. Zur Differenzierung von SIH und PE bestimmten sie einen Cutoff von 41,8 ng/mL und konnten eine Sensitivität von 79 % und eine Spezifität von 88 % mit einer AUC von 0,89 beschreiben. Zur Differenzierung von cHT und PE ermittelten sie einen Cutoff von 35,8 ng/mL mit einer Sensitivität von 84 % und einer Spezifität von 95 % bei einer AUC von 0,94. Die diagnostische Aussagekraft des Quotienten sFlt1/PIGF wurde in dieser Studie nicht untersucht.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Cutoff-Wert von 70 für sFlt1/PIGF bestimmt. Zielgebend war dabei eine möglichst hohe Spezifität von etwa 95 %, um eine möglichst hohe richtig negative Anzahl zu erreichen und somit eine unnötige Beunruhigung des Patienten und Arztes zu verhindern. Der Cutoff von 70 für sFlt1/PIGF führte für die gesamte Gruppe der PE-Fälle zu einer Sensitivität von 78,1 % bei einer Spezifität von 94,0 %. Für die Gruppen der früh und spät einsetzenden PE wurden folgende Werte erreicht: Sensitivität 91,7 % und Spezifität 95,9 % für früh einsetzende PE, Sensitivität von 70,0 % und Spezifität von 90,5 % für spät einsetzende PE. Am besten fallen die Werte jedoch in den Gruppen der schweren PE und des HELLP-Syndroms aus: jeweils Sensitivität von 100 % und Spezifität von 94,0 %. In der Gruppe der milden PE liegen die Werte der Sensitivität bei 64,5 % und der Spezifität bei 94 %, in der Gruppe der Propf-PE bei Sensitivität von 57,1 % und Spezifität von 94,0 %. Insgesamt konnte für Frauen mit einer Serumkonzentration von sFlt1/PIGF ≥ 70 ein 16-fach erhöhtes Risiko für eine vorliegende PE bestimmt werden.

Der hier gesetzte Cutoff ist somit mit jenem anderer Studien in seiner Qualität an Sensitivität und Spezifität vergleichbar. Unterschiede im Cutoff sind wahrscheinlich auf interindividuelle Unterschiede der untersuchten Probandinnen zurückzuführen. Um einen allgemeingültigen Cutoff-Wert festsetzen zu können, müssen größere Studien durchgeführt werden.

5.4 Schlussfolgerungen und Ausblick

Wir konnten in unserer Studie nachweisen, dass die automatisierte Messung von sFlt1, PlGF und ihrem Quotienten sFlt1/PlGF im klinischen Alltag ein praktisches und aussagekräftiges Mittel zur Diagnose hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen darstellen kann. Besonders wertvoll ist dies für Frauen mit schweren Formen der PE, die eine erhöhte maternale und fetale Morbidität und Mortalität aufweisen und von der Betreuung in spezialisierten Zentren besonders profitieren. In unserer Studie wurde ein Cutoff-Wert für sFlt1/PlGF bestimmt, der unabhängig vom Gestationsalter war. Da sich die Serumkonzentrationen von sFlt1 und PlGF im Laufe der Schwangerschaft verändern, erscheint es wichtig, für das jeweilige Gestationsalter geltende Referenzwerte zu bestimmen und angepasste Cutoff-Werte zu ermitteln. Dadurch müssten bessere Spezifitäten und Sensitivitäten erreicht werden. Dies ist nur durch große Studien mit höheren Fallzahlen zu ermöglichen.

6 Zusammenfassung

Die Präeklampsie (PE) betrifft etwa 3-5 % aller Schwangerschaften weltweit und begründet einen erheblichen Anteil maternaler und fetaler Morbidität sowie Mortalität. Die Ätiologie der Erkrankung ist in seiner Komplexität bisher nicht vollständig erklärt. Die sezernierten angiogenen sowie antiangiogenen Faktoren sind seit über 10 Jahren Gegenstand intensiver Forschung und stellen das Bindeglied zwischen der Plazenta als Entstehungsort der PE und der systemischen Beteiligung der maternalen Gefäße und Organe dar. Bei Frauen mit PE konnte im Vergleich zu gesunden Schwangeren eine Dysbalance des angiogenen Faktors PIGF (*placental growth factor*) und seinem antiangiogenen Gegenspieler sFlt1 (*soluble fms-like tyrosine kinase 1*) festgestellt werden: die Serumkonzentration von sFlt1 ist erhöht und führt unter Bindung von PIGF zu erniedrigtem freien PIGF, was dessen angiogene Wirkung verhindert. In diversen Studien wurden sFlt1 und PIGF darüber hinaus als Markerproteine für die Diagnose und Prädiktion der PE untersucht. Da die Veränderungen der Serumkonzentrationen von PIGF und sFlt1 nicht nur bei klinisch präsepter PE, sondern auch dieser vorausgehend auftreten, könnten die Marker sowohl in der Diagnose als auch in der Prädiktion der PE dienen. Als gleichzeitige Abbildung beider Veränderungen spielt der Quotient sFlt1/PIGF eine herausragende Rolle. Im experimentellen Rahmen wurde zur Messung der Parameter zumeist der ELISA von R&D Systems verwendet. Seit 2009 ist ein automatisiertes Messsystem von Roche Diagnostics (Elecsys®) erhältlich, das erstmals die Verwendung der Parameter im klinischen Alltag ermöglicht.

In der vorliegenden Studie wurde das Elecsys®-Testsystem zur Messung von sFlt1, PIGF und sFlt1/PIGF in der Diagnose hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen untersucht. Insgesamt wurden 338 Frauen mit Einlingsschwangerschaften eingeschlossen: 232 Frauen mit normalem Schwangerschaftsverlauf (Kontrollen), 64 Frauen mit einer PE bzw. einem HELLP-Syndrom (Fälle), 18 Frauen mit schwangerschaftsinduzierter Hypertonie (SIH), 2 Frauen mit chronischer Hypertonie (cHT) und 22 Frauen mit Gestationsproteinurie (GP). Die Fälle wurden unterteilt in milde und schwere PE, Propf-PE und HELLP-Syndrom (jeweils $n = 31$, $n = 20$, $n = 7$, $n = 6$), des Weiteren in früh und spät einsetzende PE (jeweils $n = 24$ und $n = 40$). Es konnten signifikante Unterschiede zwischen Kontrollen und allen Fallgruppen festgestellt werden: die Serumkonzentrationen von sFlt1 und Quotient waren signifikant erhöht, jene von PIGF signifikant erniedrigt. Darüber hinaus korrelierten die Abweichungen der Serumkonzentrationen mit dem Schweregrad der Erkrankung. So war die Abweichung bei Frauen mit schwerer PE und

HELLP-Syndrom signifikant stärker als bei jenen mit milder PE, sowie bei Frauen mit früh einsetzender PE signifikant stärker als bei jenen mit spät einsetzender PE. Frauen mit Propf-PE zeigten weniger deutliche Ausprägungen. Die veränderten Serumkonzentrationen bei Frauen mit SIH oder GP lagen zwischen jenen der Kontrollen und der Fallgruppen und unterschieden sich von diesen jeweils signifikant. Die 2 Frauen mit cHT zeigten nur vs. den Fallgruppen, nicht jedoch vs. den Kontrollen signifikante Unterschiede. Daraus könnte geschlossen werden, dass SIH und GP Vorstufen einer PE darstellen, während der cHT und die Propf-PE auf andere Entstehungsmechanismen gründen könnten.

Die Untersuchung der diagnostischen Aussagekraft des Quotienten sFlt1/PIGF vs. jener der einzelnen Parameter sFlt1 und PIGF anhand von ROC-Kurvenanalysen zeigte, dass der Quotient sFlt1/PIGF insgesamt zu besseren Ergebnissen führte. Die besten Ergebnisse konnten für die schweren Formen der PE (jeweils vs. Kontrollen) bestimmt werden: früh einsetzende PE sowie schwere PE mit einer AUC von jeweils 0,99 sowie HELLP-Syndrom mit einer AUC von 0,98. Um eine klinische Anwendbarkeit der Parameter zu untersuchen, wurde anhand der ROC-Kurvenanalyse ein Cutoff-Wert für sFlt1/PIGF von 70 unabhängig vom Gestationsalter bestimmt. Für alle Fälle vs. Kontrollen führte dies zu einer Spezifität von 94 % bei einer Sensitivität von 78,1 %. Für die früh einsetzende PE (vs. frühe Kontrollen) ergab sich 95,9 % und 91,7 %, für die schwere PE bzw. HELLP-Syndrom vs. Kontrollen jeweils 94,0 % und 100 % (jeweils Spezifität und Sensitivität).

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die Messung der Serumkonzentrationen von sFlt1 und PIGF mit Hilfe des Elecsys®-Assay zu vergleichbaren Ergebnissen mit bisherigen Studien führt. Insbesondere für schwere Formen der PE konnte eine sehr gute diagnostische Aussagekraft gezeigt werden. Die Messung der Parameter sFlt1, PIGF und vor allem sFlt1/PIGF könnte somit das klinische Management direkt beeinflussen, durch eine rechtzeitige Überweisung in spezialisierte Zentren die maternale und fetale Morbidität und Mortalität reduzieren und wird bereits in der klinischen Routine angewendet.

Literaturverzeichnis

1. LIPPERT H. Lehrbuch der Anatomie. München: Urban & Fischer Verlag, 2003 (vol 6).
2. HOGBERG U. The World Health Report 2005: "make every mother and child count" - including Africans. Scand J Public Health 2005;33:409-11.
3. LINDHEIMER MD RJ, CUNNINGHAM FG, CHESLEY L. Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy. In: Lindheimer MD RJ, Cunningham FG, ed. Amsterdam; Boston: Academic Press/Elsevier, 2009.
4. ROBERTS JM, PEARSON GD, CUTLER JA, LINDHEIMER MD. Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy. Hypertens Pregnancy 2003;22:109-27.
5. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. Am J Obstet Gynecol 2000;183:S1-S22.
6. DGGG. Diagnostik und Therapie hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen, 2013. Online im Internet: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/015-018l_S1_Diagnostik_Therapie_hypertensiver_Schwangerschaftserkrankungen_2013-12.pdf (Stand: 08.01.14; Abfrage: 17:41 Uhr).
7. SIBAI BM, STELLA CL. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia. Am J Obstet Gynecol 2009;200:481 e1-7.
8. HARLOW FH, BROWN MA. The diversity of diagnoses of preeclampsia. Hypertens Pregnancy 2001;20:57-67.
9. MARTIN JN, JR., THIGPEN BD, MOORE RC, ROSE CH, CUSHMAN J, MAY W. Stroke and severe preeclampsia and eclampsia: a paradigm shift focusing on systolic blood pressure. Obstet Gynecol 2005;105:246-54.
10. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. American College of Obstetricians and Gynecologists. Int J Gynaecol Obstet 2002;77:67-75.
11. BROWN MA, HAGUE WM, HIGGINS J, et al. The detection, investigation and management of hypertension in pregnancy: executive summary. Aust N Z J Obstet Gynaecol 2000;40:133-8.
12. LINDHEIMER MD, TALER SJ, CUNNINGHAM FG. Hypertension in pregnancy. J Am Soc Hypertens 2008;2:484-94.
13. STEEGERS EA, VON DADELSZEN P, DUVEKOT JJ, PIJNENBORG R. Pre-eclampsia. Lancet 2010;376:631-44.
14. GANZEVOORT W, REP A, DE VRIES JI, BONSEL GJ, WOLF H. Prediction of maternal complications and adverse infant outcome at admission for temporizing management of early-onset severe hypertensive disorders of pregnancy. Am J Obstet Gynecol 2006;195:495-503.
15. ZHANG J, MEIKLE S, TRUMBLE A. Severe maternal morbidity associated with hypertensive disorders in pregnancy in the United States. Hypertens Pregnancy 2003;22:203-12.
16. BROWN MA, LINDHEIMER MD, DE SWIET M, VAN ASSCHE A, MOUTQUIN JM. 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:IX-XIV.

17. SIBAI BM. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *Obstet Gynecol* 2004;103:981-91.
18. MARTIN JN, JR., RINEHART BK, MAY WL, MAGANN EF, TERRONE DA, BLAKE PG. The spectrum of severe preeclampsia: comparative analysis by HELLP (hemolysis, elevated liver enzyme levels, and low platelet count) syndrome classification. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:1373-84.
19. SIBAI BM, RAMADAN MK, USTA I, SALAMA M, MERCER BM, FRIEDMAN SA. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:1000-6.
20. AUDIBERT F, FRIEDMAN SA, FRANGIEH AY, SIBAI BM. Clinical utility of strict diagnostic criteria for the HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:460-4.
21. RATH W, LOOS W, KUHN W, GRAEFF H. The importance of early laboratory screening methods for maternal and fetal outcome in cases of HELLP syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1990;36:43-51.
22. NORAIHAN MN, SHARDA P, JAMMAL AB. Report of 50 cases of eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res* 2005;31:302-9.
23. SIBAI BM. Diagnosis, prevention, and management of eclampsia. *Obstet Gynecol* 2005;105:402-10.
24. DOUGLAS KA, REDMAN CW. Eclampsia in the United Kingdom. *BMJ* 1994;309:1395-400.
25. RAY JG, VERMEULEN MJ, SCHULL MJ, REDELMEIER DA. Cardiovascular health after maternal placental syndromes (CHAMPS): population-based retrospective cohort study. *Lancet* 2005;366:1797-803.
26. NORIS M, PERICO N, REMUZZI G. Mechanisms of disease: Pre-eclampsia. *Nat Clin Pract Nephrol* 2005;1:98-114; quiz 120.
27. KHAN KS, WOJDYLA D, SAY L, GULMEZOGLU AM, VAN LOOK PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet* 2006;367:1066-74.
28. ZHANG J, ZEISLER J, HATCH MC, BERKOWITZ G. Epidemiology of pregnancy-induced hypertension. *Epidemiol Rev* 1997;19:218-32.
29. SIBAI BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;102:181-92.
30. HAUTH JC, EWELL MG, LEVINE RJ, et al. Pregnancy outcomes in healthy nulliparas who developed hypertension. Calcium for Preeclampsia Prevention Study Group. *Obstet Gynecol* 2000;95:24-8.
31. VATTEN LJ, SKJAERVEN R. Is pre-eclampsia more than one disease? *BJOG* 2004;111:298-302.
32. Geographic variation in the incidence of hypertension in pregnancy. World Health Organization International Collaborative Study of Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:80-3.
33. KOELMAN CA, COUMANS AB, NIJMAN HW, DOXIADIS, II, DEKKER GA, CLAAS FH. Correlation between oral sex and a low incidence of preeclampsia: a role for soluble HLA in seminal fluid? *J Reprod Immunol* 2000;46:155-66.
34. EINARSSON JI, SANGI-HAGHPEYKAR H, GARDNER MO. Sperm exposure and development of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:1241-3.
35. KHO EM, MCCOWAN LM, NORTH RA, et al. Duration of sexual relationship and its effect on preeclampsia and small for gestational age perinatal outcome. *J Reprod Immunol* 2009;82:66-73.

36. MARTI JJ, HERRMANN U. Immunogestosis: a new etiologic concept of "essential" EPH gestosis, with special consideration of the primigravid patient; preliminary report of a clinical study. *Am J Obstet Gynecol* 1977;128:489-93.
37. SAFTLAS AF, LEVINE RJ, KLEBANOFF MA, et al. Abortion, changed paternity, and risk of preeclampsia in nulliparous women. *Am J Epidemiol* 2003;157:1108-14.
38. DEKKER G, ROBILLARD PY. The birth interval hypothesis-does it really indicate the end of the primipaternity hypothesis. *J Reprod Immunol* 2003;59:245-51.
39. SKJAERVEN R, WILCOX AJ, LIE RT. The interval between pregnancies and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2002;346:33-8.
40. ZHANG J, PATEL G. Partner change and perinatal outcomes: a systematic review. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2007;21 Suppl 1:46-57.
41. ZHANG J. Partner change, birth interval and risk of pre-eclampsia: a paradoxical triangle. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2007;21 Suppl 1:31-5.
42. BASSO O, CHRISTENSEN K, OLSEN J. Higher risk of pre-eclampsia after change of partner. An effect of longer interpregnancy intervals? *Epidemiology* 2001;12:624-9.
43. LIE RT, RASMUSSEN S, BRUNBORG H, GJESSING HK, LIE-NIELSEN E, IRGENS LM. Fetal and maternal contributions to risk of pre-eclampsia: population based study. *BMJ* 1998;316:1343-7.
44. ESPLIN MS, FAUSETT MB, FRASER A, et al. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. *N Engl J Med* 2001;344:867-72.
45. DUCKITT K, HARRINGTON D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ* 2005;330:565.
46. SIBAI B, DEKKER G, KUPFERMINEC M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005;365:785-99.
47. SIBAI BM, HAUTH J, CARITIS S, et al. Hypertensive disorders in twin versus singleton gestations. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:938-42.
48. WEN SW, DEMISSIE K, YANG Q, WALKER MC. Maternal morbidity and obstetric complications in triplet pregnancies and quadruplet and higher-order multiple pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:254-8.
49. CARITIS S, SIBAI B, HAUTH J, et al. Low-dose aspirin to prevent preeclampsia in women at high risk. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *N Engl J Med* 1998;338:701-5.
50. HNAT MD, SIBAI BM, CARITIS S, et al. Perinatal outcome in women with recurrent preeclampsia compared with women who develop preeclampsia as nulliparas. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:422-6.
51. BARTON JR, SIBAI BM. Prediction and prevention of recurrent preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2008;112:359-72.
52. CARR DB, EPPLEIN M, JOHNSON CO, EASTERLING TR, CRITCHLOW CW. A sister's risk: family history as a predictor of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:965-72.
53. SIBAI BM. Chronic hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2002;100:369-77.
54. O'BRIEN TE, RAY JG, CHAN WS. Maternal body mass index and the risk of preeclampsia: a systematic overview. *Epidemiology* 2003;14:368-74.
55. CEDERGREN MI. Maternal morbid obesity and the risk of adverse pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 2004;103:219-24.
56. WOLF M, SANDLER L, MUNOZ K, HSU K, ECKER JL, THADHANI R. First trimester insulin resistance and subsequent preeclampsia: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1563-8.

57. ENGLAND LJ, LEVINE RJ, QIAN C, et al. Smoking before pregnancy and risk of gestational hypertension and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:1035-40.
58. DEKKER G, SIBAI B. Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet* 2001;357:209-15.
59. XIONG X, WANG FL, DAVIDGE ST, et al. Maternal smoking and preeclampsia. *J Reprod Med* 2000;45:727-32.
60. YOUNG BC, LEVINE RJ, KARUMANCHI SA. Pathogenesis of preeclampsia. *Annu Rev Pathol* 2010;5:173-92.
61. REDMAN CW. Fetal outcome in trial of antihypertensive treatment in pregnancy. *Lancet* 1976;2:753-6.
62. SIBAI BM. Treatment of hypertension in pregnant women. *N Engl J Med* 1996;335:257-65.
63. MAGEE LA, DULEY L. Oral beta-blockers for mild to moderate hypertension during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 2003:CD002863.
64. MAGEE LA, CHAM C, WATERMAN EJ, OHLSSON A, VON DADELSZEN P. Hydralazine for treatment of severe hypertension in pregnancy: meta-analysis. *BMJ* 2003;327:955-60.
65. DULEY L, HENDERSON-SMART DJ. Drugs for treatment of very high blood pressure during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 2002:CD001449.
66. DULEY L, GULMEZOGLU AM, HENDERSON-SMART DJ. Magnesium sulphate and other anticonvulsants for women with pre-eclampsia. *Cochrane Database Syst Rev* 2003:CD000025.
67. HARAM K, SVENDSEN E, ABILDGAARD U. The HELLP syndrome: clinical issues and management. A Review. *BMC Pregnancy Childbirth* 2009;9:8.
68. CHURCHILL D, DULEY L. Interventionist versus expectant care for severe pre-eclampsia before term. *Cochrane Database Syst Rev* 2002:CD003106.
69. VIGIL-DE GRACIA P, MONTUFAR-RUEDA C, RUIZ J. Expectant management of severe preeclampsia and preeclampsia superimposed on chronic hypertension between 24 and 34 weeks' gestation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003;107:24-7.
70. HADDAD B, DEIS S, GOFFINET F, PANIEL BJ, CABROL D, SIBA BM. Maternal and perinatal outcomes during expectant management of 239 severe preeclamptic women between 24 and 33 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:1590-5; discussion 1595-7.
71. NISELL H, LINTU H, LUNELL NO, MOLLERSTROM G, PETTERSSON E. Blood pressure and renal function seven years after pregnancy complicated by hypertension. *Br J Obstet Gynaecol* 1995;102:876-81.
72. VIKSE BE, IRGENS LM, BOSTAD L, IVERSEN BM. Adverse perinatal outcome and later kidney biopsy in the mother. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:837-45.
73. HAWFIELD A, FREEDMAN BI. Pre-eclampsia: the pivotal role of the placenta in its pathophysiology and markers for early detection. *Ther Adv Cardiovasc Dis* 2009;3:65-73.
74. KOGA K, OSUGA Y, TAJIMA T, et al. Elevated serum soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) level in women with hydatidiform mole. *Fertil Steril* 2010;94:305-8.
75. SHEMBREY MA, NOBLE AD. An instructive case of abdominal pregnancy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1995;35:220-1.
76. MATSUO K, KOOSHESH S, DINC M, SUN CC, KIMURA T, BASCHAT AA. Late postpartum eclampsia: report of two cases managed by uterine curettage and

- review of the literature. *Am J Perinatol* 2007;24:257-66.
77. SALAFIA CM PJ, GHIDINI A, LOPÈZ-ZENO JA, WHITTINGTON SS. Clinical correlations of patterns of placental pathology in preterm pre-eclampsia. *Placenta*. 1998;19:67-72.
 78. FOIDART JM, SCHAAPS JP, CHANTRAINE F, MUNAUT C, LORQUET S. Dysregulation of anti-angiogenic agents (sFlt-1, PLGF, and sEndoglin) in preeclampsia--a step forward but not the definitive answer. *J Reprod Immunol* 2009;82:106-11.
 79. ROBERTS JM, HUBEL CA. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta* 2009;30 Suppl A:S32-7.
 80. ZHOU Y, FISHER SJ, JANATPOUR M, et al. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J Clin Invest* 1997;99:2139-51.
 81. MEEKINS JW, PIJNENBORG R, HANSENS M, MCFADYEN IR, VAN ASSHE A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1994;101:669-74.
 82. ZHOU Y, DAMSKY CH, CHIU K, ROBERTS JM, FISHER SJ. Preeclampsia is associated with abnormal expression of adhesion molecules by invasive cytotrophoblasts. *J Clin Invest* 1993;91:950-60.
 83. ZHOU Y, DAMSKY CH, FISHER SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest* 1997;99:2152-64.
 84. KARUMANCHI SA, BDOLAH Y. Hypoxia and sFlt-1 in preeclampsia: the "chicken-and-egg" question. *Endocrinology* 2004;145:4835-7.
 85. KIVINEN K, PETERSON H, HILTUNEN L, et al. Evaluation of STOX1 as a preeclampsia candidate gene in a population-wide sample. *Eur J Hum Genet* 2007;15:494-7.
 86. BERENDS AL, BERTOLI-AVELLA AM, DE GROOT CJ, VAN DUIJN CM, OOSTRA BA, STEEGERS EA. STOX1 gene in pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *BJOG* 2007;114:1163-7.
 87. LOCKWOOD CJ, MATTA P, KRIKUN G, et al. Regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression by tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta in first trimester human decidual cells: implications for preeclampsia. *Am J Pathol* 2006;168:445-52.
 88. HUANG SJ, CHEN CP, SCHATZ F, RAHMAN M, ABRAHAMS VM, LOCKWOOD CJ. Preeclampsia is associated with dendritic cell recruitment into the uterine decidua. *J Pathol* 2008;214:328-36.
 89. HIBY SE, WALKER JJ, O'SHAUGHNESSY K M, et al. Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success. *J Exp Med* 2004;200:957-65.
 90. SAITO S, TAKEDA Y, SAKAI M, NAKABAYAH M, HAYAKAWA S. The incidence of pre-eclampsia among couples consisting of Japanese women and Caucasian men. *J Reprod Immunol* 2006;70:93-8.
 91. ROBERTS JM, HUBEL CA. Oxidative stress in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:1177-8.
 92. CUDIHY D, LEE RV. The pathophysiology of pre-eclampsia: current clinical concepts. *J Obstet Gynaecol* 2009;29:576-82.
 93. ROBERTS JM, TAYLOR RN, MUSCI TJ, RODGERS GM, HUBEL CA, MCLAUGHLIN MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:1200-4.

94. ROBERTS JM, COOPER DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet* 2001;357:53-6.
95. ROBERTS JM. Endothelial dysfunction in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol* 1998;16:5-15.
96. LAM C, LIM KH, KARUMANCHI SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension* 2005;46:1077-85.
97. ROBERTS JM, LAIN KY. Recent Insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta* 2002;23:359-72.
98. ROBERTS JM, GAMMILL HS. Preeclampsia: recent insights. *Hypertension* 2005;46:1243-9.
99. GANT NF, CHAND S, WHALLEY PJ, MACDONALD PC. The nature of pressor responsiveness to angiotensin II in human pregnancy. *Obstet Gynecol* 1974;43:854.
100. GANT NF, DALEY GL, CHAND S, WHALLEY PJ, MACDONALD PC. A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy. *J Clin Invest* 1973;52:2682-9.
101. ABDALLA S, LOTHER H, EL MASSIERY A, QUITTERER U. Increased AT(1) receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness. *Nat Med* 2001;7:1003-9.
102. WALLUKAT G, HOMUTH V, FISCHER T, et al. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor. *J Clin Invest* 1999;103:945-52.
103. DECHEND R, HOMUTH V, WALLUKAT G, et al. AT(1) receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients cause vascular cells to express tissue factor. *Circulation* 2000;101:2382-7.
104. DECHEND R, VIEDT C, MULLER DN, et al. AT1 receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients stimulate NADPH oxidase. *Circulation* 2003;107:1632-9.
105. XIA Y, WEN H, BOBST S, DAY MC, KELLEMS RE. Maternal autoantibodies from preeclamptic patients activate angiotensin receptors on human trophoblast cells. *J Soc Gynecol Investig* 2003;10:82-93.
106. SPARGO B, MC CC, WINEMILLER R. Glomerular capillary endotheliosis in toxemia of pregnancy. *Arch Pathol* 1959;68:593-9.
107. LAFAYETTE RA, DRUZIN M, SIBLEY R, et al. Nature of glomerular dysfunction in pre-eclampsia. *Kidney Int* 1998;54:1240-9.
108. MAYNARD SE, MIN JY, MERCHAN J, et al. 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.
109. VENKATESHA S, TOPORSIAN M, LAM C, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 2006;12:642-9.
110. LEVINE RJ, MAYNARD SE, QIAN C, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004;350:672-83.
111. POLLIOTTI BM, FRY AG, SALLER DN, MOONEY RA, COX C, MILLER RK. Second-trimester maternal serum placental growth factor and vascular endothelial growth factor for predicting severe, early-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;101:1266-74.
112. LIVINGSTON JC, CHIN R, HADDAD B, MCKINNEY ET, AHOKAS R, SIBAI BM. Reductions of vascular endothelial growth factor and placental growth factor concentrations in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1554-7.
113. WIKSTROM AK, LARSSON A, ERIKSSON UJ, NASH P, NORDEN-LINDEBERG S, OLOVSSON M. Placental growth factor and soluble FMS-like tyrosine kinase-1 in

- early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2007;109:1368-74.
114. THADHANI R, MUTTER WP, WOLF M, et al. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:770-5.
 115. SHIBATA E, RAJAKUMAR A, POWERS RW, et al. 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;90:4895-903.
 116. LEVINE RJ, LAM C, QIAN C, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006;355:992-1005.
 117. MAHARAJ AS, WALSH TE, SAINT-GENIEZ M, et al. VEGF and TGF-beta are required for the maintenance of the choroid plexus and ependyma. *J Exp Med* 2008;205:491-501.
 118. ESSER S, WOLBURG K, WOLBURG H, BREIER G, KURZCHALIA T, RISAU W. Vascular endothelial growth factor induces endothelial fenestrations in vitro. *J Cell Biol* 1998;140:947-59.
 119. DEMIR R KU, SEVAL Y, CELIK-OZENCI C, KORGUN ET, DEMIR-WEUSTEN AY, HUPPERTZ B. Sequential expression of VEGF and its receptors in human placental villi during very early pregnancy: differences between placental vasculogenesis and angiogenesis. *Placenta*. 2004;25:560-72.
 120. MAHARAJ AS, SAINT-GENIEZ M, MALDONADO AE, D'AMORE PA. Vascular endothelial growth factor localization in the adult. *Am J Pathol* 2006;168:639-48.
 121. FERRARA N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280:C1358-66.
 122. EREMINA V, SOOD M, HAIGH J, et al. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest* 2003;111:707-16.
 123. SUGIMOTO H HY, 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.
 124. EREMINA V, JEFFERSON JA, KOWALEWSKA J, et al. VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med* 2008;358:1129-36.
 125. PATEL TV, MORGAN JA, DEMETRI GD, et al. 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.
 126. AUTIERO M, LUTTUN A, TJWA M, CARMELIET P. Placental growth factor and its receptor, vascular endothelial growth factor receptor-1: novel targets for stimulation of ischemic tissue revascularization and inhibition of angiogenic and inflammatory disorders. *J Thromb Haemost* 2003;1:1356-70.
 127. SMITH GC WH. The perinatal implications of angiogenic factors. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2009;21:111-6.
 128. CARMELIET P, MOONS L, LUTTUN A, et al. Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Nat Med* 2001;7:575-83.
 129. KENDALL RL, THOMAS KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:10705-9.
 130. HE Y, SMITH SK, DAY KA, CLARK DE, LICENCE DR, CHARNOCK-JONES DS.

- Alternative splicing of vascular endothelial growth factor (VEGF)-R1 (FLT-1) pre-mRNA is important for the regulation of VEGF activity. *Mol Endocrinol* 1999;13:537-45.
131. NAGAMATSU T, FUJII T, KUSUMI M, et al. Cytotrophoblasts up-regulate soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression under reduced oxygen: an implication for the placental vascular development and the pathophysiology of preeclampsia. *Endocrinology* 2004;145:4838-45.
 132. RAJAKUMAR A, MICHAEL HM, RAJAKUMAR PA, et al. Extra-placental expression of vascular endothelial growth factor receptor-1, (Flt-1) and soluble Flt-1 (sFlt-1), by peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in normotensive and preeclamptic pregnant women. *Placenta* 2005;26:563-73.
 133. TUOHY JF, JAMES DK. Pre-eclampsia and trisomy 13. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99:891-4.
 134. SELA S, ITIN A, NATANSON-YARON S, et al. 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.
 135. THOMAS CP, ANDREWS JI, LIU KZ. Intronic polyadenylation signal sequences and alternate splicing generate human soluble Flt1 variants and regulate the abundance of soluble Flt1 in the placenta. *FASEB J* 2007;21:3885-95.
 136. ARROYO JA, WINN VD. Vasculogenesis and angiogenesis in the IUGR placenta. *Semin Perinatol* 2008;32:172-7.
 137. ROMERO R, NIEN JK, ESPINOZA J, et al. 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.
 138. THADHANI R, KISNER T, HAGMANN H, et al. Pilot study of extracorporeal removal of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia. *Circulation* 2011;124:940-50.
 139. YALLAMPALLI C, GARFIELD RE. Inhibition of nitric oxide synthesis in rats during pregnancy produces signs similar to those of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:1316-20.
 140. 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 endogline in preeclampsia. *Hypertension* 2008;52:402-7.
 141. WIDMER M, VILLAR J, BENIGNI A, CONDE-AGUDELO A, KARUMANCHI SA, LINDHEIMER M. Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2007;109:168-80.
 142. CHAIWORAPONGSA T, ROMERO R, ESPINOZA J, et al. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. Young Investigator Award. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:1541-7; discussion 1547-50.
 143. MCKEEMAN GC, ARDILL JE, CALDWELL CM, HUNTER AJ, McCLURE N. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sFlt-1) is increased throughout gestation in patients who have preeclampsia develop. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1240-6.
 144. HERTIG A, BERKANE N, LEFEVRE G, et al. Maternal serum sFlt1 concentration is an early and reliable predictive marker of preeclampsia. *Clin Chem* 2004;50:1702-3.
 145. TAYLOR RN, GRIMWOOD J, TAYLOR RS, McMASTER MT, FISHER SJ, NORTH RA.

- Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:177-82.
146. TORRY DS, MUKHERJEA D, ARROYO J, TORRY RJ. Expression and function of placenta growth factor: implications for abnormal placentation. *J Soc Gynecol Investig* 2003;10:178-88.
 147. TIDWELL SC, HO HN, CHIU WH, TORRY RJ, TORRY DS. Low maternal serum levels of placenta growth factor as an antecedent of clinical preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1267-72.
 148. BERSINGER NA, ODEGARD RA. Second- and third-trimester serum levels of placental proteins in preeclampsia and small-for-gestational age pregnancies. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004;83:37-45.
 149. CHAPPELL LC, SEED PT, BRILEY A, et al. A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:127-36.
 150. KRAUSS T, PAUER HU, AUGUSTIN HG. Prospective analysis of placenta growth factor (PIGF) concentrations in the plasma of women with normal pregnancy and pregnancies complicated by preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2004;23:101-11.
 151. SU YN, LEE CN, CHENG WF, SHAU WY, CHOW SN, HSIEH FJ. Decreased maternal serum placenta growth factor in early second trimester and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2001;97:898-904.
 152. CHAIWORAPONGSA T, ROMERO R, KIM YM, et al. 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.
 153. TJOA ML, VAN VUGT JM, MULDER MA, SCHUTGENS RB, OUDEJANS CB, VAN WIJK IJ. Plasma placenta growth factor levels in midtrimester pregnancies. *Obstet Gynecol* 2001;98:600-7.
 154. MOORE SIMAS TA, CRAWFORD SL, SOLITRO MJ, FROST SC, MEYER BA, MAYNARD SE. Angiogenic factors for the prediction of preeclampsia in high-risk women. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197:241-8.
 155. STEPAN H, UNVERSUCHT A, WESSEL N, FABER R. Predictive value of maternal angiogenic factors in second trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion. *Hypertension* 2007;49:818-24.
 156. BUHIMSCHI CS, NORWITZ ER, FUNAI E, et al. Urinary angiogenic factors cluster hypertensive disorders and identify women with severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:734-41.
 157. HIRASHIMA C, OHKUCHI A, ARAI F, et al. Establishing reference values for both total soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and free placental growth factor in pregnant women. *Hypertens Res* 2005;28:727-32.
 158. SUNDERJI S, GAZIANO E, WOTHE D, et al. Automated assays for sVEGF R1 and PIGF as an aid in the diagnosis of preterm preeclampsia: a prospective clinical study. *Am J Obstet Gynecol*;202:40 e1-7.
 159. VERLOHREN S, GALINDO A, SCHLEMBACH D, et al. An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:161 e1-161 e11.
 160. OHKUCHI A, HIRASHIMA C, SUZUKI H, et al. Evaluation of a new and automated electrochemiluminescence immunoassay for plasma sFlt-1 and PIGF levels in women with preeclampsia. *Hypertens Res* 2010;33:422-7.
 161. SCHIETTECATTE J, RUSSCHER H, ANCKAERT E, et al. Multicenter evaluation of the

- first automated Elecsys sFlt-1 and PIGF assays in normal pregnancies and preeclampsia. *Clin Biochem* 2011;43:768-70.
162. TORRY DS, WANG HS, WANG TH, CAUDLE MR, TORRY RJ. Preeclampsia is associated with reduced serum levels of placenta growth factor. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1539-44.
 163. KOGA K, OSUGA Y, YOSHINO O, et al. Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2348-51.
 164. TSATSARIS V, GOFFIN F, MUNAUT C, et al. Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: pathophysiological consequences. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5555-63.
 165. CHAIWORAPONGSA T, ESPINOZA J, GOTSCH F, et al. The maternal plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 concentration is elevated in SGA and the magnitude of the increase relates to Doppler abnormalities in the maternal and fetal circulation. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2008;21:25-40.
 166. STEPAN H, GEIDE A, FABER R. Soluble fms-like tyrosine kinase 1. *N Engl J Med* 2004;351:2241-2.
 167. DECHEND R, LUFT FC. Angiogenesis factors and preeclampsia. *Nat Med* 2008;14:1187-8.
 168. KUSANOVIC JP, ROMERO R, ESPINOZA J, et al. Twin-to-twin transfusion syndrome: an antiangiogenic state? *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:382 e1-8.
 169. ESPINOZA J, ROMERO R, NIEN JK, et al. A role of the anti-angiogenic factor sVEGFR-1 in the 'mirror syndrome' (Ballantyne's syndrome). *J Matern Fetal Neonatal Med* 2006;19:607-13.
 170. ROBINSON CJ, JOHNSON DD, CHANG EY, ARMSTRONG DM, WANG W. Evaluation of placenta growth factor and soluble Fms-like tyrosine kinase 1 receptor levels in mild and severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:255-9.
 171. OGGE G, ROMERO R, KUSANOVIC JP, et al. Serum and plasma determination of angiogenic and anti-angiogenic factors yield different results: the need for standardization in clinical practice. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010;23:820-7.
 172. WOOLCOCK J, HENNESSY A, XU B, et al. Soluble Flt-1 as a diagnostic marker of pre-eclampsia. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2008;48:64-70.
 173. SALAHUDDIN S, LEE Y, VADNAIS M, SACHS BP, KARUMANCHI SA, LIM KH. Diagnostic utility of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in hypertensive diseases of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197:28 e1-6.
 174. HIRASHIMA C, OHKUCHI A, TAKAHASHI K, et al. Gestational hypertension as a subclinical preeclampsia in view of serum levels of angiogenesis-related factors. *Hypertens Res* 2011;34:212-7.
 175. SUNDERJI S, GAZIANO E, WOTHE D, et al. Automated assays for sVEGF R1 and PIGF as an aid in the diagnosis of preterm preeclampsia: a prospective clinical study. *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:40 e1-7.
 176. MASUYAMA H, SUWAKI N, NAKATSUKASA H, MASUMOTO A, TATEISHI Y, HIRAMATRSU Y. Circulating angiogenic factors in preeclampsia, gestational proteinuria, and preeclampsia superimposed on chronic glomerulonephritis. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:551-6.
 177. OHKUCHI A, HIRASHIMA C, MATSUBARA S, et al. Serum sFlt1:PIGF ratio, PIGF, and soluble endoglin levels in gestational proteinuria. *Hypertens Pregnancy* 2009;28:95-108.
 178. YOUNG B, LEVINE RJ, SALAHUDDIN S, et al. The use of angiogenic biomarkers to differentiate non-HELLP related thrombocytopenia from HELLP syndrome. *J*

- Matern Fetal Neonatal Med 2010;23:366-70.
179. MASUYAMA H, SEGAWA T, SUMIDA Y, et al. Different profiles of circulating angiogenic factors and adipocytokines between early- and late-onset pre-eclampsia. *BJOG* 2010;117:314-20.
 180. STAFF AC, HARSEM NK, BRAEKKE K, HYER M, HOOVER RN, TROISI R. Maternal, gestational and neonatal characteristics and maternal angiogenic factors in normotensive pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;143:29-33.
 181. BUHIMSCHI CS, BAUMBUSCH MA, DULAY AT, et al. The role of urinary soluble endoglin in the diagnosis of pre-eclampsia: comparison with soluble fms-like tyrosine kinase 1 to placental growth factor ratio. *BJOG* 2010;117:321-30.
 182. LEVINE RJ, THADHANI R, QIAN C, et al. Urinary placental growth factor and risk of preeclampsia. *JAMA* 2005;293:77-85.
 183. KUSANOVIC JP, ROMERO R, CHAIWORAPONGSA T, et al. A prospective cohort study of the value of maternal plasma concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in early pregnancy and midtrimester in the identification of patients destined to develop preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2009;22:1021-38.
 184. LEVINE RJ, QIAN C, MAYNARD SE, YU KF, EPSTEIN FH, KARUMANCHI SA. Serum sFlt1 concentration during preeclampsia and mid trimester blood pressure in healthy nulliparous women. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:1034-41.
 185. NOORI M, DONALD AE, ANGELAKOPOULOU A, HINGORANI AD, WILLIAMS DJ. Prospective study of placental angiogenic factors and maternal vascular function before and after preeclampsia and gestational hypertension. *Circulation* 2011;122:478-87.
 186. DE VIVO A, BAVIERA G, GIORDANO D, TODARELLO G, CORRADO F, D'ANNA R. Endoglin, PIGF and sFlt-1 as markers for predicting pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008;87:837-42.
 187. STEPAN H, GEIPEL A, SCHWARZ F, KRAMER T, WESSEL N, FABER R. Circulatory soluble endoglin and its predictive value for preeclampsia in second-trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:175 e1-6.
 188. Zhang J, Klebanoff MA, Roberts JM. Prediction of adverse outcomes by common definitions of hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2001;97:261-7.
 189. Hadker N, Garg S, Costanzo C, et al. Financial impact of a novel pre-eclampsia diagnostic test versus standard practice: a decision-analytic modeling analysis from a UK healthcare payer perspective. *J Med Econ* 2013;13:728-37.

Abkürzungsverzeichnis

AGA	appropriate size for gestational age
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
AT1	Angiotensin II Typ 1 Rezeptor
AT1-AA	Angiotensin II Typ 1 Rezeptor Autoantikörper
AUC	area under the curve
BMI	body mass index
bzw.	beziehungsweise
cHT	chronische Hypertonie
CTG	cardiotocography
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
EW	Entwicklungswochen
frPE	früh einsetzende Präeklampsie
Flk-1	fetal liver kinase 1
Flt1	fms-like tyrosine kinase 1
GP	Gestationsproteinurie
HELLP	haemolysis, elevated liver enzyme levels, low platelet count
HIF	hypoxia-inducible factor
HIV	human immunodeficiency virus
HLA	human leukocyte antigen
IUGR	intrauterine growth restriction
KDR	kinase insert domain-containing receptor
KIR	killer immunoglobulin receptor
LDH	Laktatdehydrogenase
mPE	milde Präeklampsie
NK	natürliche Killerzellen
NO	nitric oxide; Stickstoffmonoxid
PE	Präeklampsie
PIGF	placental growth factor
pPE	Propf-Präeklampsie
ROC	receiver operated characteristic

sEng	soluble endoglin
sFlt1	soluble fms-like tyrosine kinase 1
SGA	small for gestational age
SIH	schwangerschaftsinduzierte Hypertonie
sPE	schwere Präeklampsie
spPE	spät einsetzende Präeklampsie
SSW	Schwangerschaftswochen
STOX1	storkhead box 1
TGF- β	transforming growth factor beta
uFlt1/PlGF	urinary soluble fms-like tyrosine kinase/placental growth factor
VEGF	vascular endothelial growth factor
VEGFR1	vascular endothelial growth factor receptor 1

Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Theresa Engels, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Der automatisierte Elecsys®-Assay zur Messung von sFlt1, PlGF und ihrem Quotienten sFlt1/PlGF in der Diagnose hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen“ 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 etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation 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

Anteilerklärung an erfolgten Publikationen

Theresa Engels hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

1) Originalarbeiten

- Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H, Calda P, Holzgreve W, Galindo A, Engels T, Denk B, Stepan H: The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 Jan;206(1):58.e1-8.

Beitrag im Einzelnen: Patientenbetreuung, Datenerfassung, Auswertung

- Schoofs K, Grittner U, Engels T, Pape J, Denk B, Henrich W, Verlohren S: The importance of repeated measurements of the sFlt-1/PlGF ratio for the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction. In Revision bei *Journal of Perinatal Medicine*.

Beitrag im Einzelnen: Patientenbetreuung, Datenerfassung, Auswertung

- Engels T, Pape J, Schoofs K, Henrich W, Verlohren S: Automated measurements of sFlt1, PlGF and sFlt1/PlGF ratio in differential diagnosis of hypertensive pregnancy disorders. Eingereicht bei *Hypertension in Pregnancy*.

Beitrag im Einzelnen: Patientenbetreuung, Datenerfassung, Auswertung

2) Kongressbeiträge

- Engels T, Pape J, Schoofs K, Denk B, Beinder E, Verlohren S: The Elecsys Assay for PlGF, sFlt-1 and their ratio (sFlt1/PlGF) as an aid in differential diagnosis of pregnancy-related hypertensive disorders. *International Society for the Study of Hypertension (ISSHP) Congress*, 5.-7. Oktober 2011, Rom, Italien

Beitrag im Einzelnen: Patientenbetreuung, Datenerfassung, Auswertung, Posterpräsentation

- Engels T, Schoofs K, Pape J, Denk B, Beinder E, Verlohren S: Die Bedeutung der automatisierten Messung von PIGF und sFlt1 für die Differentialdiagnose hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen. *Deutsche Gesellschaft für Perinatale Medizin (DGPM) Kongress*, 1.-3. Dezember 2011, Berlin
Beitrag im Einzelnen: Patientenbetreuung, Datenerfassung, Auswertung, Posterpräsentation
- Schoofs K, Engels T, Pape J, Henrich W, Stephan H, Verlohren S: Prediction of preeclampsia with the sFlt-1/PIGF ratio: impact of the slope of repeated measurements. *International Society for the Study of Hypertension (ISSHP) Congress*, 9.-12. Juli 2012, Genf, Schweiz
Beitrag im Einzelnen: Patientenbetreuung, Datenerfassung, Auswertung

Unterschrift der Doktorandin

Lebenslauf

Theresa Engels

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

Publikationsliste

1) Originalarbeiten

- Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H, Calda P, Holzgreve W, Galindo A, Engels T, Denk B, Stepan H: The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 Jan;206(1):58.e1-8.
- Schoofs K, Grittner U, Engels T, Pape J, Denk B, Henrich W, Verlohren S: The importance of repeated measurements of the sFlt-1/PlGF ratio for the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction. In Revision bei *Journal of Perinatal Medicine.*
- Engels T, Pape J, Schoofs K, Henrich W, Verlohren S: Automated measurements of sFlt1, PlGF and sFlt1/PlGF ratio in differential diagnosis of hypertensive pregnancy disorders. Eingereicht bei *Hypertension in Pregnancy.*

2) Kongressbeiträge

- Engels T, Pape J, Schoofs K, Denk B, Beinder E, Verlohren S: The Elecsys Assay for PlGF, sFlt-1 and their ratio (sFlt1/PlGF) as an aid in differential diagnosis of pregnancy-related hypertensive disorders. *International Society for the Study of Hypertension (ISSHP) Congress, 5.-7. Oktober 2011, Rom, Italien*
- Engels T, Schoofs K, Pape J, Denk B, Beinder E, Verlohren S: Die Bedeutung der automatisierten Messung von PlGF und sFlt1 für die Differentialdiagnose hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen. *Deutsche Gesellschaft für Perinatale Medizin (DGPM) Kongress, 1.-3. Dezember 2011, Berlin*
- Schoofs K, Engels T, Pape J, Henrich W, Stephan H, Verlohren S: Prediction of preeclampsia with the sFlt-1/PlGF ratio: impact of the slope of repeated measurements. *International Society for the Study of Hypertension (ISSHP) Congress, 9.-12. Juli 2012, Genf, Schweiz*

- Engels T, Frei C, Chekerov R, Bamberg C, Neitzel H, Henrich W, Verlohren S: Schwere Hypertonie und Proteinurie in 19+2SSW bei Triploidie mit Plazentahypertrophie sowie alobärer Holoprosenzephalie. 15. *Deutscher Gestosekongress*, 7.-8.Juni 2013, Berlin

Danksagung

Meinen Dank möchte ich zunächst den Probandinnen aussprechen, die bereitwillig an dieser Studie teilgenommen haben und die Durchführung ermöglicht haben.

Herrn PD Dr. med. Stefan Verlohren danke ich für die Überlassung des Themas, für die andauernde Unterstützung und Beratung. Seine Kompetenz und seine konstruktive Kritik machten den Ablauf dieser Dissertation erst möglich. Sein stetes Vertrauen und seine Geduld gaben mir die Freiheit eigene Ideen zu entwickeln und zu verfolgen.

Andrea Stroux möchte ich für ihre Betreuung und Motivation danken. Ohne ihr Engagement und ihre geduldige Einführung in SPSS wäre die Auswertung dieser Studie nicht möglich gewesen.

Juliane Pape und Katharina Schoofs möchte ich für die gemeinsame Datenerhebung danken, nur durch ihre fleißige Mitarbeit konnten wir auf ein Patientenkollektiv dieser Größe kommen. Den Gutachtern im Promotionsausschuss danke ich für ihre Zeit und ihr Interesse an dieser Arbeit.

Meinen Freunden danke ich dafür, dass sie mir stets zur Seite standen, mich ablenkten, wenn es nötig war, und mir immer wieder die Motivation und Aussicht gaben, dass sich die ganze Arbeit am Ende lohnen würde.

Mein besonderer Dank gilt meiner Mutter für ihren uneingeschränkten Rückhalt auf allen Wegen, ihr Vertrauen und ihre Unterstützung in den vielen Jahren, in denen mein Wunsch Erfahrung zu sammeln mein Interesse an finanzieller Unabhängigkeit übertraf.