

Aus dem
CharitéCentrum für Frauen-, Kinder- und Jugendmedizin
mit Perinatalzentrum und Humangenetik - CC 17
Klinik für Geburtsmedizin, Campus Virchow-Klinikum
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin
Prof. Dr. Wolfgang Henrich

Habilitationsschrift

Experimentelle und klinische Aspekte der Pathophysiologie und Diagnostik der Präeklampsie

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach Frauenheilkunde und Geburtshilfe

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Stefan Verlohren
geboren am 03.04.1976 in Leipzig

Eingereicht im März 2012

Dekanin: Prof. Dr. Annette Grüters-Kieslich
1. Gutachter: Prof. Dr. Daniel Surbeck (Bern/Schweiz)
2. Gutachter: Prof. Dr. Ralf L. Schild (Hannover)

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1. Einleitung	6
1.1. Definitionen der Präeklampsie und anderer hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen	6
1.2. Epidemiologie und Risikofaktoren	7
1.3. Klinik der Präeklampsie	9
1.3.1. Diagnostik und Prädiktion	9
1.3.2. Klinisches Vorgehen und Therapie	10
1.4. Pathophysiologie der Präeklampsie	11
1.4.1. Die Bedeutung der Trophoblasteninvasion für die Pathogenese der Präeklampsie	12
1.4.2. Die Zwei-Phasen-Theorie der Präeklampsie	13
1.4.3. Angiogene und anti-angiogene Faktoren	15
1.4.4. Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, Agonistische Angiotensin II Rezeptor-1 Autoantikörper und die Rolle des Immunsystems bei Präeklampsie	17
1.5. Tiermodelle zur Präeklampsie	19
2. Ausgewählte Originalarbeiten	21
2.1. Experimentelle Arbeiten zur Pathophysiologie der Präeklampsie	21
2.1.1. Charakterisierung eines transgenen Tiermodells für Präeklampsie	21
2.1.2. Intervention am transgenen Tiermodell für Präeklampsie	30
2.2. Klinische Arbeiten zur Präeklampsie	39
2.2.1. Autoantikörper, sFlt-1 und Parvovirus B19-Immunität bei gesunden Schwangeren und Frauen mit Präeklampsie	39
2.2.2. Der sFlt-1/PIGF-Quotient als diagnostischer Marker für Präeklampsie	47
2.2.3. Der sFlt-1/PIGF-Quotient als differentialdiagnostischer und prognostischer Marker für Präeklampsie	60

3. Diskussion	70
3.1. Die trächtige transgene Ratte als Tiermodell für Präeklampsie	70
3.2. Der sFlt-1/PIGF-Quotient als diagnostischer, prädiktiver und prognostischer Marker für Präeklampsie	75
3.3 Ausblick	80
4. Zusammenfassung	82
5. Literaturverzeichnis	84
Danksagung	95
Eidesstattliche Erklärung	96

Abkürzungsverzeichnis

Aa.	Arteriae
ADRF	Adventitium-derived relaxing factor
ALT	Alanin-Aminotransferase
Ang II	Angiotensin II
AST	Aspartat-Aminotransferase
AT1-AA	Agonistische Angiotensin II Rezeptor-1 Autoantikörper
AUC	Area under the curve
chrHTN	Chronische Hypertonie
COX	Cyclooxygenase
Dpm	Delta beats per minute
DOX	Doxycyclin
EDHF	Endothelium-derived hyperpolarizing factor
EDRF	Endothelium-derived relaxing factor
ELISA	Enzym-linked Immunosorbant Assay
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GH	Gestationshypertonie
hAogen	Humanes Angiotensinogen Gen
hRen	Humanes Renin Gen
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
L-NAME	L-Nitro-Arginin-Methylester
LDH	Laktatdehydrogenase
MMP	Matrixmetalloproteinase
MT	Mesometriales Dreieck
PAPP-A	Pregnancy-associated plasma protein A
PE	Präeklampsie
PE+DOX	Doxycyclin-behandelte PE-Ratte
PE-DOX	Nicht Doxycyclin-behandelte PE-Ratte
PGF1 α	6-Keto-Prostaglandin F1 α
PGI $_2$	Prostacyclin
PIGF	Plazentarer Wachstumsfaktor

RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
ROC	Receiver operating characteristic
ROS	Reactive oxygen species
RUPP	Reduced uterine perfusion pressure
RR	Blutdruck („Riva-Rocci“)
rtPCR	Real-time polymerase chain reaction
SD	Sprague-Dawley-Ratte
SD+DOX	Doxycyclin-behandelte SD-Ratte
SD-DOX	Nicht Doxycyclin-behandelte SD-Ratte
SD-NP	Nicht schwangere („not pregnant“) SD-Ratte
SD-P	Schwangere („pregnant“) SD-Ratte
SD-PE	SD-Ratte mit präeklampsischem Phänotyp
sEng	lösliches Endoglin
sFlt-1	Lösliche fms-like Tyrosinkinase-1, Synonym: löslicher VEGF-Rezeptor-1
SHGPL-4	Saint Georges Hospital Plazenta-Zelllinie-4
SIH	Schwangerschaftsinduzierte Hypertonie
SSW	Schwangerschaftswoche
TGR	Transgene Ratte
TIMP	Tissue inhibitor
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TxA ₂	Thromboxan A ₂
uNK-Zellen	Uterine natürliche Killerzellen
VEGF	Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor

1. Einleitung

1.1. Definitionen der Präeklampsie und anderer hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen

Die Präeklampsie (PE, Synonym: Gestose) ist eine Multisystemerkrankung in der Schwangerschaft. Sie ist definiert als das Auftreten von Bluthochdruck (RR \geq 140/90 mmHg) und Proteinurie (\geq 300 mg/d) in der zweiten Schwangerschaftshälfte (\geq 20 Schwangerschaftswochen, SSW).¹⁻³

Hiervon abzugrenzen sind weitere hypertensive Schwangerschaftserkrankungen. Die Gestationshypertonie (GH, Synonym: schwangerschaftsinduzierte Hypertonie, SIH) ist definiert als das Neuauftreten von Bluthochdruck ohne Proteinurie. Von einer präexistenten oder chronischen Hypertonie spricht man, wenn eine Blutdruckerhöhung bereits vor der Schwangerschaft besteht oder diese sich in der Frühschwangerschaft entwickelt. Wenn eine schwangerschaftsinduzierte Hypertonie länger als zwölf Wochen nach der Entbindung bestehen bleibt, liegt ebenfalls eine chronische Hypertonie vor. Schließlich wird noch die Pfropfgestose oder Pfropfpräeklampsie definiert, wenn zu einer chronischen Hypertonie im Verlauf der Schwangerschaft noch eine Proteinurie hinzukommt.^{4,5}

Der klinische Verlauf der Präeklampsie ist sehr variabel und oft gekennzeichnet durch atypische Verläufe.⁶ Die Schwere einer PE und somit auch die Folgen für den Fetus variieren sehr stark in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsalter bei Erstmanifestation der Erkrankung. Von einer früh einsetzenden PE („early onset PE“) spricht man, wenn die Erkrankung vor der abgeschlossenen 34. SSW ($<$ 33+6 SSW) beginnt.⁴ Entsprechend ist eine spät einsetzende PE als das Auftreten der Erkrankung nach 34+0 SSW definiert. Eine frühe PE geht meist mit einem akuten und rasch progredienten klinischen Verlauf einher. Der Fetus ist aufgrund von Frühgeburtlichkeit und assoziierter perinataler Morbidität gefährdet. Weiterhin ist eine früh einsetzende PE häufig mit intrauteriner Wachstumsretardierung (IUGR, fetales Wachstum unter dem 5. Perzentil sowie zusätzliches Vorliegen von Zeichen der Plazentainsuffizienz wie Oligohydramnion oder pathologischer umbilikaler Doppler) vergesellschaftet.⁷

Eine schwere PE liegt definitionsgemäß vor, wenn die Blutdruckerhöhung extrem ausgeprägt ist (\geq 170/110 mmHg), eine starke Proteinurie vorliegt (\geq 5g/d), eine Nierenfunktionseinschränkung (Kreatinin \geq 0.9 g/l oder Oligurie $<$ 500 ml/24 h) gemessen wird, eine Leberbeteiligung (Anstieg der Transaminasen, schwere

Oberbauchschmerzen) hinzukommt, ein Lungenödem sowie hämatologische (Thrombozytopenie, Hämolyse) oder neurologische Symptome (schwere Kopfschmerzen, Sehstörungen) auftreten.⁸

Tritt die Erkrankung nach 34+0 SSW oder in unmittelbarer Nähe des Entbindungstermins auf, ist der Verlauf meist weniger akut und es kann möglicherweise ein Spontanpartus angestrebt werden, während bei frühen und/oder schweren Verlaufsformen meist eine Sectio caesarea durchgeführt werden muss.⁹ Oft sind spät einsetzende PEs nicht mit intrauteriner Wachstumsretardierung (IUGR) vergesellschaftet.¹⁰

Die Hauptkomplikation der PE ist das Fortschreiten zu einer Eklampsie, die als das Auftreten von Krampfanfällen mit möglicherweise tödlichem Ausgang für Mutter und Kind definiert ist. Bis zu einem Drittel der Krampfanfälle treten jedoch in den ersten 48 Stunden post partum auf.⁶ Eine weitere Komplikation der schweren PE ist das HELLP-Syndrom, einer Symptomtrias aus (H) hemolysis = Hämolyse, (EL) elevated liver enzymes = pathologisch erhöhte Leberenzyme und (LP) low platelets = erniedrigte Thrombozytenzahl ($< 100.000/\mu\text{l}$).¹¹ Hirnblutungen, Leberruptur und Multiorganversagen sind für die Mutter vital bedrohliche Folgen dieser Erkrankung. Durch Funktionseinschränkungen der Plazenta kann es beim Feten zu akuter Asphyxie und möglicherweise intrauterinem Fruchttod kommen. Nicht mehr kontrollierbare RR-Erhöhungen oder die Progredienz der maternalen Erkrankung zum HELLP-Syndrom oder Eklampsie sind absolute Entbindungsindikationen.¹²

1.2. Epidemiologie und Risikofaktoren

In der Literatur wird die globale Inzidenz der Präeklampsie mit 2-8% angegeben. Für Westeuropa und die USA ermittelte man eine Inzidenz der PE von 2-5%.¹³ Aktuelle große Studien in den USA und Westeuropa geben die Inzidenz der früh einsetzenden PE mit 0,3-0,6% an. Die Häufigkeit der spät einsetzenden PE beträgt in diesen Studien 1,9-3,8%, davon tritt der überwiegende Anteil der Fälle in Terminnähe (≥ 37 SSW) auf.^{14, 15}

Bis zu 15% aller maternalen Todesfälle sind durch Präeklampsie und andere hypertensive Schwangerschaftserkrankungen verursacht, zwei Drittel davon sind mit PE assoziiert.^{16, 17} Weltweit kommt es pro Jahr zu 600.000 maternalen Todesfällen,

99% davon in Entwicklungsländern. Bei 50.000 von diesen ist Präeklampsie/ Eklampsie involviert. ¹⁷

Die einzige kausale Therapie der PE ist die Entbindung. ¹⁸ Dies bedingt die große Bedeutung der PE für die fetale Morbidität und Mortalität. Bis zu 20 % aller Frühgeburten sind mit PE assoziiert. ¹⁷ PE verursacht 20 bis 25% der gesamten perinatalen Mortalität. ¹⁹ Der Anteil von PE an den gesundheitsökonomischen Kosten, die durch extreme Frühgeburtslichkeit entstehen, ist immens. ²⁰

Eine Vielzahl von maternalen Erkrankungen geht mit einem erhöhten Risiko für PE einher. Das relative Risiko für das Auftreten von Präeklampsie ist bei verschiedenen anamnestischen Risiken oder präexistenten maternalen Erkrankungen signifikant gesteigert: ²¹

Anamnestische Risikofaktoren	Relatives Risiko für Präeklampsie
Antiphospholipid-Syndrom	~ 9
Z. n. Präeklampsie	~ 7
Body Mass Index > 35	~ 4
Vorbestehender Diabetes mellitus	~ 3,5
Familiäre Belastung	~ 3
Vorbestehende Nierenerkrankung	~ 3
Erstparität	~ 2,5
Alter > 40	~ 2
Chronische Hypertonie	Risiko erhöht
Autoimmunerkrankungen (z. B. systemischer Lupus erythematodes mit Nephritis)	Risiko erhöht
Thrombophilie	Datenlage unklar

Tabelle 1: Erhöhung des relativen Risikos für Präeklampsie aufgrund maternaler Vorerkrankungen. Modifiziert nach Rath et al., 2007 ²²

1.3. Klinik der Präeklampsie

1.3.1. Diagnostik und Prädiktion

Die Diagnose der PE wird bis zum heutigen Tag mit der Messung des Blutdrucks und der Bestimmung des Proteingehalts im Urin gestellt. Diese Messwerte reichen per definitionem aus, um die Erkrankung zu diagnostizieren. Die Internationale Gesellschaft zum Studium der hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen (International Society for the Study of Hypertensive Disorders in Pregnancy, ISSHP) hat Richtlinien zur genauen Durchführung dieser Untersuchungen erstellt.⁵ Entscheidend ist hierbei die Verwendung einer passenden Oberarmmanschette und das Verwenden des Korotkoff V Tones für das Bestimmen des diastolischen Blutdrucks. Zur qualitativen Einschätzung der Proteinurie in der Triage-Situation eignet sich die Durchführung eines Urinstix. Bereits mit dem reproduzierbaren Ergebnis 1+ bei einer mindestens zweimaligen Messung liegt eine signifikante Proteinurie vor. Die Messung eines 24-Stunden-Sammelurins erfolgt, um eine genaue Quantifizierung der Proteinurie zu erreichen. Hierfür kann alternativ die Bestimmung der Kreatinin-Protein-Ratio (P/C Ratio) im Spot-Urin erfolgen.

Da bei Patientinnen mit PE mit hoher Inzidenz ein HELLP-Syndrom vorkommt, wird bei entsprechendem klinischen Verdacht die Bestimmung des so genannten HELLP-Labors durchgeführt. Hier werden Leberwerte (AST, ALT, GGT) und Thrombozyten sowie Hämolyseparameter (freies Hämoglobin, LDH) bestimmt.

In der jüngeren Zeit hat sich mit der Messung der zirkulierenden Serumspiegel des löslichen Rezeptors des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors-1 (Synonym: lösliche fms-like Tyrosinkinase-1, bzw. soluble fms-like Tyrosinkinase-1, sFlt-1) sowie des plazentären Wachstumsfaktors (Placental growth factor, PIGF) eine Möglichkeit zur Vorhersage und Diagnose der PE etabliert. Maynard et al. konnten 2003 zeigen, dass in der Plazenta schwangerer Frauen mit PE eine erhöhte Expression des anti-angiogen wirksamen löslichen Rezeptors sFlt-1 gemessen werden kann.²³ Im Serum von PE-Patientinnen sind die sFlt-1-Werte ebenfalls erhöht. Der zirkulierende Serumspiegel des angiogen wirksamen Wachstumsfaktors PIGF ist bei PE erniedrigt. Erhöhte sFlt-1- und erniedrigte PIGF-Spiegel im Serum schwangerer Frauen sind signifikant mit dem Auftreten des maternalen Syndroms bei PE korreliert und gehen dem Auftreten der klinischen Symptome voraus. Ihre Bedeutung für die Diagnose und Prädiktion der Erkrankung wurde in klinischen Studien erfolgreich evaluiert.^{24, 25}

Gleichzeitig spielen diese Faktoren eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der PE, hierauf wird im folgenden Kapitel näher eingegangen. Die weitere Erforschung dieser Marker, insbesondere der Bedeutung des sFlt-1/PIGF-Quotienten in der Diagnostik und Prognose der PE, ist Gegenstand dieser Arbeit.

Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es keinen etablierten klinischen Vorhersageparameter für PE. Die Zuordnung in ein „Risikokollektiv“ erfolgt zunächst durch eine genaue Anamneseerhebung und Feststellung etwaiger Risikofaktoren. In Deutschland und teilweise auch im europäischen Ausland hat sich in der geburtsmedizinischen Routine die Doppler-Sonographie der Aa. uterinae als Screeningparameter für PE etabliert.^{13, 26} Mit dem Doppler-Ultraschall wird das Impedanzspektrum der Aa. uterinae erfasst und mittels verschiedener Widerstandsindizes quantifiziert. Hier sind der Pulsatilitätsindex (PI) und der Widerstandsindex (Resistance-Index, RI) am weitesten verbreitet.^{27, 28} Ein erhöhter Flusswiderstand in den uterinen Arterien ist das klinisch messbare Korrelat der fehlerhaften Trophoblasteninvasion der maternalen Spiralarterien der Plazenta (s. Kapitel Pathophysiologie).²⁹ Die Angaben zur Sensitivität und Spezifität des uterinen Dopplers schwanken in verschiedenen Untersuchungen. In aktuellen großen Studien wird die Inzidenz eines pathologischen Doppler-Befundes, definiert als ein mittlerer Pulsatilitätsindex oberhalb des 95. Perzentils der gestationsalterabhängigen Normkurven, mit 11,3% angegeben.³⁰ Die Untersuchungsmethode hat eine Sensitivität von 63% und eine Spezifität von 75%.²⁷ Der positive Vorhersagewert dieser Untersuchung, die in der 20.-24. SSW als Teil der Zweittrimester-Feindiagnostik durchgeführt wird, liegt jedoch nur bei 30%.³¹

1.3.2. Klinisches Vorgehen und Therapie

Die einzige kausale Therapie der Präeklampsie ist die Entbindung. Die symptomatische Therapie umfasst Blutdrucksenkung, Eklampsie-Prophylaxe und die Induktion der fetalen Lungenreifung beim Fetus bei drohender iatrogener Frühgeburtlichkeit. Die antihypertensive Therapie sollte nach aktuellen Empfehlungen erst beginnen, wenn eine schwere Blutdruckerhöhung mit Werten $\geq 170/110$ vorliegt.⁸ Der Zielblutdruck sollte nicht im normotensiven Bereich liegen, sondern auf Werte von 150-160 mmHg systolisch und 90-100 mmHg diastolisch

eingestellt werden. Grundsätzlich ist die Einleitung der antihypertensiven Therapie nur stationär durchzuführen.

Nach Diagnosestellung müssen Schwangere und Fetus, in Abhängigkeit von der Schwere des Krankheitsbildes und Zeitpunkt des Auftretens, intensiviert überwacht werden. Für die Prognose der Mutter und des Kindes ist es hierbei entscheidend, dass die Entbindung in einem Perinatalzentrum stattfindet, welches optimal für die besonderen Anforderungen einer durch Präeklampsie verkomplizierten Schwangerschaft gerüstet ist.³² Allein die Tatsache, dass die Entbindung in einem Perinatalzentrum und nicht in einem peripheren Krankenhaus stattfindet, kann die fetale Morbidität signifikant senken.^{33, 34}

In jüngster Zeit wurde ein möglicher Therapieansatz erforscht, der auf dem Konzept der angiogenen Dysbalance bei PE aufbaut. In einer Pilotstudie konnte durch die Entfernung von überschüssigem sFlt-1 aus dem Serum präeklampsischer Frauen eine Prolongation der Schwangerschaft erreicht werden.³⁵

1.4. Pathophysiologie der Präeklampsie

Die Ursache der Präeklampsie ist noch immer nicht abschließend geklärt. Über Jahrzehnte galt die PE als die „Erkrankung der Theorien“, da immer wieder erfolgversprechende Erklärungsansätze zu Ätiologie und Pathogenese postuliert, kurze Zeit später jedoch wieder verworfen wurden.³⁶ Eine weitere Besonderheit der Präeklampsieforschung ist die Hypothese, dass es sich um mehr als eine Erkrankung handelt, die unter einem gemeinsamen Oberbegriff subsumiert wird.^{37, 38} Diese Mutmaßung geht auf die Beobachtung zurück, dass sich das klinische Bild der früh einsetzenden deutlich von dem der spät einsetzenden PE unterscheidet. Während bei der frühen PE fast immer eine intrauterine Wachstumsretardierung beobachtet wird, sind die Kinder der spät einsetzenden PE überwiegend normgewichtig. Insgesamt finden sich bei der frühen PE Zeichen der fehlerhaften Trophoblasteninvasion, bei der späten können diese fehlen.³⁹ Der klinische Verlauf der frühen PE ist meist akut bis perakut, während bei der PE um den Geburtstermin häufig die Spontangeburt angestrebt werden kann. Pathophysiologisch unterscheiden manche Autoren zwischen einer „plazentaren“ und einer „maternalen“ oder „vaskulären“ PE.⁴⁰ Bei früh einsetzender PE mit Plazentadysfunktion und

akutem Verlauf ist häufig die zeitnahe Entbindung die einzige verbleibende therapeutische Option. Die Kinder sind dann von den Folgen der iatrogenen Frühgeburtlichkeit und entsprechender perinataler Morbidität und Mortalität betroffen. Demzufolge richten sich konzentrierte Forschungsbemühungen auf die „plazentare“ Präeklampsie. Diese wird auch im Folgenden im Zentrum der Betrachtungen stehen.

1.4.1. Die Bedeutung der Trophoblasteninvasion für die Pathogenese der Präeklampsie

Es herrscht Einigkeit darüber, dass die unvollständige Trophoblasteninvasion die initiale und zentrale Läsion der früh einsetzenden Präeklampsie ist. Die Arbeitsgruppe um Ivo Brosens aus Leuven konnte bereits im Jahr 1967 zeigen, dass Plazenten von Frauen mit PE eine veränderte Trophoblasteninvasion aufweisen.⁴¹ Die Arbeitsgruppe hat in der Folge nachweisen können, dass bei Patientinnen mit PE der Zytotrophoblast – eine Zellgruppe fetalen Ursprungs – nur in reduziertem Umfang in die maternale Dezidua und in das Myometrium des Uterus einwandert. Dadurch kommt es zu einer unvollständigen Umwandlung der mütterlichen Spiralarterien. Die sonst physiologische Weitstellung der Gefäße misslingt.^{42, 43}

Die Aufgabe der Plazenta in der Schwangerschaft ist die Gewährleistung einer stetigen Sauerstoff- und Nährstoffversorgung des Feten. Im ersten und frühen zweiten Trimenon der Schwangerschaft führt die Invasion des Zytotrophoblasten zu einer Einnistung in der maternalen Dezidua und dem Myometrium.⁴⁴ Eine zweite Welle der so genannten endovaskulären Trophoblasteninvasion führt zu einem Umbau (remodelling) der maternalen Spiralarterien.⁴⁵ Der invadierte Zytotrophoblast konvertiert in einem Prozess, der als Pseudovaskulogenese bezeichnet wird, von einem epithelialen zu einem endothelialen Phänotyp, und gewährleistet dadurch den ansteigenden Nährstoffbedarf des wachsenden Feten am Ende des 1. Trimesters.⁴⁶ Dieser Prozess der Pseudovaskulogenese ist bei PE gestört, es resultiert eine Hypoxie-/Ischämie-Situation in der Plazenta.⁴⁷

Die Regulation der Trophoblasteninvasion erfolgt durch die Interaktion autokriner Faktoren des Trophoblasten mit parakrinen Faktoren des Uterus. Die Invasion des Trophoblasten zeigt Parallelen zur Tumorinvasion und beinhaltet unter anderem die Produktion proteolytischer Enzyme, die die extrazelluläre Matrix des Zielorgans

entsprechend modifizieren. Die Sekretion von Matrixmetalloproteinasen (MMPs) sowie ihrer endogenen Inhibitoren, den Gewebseinhibitoren (Tissue inhibitors, TIMPs), ist entscheidend an der Regulation dieses Prozesses beteiligt. MMPs wurden in der Dezidua, im Trophoblasten sowie in den uterinen natürlichen Killerzellen (uNK) nachgewiesen.^{48, 49} Verschiedene MMPs werden im Trophoblasten zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Schwangerschaft gebildet und koordinieren die Invasivität des Trophoblasten.⁵⁰ Die MMP-2 und -9-Expression ist bei Frauen, die später an PE erkranken, erhöht. Zirkulierende MMP-2 / -9-Spiegel sind bei diesen Frauen in allen drei Trimestern erhöht.⁵¹

1.4.2. Die Zwei-Phasen-Theorie der Präeklampsie

In der jüngeren PE-Forschung hat sich die „Zwei-Phasen-Theorie“ als umfassender Ansatz zur Pathogenese der PE etabliert. Die so genannte Zweiphasigkeit bezieht sich zum einen auf die zeitliche Distanz, die zwischen der initialen Läsion – der fehlerhaften Trophoblasteninvasion – und dem Auftreten des maternalen Syndroms besteht. Die Einnistung des Trophoblasten und die Bildung der Plazenta finden hauptsächlich im ersten und frühen zweiten Trimester statt.⁵² Das maternale Syndrom jedoch - das Auftreten von Bluthochdruck und Proteinurie – tritt definitionsgemäß nach der 20. SSW auf. Zum anderen bezieht sich die Zweiphasigkeit auf die Ausbreitung eines lokalen Prozesses – die fehlerhafte Trophoblasteninvasion spielt sich lokal in der Plazenta ab – zu einer generalisierten, systemischen Erkrankung.⁴⁰ Das wesentliche Kennzeichen des maternalen Syndroms bei PE ist eine generalisierte endotheliale Dysfunktion.⁵³ Diese kann im übrigen gleichermaßen bei früh und spät einsetzender PE festgestellt werden.³⁹ Lange herrschte Unklarheit über das Bindeglied zwischen der lokalen plazentaren Erkrankung und der körperweiten Funktionsstörung. Untersuchungen führten zu der Erkenntnis, dass die dysfunktionale Plazenta Substanzen in die mütterliche Zirkulation freisetzt.⁵⁴ Erste Hinweise lieferte die Beobachtung der Arbeitsgruppe um Philipp Baker, dass die Inkubation isolierter maternale Spitalarterien von gesunden Schwangeren mit Plasma von Patientinnen mit PE zu einer endothelialen Dysfunktion dieser Gefäße führt.⁵⁵ Somit wurde der Nachweis erbracht, dass ein im Plasma der PE-Patientin zirkulierender Faktor die mögliche Ursache des maternalen

Syndroms ist. Diese Substanz oder Substanzen – bevorzugt wird in der Literatur von einem „Faktor X“ gesprochen – führt bzw. führen dann zu einer generalisierten Endothelzellaktivierung bzw. Endothelzellschädigung^{53, 56} und damit zum maternalen Syndrom mit renalen, kardiovaskulären und neurologischen Komplikationen (Abbildung 1).⁵⁷

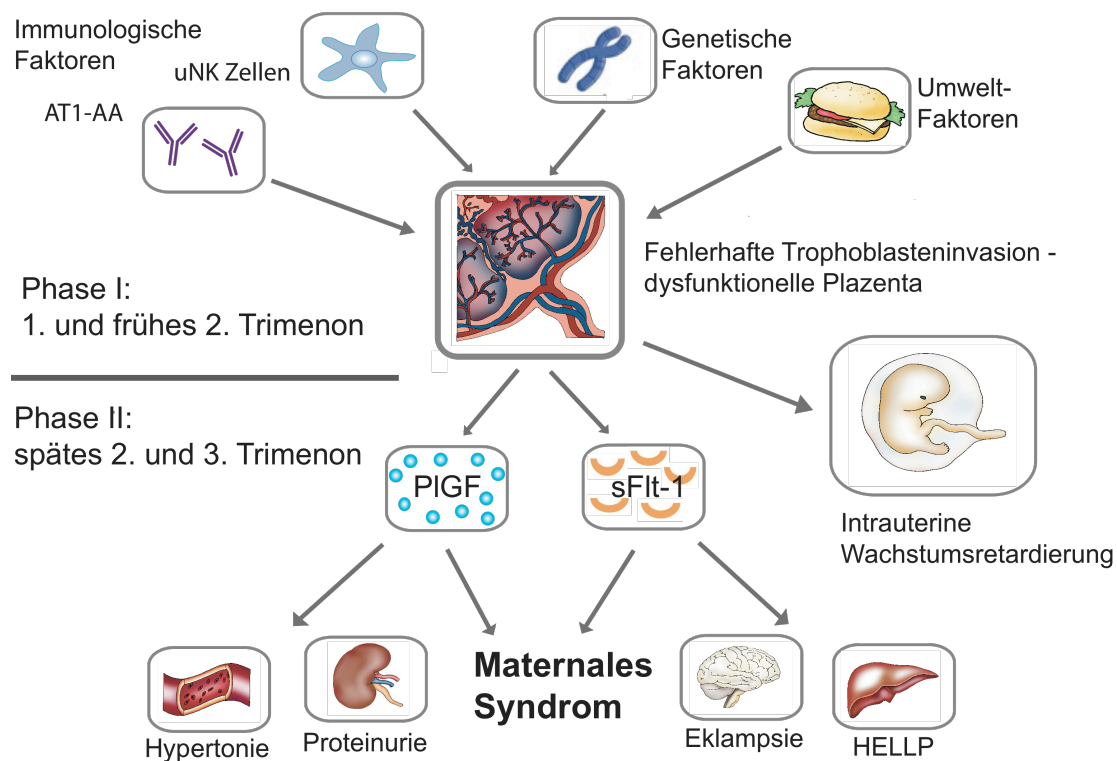


Abbildung 1: Die Zwei-Phasentheorie der PE. Erläuterungen im Text. Modifiziert nach Verloren et al., 2012⁵⁸

In der Folge wurde der Faktor X in intensiven Forschungsanstrengungen gesucht.⁵⁹ Bioaktiver, plazentarer Debris stellte dabei lange das Zentrum des Interesses dar. Hier wurden plazentare Mikropartikel, Fragmente des Syncytiotrophoblasten sowie die veränderte Bildung von reaktiven oxygen species (ROS) untersucht.^{60, 61}

Bereits in Folgearbeiten nach der Entdeckung der Auswirkungen des Plasmatransfers⁵⁵ wurde ermittelt, dass die Inkubation der isolierten myometralen Spiralarterien mit VEGF zu einer Reduktion der endothel-abhängigen Relaxation führt. Hier wurde erstmals eine Rolle angiogener und anti-angiogener Faktoren als Modulatoren des vaskulären Widerstands gezeigt.^{55, 62} Später führte die Arbeitsgruppe um Ananth Karumanchi diese Forschungen fort und erweiterte sie.^{23, 63}

Die Endstrecke der Veränderungen im maternalen Organismus ist die endotheliale Dysfunktion. So wurde PE auch als „Erkrankung des Endothels“ bezeichnet.⁵³ Die Endothelzellschädigung am Glomerulum ist als glomeruläre Endotheliose die Ursache der Proteinurie. Erste Untersuchungen zu diesem Thema gründeten sich auf Nierenbiopsien an Patientinnen mit PE.⁶⁴

Bei Patientinnen mit PE kann eine generalisierte Vasokonstriktion und ein erhöhter systemischer Widerstand (TPR) gemessen werden. Die Balance von Vasokonstriktoren wie Thromboxan A₂ (TxA₂) und Vasodilatoren wie Prostacyclin (PGI₂) ist verschoben. Es überwiegen die vasokonstringierenden Komponenten.⁶⁵ In der Niere kann es als Folge des generalisierten erhöhten Systemwiderstands zu Oligurie und Anurie kommen.

1.4.3. Angiogene und anti-angiogene Faktoren

Maynard et al. ermittelten, dass sich in der Plazenta schwangerer Frauen mit Präeklampsie eine erhöhte Expression des löslichen VEGF-Rezeptor-1 (sFlt-1) nachweisen lässt.²³ Der VEGF-Rezeptor-1 (Flt-1), an dem der Wachstumsfaktor VEGF und sein in der Schwangerschaft vermehrt gebildetes Homolog PlGF bindet, existiert in zwei Formen: als Membran gebundener Tyrosinkinase-Rezeptor, der die angiogenen Signale von VEGF und PlGF an die intrazellulären Signaltransduktionswege weiterleitet (Flt-1), sowie in einer löslichen Form (sFlt-1), die beide Faktoren bindet, ohne jedoch die Signale der Liganden zu transduzieren. Diese durch alternatives splicing des Flt-1-Gens entstandene lösliche Variante sFlt-1 „fängt“ lediglich VEGF und PlGF und erniedrigt damit ihre biologisch wirksamen Serumspiegel. Somit wirkt sFlt-1 anti-angiogen, da es angiogene Signale blockiert. Im Serum von PE-Patientinnen sind die sFlt-1-Werte erhöht. Die zirkulierenden Serumspiegel des angiogen wirksamen Wachstumsfaktors PlGF sind bei PE erniedrigt. Erhöhte sFlt-1- und erniedrigte PlGF-Spiegel im Serum schwangerer Frauen sind signifikant mit dem Auftreten des maternalen Syndroms bei PE korreliert und gehen dem Auftreten der klinischen Symptome voraus, wie im vorangehenden Abschnitt beschrieben wurde.

Während in der Embryonalentwicklung und im Tumorwachstum hohe Spiegel von VEGF Angiogenese vermitteln, sind im Verhältnis dazu niedrige basale Spiegel von

VEGF im gesunden Erwachsenen für die Endothelzellhomöostase notwendig. Ein Ansteigen der zirkulierenden sFlt-1-Konzentrationen führt zu einer Reduktion der wirksamen Konzentrationen von VEGF und PlGF. Hierbei kann eine kritische Grenze für die Aufrechterhaltung einer normalen vaskulären/endothelialen Funktion unterschritten werden. In **Abbildung 2** sind die Folgen der veränderten angiogenen Balance schematisch dargestellt.

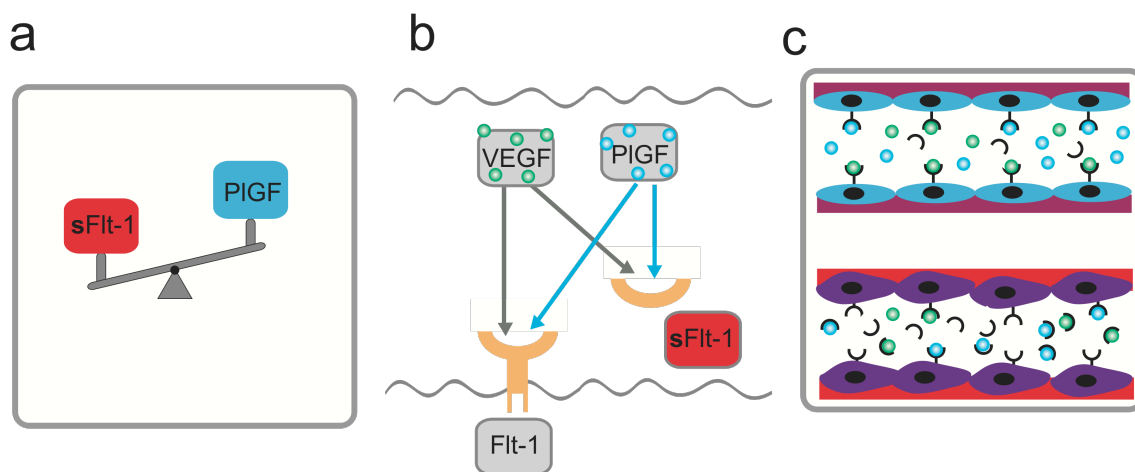


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Folgen der veränderten angiogenen Balance. Aufgrund veränderter plazentarer Sekretion kommt es zu einem Überwiegen der anti-angiogenen Wirkung von sFlt-1 gegenüber der angiogenen von PlGF (a). Sowohl der membranständige Flt-1- als auch der zirkulierende sFlt-1-Rezeptor binden VEGF und PlGF (b). Durch ein Überwiegen von sFlt-1 kommt es zu einer herabgesetzten Aktivierung des membranständigen Flt-1 durch PlGF und VEGF. Dies ist jedoch für die Endothelzellhomöostase notwendig (c, oberer Teil). Die Folge ist eine endotheliale Dysfunktion (c, unterer Teil). Modifiziert nach Verloren et al., 2012 ⁵⁸

Es wurde identifiziert, dass die Funktion der glomerulären Kapillaren unter strenger Kontrolle von VEGF steht. In einem Mausmodell mit podozyten-spezifischem knock-out eines VEGF-A-Allels kam es zu einer Schwellung der glomerulären Endothelzellen, dem Kollaps der Kapillarschlingen sowie subsequenter Proteinurie.

Diese Befundkonstellation ist auch bei Präeklampsie anzutreffen.⁶⁶ Auch die medikamentöse Erniedrigung der VEGF-Spiegel, beispielsweise als Nebenwirkung chemotherapeutischer Behandlungsschemata, führt zur Entwicklung einer glomerulären Mikroangiopathie.⁶⁷ VEGF hat über eine Verstärkung der endothelialen NO- und PGI₂-Expression eine vasorelaxierende und damit blutdrucksenkende Wirkung.⁶⁸ Die Erniedrigung der VEGF-Spiegel kann so direkt zu erhöhtem Blutdruck beitragen.

Weitere plazentare Faktoren, wie AT1-AA und lösliches Endoglin (sEng) haben möglicherweise synergistische Effekte oder zusätzliche pathogenetische Bedeutung für das maternale und fetale Syndrom bei Präeklampsie.^{25, 69} Lösliches sEng, das ebenfalls in der Plazenta präeklampsischer Frauen verstärkt exprimiert wird und in erhöhten Konzentrationen im Plasma nachweisbar ist, korreliert mit der Schwere der Erkrankung und übt additive Effekte im Zusammenspiel mit sFlt-1 aus.⁶³

1.4.4. Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, Agonistische Angiotensin II Rezeptor-1 Autoantikörper und die Rolle des Immunsystems bei Präeklampsie

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) ist in verschiedener Hinsicht in die Pathogenese der Präeklampsie involviert.⁷⁰⁻⁷² Die physiologischen Adaptationsvorgänge des mütterlichen Organismus an die Schwangerschaft beinhalten eine Reduktion des totalen peripheren Gefäßwiderstands. Die Spiegel von Renin, Angiotensinogen und Aldosteron sind erhöht, während die periphere Ansprechbarkeit darauf reduziert ist.⁷³ Bei Patientinnen mit PE ist die Ang II-Sensitivität im Vergleich zu gesunden Schwangeren stark erhöht, die zirkulierenden Spiegel der Hormone sind unverändert.^{74, 75} Dieser Zustand beginnt vor dem Einsetzen der klinischen Symptome und persistiert nach der Entbindung.⁷⁶ Im Serum von Patientinnen mit PE lassen sich agonistische Angiotensin II Rezeptor-1 Autoantikörper (AT1-AA) nachweisen. Das uteroplazentare RAAS ist bei Patientinnen mit PE dysreguliert. In der Dezipua präeklampsischer Frauen wurde eine verstärkte Expression des Angiotensin II Rezeptor-1 (AT1) identifiziert.⁷² Von besonderem Interesse ist die Beobachtung, dass eine mögliche Interaktion zwischen dem RAAS und den angiogenen und anti-angiogenen Faktoren bei PE besteht. Ang II reguliert möglicherweise die Sekretion von sFlt-1 in vivo und in vitro.⁷⁷ In humanen Trophoblastenkulturen sowie durch in vivo Studien an schwangeren Mäusen konnte

gezeigt werden, dass Angiotensin-II-abhängige AT-1-Rezeptoraktivierung ein positiver Modulator der sFlt-1-Synthese und -sekretion ist. In der erhöhten dezentralen und placentaren AT1-Rezeptoraktivierung kann somit über eine verstärkte Expression von sFlt-1 die Ursache der verschobenen Balance der angiogenen Faktoren zugunsten eines anti-angiogenen Zustands begründet liegen. Da, wie oben beschrieben, Ang II jedoch bei PE nicht dysreguliert ist, gewinnt die Tatsache an Bedeutung, dass AT1-AA für diesen Effekt verantwortlich sein könnten. Die gleiche Arbeitsgruppe ermittelte, dass ein passiver Transfer von AT1-AA in Mäuse zu einer verstärkten Expression von sFlt-1 in der Plazenta und zu einem PE-ähnlichen Syndrom dieser Tiere führt.⁷⁸

In den Forschungen zu den AT-1-AA wurde die Hypothese aufgestellt, dass das Auftreten der Autoantikörper mit einer vorangehenden Infektion der betroffenen Patientinnen mit dem Parvovirus-B19 korreliert.⁷⁹ Eine Sequenzanalyse konnte belegen, dass das Epiptop am AT1-Rezeptor, welches von den AT1-AA erkannt wird, eine Strukturähnlichkeit mit dem Hüllprotein VP2 des Parvovirus-B19 zeigt. Das aus sieben Aminosäuren bestehende Epiptop des AT1-AA (AFHYESQ) ist bis auf eine Aminosäure (AFHYETQ) mit der VP2-Proteinstruktur identisch.⁸⁰ Dieses Strukturprotein bindet an spezifische Strukturen und ist für die Interaktion des Virus mit seinem Rezeptor verantwortlich.^{81, 82} Es bestand zeitweise die Vermutung, dass Viruspersistenz und anhaltende Antigenexposition die Entstehung des Autoantikörpers begünstigen könnte. Stepan et al. widerlegten diesen Verdacht in einer ersten Untersuchung.⁸⁰

Die AT1-AA konnten außer in Patientinnen mit PE auch bei Patientinnen mit maligner Hypertonie und in nierentransplantierten Patienten mit Transplantat-Abstoßung identifiziert werden.^{71, 83} Der Nachweis der AT-AA geschieht mittels des Rattenkardiomyozyten-Bioassays.⁷¹ Hier werden in vitro kultivierte neonatale Rattenkardiomyozyten mit dem entsprechenden Untersuchungsserum (z.B. Serum einer Patientin mit PE) inkubiert. Eine Änderung der Schlagfrequenz der Rattenkardiomyozyten lässt auf eine entsprechende AT1-Rezeptoraktivierung schließen. Die Angabe des Werts bezieht sich auf die Differenz zur Grundfrequenz (delta beats per minute, dpm). Ist der Schwellenwert von 12,5 dpm überschritten, gilt der Antikörpernachweis als positiv. Als Negativ-Kontrolle dient die Inhibition mittels eines AT1-Rezeptorantagonisten oder des spezifischen Epiptops des AT1-AA. Ein anderer Nachweistest der Autoantikörper existiert bisher noch nicht.

1.5. Tiermodelle zur Präeklampsie

Die Präeklampsie ist eine Krankheit höhergradiger Säugetiere und wurde bisher nur beim Menschen und wenigen Primatenarten beschrieben.⁸⁴ Somit müssen Tiermodelle für Präeklampsie artifiziell konstruiert werden. Die Berliner Arbeitsgruppe um Friedrich Luft und Detlev Ganten hat ein transgenes Tiermodell entwickelt, in dem die Gene für humanes Angiotensinogen und humanes Renin in das Rattengenom integriert sind.⁸⁵ Die Schwangerschaft einer weiblichen Sprague-Dawley-Ratte (SD), die transgen für das humane Angiotensinogen (hAogen) ist, mit einer männlichen Ratte, die transgen für das humane Renin (hRen) ist, zeigt Symptome einer Präeklampsie: Bluthochdruck und Proteinurie. Das humane Genkonstrukt, welches in die Ratten eingebracht wurde, entspricht dem gesamten humanen Renin-Gen (10 Exons und 9 Introns), mit 3,0 kB der 5'-Promotorregion und 1,2 kB der zusätzlichen 3' Sequenzen. Das humane Angiotensinogen-Konstrukt enthält das gesamte menschliche Angiotensinogen-Gen (5 Exons und 4 Introns), mit 1,3 kB der 5' und 2,4 kB der 3' Sequenzen.⁸⁵ In diesem Modell ist als einzige Veränderung (durch das transgene Einbringen zweier Gene) eine Erhöhung des Renin-Angiotensin-Systems erzeugt worden. Da eine Schwangerschaftshypertonie nur dann entsteht, wenn die schwangere Mutter Renin überexprimiert, handelt es sich nicht um das Plasma-Renin-Angiotensin-System, sondern um lokale Veränderungen in der Plazenta. Die Tatsache, dass lokale Veränderungen in der Plazenta die auslösende Ursache in dem Krankheitsprozess sind, entspricht der menschlichen Situation. Die Arbeitsgruppe konnte weiterhin zeigen, dass in den schwangeren Ratten des präeklampsischen Phänotyps AT1-AA sowie glomeruläre Endotheliose und placentare Atherose vorliegen.⁸⁶

Neben dem TGR-Modell gibt es weitere Tiermodelle für PE. Die Arbeitsgruppe um Joey Granger erforscht das Modell der reduzierten uterinen Perfusion, kurz RUPP (reduced uterine perfusion pressure). Hier wird durch eine Ligatur von zwei Dritteln der Aorta und beider uteriner Arterien eine Minderperfusion der uteroplazentaren Einheit erzeugt. Als Folge entsteht ein PE-ähnliches Syndrom mit Hypertonie, Proteinurie und embryonaler Wachstumsretardierung.⁸⁷⁻⁹⁰ Weiterhin lassen sich in den RUPP-behandelten Tieren AT1-AA sowie veränderte Serumspiegel von sFlt-1 und PIGF gegenüber den Sham-operierten Tieren nachweisen.^{91, 92}

In weiteren Tiermodellen konnte über die Infusion von Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und Interleukin-6 Hypertonie und endotheliale Dysfunktion in schwangeren Ratten induziert werden.^{93, 94} Auch das L-Nitro-Arginin-Methylester (L-NAME)-Modell bedient sich einer direkten Induktion einer endothelialen Dysfunktion mit subsequenter Hypertonie.^{95, 96}

Die Arbeitsgruppe von Ananth Karumanchi hat bereits in ihrer initialen Arbeit an sFlt-1 und PlGF gezeigt, dass Ratten, die man mit adenoviralem sFlt-1 transfiziert, Symptome der PE entwickeln.²³ Neben Hypertonie und Proteinurie konnte in den Nieren der Tiere glomeruläre Endotheliose nachgewiesen werden. In einer Folgearbeit konnten die Autoren nachweisen, dass die Behandlung der sFlt-1 überexprimierenden Tiere mit VEGF₁₂₁ die PE-Symptome zum Abklingen bringt.⁹⁷

2. Ausgewählte Originalarbeiten

2.1 Experimentelle Arbeiten zur Pathophysiologie der Präeklampsie

2.1.1 Charakterisierung eines transgenen Tiermodells für Präeklampsie

Verloren S, Niehoff M*, Hering L*, Geusens N, Herse F, Tintu AN, Plagemann A, LeNoble F, Pijnenborg R, Muller DN, Luft FC, Dudenhausen JW, Gollasch M, Dechend R. Uterine vascular function in a transgenic preeclampsia rat model. Hypertension 2008; 51(2):547-53. (*gleichberechtigt)*

Die Schwangerschaft einer transgenen Ratte des PE-Phänotyps (SD-PE) zeigt neben den PE definierenden Symptomen (Bluthochdruck, Proteinurie) weitere PE-spezifische Läsionen wie eine histologisch nachweisbare Nierenschädigung (glomeruläre Endotheliose) und Plazentaalterationen (plazentare Atherose). Außerdem wurden AT1-AA nachgewiesen.⁸⁶

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob sich andere pathophysiologische Entitäten der PE im Tiermodell nachweisen lassen. Das Ziel war, durch eine genaue Charakterisierung von endothelialer Funktion, plazentarer Durchblutung und intrauteriner embryonaler Entwicklung die Eignung des Modells als Tiermodell für hypertensive Schwangerschaftserkrankungen zu überprüfen. Es wurde evaluiert, inwieweit sich die non-invasiven Techniken des transabdominalen Ultraschalls und der Doppler-Sonographie anwenden lassen, um die Rattenschwangerschaft in vivo zu untersuchen. Hier sollte die Hypothese geprüft werden, dass es einerseits technisch möglich ist, das Wachstum der Rattenembryonen zu erfassen und andererseits Unterschiede im Wachstumsmuster frühzeitig zu erkennen. Mit Hilfe von Doppler-Untersuchungen wurde die Hypothese geprüft, inwieweit es möglich ist, Flusswiderstände der Aa. uterinae und Aa. arcuatae zu untersuchen und dadurch Hinweise auf das Vorliegen eines PE-typischen Flussmusters zu erhalten.

Mittels isometrischer Kontraktionsmessungen an isolierten Aa. uterinae wurde gezeigt, dass in den schwangeren transgenen Ratten des PE-Phänotyps (SD-PE) eine endotheliale Dysfunktion vorlag. Die paradoxe kontraktile Antwort der Gefäße der SD-PE-Ratten konnte durch Inkubation mit Cyclooxygenase (COX)- und ThromboxanA₂ (TxA₂)-Antagonisten aufgehoben werden. Die Untersuchung des Serums der Tiere bestätigte das Vorliegen einer Verschiebung der 6-keto-Prostaglandin F1_α (PGF1_α)/TxA₂-Ratio zugunsten des vasokonstriktiven Thromboxans. Demgegenüber zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den zirkulierenden Serumspiegeln von sFlt-1 und VEGF in SD-P und SD-PE Ratten.

Mittels Ultraschalluntersuchung konnte festgestellt werden, dass die Embryonen der SD-PE im Verlauf der Schwangerschaft eine asymmetrische intrauterine Wachstumsretardierung entwickelten, die durch eine progrediente Verschiebung des Kopf- und Bauchumfanges zugunsten des Kopfumfanges gekennzeichnet war. Die Doppler-Sonografie ergab ein überraschendes Ergebnis. Der Widerstand in den Aa. uterinae der SD-PE Tiere nahm im Verlauf der Schwangerschaft, verglichen mit den SD-P Tieren, ab. Die SD-PE Ratten hatten sowohl in den Aa. uterinae an Tag 15 und 18 und in den Aa. arcuatae an Tag 18 signifikant niedrigere Flusswiderstände als die SD-P Ratten.

Wir konnten zeigen, dass eine endotheliale Dysfunktion in den Aa. uterinae der SD-PE-Ratten vorlag. Dies, und die möglicherweise hierfür ursächliche Verschiebung der $\text{PGF1}\alpha/\text{TxA}_2$ -Ratio, entspricht der Pathophysiologie der humanen PE. Die nicht invasive Messung sowohl des embryonalen Wachstums als auch der Dopplersonographie konnte etabliert werden. Eine erwartete Veränderung der Flusswiderstände im Sinne einer erhöhten Impedanz in den SD-PE konnte nicht nachgewiesen werden. Das steht jedoch in Einklang mit der histologischen Untersuchung der Plazenten durch unsere Arbeitsgruppe. Geusens et al. fanden, dass die SD-PE Ratten eine tiefere Trophoblasteninvasion in das mesometriale Dreieck der Plazenta zeigen.⁹⁸ Hierauf wird im folgenden Abschnitt näher eingegangen. Somit stehen die Ergebnisse im TGR-Rattenmodell für PE in Einklang zueinander: Die Abnahme der uterinen Flusswiderstände entsprechen einer tieferen Trophoblasteninvasion in den Plazenten der Ratten des PE-Phänotyps. Hiermit konnte eine pathophysiologische Einheit der PE-bedingten Veränderungen im TGR-Tiermodell aufgezeigt werden, die eine Eignung des Modells für PE-spezifische Fragestellungen und Interventionen unterstreicht.

Weitere eigene Publikationen zu diesem Thema:

Geusens N, Verlohren S, Luyten C, Taube M, Hering L, Vercruyssen L, Hanssens M, Dudenhausen JW, Dechend R, Pijnenborg R: Endovascular trophoblast invasion, spiral artery remodelling and uteroplacental haemodynamics in a transgenic rat model of pre-eclampsia. Placenta 2008; 29(7):614-23.

Geusens N, Hering L, Verlohren S, Luyten C, Drijkoningen K, Taube M, Vercruyssen L, Hanssens M, Dechend R, Pijnenborg R. Changes in endovascular trophoblast invasion and spiral artery remodelling at term in a transgenic preeclamptic rat model. Placenta 2010; 31(4):320-6.

2.1.2 Intervention am transgenen Tiermodell für Präeklampsie

Verloren S, Geusens N, Morton J, Verhaegen I, Hering L, Herse F, Dudenhausen JW, Muller DN, Luft FC, Cartwright JE, Davidge ST, Pijnenborg R, Dechend R. Inhibition of trophoblast-induced spiral artery remodeling reduces placental perfusion in rat pregnancy. Hypertension 2010; 56(2):304-10.

In vorangehenden Untersuchungen am TGR-Modell wurde ermittelt, dass die PE-Ratten eine verstärkte endovaskuläre Trophoblasteninvasion in das mesometriale Dreieck der Plazenta aufwiesen.⁹⁸ Das Flussmuster in den Aa. uterinae und Aa. arcuatae war gleichsinnig verändert. In der vorliegenden Arbeit wurde die Rolle der Matrixmetalloproteinasen (MMP) auf die Trophoblasteninvasion im TGR PE-Modell untersucht. Die heterogene Substanzgruppe der MMPs, die vor allem in Tumorwachstum und -metastasierung involviert ist, ist auch im extravillösen Trophoblasten exprimiert und gilt als möglicher Modulator der Trophoblasteninvasion.^{99, 100} In dieser Interventionsstudie am Tiermodell wurde die Hypothese überprüft, dass die Inhibition von MMP-2 / -9 die Trophoblasteninvasion und in der Folge die placentare Perfusion hemmt.¹⁰¹

Zunächst konnte mittels Zellkultur ein möglicher Mechanismus für die verstärkte Trophoblasteninvasion der Ratten des PE-Phänotyps gefunden werden. Die Inkubation der humanen SHGPL-4-Zellen mit Angiotensin II steigerte die Invasivität der Trophoblasten. Dieser Effekt konnte durch Inkubation mit Doxycyclin (DOX), einem Inhibitor von Matrixmetalloproteinasen, gehemmt werden. Das TGR-Modell ist durch eine verstärkte Expression von Angiotensin gekennzeichnet, insbesondere die symptomatische Kreuzung (PE) zeigt eine massive Steigerung der zirkulierenden Ang II Spiegel.⁸⁵ In den Plazenten und im Serum der Ratten der Interventionsgruppen (SD+DOX und PE+DOX) konnte mittels rtPCR, Western Blot und Gel-Zymographie nachgewiesen werden, dass DOX zu einer veränderten MMP-2 / -9 Expression führte. Die Expression der MMPs auf mRNA- und Protein-Ebene war durch nachgeschaltete Inhibition im Sinne eines positiven Feedback-Mechanismus konserviert. In der MMP-Aktivitätsmessung mit Fluorogenic peptides wurde bestätigt, dass die MMP-Inhibition durch DOX wirksam war.

Mittels Immunhistochemie wurde nachgewiesen, dass die DOX-behandelten PE-Ratten (PE+DOX) eine herabgesetzte Trophoblasteninvasion in Zone 3 des mesometrialen Dreiecks (MT) im Vergleich zu sowohl den unbehandelten PE-Tieren (PE-DOX) als auch zu beiden Kontrollgruppen (SD+DOX und SD-DOX) zeigten. Die Umwandlung der maternalen Spiralarterien durch den invadierten Trophoblasten war

in den PE+DOX um 60% reduziert. In der Interventionsgruppe (PE+DOX) zeigte sich eine selektive Zunahme von uNK-Zellen im mesometrialen Dreieck. Der apoptotische Index war in beiden Interventionsgruppen gleichermaßen erhöht. Somit konnten wir belegen, dass DOX zu einer Reduktion der endovaskulären Trophoblasteninvasion durch eine Reduktion der uNK-Zell-Apoptose und einer Erhaltung der uNK-Zellen im MT der PE+DOX, nicht aber der SD+DOX führt.

Die plazentare Perfusion einzelner fetoplazentarer Einheiten wurde mittels ultrasonografischer Erfassung der Verteilungskinetik von Mikromarkern (microbubbles) gemessen. Es wurde nachgewiesen, dass die PE+DOX eine um 25% herabgesetzte Plazentaperfusion im Vergleich zu den unbehandelten PE-DOX aufweisen. Dies steht im Einklang zum histologischen Bild der DOX-vermittelt herabgesetzten Trophoblasteninvasion.

In der vorliegenden Arbeit konnte etabliert werden, dass eine MMP-Inhibition mittels des nicht selektiven MMP-Inhibitors Doxycyclin zu einer herabgesetzten Trophoblasteninvasion führt, die funktionell eine Reduktion der plazentaren Perfusion zur Folge hat. Diese Intervention am TGR-Tiermodell zeigte zum ersten Mal, dass sich eine kausale Beziehung zwischen der initialen Läsion der PE, der herabgesetzten Trophoblasteninvasion mit subsequenter reduzierter Umwandlung der uterinen Spiralarterien und ihren hämodynamischen Folgen, einer herabgesetzten plazentaren Perfusion, herstellen lässt. Weiterhin konnte die Entstehung des PE-Phänotyps am TGR-Modell weiter erforscht werden. Durch die lokale, plazentare Ang II Überexpression kam es zu ubiquitären Effekten, die auch eine veränderte Motilität der Trophoblasten, wahrscheinlich zu großen Teilen MMP-2 / -9 vermittelt, bedingen. Hier liegen erfolgversprechende Ansätze für weitere Untersuchungen, sowohl im TGR-Tiermodell als auch im Bereich der klinischen Forschung.

Weitere eigene Publikationen zu diesem Thema:

Hering L, Herse F*, **Verlohren S***, Park JK, Wellner M, Qadri F, Pijnenborg R, Staff AC, Huppertz B, Muller DN, Luft FC, Dechend R. Trophoblasts reduce the vascular smooth muscle cell proatherogenic response. Hypertension 2008; 51(2):554-9. (*gleichberechtigt)*

*Hering L, Herse F, Geusens N, **Verlohren S**, Wenzel K, Staff AC, Brosnihan KB, Huppertz B, Luft FC, Muller DN, Pijnenborg R, Cartwright JE, Dechend R. Effects of circulating and local uteroplacental angiotensin II in rat pregnancy. Hypertension 2010; 56(2):311-8.*

2.2. Klinische Arbeiten zur Präeklampsie

2.2.1 Autoantikörper, sFlt-1 und Parvovirus B19-Immunität bei gesunden Schwangeren und Frauen mit Präeklampsie

Herse F, Verlohren S*, Wenzel K*, Pape J, Muller DN, Modrow S, Wallukat G, Luft FC, Redman CW, Dechend R: Prevalence of agonistic autoantibodies against the angiotensin II type 1 receptor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 in a gestational age-matched case study. Hypertension 2009; 53(2):393-8. (*gleichberechtigt)*

Sowohl im TGR-Rattenmodell als auch in der humanen Präeklampsie konnten AT1-AA nachgewiesen werden.^{71, 86} Die Bedeutung dieser Autoantikörper für die Pathophysiologie der PE wurde in verschiedenen klinischen und grundlagenwissenschaftlichen Arbeiten gezeigt.¹⁰²⁻¹⁰⁵ Mit dem Aufkommen des Konzepts der gestörten angiogenen Balance zwischen angiogenen und anti-angiogenen Faktoren erhielten die AT1-AA als mögliche Kofaktoren erneut Aufmerksamkeit. Gleichzeitig gab es Hinweise, dass eine stattgehabte Infektion mit Parvovirus B19 die Ursache für das Auftreten der AT1-AA sein könnte.⁸⁰ Ziel der vorliegenden Arbeit war, in einer prospektiven klinischen Fall-Kontroll-Studie die Interaktionen von AT1-AA, Parvovirus B19 sowie sFlt-1 zu erforschen.

Hierfür wurden 30 Patientinnen mit PE sowie 30 Kontrollpatientinnen prospektiv untersucht. Die Kontrollgruppe wurde der Fallgruppe bezüglich Schwangerschaftsalter, Anzahl stattgehabter Schwangerschaften und Ethnizität angeglichen, die Blutentnahmen erfolgten in der gleichen Woche wie die der Fallgruppe. Es wurden verblindete Messungen der zirkulierenden Serumkonzentrationen von sFlt-1 mittels ELISA und AT1-AA mit Hilfe des Standard-Bioassays durchgeführt. Weiterhin wurden Parvovirus-B19-DNA mittels quantitativer rtPCR bestimmt, die Detektion von IgM- und IgG-Antikörpern mittels Enzymimmunoassay sowie Western Blot zum Nachweis der viralen Hüll- und Kernproteine VP1, VP2 und NS1 im Serum durchgeführt. Die Zugehörigkeit zur Fall- oder Kontrollgruppe war zum Zeitpunkt der Messungen unbekannt.

In 70% der PE-Patientinnen konnten AT1-AA nachgewiesen werden, wobei auch in 20% der Kontrollpatientinnen der Nachweis von AT1-AA erbracht werden konnte. Wenn unterschiedliche Zeitfenster im Laufe der Schwangerschaft betrachtet wurden (< 27 SSW, 28-33 SSW und ≥ 34 SSW), zeigte sich, dass bei Patientinnen ≥ 34 SSW die Unterscheidung PE oder Kontrolle durch AT1-AA am genauesten war. Die zirkulierenden sFlt-1-Serumspiegel waren bei PE-Patientinnen in allen drei Zeitfenstern hoch signifikant erhöht. Es bestanden keine Unterschiede in den sFlt-1-

Spiegeln bei PE-Patientinnen mit oder ohne AT1-AA-Nachweis, das gleiche galt auch entsprechend für Kontrollpatientinnen. Bei allen Patientinnen konnte eine akute Parvovirus B19-Infektion ausgeschlossen werden (DNA und IgM negativ), die IgG-Prävalenz als Zeichen einer stattgehabten Infektion war in PE- und Kontrollgruppe nicht signifikant unterschiedlich. In vitro konnte im Kollektiv der Parvovirus B19-positiven Patientinnen gezeigt werden, dass IgG-Antikörper gegen das Parvovirus B19-Hüllprotein VP2 den AT1-AA-Bioassay aktivieren und somit einen falsch-positives Ergebnis induzieren können. Dieser Effekt konnte durch einen AT1-Blocker (Losartan) sowie das für den AT1-AA spezifische Epiptop antagonisiert werden. Weiterhin konnten wir zeigen, dass der AT1-AA-Nachweis im Bioassay von Patientinnen mit stattgehabter, lange zurückliegender Infektion (Serumprofil: VPC[-], NS-1[-], hohe Avidität) positiv war, nicht jedoch bei Patientinnen mit kürzlich stattgehabter Infektion (Serumprofil: VPC[+], NS-1[+], niedrige Avidität).

Unsere Arbeit konnte eine einfache Korrelation zwischen den verschiedenen pathophysiologischen Entitäten der PE wie Angiogenese (sFlt-1), RAAS (AT1-AA) und Immunität (Parvovirus B19-Serologie und RAAS) ausschließen. Im Gegensatz zu AT1-AA stellte sich sFlt-1 als genauer diagnostischer Marker in unserem Kollektiv heraus. Die serologische Analyse des Parvovirus B19-Immunistatus konnte keine Erklärung für das Vorhandensein von AT1-AA in manchen PE- und manchen Kontrollpatientinnen erbringen. Es wurde der Nachweis erbracht, dass eine länger zurückliegende Parvovirus B19-Infektion zu einem positiven Ergebnis des AT1-AA-Bioassays führt, nicht jedoch eine kürzlich stattgehabte. Ein molekulares Mimikry von Antikörpern gegen Parvovirus-B19 am AT1-Rezeptor kann somit nicht sicher ausgeschlossen werden.

Weitere eigene Publikationen zu diesem Thema:

Verlohren S, Muller DN, Luft FC, Dechend R: *Immunology in hypertension, preeclampsia, and target-organ damage. Hypertension 2009; 54(3):439-43.*

Krysiak O, Bretschneider A, Zhong E, Webb J, Hopp H, Verlohren S, Fuhr N, Lanowska M, Nonnenmacher A, Vetter R, Jankowski J, Paul M, Schonfelder G: *Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sFLT-1) mediates downregulation of FLT-1 and prevents activated neutrophils from women with preeclampsia from additional migration by VEGF. Circulation Research 2005; 97(12):1253-61.*

2.2.2. Der sFlt-1/PIGF-Quotient als diagnostischer Marker für Präeklampsie

Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, Pape J, Dudenhausen JW, Denk B, Stepan H: An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia. American Journal of Obstetrics and Gynecology 2010; 202(2):161.e1-11.

Maynard et al. konnten 2003 erstmals zeigen, dass sich bei Frauen mit PE erhöhte zirkulierende Serumspiegel des anti-angiogen wirksamen sFlt-1 und erniedrigte Spiegel des angiogen wirksamen PIGF feststellen lassen.²³ In der Folge konnte eine große Anzahl klinischer Studien die Bedeutung der Marker für die Diagnose, vor allem für die Früherkennung der Erkrankung, bestätigen.^{15, 24, 25, 106} Für die Vorhersage des späteren Auftretens der Erkrankung bei Frauen mit erhöhtem Risiko hat sich die Kombination der Marker mit der Dopplersonographie im zweiten Trimenon als zielführend erwiesen.^{30, 31} Die Früherkennung einer späteren Präeklampsie mit Hilfe der angiogenen und anti-angiogenen Faktoren bereits im ersten Trimenon rückt zunehmend in das Zentrum des wissenschaftlichen und klinischen Interesses.^{107, 108} Die Bestimmungen von sFlt-1 und PIGF in allen Untersuchungen bis 2009 wurden mit einer Nachweismethode aus dem Forschungsumfeld erbracht. Der bis dahin ausschließlich erhältliche Quantikine ELISA für sFlt-1 und PIGF (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA) erforderte umfangreiche Pipettierarbeit im Labor. Um für den klinisch tätigen Gynäkologen und Geburtsmediziner in der täglichen Routine, der Ambulanz oder in der Niederlassung von Relevanz zu sein, muss ein Nachweistest schnell und unkompliziert verfügbar sowie mit klaren Grenzwerten ausgestattet sein. Ziel der vorliegenden Arbeit war die klinische Erprobung des ersten voll automatisierten Assays für sFlt-1 und PIGF (Elecsys®, Roche Diagnostics, Penzberg), der 2009 zugelassen wurde. Hierfür wurde eine europäische Multicenterstudie aufgelegt. Insgesamt fünf europäische Studienzentren (Berlin, Leipzig, Madrid, Graz und Wien) schlossen Patientinnen nach einem gemeinsamen standardisierten Protokoll ein. Es wurde die Hypothese überprüft, dass die automatisierte Messung von sFlt-1 und PIGF und insbesondere der aus diesen Messwerten berechnete sFlt-1/PIGF-Quotient Patientinnen mit PE mit hoher diagnostischer Genauigkeit identifizieren kann.

Es wurden insgesamt 351 Patientinnen in die Studie eingeschlossen, darunter 71 Frauen mit PE und 280 Kontrollpatientinnen, die im Gestationsalter den PE-Patientinnen angepasst wurden. Zunächst wurden Normalwerte für sFlt-1, PIGF und dem sFlt-1/PIGF-Quotienten bei den Frauen mit unauffälligem

Schwangerschaftsausgang ermittelt. Im zweiten Teil der Untersuchung wurden die Werte der Fall- mit denen der Kontrollgruppe verglichen, jeweils unterteilt in früh einsetzende (< 34 SSW) und spät einsetzende PE (≥ 34 SSW). Es zeigten sich signifikant erhöhte zirkulierende Serumspiegel für sFlt-1, erniedrigte Serumspiegel für PIGF sowie ein erhöhter sFlt-1/PIGF-Quotient bei Patientinnen mit PE gegenüber Kontrollen. Um die diagnostische Genauigkeit der Tests zu beschreiben, wurden Receiver operating characteristics (ROC)-Kurven angefertigt und die Area under the Curve (AUC) errechnet. Aus der optimalen Sensitivität und Spezifität wurde ein Trennwert für sFlt-1, PIGF sowie den sFlt-1/PIGF-Quotienten errechnet, der sowohl in der Gruppe < 34 SSW als auch ≥ 34 SSW die höchste diagnostische Genauigkeit gewährleistet. Für den sFlt-1/PIGF-Quotienten konnte bei einem Trennwert („cut-off“) von 85 nach 20 SSW eine AUC von 0.95 errechnet werden. Die Sensitivität betrug hierbei 82%, die Spezifität 95%. Für die Gruppe der früh einsetzenden PE (< 34 SSW) betrug die AUC des sFlt-1/PIGF-Quotienten bei gleichem Trennwert 0.97, die Sensitivität betrug dabei 89%, die Spezifität 97%. Bei spät einsetzender PE betrugen die Werte bei gleichem Trennwert 0.89 für die AUC, 74% für die Sensitivität und 89% für die Spezifität.

Mit dieser Arbeit konnten wir den ersten voll automatisierten Test für die Labordiagnostik der PE für den klinischen Gebrauch evaluieren. Wir konnten Normwerte für gesunde Schwangere sowie einen Trennbereich für die Diagnose der PE etablieren. Die Messung von sFlt-1 und PIGF und vor allem die Berechnung des sFlt-1/PIGF-Quotienten erfasst eine PE mit einer hohen Genauigkeit, bei einem Trennwert von 85 kann eine frühe PE mit einer Sensitivität von 89% und einer Spezifität von 97% diagnostiziert werden. Da die klinische Präsentation der PE oft nicht eindeutig ist, kann ein Serumtest dem klinisch tätigen Arzt helfen, schnell diagnostische Genauigkeit in unklaren Situationen zu erlangen. Die Anwendung des sFlt-1/PIGF-Quotienten als diagnostischer Marker für PE hat sich mittlerweile in der klinischen Routine etabliert.

Weitere eigene Publikationen zu diesem Thema:

Verlohren S, Stepan H, Dechend R: Angiogenic growth factors in the diagnosis and prediction of preeclampsia *Clinical Science* 2012; 122(2):43-52.

Stepan H, Schaarschmidt W, Jank A, **Verlohren S**, Kratzsch J. [Use of angiogenic factors (sFlt-1/PIGF ratio) to confirm the diagnosis of preeclampsia in clinical routine: first experience *Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie* 2010; 214(6):234-8.

2.2.3. Der sFlt-1/PIGF-Quotient als differentialdiagnostischer und prognostischer Marker für Präeklampsie

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/PIGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. American Journal of Obstetrics and Gynecology 2012; 206(1):58.e1-8.

Nachdem in der vorangehenden Arbeit die automatisierte Messung von sFlt-1 und PIGF für die klinische Anwendung evaluiert wurde, stellte sich nun die Frage, welcher direkte klinische Nutzen aus dem Einsatz als diagnostische Hilfe der PE gezogen werden kann. Die Diagnose der PE wird im klinischen Alltag mit der Messung von Blutdruck und Proteinurie gestellt. Es gibt jedoch vielfältige klinische Situationen, in denen sich eben diese Messinstrumente als ungenau erweisen. Das komplexe Erscheinungsbild hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen und vor allem der stark variierende klinische Verlauf wird durch die Messung von Blutdruck und Proteinurie nicht ausreichend abgebildet. Die vorliegende Arbeit hatte drei Ziele: 1. Die Untersuchung der Eignung des Tests als differentialdiagnostischen Marker für hypertensive Schwangerschaftserkrankungen, 2. die Korrelation von in der Routine befindlichen klinischen und paraklinischen Tests auf PE mit dem sFlt-1/PIGF-Quotienten, sowie 3. die Untersuchung der Eignung des Tests als prognostischer Marker für den klinischen Verlauf bei bereits bestehender PE. Hierfür wurde die europäische Multicenterstudie um weitere Studienzentren (Prag, Basel) erweitert. Insgesamt wurden Serumproben von 630 Patientinnen analysiert, von denen 164 eine PE, 36 eine Gestationshypertonie und 42 eine chronische Hypertonie hatten. Als Vergleichsgruppe dienten 388 Kontrollpatientinnen mit unauffälligem Schwangerschaftsausgang.

Es wurde zunächst die Hypothese geprüft, dass mit Hilfe des sFlt-1/PIGF-Quotienten eine Unterscheidung zwischen PE und anderen hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen möglich ist. Hier zeigte sich, dass Frauen mit chrHTN oder GH < 34 SSW gegenüber gesunden Kontrollen keine signifikant erhöhten Werte des sFlt-1/PIGF-Quotienten aufwiesen. Der Quotient war lediglich in der PE-Gruppe erwartungsgemäß signifikant erhöht. Bei Patientinnen mit GH oder chrHTN ≥ 34 SSW wurden zwar gegenüber Kontrollen signifikant erhöhte Werte gemessen, diese lagen jedoch unterhalb des Trennwerts von 85. Dieser Trennwert wurde im Mittel ausschließlich durch Patientinnen mit PE überschritten.

Der sFlt-1/PIGF-Quotient zeigte eine signifikante Korrelation mit dem systolischen Blutdruck, dem AST und den Thrombozyten in der Gruppe < 34 SSW. Interessanterweise bestand keine signifikante Korrelation mit dem diastolischen Blutdruck sowie mit allen Parametern ≥ 34 SSW.

Wir führten in der Folge eine Korrelation der verbleibenden Schwangerschaftsdauer mit der Höhe des sFlt-1/PIGF-Quotienten bei PE Patientinnen durch. Die Höhe der Werte korrelierte signifikant mit der verbleibenden Zeit bis zur Entbindung. Patientinnen mit PE < 34 SSW, die bereits innerhalb von 2 Tagen nach Diagnosestellung entbunden werden mussten, hatten mittlere Werte von 616.42 ± 81.15 . Patientinnen mit einer verbleibenden Schwangerschaftsdauer von 2-7 Tagen zeigten Werte von 547.93 ± 98 , und Patientinnen, die noch länger als sieben Tage schwanger waren, hatten einen sFlt-1/PIGF-Quotienten von 225.55 ± 60.59 . Im Vergleich von Patientinnen mit Messwerten im oberen Quartil mit Patientinnen mit Werten in den unteren drei Quartilen zeigte sich, dass in der < 34 SSW-Gruppe Patientinnen mit einem sFlt-1/PIGF-Quotienten ≥ 655.2 ein 2.69-fach erhöhtes Risiko einer zeitnahen Entbindung hatten. Die Kaplan-Meier-Analyse ergab, dass in dieser Gruppe nach 48 Stunden nur noch ca. halb so viele Patientinnen schwanger waren. Ähnliche Ergebnisse wurden für die spät einsetzende PE gefunden.

Wir konnten in dieser Arbeit zum ersten Mal den unmittelbaren klinisch-praktischen Nutzen des sFlt-1/PIGF-Quotienten belegen. Patientinnen mit PE konnten mit Hilfe des sFlt-1/PIGF-Quotienten in Risikogruppen für eine baldige Entbindung eingeteilt werden. Der sFlt-1/PIGF-Quotient konnte als differentialdiagnostischer Test etabliert werden, der aufgrund einer nur mäßigen Korrelation mit etablierten klinischen Tests ein additives diagnostisches Instrument darstellt. Dem praktisch tätigen Arzt steht mit dem sFlt-1/PIGF-Quotienten ein schneller und verlässlicher labordiagnostischer Marker zur Verfügung, der neben einer genaueren Diagnose eine Differentialdiagnose hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen sowie eine Risikoabschätzung des klinischen Verlaufs der PE erlaubt.

Weitere eigene Publikationen zu diesem Thema:

Rana S, Powe CE, Salahuddin S, **Verloren S**, Perschel FH, Levine RJ, Lim KH, Wenger JB, Thadhani R, Karumanchi SA: Angiogenic Factors and the Risk of Adverse Outcomes in Women with Suspected Preeclampsia. *Circulation* 2012; 125(7):911-9.

3. Diskussion

3.1. Die trächtige transgene Ratte als Tiermodell für Präeklampsie

Die Präeklampsie tritt nur beim Menschen und höhergradigen Primaten auf. Lange Zeit fehlte ein Tiermodell, an dem sich Hypothesen zur Krankheitsentstehung überprüfen und Interventionen durchführen ließen. Die Arbeitsgruppe von Friedrich Luft und Detlev Ganten entwickelte ein Rattenmodell, das durch Expression des humanen Angiotensinogen-Gens in einer weiblichen Ratte und des humanen Renin-Gens in einer männlichen Ratte in der Schwangerschaft Bluthochdruck und Proteinurie entwickelt. ⁸⁵

In der vorliegenden Arbeit charakterisierten wir das transgene Rattenmodell mit dem Ziel, weitere Meilensteine der Erkrankung nachzuweisen und damit die Eignung des Modells für Interventionen zu überprüfen. Wir konnten zeigen, dass die isolierten uterinen Arterien der Ratten des preklamptischen Phänotyps eineverstarkte kontraktile Antwort auf α -adrenerge vasokontraktile Stimuli aufwiesen. In den PE-Ratten wurde eine endotheliale Dysfunktion beobachtet. Eine Störung der Balance zwischen Thromboxan und Prostacyclin konnte als hierfür ursächlich identifiziert werden.

Die physiologische Adaptation des maternalen Organismus an die Schwangerschaft beinhaltet neben einer generalisierten Vasodilatation und Zunahme des intravasalen Volumens eine herabgesetzte Ansprechbarkeit auf verschiedene vasokontraktile Stimuli wie Norepinephrin, Phenylephrin und Angiotensin II. ⁷⁵ Diese Anpassungen an die Erfordernisse der Schwangerschaft schlagen bei PE fehl. ⁷⁶ In unserem Tiermodell konnten diese Veränderungen bei den Ratten des preklamptischen Phänotyps nachgewiesen werden. Auch in anderen Tiermodellen für Präeklampsie, wie dem RUPP-Modell, konnte eine verstärkte vaskuläre Reaktion auf kontraktile Agonisten gefunden werden. ¹⁰⁹ Die in den PE-Ratten identifizierte Verschiebung des Prostacyclin/Thromboxan-Quotienten zugunsten von Thromboxan steht in Einklang mit dem humanen Krankheitsbild. ⁶⁵ Die Relaxation glatter Gefäßmuskulatur unterliegt der Steuerung durch sowohl endotheliale relaxierende Faktoren (endothelium-derived relaxing factors, EDRFs) wie Stickstoffmonoxid, PGI₂ und dem endothelialen hyperpolarisierenden Faktor (endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF), als auch Substanzen des perivaskulären Fettgewebes, wie dem adventitialen relaxierenden Faktor (adventitium-derived relaxing factor, ADRF). ¹¹⁰

Das Gefäßendothel ist Produktionsort kontraktiler Substanzen wie Endothelin I und TxA_2 .¹¹¹ In der normalen Schwangerschaft ist die endotheliale Produktion sowie die glattmuskuläre Antwort auf vasodilatative Stimuli wie NO oder Prostacyclin erhöht.¹¹² Bei PE kommt es durch eine erhöhte plazentare Expression zum Überwiegen der Thromboxan-Wirkung und zu einer Abnahme der Prostacyclin-Produktion.¹¹³ Weitere Berichte verdeutlichen eine Rolle von Thromboxan für die intrauterine Wachstumsretardierung: TxA_2 -Rezeptor-Überexpression in Blutgefäßen von Nagern führen zu einer intrauterinen Wachstumsretardierung.¹¹⁴

Wir konnten nachweisen, dass die Feten der Ratten des PE-Phänotyps eine asymmetrische Wachstumsretardierung entwickelten. Mittels biometrischer Ultraschalluntersuchungen konnte ermittelt werden, dass die SD-PE Ratten im Schwangerschaftsverlauf eine Wachstumsretardierung ausbildeten, die durch eine Verschiebung der Ratio aus Kopf- zu Abdomenumfängen zugunsten der Kopfumfänge gekennzeichnet war. Postpartal konnte dies anhand der Feststellung der Organgewichte verifiziert werden. Die retardierten SD-PE Embryonen hatten eine höhere Ratio aus Gehirngewicht zu Lebergewicht im Vergleich zu den SD-P Tieren. Das steht in Einklang mit der bei humaner Wachstumsretardierung gefundenen „Sparschaltung“ (brain sparing) der Zirkulation. Der Blutfluss und damit die Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen wird bei intrauteriner Mangelversorgung zugunsten der lebenswichtigen Organe umverteilt.¹¹⁵

In der Literatur herrscht weitgehende Einigkeit über die zentrale Bedeutung der fehlerhaften Invasion des Trophoblasten für die Entstehung insbesondere der frühen PE. Eine herabgesetzte, flachere endovaskuläre und interstitielle Trophoblasteninvasion und ein daraus folgender ungenügender Umbau der maternalen Spiralarterien gilt als histopathologisch greifbare Läsion des Krankheitsbilds. Wir charakterisierten die Plazenten der transgenen Ratten.⁹⁸ In den PE-Ratten konnte eine verstärkte endovaskuläre Trophoblasteninvasion nachgewiesen werden – ein Ergebnis, das zunächst im Gegensatz zu dem histologischen Korrelat bei humaner Präeklampsie steht. Die SD-PE zeigten eine tiefere endovaskuläre Trophoblasteninvasion sowie einen verstärkten Umbau der uteroplazentaren Spiralarterien im Vergleich zu den SD-P.^{98, 116} Dies steht in Einklang zu den Messungen des Blutflusses in den Aa. uterinae und Aa. arcuatae mittels Doppler-Ultraschall. Die uteroplazentare Perfusion war in den PE-Tieren im Gegensatz zu den SD-Ratten verbessert.

Mensch und Ratte bilden eine hämochoriale Plazenta (*Placenta discoidalis*) aus. Trotz wesentlicher anatomischer Unterschiede findet sich bei beiden Spezies eine tiefe endovaskuläre und interstitielle Trophoblasteninvasion. Insbesondere der Trophoblasten-assoziierte Spiralarterienumbau in der Dezidua sowie die tiefe Trophoblasteninvasion in das mesometriale Dreieck der Rattenplazenta entsprechen den physiologischen Anpassungsprozessen des menschlichen Organismus an die Schwangerschaft.^{117, 118} Die Diskrepanz der Tiefe der Trophoblasteninvasion zwischen humaner Präeklampsie und im hier untersuchten Tiermodell kann über die anatomischen Unterschiede hinaus auf zweierlei Weisen interpretiert werden. Die Untersuchung der Plazenten fand am Tag 18 der Rattenschwangerschaft statt. Das entspricht der Mitte der humanen Schwangerschaft. Die flachere Trophoblasteninvasion bei humaner PE wurde vor allem an Plazenten des dritten Trimenons beschrieben.¹¹⁹ Histologische Daten über den Zustand der Trophoblasteninvasion in der präeklampischen Plazenta im zweiten Trimenon sind lückenhaft. Somit ist es möglich, dass auch bei humaner PE eine initial gesteigerte Trophoblasteninvasion im späten zweiten und frühen dritten Trimester wieder eliminiert wird, beispielsweise durch gesteigerte Apoptose. Eine weitere Interpretation ist das bekannte Verhältnis zwischen Plazentagröße, und damit Menge von trophoblastären Anteilen, und PE. Sowohl molare Schwangerschaften mit extrem vergrößerten Plazenten als auch Zwillingschwangerschaften mit einer entsprechend größeren Plazentamasse haben eine höhere Inzidenz für PE.¹²⁰ In den präeklampischen Ratten fanden wir keine Unterschiede in der Größe der Plazenten gegenüber den Kontrolltieren. Es ist jedoch möglich, dass die Zunahme der Menge des trophoblastären Anteils im mesometrialen Dreieck durch die tiefere Trophoblasteninvasion das Entstehen des PE-Phänotyps begünstigt.

In einer weitergehenden Untersuchung unserer Arbeitsgruppe wurde bestätigt, dass das uteroplazentare RAAS die Trophoblasteninvasion moduliert.¹²¹ Während eine Infusion von Angiotensin II in schwangere SD-Ratten zu einer Abnahme der Trophoblasteninvasion und einer Zunahme des per Doppler-Ultraschall gemessenen Resistance Index führte, wurden in den transgenen PE-Ratten gegensätzliche Veränderungen gemessen. Die lokalen Ang II Spiegel in der Plazenta der PE-Ratten waren signifikant gesteigert, während die Ang II Infusion zu keiner Steigerung der Expression des uteroplazentaren RAAS führte. In Zellkultur-Versuchen konnte die

lokale Wirkung von Ang II auf den Trophoblasten bestätigt werden: Migration, Invasion und Motilität waren dosisabhängig gesteigert.¹²¹

Der Nachweis der endothelialen Dysfunktion und intrauterinen Wachstumsretardierung bestätigt die Utilität des Tiermodells für die Erforschung der pathophysiologischen Grundlagen der PE. Insbesondere der Nachweis, dass eine plazentare Ursache (die Überexpression plazentaren humanen Renins und Angiotensinogens) in der Folge körperweite Veränderungen in der schwangeren Ratte auslöst (endotheliale Dysfunktion, intrauterine Wachstumsretardierung), unterstreicht die Relevanz des Modells. Hier besteht der wesentliche Unterschied zu anderen PE-Tiermodellen. Sowohl das L-NAME-Modell als auch das RUPP-Modell greifen an der „Endstrecke“ der PE-Pathophysiologie an, sie induzieren das maternale Syndrom. Insbesondere das L-NAME-Modell verursacht direkt eine endotheliale Dysfunktion an den Gefäßen der schwangeren Tiere.^{122 95} Im Gegensatz dazu wird die für die humane PE typische zeitliche und lokale Disparität von plazentarer Ursache und Wirkung am gesamten maternalen Organismus in diesem Modell abgebildet. Insgesamt muss man einschränkend feststellen, dass das TGR-Modell – wie alle bisher beschriebenen Tiermodelle für PE – die humane PE nur unvollständig abbildet. Sowohl Trophoblasteninvasion und plazentare Perfusion als auch die nicht veränderte Expression von sFlt-1 und PlGF verhielten sich gegensätzlich zur menschlichen Situation. Auf der andern Seite konnten die hier charakterisierten pathophysiologischen Veränderungen in den PE-Tieren einen Ausgangspunkt für Interventionen und weitere in vivo Untersuchungen schaffen.

Als erste Intervention am PE-Tiermodell wurden die Auswirkungen einer Reduktion der Trophoblasteninvasion untersucht. Es wurde die Hypothese überprüft, dass eine Reduktion der Trophoblasteninvasion mit entsprechenden hämodynamischen Veränderungen, beispielsweise mit einer Abnahme der plazentaren Perfusion, einhergeht. Die Hemmung der Trophoblasteninvasion in vivo wurde durch Inhibition der Matrixmetalloproteinasen (MMP)-2 und -9 mittels des MMP-Antagonisten Doxycyclin (DOX) durchgeführt. Die Rolle von MMPs als Modulatoren der Motilität, Invasion und Migration von Trophoblasten ist bisher nur in vitro erforscht worden.⁴⁸ Wir konnten erstmals in vivo nachweisen, dass die Inhibition von MMP-2/ -9 mit einer Reduktion der Trophoblasteninvasion im Rattenmodell einhergeht. Die DOX-behandelten Tiere zeigten einen reduzierten physiologischen Umbauprozess der Spiralarterien, entsprechend einer geringeren endovaskulären

Trophoblasteninvasion. Nach DOX-Behandlung konnte eine geringere interstitielle Trophoblasteninvasion im Kompartiment 3 des mesometrialen Dreiecks nachgewiesen werden. In der humanen wie auch der Rattenschwangerschaft sind uNK-Zellen Schrittmacher der Trophoblasteninvasion.¹²³ In der Rattenschwangerschaft ist eine verstärkte uNK-Zell-Apoptose mit tieferer Trophoblasteninvasion assoziiert. In unserer Studie führte die DOX-Behandlung zu einem gesteigerten Nachweis von uNK-Zellen im MT. Die MMP-Inhibition führte somit durch eine Erhaltung der uNK-Zellen im mesometrialen Dreieck zu einer Reduktion der endovaskulären Trophoblasteninvasion.

Eine methodologische Einschränkung der Intervention ist die Anwendung des nicht-selektiven MMP-Inhibitors DOX. Die Anwendung von DOX in der Schwangerschaft birgt das Risiko von Teratogenität, intrauteriner Mangelentwicklung und Entwicklungsstörungen des Skeletts, insbesondere der Röhrenknochen. DOX reduzierte das Embryogewicht der PE+DOX um 8,5%, das der SD+DOX um 11,5%, das Plazentagewicht nahm bei PE+DOX um 12,5% und bei SD+DOX um 10,5% ab. Das mütterliche Gewicht blieb unverändert, grobe Skelettfehlbildungen der Embryonen wurden nicht beobachtet. In den Plazenten von sowohl PE+DOX als auch SD+DOX konnte ein pro-apoptotischer Effekt von DOX festgestellt werden. Insgesamt betrafen die Nebeneffekte der DOX-Behandlung beide Interventionsgruppen gleichermaßen. Somit konnte bei nur gering ausgeprägten Nebenwirkungen das Ziel einer effektiven MMP-Inhibition in vivo erreicht werden.

Mit Hilfe der Plazentaperfusionsmessung einzelner fetoplazentarer Einheiten wurde gezeigt, dass die plazentare Perfusion in den mit Verum (DOX) behandelten Tieren gegenüber den Plazebo-behandelten Tieren herabgesetzt war. Es wurde somit der Modell-immanente Beweis des Wirkprinzips erbracht, dass eine Reduktion der Trophoblasteninvasion zu einer Herabsetzung der plazentaren Perfusion führt. Die Eignung der Rattenplazenta als Modell der humanen Trophoblasteninvasion konnte durch diese Intervention bekräftigt werden. In den vorliegenden Arbeiten am Tiermodell kamen erstmals Ultraschall (B-Bild), Doppler-Sonographie und Plazentaperfusionsmessung zum Einsatz. Der Einsatz dieser Methoden der Bildgebung erlaubt die zukünftige Gewinnung von in vivo Daten und ermöglicht die Überwachung von Veränderungen im Schwangerschaftsverlauf von Tiermodellen.

3.2. Der sFlt-1/PIGF-Quotient als diagnostischer, prädiktiver und prognostischer Marker für Präeklampsie

Die Entdeckung der gestörten angiogenen Balance bei Patientinnen mit PE durch die Arbeitsgruppe um Ananth Karumanchi im Jahr 2003 erklärte viele bis dahin ungelöste Fragen der Präeklampsieforschung. Zum einen zeigten sich die im *Journal of Clinical Investigation* publizierten Ergebnisse als Schlüssel zum pathophysiologischen Verständnis der PE, zum anderen konnten sie rasch als diagnostische und prädiktive Instrumente für den klinischen Alltag angewendet werden. Von der Erstbeschreibung im Jahr 2003 bis zur Einführung des ersten automatisierten Tests für sFlt-1 und PIGF durch Roche Diagnostics im Jahr 2009 vergingen sechs Jahre – eine kurze Zeit für den Schritt „from bench to bedside“. ¹²⁴

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir die klinisch-praktische Bedeutung der Messung von zirkulierenden Serummarkern für die Diagnostik der Präeklampsie. Zunächst erforschten wir eine mögliche Interdependenz zwischen sFlt-1 und dem Auftreten von AT1-AA bei Patientinnen mit Präeklampsie. Die AT1-AA, die außer bei Patientinnen mit PE auch bei Patienten mit maligner Hypertonie und Transplantatabstoßung nach Nierentransplantation identifiziert werden konnten ⁸³, verdeutlichen die Rolle der humoralen Immunantwort bei PE. ^{102, 103} Ziel der Untersuchung war die Erforschung der Interaktion von sFlt-1 und AT1-AA sowie eines möglichen Zusammenhangs zwischen dem Auftreten der Autoantikörper und einer stattgehabten Parvovirus-B19-Infektion. Die zirkulierenden Serumspiegel von sFlt-1 waren bei 96% der Patientinnen mit Präeklampsie signifikant gegenüber Kontrollen erhöht, während AT1-AA nur in 70% der PE-Patientinnen nachgewiesen werden konnten. Auch AT1-AA negative PE-Patientinnen hatten signifikant erhöhte sFlt-1-Spiegel. Somit wurden die Beobachtungen anderer Gruppen bestätigt, die keine Interaktion von sFlt-1 und AT1-AA fanden. ¹²⁵ Eine einfache Kausalität zwischen einer stattgehabten Parvovirusinfektion bei Patientinnen, die AT1-AA positiv waren, wurde nicht gefunden. Die IgG-Prävalenz als Zeichen einer vorausgegangenen Infektion war bei PE-Patientinnen und Kontrollpatientinnen nicht signifikant unterschiedlich. Allerdings fand sich bei Patientinnen mit lange zurückliegender Infektion (sechs bis neun Monate, Serumprofil: VPC[-], NS-1[-], hohe Avidität) ein signifikant häufigerer positiver AT1-AA Nachweis. Dies war nicht der Fall, wenn die Patientinnen erst kürzlich eine Infektion durchgemacht hatten (weniger

als sechs Monate, Serumprofil: VPC[+], NS-1[+], niedrige Avidität). Entscheidend war die Entdeckung, dass ein humaner monoklonaler IgG-Antikörper gegen das VP2-spezifische Epiptop ein positives Testergebnis des Kardiomyozyten-Bioassays bewirkte. Durch Einsatz eines AT1-Blockers (Losartan) und durch das Epiptop-spezifische Peptid (AFHYESQ), an das auch der AT1-AA bindet, konnte dieser Effekt unterdrückt werden. In der Sequenzanalyse wurde gezeigt, dass das Epiptop am AT1-Rezeptor, an das die AT1-AA binden, und das VP2-Kapsidprotein eine hohe Strukturhomologie aufwiesen. Wir haben somit nachgewiesen, dass sowohl AT1-AA als auch IgG gegen VP2 ein positives Testergebnis im AT1-Bioassay bewirken konnte. Bereits Stepan et al. haben 2007 gezeigt, dass die Präsenz von AT1-AA unabhängig vom Parvovirus-B19-Immunistatus ist.⁸⁰ Wir konnten diese Erkenntnisse durch die genaue Charakterisierung des Profils der Immunreaktion erweitern. Für die klinische Praxis hat sich jedoch gezeigt, dass der Einsatz der AT1-AA als diagnostischer Test für PE nicht zielführend ist. Da ein weiterer Schwachpunkt der AT1-AA als möglicher diagnostischer Test das Fehlen eines herkömmlichen Nachweisverfahrens ist, werden die AT1-AA keine Signifikanz im klinischen Alltag haben.

In einer europäischen Multicenterstudie untersuchten wir die klinische Anwendung der Messung von sFlt-1 und PIGF und die Bedeutung des sFlt-1/PIGF-Quotienten für die Diagnostik der PE. Alle bis zum Jahr 2009 publizierten Daten zur Bestimmung von sFlt-1 und PIGF wurden mit einem ELISA für Forschungszwecke der Firma R&D erhoben. Im Jahr 2009 wurde ein automatisierter ELISA („Elecsys[®]“) für sFlt-1 und PIGF der Firma Roche Diagnostics zugelassen. Dieser Test kann als Modul in große Laborplattformen, wie sie beispielsweise in Zentrallaboratorien von Kliniken oder Einsenderlaboren zu finden sind, eingefügt werden und ermöglicht eine Bestimmung der Faktoren innerhalb von 18 Minuten. Wir stellten fest, dass die automatisierte Messung des sFlt-1/PIGF-Quotienten im klinischen Alltag eine PE zuverlässig diagnostizieren konnte.¹²⁶ Mittels ROC-Kurven wurde ein Trennwert des sFlt-1/PIGF-Quotienten von 85 bestimmt. Eine früh einsetzende PE konnte mit einer Sensitivität von 89% und einer Spezifität von 97% diagnostiziert werden. Andere Multicenter-Untersuchungen bestätigten die Leistungsfähigkeit der automatisierten Tests.¹²⁷ Untersuchungen einer japanischen Multicenterstudie schlugen jedoch einen Trennwert von 45 für den klinischen Gebrauch des sFlt-1/PIGF-Quotienten vor.¹²⁸

Unsere Forschungen bestätigen die Ergebnisse zweier großer klinischer Studien, die im Jahr 2004 und 2006 im *New England Journal of Medicine* erschienen sind.^{24, 25} Wir konnten die Entdeckung, dass die Bestimmung von sFlt-1 und PIGF eine Diagnosestellung der PE ermöglicht, weiterführen und für den Einsatz im klinischen Alltag evaluieren. Neben dem Nachweis der Leistungsfähigkeit der neuen automatisierten Tests für sFlt-1 und PIGF konnten wir mittels ROC-Analyse einen Trennwert für die Diagnose der PE finden. Hierdurch wird erstmals ermöglicht, in der Klinik erhobene Messwerte auf einen international einheitlichen und vergleichbaren Trennwert zu beziehen. Dies ist eine Voraussetzung für die breite klinische Nutzung des sFlt-1/PIGF-Quotienten.

Eine Limitation für die klinische Anwendung des sFlt-1/PIGF-Quotienten ist, dass wir bisher nur einen Trennwert definieren konnten, der für den gesamten Schwangerschaftsverlauf Gültigkeit hat. Das steht im Gegensatz zur Dynamik der Werte von sFlt-1 und PIGF im Verlauf der gesunden und präeklampsischen Schwangerschaft. Wir konnten zeigen, dass es auch in der gesunden Schwangerschaft zu einem Anstieg von sFlt-1 und zu einem Abfall von PIGF im 3. Trimenon kam. So betrug bei gesunden Schwangeren das 50. Perzentil des sFlt-1/PIGF-Quotienten im Zeitraum von 24-28 SSW 3.8, während es im Zeitraum ≥ 37 SSW bei 26.2 lag. Betrachtete man das 95. Perzentil gesunder Schwangerer, so lag dies in 24-28 SSW bei 16.9 und in ≥ 37 SSW bei 138, also bereits oberhalb des Trennwerts von 85. In den von uns durchgeführten Studien wurden bislang noch nicht ausreichend PE-Patientinnen untersucht. Die bisherigen Fallzahlen erlaubten eine Bestimmung verschiedener, dem Schwangerschaftsalter angepasster Trennwerte nicht. Ziel künftiger Studien muss es sein, gestationsalterspezifische Normkurven und Trennwerte zu entwickeln. Hier wären Zeiträume von vier bis fünf Wochen zu empfehlen, wie unsere Forschungen zum Verlauf der Werte bei gesunden Schwangeren ergaben. Alternativ wäre die Einführung des in der Schwangerschaft üblichen Konzepts von Multiplen des Medians (Multiples of the Median, MoM) zu diskutieren.

Besondere Aufmerksamkeit richtet sich naturgemäß auf den potentiellen Einsatz des sFlt-1/PIGF-Quotienten als prädiktiven Marker. Bereits in den Arbeiten von Levine et al. wurde nachgewiesen, dass mit Hilfe der Bestimmung von sFlt-1 und PIGF fünf Wochen vor Auftreten der klinischen Symptome Patientinnen identifiziert werden konnten, die im späteren Verlauf der Schwangerschaft eine PE entwickelten.^{24, 25}

Diese Daten konnten in großen Fall-Kontroll- sowie in prospektiven Studien verifiziert werden.^{31, 129, 130} Durch den Test wurde zugleich eine Steigerung der Prädiktion des uterinen Dopplers beim Zweittrimesterscreening erreicht.^{31, 131, 132} Die Doppler-Sonografie ist bisher die einzige Methode zur Früherkennung der Erkrankung, hat jedoch eine ungenügende Sensitivität und Spezifität.¹³³ Nur ca. 30% der Patientinnen mit pathologischem Doppler der Aa. uterinae entwickeln eine Präeklampsie.^{15, 134}

Der sFlt-1/PIGF-Quotienten wird aktuell für den Einsatz als Früherkennungsmarker einer PE bereits im ersten Trimester evaluiert. Hier hat sich vor allem die Arbeitsgruppe um Kypros Nicolaides hervorgetan. Ziel ist das möglichst frühe Erkennen von Frauen mit einem erhöhten Risiko und ein gebündeltes Erfassen von Risikofaktoren für verschiedenste Erkrankungen beim kombinierten Ersttrimesterscreening. Neben dem von seiner Arbeitsgruppe maßgeblich mit etablierten Screening auf Chromosomenaberrationen¹³⁵ soll ein Screening auf PE nach gleichem Muster etabliert werden. Hierfür sind verschiedene Biomarker im kombinierten Einsatz mit einer ausführlichen Anamneseerhebung, der Messung der uterinen Perfusion im ersten Trimenon und der Messung des maternalen Blutdrucks vorgeschlagen worden.^{108, 136} Im Gegensatz zu PIGF und PAPP-A hat die Bestimmung von sFlt-1 in dieser frühen Phase der Schwangerschaft keine prädiktive Bedeutung.¹³⁷ Die Nützlichkeit eines frühen Screenings auf PE ist derzeit Gegenstand von regen Diskussionen. Im Unterschied zum Screening auf Chromosomenaberrationen gibt es keinen Bestätigungstest, der ein Screen-positives Resultat überprüfen kann. Weiterhin gibt es zum jetzigen Zeitpunkt keine Interventionsmöglichkeiten, die als Konsequenz eines Screen-positiven Befundes angewendet werden können. Weder die Prophylaxe mit Aspirin noch der Einsatz von niedermolekularem Heparin haben hinreichende Erfolge für die PE-Prävention erbracht. Lediglich der Einsatz bei Patientinnen mit einer stattgehabten frühen PE und dem koinzidenten Vorliegen von Thrombophilien scheint gerechtfertigt.^{138, 139} Obwohl eine aktuelle Meta-Analyse erfolversprechende Ergebnisse bezüglich des frühen Beginns (<16 SSW) einer Aspirin-Therapie auch für andere Patientinnengruppen erbracht hat, gilt dennoch das Credo der Cochrane-Analyse von 2007, in der weitere, große prospektiv-randomisierte Studien gefordert werden, um den tatsächlichen Nutzen einer Aspirin-Prävention abschließend beurteilen zu können.¹³⁹ Eine aktuelle Studie hat die Hoffnungen auf einen Erfolg der Prävention

von wiederholter PE mit niedermolekularem Heparin weitestgehend zerstört.¹⁴⁰ Somit sind die Möglichkeiten einer PE-Prävention begrenzt, was die kritische Frage aufwirft, ob ein Screening im ersten Trimester der Schwangerschaft gerechtfertigt ist.

In der Weiterführung der Multicenterevaluation interessierten wir uns für die unmittelbaren Implikationen, die aus einer Bestimmung des sFlt-1/PIGF-Quotienten im klinischen Alltag resultieren könnten. Wir überprüften die Hypothese, dass die Höhe des Quotienten mit dem Verlauf der Erkrankung korreliert. Hinweise hierfür fanden sich bereits in anderen Publikationen, in denen besonders schwere Formen der PE, insbesondere mit koinzidentem HELLP, mit höheren Werten des sFlt-1/PIGF-Quotienten vergesellschaftet waren.^{25, 63, 141} Wir konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Höhe des sFlt-1/PIGF-Quotienten bei Patientinnen mit manifester PE und der Notwendigkeit einer indizierten Entbindung aufgrund drohender PE-bedingter Komplikationen feststellen. Patientinnen mit einem sFlt-1/PIGF-Quotienten oberhalb des dritten Quartils hatten eine signifikant reduzierte verbleibende Schwangerschaftsdauer. Wenn bei einer PE-Patientin <34 SSW Werte des sFlt-1/PIGF-Quotienten von ≥ 655.2 gemessen wurden (3. Quartil), hatte diese ein 2.69-fach erhöhtes Risiko (Hazard ratio) für eine zeitnahe, PE-bedingte Entbindung. Diese Ergebnisse wurden in einer aktuellen Studie aus der Arbeitsgruppe um Ananth Karumanchi bestätigt und erweitert. Rana et al. zeigten, dass die Messung des sFlt-1/PIGF-Quotienten bei Frauen mit klinischem Verdacht für PE eine Prädiktion des Auftretens von mütterlichen oder kindlichen PE-bedingten Komplikationen leisten konnte und zwar unabhängig vom Vorliegen einer PE-Diagnose zum Zeitpunkt der Messung.⁶⁴ Die Autoren wiesen nach, dass Frauen mit unspezifischen Symptomen für PE (erhöhter Blutdruck aber keine Proteinurie, Kopfschmerzen, Oberbauchschmerzen und Übelkeit aber kein laborchemischer Anhalt für ein HELLP-Syndrom etc.), bei denen ein sFlt-1/PIGF-Quotient von ≥ 85 gemessen wurde, innerhalb von zwei Wochen eine PE-assoziierte mütterliche (HELLP-Syndrom, schwere PE mit Lungenödem oder disseminierter intravaskulärer Gerinnung, vorzeitige Plazentalösung) oder kindliche Komplikation (fetaler oder neonataler Tod) entwickelten. In der ROC-Analyse fanden die Autoren, dass die AUC des sFlt-1/PIGF-Quotienten für die Vorhersage einer PE-assoziierten Komplikation innerhalb von zwei Wochen in der Gruppe <34 SSW 0.89 betrug. Alle anderen klinischen Parameter hatten eine geringere Vorhersagegenauigkeit. Die AUC für den systolischen Blutdruck betrug 0.76, die für ALT 0.62. Kombinierte man die

Parameter, ergaben sich die besten Werte: Die AUC für das Auftreten PE-assoziierter Komplikationen betrug 0.84 für die Messung von Blutdruck plus Proteinurie. Bezog man die Messung des sFlt-1/PIGF-Quotienten mit ein, konnte eine AUC von 0.93 erreicht werden.

Rana et al. konnten auch unsere Ergebnisse bezüglich der Vorhersage einer zeitnahen Entbindung mit Hilfe des sFlt-1/PIGF-Quotienten bestätigen und erweitern. Wir fanden eine Hazard ratio von 2.69 für eine bevorstehende Entbindung bei PE-Patientinnen mit sFlt-1/PIGF-Werten oberhalb des 3. Quartils. Rana et al fanden eine Hazard ratio von 9.4 für eine Entbindung innerhalb von zwei Wochen, wenn bei Patientinnen mit klinischem Verdacht für PE ein sFlt-1/PIGF-Quotient von ≥ 85 gemessen wurde.⁶⁴

3.3. Ausblick

Die Präeklampsie ist eine Erkrankung der Plazenta. Die Präsenz eines Feten ist nicht zwingend erforderlich, aber die einer Plazenta, wie Berichte vom Auftreten von PE bei molaren Schwangerschaften verdeutlichen.¹⁴⁴ Die Messung von sowohl Blutdruck als auch Proteinurie erfasst lediglich die „Endstrecke“, die Folgen eines komplexen Krankheitsprozesses, der in der Frühschwangerschaft beginnt. Es ist bekannt, dass der „Goldstandard“ der PE-Diagnostik, die Messung von Blutdruck und Proteinurie, einen mangelhaften Vorhersagewert für das Auftreten PE-bedingter maternaler oder fetaler Morbidität und Mortalität hat.^{142, 143} Die bisherigen diagnostischen Kriterien sind insbesondere dann unbefriedigend, wenn es um die Erfassung atypischer Formen der PE geht.⁶ Eine Patientin mit vorbestehendem nephrotischen Syndrom kann durch die PE-definierenden Kriterien nicht erfasst werden, da bereits durch die Grunderkrankung eine Proteinurie und Hypertonie vorliegen.

Der sFlt-1/PIGF-Quotient hat das Potential, den Goldstandard zu ergänzen und zu erweitern. Wir zeigten, dass mit Hilfe des Quotienten diejenigen Patientinnen erfasst werden konnten, die aufgrund PE-assoziierter Indikationen zeitnah entbunden werden mussten. Prospektive Studien müssen die Rolle des sFlt-1/PIGF-Quotienten als prognostischen Marker des Krankheitsverlaufs bestätigen. Gelingt dies, wird

durch Einbeziehen des sFlt-1/PIGF-Quotienten in die Beurteilung des klinischen Verlaufs eine genauere, individualisierte Behandlung der betroffenen Patientin ermöglicht. Das kann helfen, eine Senkung der PE-bedingten maternalen und fetalen Morbidität und Mortalität zu erreichen.

Das Konzept der gestörten angiogenen Balance von sFlt-1 und PIGF hat neben der Nützlichkeit für die Diagnostik potentiell auch Bedeutung für die Therapie der Erkrankung: Kürzlich wurde eine Pilotstudie zur Therapie der PE publiziert, die auf den Erkenntnissen über die plazentare sFlt-1-Überexpression bei PE aufbaut.³⁵ Die in der Studie beschriebene selektive Entfernung von sFlt-1 aus dem Serum von Frauen mit PE mittels Plasmapherese verlängerte die Schwangerschaft der Patientinnen. Diese Ergebnisse bedürfen nun der Verifikation in großen Studien.

Eine Aufgabe für die Zukunft ist es, die Rolle des sFlt-1/PIGF-Quotienten als Vorhersageparameter bei Schwangeren, die ein hohes Risiko für PE haben, weiter zu untersuchen. Es muss ermittelt werden, wie oft und in welchen Abständen die Marker zu bestimmen sind, um eine sichere Vorhersage für das spätere Auftreten der Erkrankung treffen zu können. Bisher existiert nur ein Trennwert für den sFlt-1/PIGF-Quotienten, der gleichermaßen für frühe und späte PE angewendet wird. Dies widerspricht den physiologischen Gegebenheiten der Schwangerschaft. Die zirkulierenden Serumkonzentrationen der Faktoren unterliegen auch in der gesunden Schwangerschaft einer Dynamik. Es sollten daher gestationsalterspezifische Normbereichsgrenzen für den Einsatz des sFlt-1/PIGF-Quotienten als prädiktiven Test gefunden werden. Erst wenn es auf diese Weise gelingt, einen ausreichend hohen positiven und negativen prädiktiven Wert für die Parameter zu etablieren, können klinische Entscheidungen gefällt werden, die auf der Interpretation der Ergebnisse des Quotienten beruhen. Klinische Algorithmen, die den Faktoren eine genaue Rolle im diagnostischen Prozess der PE zuweisen, könnten in der Folge dementsprechend modifiziert werden. Gelingt dies, ist es denkbar, dass die Definition der PE einer kritischen Überprüfung unterzogen wird. Die Aufnahme des sFlt-1/PIGF-Quotienten in eine zukünftige, revidierte Definition der PE würde die zentrale Rolle der Plazenta(dys)funktion als Schrittmacher der Erkrankung berücksichtigen. Erstmals würde dann bereits in der Definition nicht nur der Endstrecke der Pathogenese (Bluthochdruck, Proteinurie) Rechnung getragen, sondern zugleich ihr Ursprung (Plazentadysfunktion, veränderte Expression von sFlt-1 und PIGF) mit erfasst werden.

4. Zusammenfassung

Präeklampsie (PE), eine Multisystemerkrankung in der Schwangerschaft, ist eine der Hauptursachen für maternale und fetale Morbidität und Mortalität. Die Pathophysiologie ist nicht endgültig geklärt, eine kausale Therapie existiert nicht. Da das klinische Erscheinungsbild vielgestaltig ist, stellt die eindeutige Diagnosestellung und Vorhersage insbesondere der durch die Krankheit verursachten mütterlichen und kindlichen Komplikationen eine anspruchsvolle Aufgabe für den klinisch tätigen Arzt dar. In der vorliegenden Habilitationsschrift wurden grundlagenwissenschaftliche Arbeiten zur Pathophysiologie sowie klinische Arbeiten zur Diagnostik und Prognosestellung der Präeklampsie durchgeführt.

Der erste, basiswissenschaftliche Teil der Arbeit hatte das Ziel, Meilensteine der Erkrankung in einem transgenen Tiermodell für Präeklampsie nachzuweisen sowie durch Intervention zu verändern. Hierfür untersuchten wir ein Rattenmodell, das durch Einbringen des humanen Angiotensinogen- und Renin-Gens in der Schwangerschaft einen präeklampsischen Phänotyp zeigt. Wir fanden heraus, dass die präeklampsischen Ratten eine generalisierte endotheliale Dysfunktion entwickelten. Als Ursache hierfür konnte das auch bei der humanen PE bestehende Ungleichgewicht von Prostacyclin und Thromboxan identifiziert werden. Durch Etablieren der Technik des transabdominalen Doppler-/Ultraschalls im Rattenmodell fanden wir eine intrauterine Wachstumsretardierung sowie eine veränderte uterine Perfusion in den erkrankten Tieren. In einer Interventionsstudie hemmten wir gezielt die Trophoblasteninvasion. Wir erreichten eine Reduktion des Trophoblasten-assoziierten Spiralarterienumbaus um 60% im Vergleich zu der mit Placebo behandelten Gruppe. Die Plazentaperfusion nahm in den behandelten Tieren um 25% ab. Durch den Nachweis eines ursächlichen Zusammenhangs zwischen Trophoblasteninvasion und Plazentaperfusion im Tiermodell konnten wir die Utilität unseres Modells für die weitere Erforschung der Pathophysiologie der PE etablieren.

Im zweiten, klinischen Teil der Arbeit erforschten wir die Bedeutung der Messung zirkulierender Faktoren für die Diagnostik und Prognose der Präeklampsie. In einer klinischen Fall-Kontroll-Studie überprüften wir die Hypothese, dass eine Verknüpfung zwischen dem Auftreten von AT1-AA und sFlt-1 bei Patientinnen mit PE besteht und untersuchten den Zusammenhang zwischen einer stattgehabten Parvovirus B19-

Infektion und dem Nachweis von AT1-AA. Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen dem Auftreten der AT1-AA und sFlt-1 gefunden werden. Eine stattgehabte Parvovirus B19-Infektion vor länger als sechs bis neun Monaten war signifikant mit einem AT1-AA-Nachweis assoziiert. In einer europäischen Multicenterstudie zeigten wir, dass die automatisierte Messung des sFlt-1/PIGF-Quotienten eine Sensitivität von 89% und eine Spezifität von 97% für die Diagnose der frühen PE aufweist. Wir ermittelten, dass mit Hilfe des Tests eine PE von anderen hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen wie Gestations- oder chronischer Hypertonie zu unterscheiden ist. Wir fanden eine signifikante Korrelation zwischen der Höhe des sFlt-1/PIGF-Quotienten und der Notwendigkeit einer PE-bedingten vorzeitigen Schwangerschaftsbeendigung.

In der vorliegenden Arbeit konnten wir erstmals die unmittelbare klinisch-praktische Bedeutung der veränderten Balance aus angiogenen und anti-angiogenen Faktoren bei PE belegen. Die automatisierte Messung des sFlt-1/PIGF-Quotienten erlaubt eine individualisierte Risikoevaluation einer Patientin mit PE. Die drohende Notwendigkeit einer PE-bedingten Entbindung kann frühzeitig erfasst und das klinische Vorgehen entsprechend angepasst werden. Neben einer Fortführung der Erforschung der zugrunde liegenden Ursachen der PE am Tiermodell müssen weitere prospektive Studien folgen, um den geeigneten Platz des sFlt-1/PIGF-Quotienten im diagnostischen Algorithmus der PE zu finden.

5. Literaturverzeichnis

1. Lindheimer, M, Roberts, JM, Cunningham, FG. Chesley's hypertensive disorders in pregnancy. Edited by Lindheimer, M, Roberts, JM, Cunningham, FG. San Diego / Burlington / London, Academic Press. 2009; p. 1-422.
2. Roberts, JM, Pearson, GD, Cutler, JA, Lindheimer, MD. Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy. *Hypertens Pregnancy*. 2003; 22:109-127.
3. 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.
4. von Dadelszen, P, Magee, LA, Roberts, JM. Subclassification of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2003; 22:143-148.
5. 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.
6. Sibai, BM, Stella, CL. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2009; 200:481 e481-487.
7. Bachmann, LM, Khan, KS, Ogah, J, Owen, P. Multivariable analysis of tests for the diagnosis of intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003; 21:370-374.
8. Rath, W, Fischer, T, Klockenbusch, W, Beinder, E, Dechend, R, Faber, R, Heilmann, L, Heyl, W, Homuth, V, Kaulhausen, H, Kuse, S, Neumaier-Wagner, P, Pildner von Steinburg, S, Reister, F, Schauf, B, Schlembach, D, Schleußner, E, Schild, R, Schneider, KTM, Stepan, H, Wacker, J, Zeisler, H. Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Schwangerschaftshochdruck/ Gestose der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V. (DGGG). <http://www.uni-duesseldorf.de/awmf/II/015-018.htm>. 2007; access-date: 12.10.2010.
9. Koopmans, CM, Bijlenga, D, Groen, H, Vijgen, SM, Aarnoudse, JG, Bekedam, DJ, van den Berg, PP, de Boer, K, Burggraaff, JM, Bloemenkamp, KW, Drogtop, AP, Franx, A, de Groot, CJ, Huisjes, AJ, Kwee, A, van Loon, AJ, Lub, A, Papatsonis, DN, van der Post, JA, Roumen, FJ, Scheepers, HC, Willekes, C, Mol, BW, van Pampus, MG. Induction of labour versus expectant monitoring for gestational hypertension or mild pre-eclampsia after 36 weeks' gestation (HYPITAT): a multicentre, open-label randomised controlled trial. *Lancet*. 2009; 374:979-988.
10. Sibai, BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2003; 102:181-192.
11. Weinstein, L. Syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: a severe consequence of hypertension in pregnancy. 1982. *Am J Obstet Gynecol*. 2005; 193:859-860.
12. Haddad, B, Sibai, BM. Expectant management in pregnancies with severe pre-eclampsia. *Semin Perinatol*. 2009; 33:143-151.

13. Becker, R, Vonk, R, Vollert, W, Entezami, M. Doppler sonography of uterine arteries at 20-23 weeks: risk assessment of adverse pregnancy outcome by quantification of impedance and notch. *J Perinat Med*. 2002; 30:388-394.
14. Akolekar, R, Syngelaki, A, Sarquis, R, Zvanca, M, Nicolaides, KH. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. *Prenat Diagn*. 2011; 31:66-74.
15. Kusanovic, JP, Romero, R, Chaiworapongsa, T, Erez, O, Mittal, P, Vaisbuch, E, Mazaki-Tovi, S, Gotsch, F, Edwin, SS, Gomez, R, Yeo, L, Conde-Agudelo, A, Hassan, SS. 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; 22:1021-1038.
16. Weindling, A. The Confidential Enquiry into Still Births and Deaths in Infancy, 5th Annual Report. Maternal and Child Health Research Consortium. *Arch Dis Child*. 2003; 12:1034-1037.
17. Duley, L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol*. 2009; 33:130-137.
18. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. *Obstet Gynecol*. 2002; 99:159-167.
19. Douglas, KA, Redman, CW. Eclampsia in the United Kingdom. *BMJ*. 1994; 309:1395-1400.
20. Korvenranta, E, Linna, M, Rautava, L, Andersson, S, Gissler, M, Hallman, M, Hakkinen, U, Leipala, J, Peltola, M, Tammela, O, Lehtonen, L. Hospital costs and quality of life during 4 years after very preterm birth. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 164:657-663.
21. Dekker, G, Sibai, B. Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet*. 2001; 357:209-215.
22. Julkunen, H. Renal lupus in pregnancy. *Scand J Rheumatol Suppl*. 1998; 107:80-83.
23. Maynard, SE, Min, JY, Merchan, J, Lim, KH, Li, J, Mondal, S, Libermann, TA, Morgan, JP, Sellke, FW, Stillman, IE, Epstein, FH, Sukhatme, VP, Karumanchi, SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003; 111:649-658.
24. Levine, RJ, Maynard, SE, Qian, C, Lim, KH, England, LJ, Yu, KF, Schisterman, EF, Thadhani, R, Sachs, BP, Epstein, FH, Sibai, BM, Sukhatme, VP, Karumanchi, SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004; 350:672-683.
25. Levine, RJ, Lam, C, Qian, C, Yu, KF, Maynard, SE, Sachs, BP, Sibai, BM, Epstein, FH, Romero, R, Thadhani, R, Karumanchi, SA. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med*. 2006; 355:992-1005.
26. Harrington, KF, Campbell, S, Bewley, S, Bower, S. Doppler velocimetry studies of the uterine artery in the early prediction of pre-eclampsia and intra-uterine growth retardation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1991; 42 Suppl:S14-20.

27. Papageorgiou, AT, Yu, CK, Erasmus, IE, Cuckle, HS, Nicolaides, KH. Assessment of risk for the development of pre-eclampsia by maternal characteristics and uterine artery Doppler. *Bjog*. 2005; 112:703-709.
28. Harrington, K, Thompson, MO, Carpenter, RG, Nguyen, M, Campbell, S. Doppler fetal circulation in pregnancies complicated by pre-eclampsia or delivery of a small for gestational age baby: 2. Longitudinal analysis. *Br J Obstet Gynaecol*. 1999; 106:453-466.
29. Fayyad, AM, Harrington, KF. Prediction and prevention of preeclampsia and IUGR. *Early Hum Dev*. 2005; 81:865-876.
30. Espinoza, J, Romero, R, Nien, JK, Gomez, R, Kusanovic, JP, Goncalves, LF, Medina, L, Edwin, S, Hassan, S, Carstens, M, Gonzalez, R. Identification of patients at risk for early onset and/or severe preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and placental growth factor. *Am J Obstet Gynecol*. 2007; 196:326 e321-313.
31. Stepan, H, Unversucht, A, Wessel, N, Faber, R. Predictive Value of Maternal Angiogenic Factors in Second Trimester Pregnancies With Abnormal Uterine Perfusion. *Hypertension*. 2007; 49:818-824.
32. Simhan, HN, Caritis, SN. Prevention of preterm delivery. *N Engl J Med*. 2007; 357:477-487.
33. Obladen, M, Luttkus, A, Rey, M, Metzke, B, Hopfenmuller, W, Dudenhausen, JW. Differences in morbidity and mortality according to type of referral of very low birthweight infants. *J Perinat Med*. 1994; 22:53-64.
34. Sanderson, M, Sappenfield, WM, Jespersen, KM, Liu, Q, Baker, SL. Association between level of delivery hospital and neonatal outcomes among South Carolina Medicaid recipients. *Am J Obstet Gynecol*. 2000; 183:1504-1511.
35. Thadhani, R, Kisner, T, Hagmann, H, Bossung, V, Noack, S, Schaarschmidt, W, Jank, A, Kribs, A, Cornely, OA, Kreyssig, C, Hemphill, L, Rigby, AC, Khedkar, S, Lindner, TH, Mallmann, P, Stepan, H, Karumanchi, SA, Benzing, T. Pilot study of extracorporeal removal of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia. *Circulation*. 2011; 124:940-950.
36. Jeffcoate, TN. Pre-eclampsia and eclampsia: the disease of theories. *Proc R Soc Med*. 1966; 59:397-404.
37. Vatten, LJ, Skjaerven, R. Is pre-eclampsia more than one disease? *Bjog*. 2004; 111:298-302.
38. Ness, RB, Roberts, JM. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol*. 1996; 175:1365-1370.
39. Egbor, M, Ansari, T, Morris, N, Green, CJ, Sibbons, PD. Morphometric placental villous and vascular abnormalities in early- and late-onset pre-eclampsia with and without fetal growth restriction. *Bjog*. 2006; 113:580-589.
40. Roberts, JM, Hubel, CA. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta*. 2009; 30 Suppl A:S32-37.
41. Robertson, WB, Brosens, I, Dixon, HG. The pathological response of the vessels of the placental bed to hypertensive pregnancy. *J Pathol Bacteriol*. 1967; 93:581-592.

42. Brosens, IA, Robertson, WB, Dixon, HG. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Annu.* 1972; 1:177-191.
43. Pijnenborg, R, Bland, JM, Robertson, WB, Brosens, I. Uteroplacental arterial changes related to interstitial trophoblast migration in early human pregnancy. *Placenta.* 1983; 4:397-413.
44. Pijnenborg, R, Vercruyssen, L, Hanssens, M. The uterine spiral arteries in human pregnancy: facts and controversies. *Placenta.* 2006; 27:939-958.
45. Pijnenborg, R, Anthony, J, Davey, DA, Rees, A, Tiltman, A, Vercruyssen, L, van Assche, A. Placental bed spiral arteries in the hypertensive disorders of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1991; 98:648-655.
46. Goldman-Wohl, D, Yagel, S. Regulation of trophoblast invasion: from normal implantation to pre-eclampsia. *Mol Cell Endocrinol.* 2002; 187:233-238.
47. 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; 99:2152-2164.
48. Huppertz, B, Kertschanska, S, Demir, AY, Frank, HG, Kaufmann, P. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases (MMP), their substrates, and their inhibitors (TIMP) during trophoblast invasion in the human placenta. *Cell Tissue Res.* 1998; 291:133-148.
49. Naruse, K, Lash, GE, Innes, BA, Otun, HA, Searle, RF, Robson, SC, Bulmer, JN. Localization of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and tissue inhibitors for MMPs (TIMPs) in uterine natural killer cells in early human pregnancy. *Hum Reprod.* 2009; 24:553-561.
50. Staun-Ram, E, Goldman, S, Gabarin, D, Shalev, E. Expression and importance of matrix metalloproteinase 2 and 9 (MMP-2 and -9) in human trophoblast invasion. *Reprod Biol Endocrinol.* 2004; 2:59.
51. Myers, JE, Merchant, SJ, Macleod, M, Mires, GJ, Baker, PN, Davidge, ST. MMP-2 Levels are Elevated in the Plasma of Women Who Subsequently Develop Preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2005; 24:103-115.
52. Pijnenborg, RB, I; Romero, R. Deep trophoblast invasion and spiral artery remodelling. Edited by Pijnenborg, RB, I; Romero, R. Cambridge, Cambridge University Press, 2010; p. 97–107.
53. Roberts, JM, Taylor, RN, Musci, TJ, Rodgers, GM, Hubel, CA, McLaughlin, MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol.* 1989; 161:1200-1204.
54. Roberts, JM, Lain, K.Y. Recent Insights into the Pathogenesis of Preeclampsia. *Placenta.* 2002; 23:359-372.
55. Hayman, R, Warren, A, Brockelsby, J, Johnson, I, Baker, P. Plasma from women with pre-eclampsia induces an in vitro alteration in the endothelium-dependent behaviour of myometrial resistance arteries. *Bjog.* 2000; 107:108-115.
56. Redman, CW, Sacks, GP, Sargent, IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999; 180:499-506.
57. Lam, C, Lim, KH, Karumanchi, SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension.* 2005; 46:1077-1085.

58. Verlohren, S, Stepan, H, Dechend, R. Angiogenic growth factors in the diagnosis and prediction of pre-eclampsia. *Clin Sci (Lond)*. 2012; 122:43-52.
59. Redman, CW, Sargent, IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*. 2005; 308:1592-1594.
60. Roberts, JM, Hubel, CA. Is oxidative stress the link in the two-stage model of pre-eclampsia? *Lancet*. 1999; 354:788-789.
61. Redman, CW, Sargent, IL. Circulating microparticles in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Placenta*. 2008; 29 Suppl A:S73-77.
62. Brockelsby, J, Hayman, R, Ahmed, A, Warren, A, Johnson, I, Baker, P. VEGF via VEGF receptor-1 (Flt-1) mimics preeclamptic plasma in inhibiting uterine blood vessel relaxation in pregnancy: implications in the pathogenesis of preeclampsia. *Lab Invest*. 1999; 79:1101-1111.
63. Venkatesha, S, Toporsian, M, Lam, C, Hanai, J, Mammoto, T, Kim, YM, Bdolah, Y, Lim, KH, Yuan, HT, Libermann, TA, Stillman, IE, Roberts, D, D'Amore, PA, Epstein, FH, Sellke, FW, Romero, R, Sukhatme, VP, Letarte, M, Karumanchi, SA. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med*. 2006; 12:642-649.
64. Rana, S, Powe, CE, Salahuddin, S, Verlohren, S, Perschel, FH, Levine, RJ, Lim, KH, Wenger, JB, Thadhani, R, Karumanchi, SA. Angiogenic Factors and the Risk of Adverse Outcomes in Women with Suspected Preeclampsia. *Circulation*. 2012; 125:911-919.
65. Chavarria, ME, Lara-Gonzalez, L, Gonzalez-Gleason, A, Garcia-Paleta, Y, Vital-Reyes, VS, Reyes, A. Prostacyclin/thromboxane early changes in pregnancies that are complicated by preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2003; 188:986-992.
66. Eremina, V, Sood, M, Haigh, J, Nagy, A, Lajoie, G, Ferrara, N, Gerber, HP, Kikkawa, Y, Miner, JH, Quaggin, SE. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest*. 2003; 111:707-716.
67. Eremina, V, Jefferson, JA, Kowalewska, J, Hochster, H, Haas, M, Weisstuch, J, Richardson, C, Kopp, JB, Kabir, MG, Backx, PH, Gerber, HP, Ferrara, N, Barisoni, L, Alpers, CE, Quaggin, SE. VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med*. 2008; 358:1129-1136.
68. Papapetropoulos, A, Garcia-Cardena, G, Madri, JA, Sessa, WC. Nitric oxide production contributes to the angiogenic properties of vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. *J Clin Invest*. 1997; 100:3131-3139.
69. Dechend, R, Muller, DN, Wallukat, G, Homuth, V, Krause, M, Dudenhausen, J, Luft, FC. AT1 receptor agonistic antibodies, hypertension, and preeclampsia. *Semin Nephrol*. 2004; 24:571-579.
70. Shah, DM. Role of the renin-angiotensin system in the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005; 288:F614-625.
71. Wallukat, G, Homuth, V, Fischer, T, Lindschau, C, Horstkamp, B, Jupner, A, Baur, E, Nissen, E, Vetter, K, Neichel, D, Dudenhausen, JW, Haller, H, Luft, FC. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor. *J Clin Invest*. 1999; 103:945-952.

72. Herse, F, Dechend, R, Harsem, NK, Wallukat, G, Janke, J, Quadri, F, Hering, L, Muller, DN, Luft, FC, Staff, AC. Dysregulation of the Circulating and Tissue-Based Renin-Angiotensin System in Preeclampsia. *Hypertension*. 2007; 49:604-611.
73. Weir, RJ, Paintin, DB, Robertson, JI, Tree, M, Fraser, R, Young, J. Renin, angiotensin and aldosterone relationships in normal pregnancy. *Proc R Soc Med*. 1970; 63:1101-1102.
74. Weir, RJ, Brown, JJ, Fraser, R, Kraszewski, A, Lever, AF, McIlwaine, GM, Morton, JJ, Robertson, JI, Tree, M. Plasma renin, renin substrate, angiotensin II, and aldosterone in hypertensive disease of pregnancy. *Lancet*. 1973; 1:291-294.
75. Gant, NF, Daley, GL, Chand, S, Whalley, PJ, MacDonald, PC. A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy. *J Clin Invest*. 1973; 52:2682-2689.
76. Baylis, C, Beinder, E, Suto, T, August, P. Recent insights into the roles of nitric oxide and renin-angiotensin in the pathophysiology of preeclamptic pregnancy. *Semin Nephrol*. 1998; 18:208-230.
77. Zhou, CC, Ahmad, S, Mi, T, Xia, L, Abbasi, S, Hewett, PW, Sun, C, Ahmed, A, Kellems, RE, Xia, Y. Angiotensin II induces soluble fms-Like tyrosine kinase-1 release via calcineurin signaling pathway in pregnancy. *Circ Res*. 2007; 100:88-95.
78. Zhou, CC, Zhang, Y, Irani, RA, Zhang, H, Mi, T, Popek, EJ, Hicks, MJ, Ramin, SM, Kellems, RE, Xia, Y. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce preeclampsia in pregnant mice. *Nat Med*. 2008; 14:855-862.
79. Stepan, H, Faber, R. Elevated sFlt1 level and preeclampsia with parvovirus-induced hydrops. *N Engl J Med*. 2006; 354:1857-1858.
80. Stepan, H, Wallukat, G, Schultheiss, HP, Faber, R, Walther, T. Is parvovirus B19 the cause for autoimmunity against the angiotensin II type receptor? *J Reprod Immunol*. 2007; 73:130-134.
81. von Poblitzki, A, Hemauer, A, Gigler, A, Puchhammer-Stockl, E, Heinz, FX, Pont, J, Laczika, K, Wolf, H, Modrow, S. Antibodies to the nonstructural protein of parvovirus B19 in persistently infected patients: implications for pathogenesis. *J Infect Dis*. 1995; 172:1356-1359.
82. Soderlund, M, Brown, CS, Spaan, WJ, Hedman, L, Hedman, K. Epitope type-specific IgG responses to capsid proteins VP1 and VP2 of human parvovirus B19. *J Infect Dis*. 1995; 172:1431-1436.
83. Dragun, D, Muller, DN, Brasen, JH, Fritsche, L, Nieminen-Kelha, M, Dechend, R, Kintscher, U, Rudolph, B, Hoebeke, J, Eckert, D, Mazak, I, Plehm, R, Schonemann, C, Unger, T, Budde, K, Neumayer, HH, Luft, FC, Wallukat, G. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med*. 2005; 352:558-569.
84. Haig, D. Genetic conflicts in human pregnancy. *Q Rev Biol*. 1993; 68:495-532.
85. Bohlender, J, Ganten, D, Luft, FC. Rats transgenic for human renin and human angiotensinogen as a model for gestational hypertension. *J Am Soc Nephrol*. 2000; 11:2056-2061.
86. Dechend, R, Gratzke, P, Wallukat, G, Shagdarsuren, E, Plehm, R, Bräsen, J-H, Fiebeler, A, Schneider, W, Caluwaerts, S, Vercruysse, L, Pijnenborg, R, Luft, FC,

- Müller, DN. Agonistic autoantibodies to the AT1 receptor in a transgenic rat model of preeclampsia. *Hypertension*. 2005; 45:742-746.
87. Alexander, BT, Kassab, SE, Miller, MT, Abram, SR, Reckelhoff, JF, Bennett, WA, Granger, JP. Reduced uterine perfusion pressure during pregnancy in the rat is associated with increases in arterial pressure and changes in renal nitric oxide. *Hypertension*. 2001; 37:1191-1195.
88. Lamarca, B, Bennett, W, Alexander, B, Cockrell, K, Granger, J. Hypertension produced by reductions in uterine perfusion in the pregnant rat: role of tumor necrosis factor-alpha. *Hypertension*. 2005; 46:1022-1025.
89. Gadonski, G, LaMarca, BB, Sullivan, E, Bennett, W, Chandler, D, Granger, JP. Hypertension produced by reductions in uterine perfusion in the pregnant rat: role of interleukin 6. *Hypertension*. 2006; 48:711-716.
90. Granger, JP, LaMarca, BB, Cockrell, K, Sedeek, M, Balzi, C, Chandler, D, Bennett, W. Reduced uterine perfusion pressure (RUPP) model for studying cardiovascular-renal dysfunction in response to placental ischemia. *Methods Mol Med*. 2006; 122:383-392.
91. Gilbert, JS, Babcock, SA, Granger, JP. Hypertension produced by reduced uterine perfusion in pregnant rats is associated with increased soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression. *Hypertension*. 2007; 50:1142-1147.
92. Lamarca, B, Wallukat, G, Llinas, M, Herse, F, Dechend, R, Granger, JP. Autoantibodies to the Angiotensin Type I Receptor in Response to Placental Ischemia and Tumor Necrosis Factor {alpha} in Pregnant Rats. *Hypertension*. 2008;
93. Davis, JR, Giardina, JB, Green, GM, Alexander, BT, Granger, JP, Khalil, RA. Reduced endothelial NO-cGMP vascular relaxation pathway during TNF-alpha-induced hypertension in pregnant rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002; 282:R390-399.
94. Orshal, JM, Khalil, RA. Reduced endothelial NO-cGMP-mediated vascular relaxation and hypertension in IL-6-infused pregnant rats. *Hypertension*. 2004; 43:434-444.
95. Baylis, C, Mitruka, B, Deng, A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest*. 1992; 90:278-281.
96. Deng, A, Engels, K, Baylis, C. Impact of nitric oxide deficiency on blood pressure and glomerular hemodynamic adaptations to pregnancy in the rat. *Kidney Int*. 1996; 50:1132-1138.
97. Li, Z, Zhang, Y, Ying Ma, J, Kapoun, AM, Shao, Q, Kerr, I, Lam, A, O'Young, G, Sannajust, F, Stathis, P, Schreiner, G, Karumanchi, SA, Protter, AA, Pollitt, NS. Recombinant vascular endothelial growth factor 121 attenuates hypertension and improves kidney damage in a rat model of preeclampsia. *Hypertension*. 2007; 50:686-692.
98. Geusens, N, Verlohren, S, Luyten, C, Taube, M, Hering, L, Vercruyse, L, Hanssens, M, Dudenhausen, JW, Dechend, R, Pijnenborg, R. Endovascular trophoblast invasion, spiral artery remodelling and uteroplacental haemodynamics in a transgenic rat model of pre-eclampsia. *Placenta*. 2008; 29:614-623.
99. Huppertz, B, Kertschanska, S, Frank, HG, Gaus, G, Funayama, H, Kaufmann, P. Extracellular matrix components of the placental extravillous trophoblast:

immunocytochemistry and ultrastructural distribution. *Histochem Cell Biol.* 1996; 106:291-301.

100. Naruse, K, Lash, GE, Innes, BA, Otun, HA, Searle, RF, Robson, SC, Bulmer, JN. Localization of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and tissue inhibitors for MMPs (TIMPs) in uterine natural killer cells in early human pregnancy. *Human Reproduction.* 2008; 24:553-561.

101. Verlohren, S, Geusens, N, Morton, J, Verhaegen, I, Hering, L, Herse, F, Dudenhausen, JW, Muller, DN, Luft, FC, Cartwright, JE, Davidge, ST, Pijnenborg, R, Dechend, R. Inhibition of trophoblast-induced spiral artery remodeling reduces placental perfusion in rat pregnancy. *Hypertension.* 56:304-310.

102. Dechend, R, Homuth, V, Wallukat, G, Kreuzer, J, Park, JK, Theuer, J, Juepner, A, Gulba, DC, Mackman, N, Haller, H, Luft, FC. AT(1) receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients cause vascular cells to express tissue factor. *Circulation.* 2000; 101:2382-2387.

103. Dechend, R, Viedt, C, Muller, DN, Ugele, B, Brandes, RP, Wallukat, G, Park, JK, Janke, J, Barta, P, Theuer, J, Fiebeler, A, Homuth, V, Dietz, R, Haller, H, Kreuzer, J, Luft, FC. AT1 receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients stimulate NADPH oxidase. *Circulation.* 2003; 107:1632-1639.

104. Walther, T, Wallukat, G, Jank, A, Bartel, S, Schultheiss, HP, Faber, R, Stepan, H. Angiotensin II type 1 receptor agonistic antibodies reflect fundamental alterations in the uteroplacental vasculature. *Hypertension.* 2005; 46:1275-1279.

105. Stepan, H, Walther, T. Questionable role of the angiotensin II receptor subtype 1 autoantibody in the pathogenesis of preeclampsia. *Hypertension.* 2007; 50:e3; author reply e4.

106. Romero, R, Nien, JK, Espinoza, J, Todem, D, Fu, W, Chung, H, Kusanovic, JP, Gotsch, F, Erez, O, Mazaki-Tovi, S, Gomez, R, Edwin, S, Chaiworapongsa, T, Levine, RJ, Karumanchi, SA. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2008; 21:9-23.

107. Akolekar, R, Zaragoza, E, Poon, LC, Pepes, S, Nicolaides, KH. Maternal serum placental growth factor at 11 + 0 to 13 + 6 weeks of gestation in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008; 32:732-739.

108. Poon, LC, Kametas, NA, Maiz, N, Akolekar, R, Nicolaides, KH. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. *Hypertension.* 2009; 53:812-818.

109. Crews, JK, Herrington, JN, Granger, JP, Khalil, RA. Decreased endothelium-dependent vascular relaxation during reduction of uterine perfusion pressure in pregnant rat. *Hypertension.* 2000; 35:367-372.

110. Verlohren, S, Dubrovskaja, G, Tsang, SY, Essin, K, Luft, FC, Huang, Y, Gollasch, M. Visceral periadventitial adipose tissue regulates arterial tone of mesenteric arteries. *Hypertension.* 2004; 44:271-276.

111. Gollasch, M. Endothelium-derived contracting factor: a new way of looking at endothelial function in obesity. *J Hypertens.* 2002; 20:2147-2149.

112. Magness, RR, Shaw, CE, Phernetton, TM, Zheng, J, Bird, IM. Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. II. Pregnancy effects on NO synthase expression. *Am J Physiol.* 1997; 272:H1730-1740.
113. Walsh, SW. Preeclampsia: an imbalance in placental prostacyclin and thromboxane production. *Am J Obstet Gynecol.* 1985; 152:335-340.
114. Rocca, B, Loeb, AL, Strauss, JF, 3rd, Vezza, R, Habib, A, Li, H, FitzGerald, GA. Directed vascular expression of the thromboxane A2 receptor results in intrauterine growth retardation. *Nat Med.* 2000; 6:219-221.
115. Li, J, Wang, ZN, Schlemm, L, Pfab, T, Xiao, XM, Chen, YP, Hocher, B. Low birth weight and elevated head-to-abdominal circumference ratio are associated with elevated fetal glycated serum protein concentrations. *J Hypertens.* 29:1712-1718.
116. Geusens, N, Hering, L, Verlohren, S, Luyten, C, Drijkoningen, K, Taube, M, Vercruysse, L, Hanssens, M, Dechend, R, Pijnenborg, R. Changes in endovascular trophoblast invasion and spiral artery remodelling at term in a transgenic preeclamptic rat model. *Placenta.* 2010; 31:320-326.
117. Caluwaerts, S, Vercruysse, L, Luyten, C, Pijnenborg, R. Endovascular trophoblast invasion and associated structural changes in uterine spiral arteries of the pregnant rat. *Placenta.* 2005; 26:574-584.
118. Vercruysse, L, Caluwaerts, S, Luyten, C, Pijnenborg, R. Interstitial trophoblast invasion in the decidua and mesometrial triangle during the last third of pregnancy in the rat. *Placenta.* 2006; 27:22-33.
119. Pijnenborg, R, Anthony, J, Davey, D, Rees, A, Tiltman, A, Vercruysse, L, van Assche, A. Placental bed spiral arteries in the hypertensive disorders of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1991; 98:648-655.
120. Sibai, BM, Hauth, J, Caritis, S, Lindheimer, MD, MacPherson, C, Klebanoff, M, VanDorsten, JP, Landon, M, Miodovnik, M, Paul, R, Meis, P, Thurnau, G, Dombrowski, M, Roberts, J, McNellis, D. 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; 182:938-942.
121. Hering, L, Herse, F, Geusens, N, Verlohren, S, Wenzel, K, Staff, AC, Brosnihan, KB, Huppertz, B, Luft, FC, Mueller, DN, Pijnenborg, R, Cartwright, JE, Dechend, R. Effects of Circulating and Local Uteroplacental Angiotensin II in Rat Pregnancy. *Hypertension.* 2010; 1-12.
122. Edwards, DL, Arora, CP, Bui, DT, Castro, LC. Long-term nitric oxide blockade in the pregnant rat: effects on blood pressure and plasma levels of endothelin-1. *Am J Obstet Gynecol.* 1996; 175:484-488.
123. Naruse, K, Lash, GE, Bulmer, JN, Innes, BA, Otun, HA, Searle, RF, Robson, SC. The urokinase plasminogen activator (uPA) system in uterine natural killer cells in the placental bed during early pregnancy. *Placenta.* 2009; 30:398-404.
124. Roche Diagnostics Global website. Roche Diagnostics announces CE launch of first diagnostic Preeclampsia Test. http://www.roche.com/media/media_releases/med_dia_2009-01-06.htm; access-date: 04.03.2012.
125. Stepan, H, Faber, R, Wessel, N, Wallukat, G, Schultheiss, HP, Walther, T. Relation between circulating angiotensin II type 1 receptor agonistic autoantibodies and soluble fms-like tyrosine kinase 1 in the pathogenesis of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91:2424-2427.

126. Verlohren, S, Galindo, A, Schlembach, D, Zeisler, H, Herraiz, I, Moertl, MG, Pape, J, Dudenhausen, JW, Denk, B, Stepan, H. An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2010; 202:161 e161-e111.
127. Schiettecatte, J, Russcher, H, Anckaert, E, Mees, M, Leeser, B, Tirelli, AS, Fiedler, GM, Luthe, H, Denk, B, Smitz, J. Multicenter evaluation of the first automated Elecsys sFlt-1 and PIGF assays in normal pregnancies and preeclampsia. *Clin Biochem.* 2010; 43:768-770.
128. Ohkuchi, A, Hirashima, C, Suzuki, H, Takahashi, K, Yoshida, M, Matsubara, S, Suzuki, M. Evaluation of a new and automated electrochemiluminescence immunoassay for plasma sFlt-1 and PIGF levels in women with preeclampsia. *Hypertens Res.* 33:422-427.
129. 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; 87:837-842.
130. 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; 197:244 e241-248.
131. Crispi, F, Llurba, E, Dominguez, C, Martin-Gallan, P, Cabero, L, Gratacos, E. Predictive value of angiogenic factors and uterine artery Doppler for early- versus late-onset pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008; 31:303-309.
132. Diab, AE, El-Behery, MM, Ebrahiem, MA, Shehata, AE. Angiogenic factors for the prediction of pre-eclampsia in women with abnormal midtrimester uterine artery Doppler velocimetry. *Int J Gynaecol Obstet.* 2008; 102:146-151.
133. Meads, CA, Crossen, JS, Meher, S, Juarez-Garcia, A, ter Riet, G, Duley, L, Roberts, TE, Mol, BW, van der Post, JA, Leeflang, MM, Barton, PM, Hyde, CJ, Gupta, JK, Khan, KS. Methods of prediction and prevention of pre-eclampsia: systematic reviews of accuracy and effectiveness literature with economic modelling. *Health Technol Assess.* 2008; 12:iii-iv, 1-270.
134. Erez, O, Romero, R, Espinoza, J, Fu, W, Todem, D, Kusanovic, JP, Gotsch, F, Edwin, S, Nien, JK, Chaiworapongsa, T, Mittal, P, Mazaki-Tovi, S, Than, NG, Gomez, R, Hassan, SS. The change in concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in maternal plasma between the first and second trimesters in risk assessment for the subsequent development of preeclampsia and small-for-gestational age. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2008; 21:279-287.
135. Nicolaidis, KH, Azar, G, Byrne, D, Mansur, C, Marks, K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ.* 1992; 304:867-869.
136. Poon, LC, Akolekar, R, Lachmann, R, Beta, J, Nicolaidis, KH. Hypertensive disorders in pregnancy: Screening by biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010; 6:662-670.
137. Akolekar, R, de Cruz, J, Foidart, JM, Munaut, C, Nicolaidis, KH. Maternal plasma soluble fms-like tyrosine kinase-1 and free vascular endothelial growth factor at 11 to 13 weeks of gestation in preeclampsia. *Prenat Diagn.* 2010; 30:191-197.

138. Askie, LM, Duley, L, Henderson-Smart, DJ, Stewart, LA. Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet*. 2007; 369:1791-1798.
139. Duley, L, Henderson-Smart, DJ, Meher, S, King, JF. Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007; CD004659.
140. Martinelli, I, Ruggenenti, P, Cetin, I, Pardi, G, Perna, A, Vergani, P, Acaia, B, Facchinetti, F, La Sala, GB, Bozzo, M, Rampello, S, Marozio, L, Diadei, O, Gherardi, G, Carminati, S, Remuzzi, G, Mannucci, PM. Heparin in pregnant women with previous placenta-mediated pregnancy complications: a prospective, randomized, multicenter, controlled clinical trial. *Blood*. 2012; Epub ahead of print.
141. Chaiworapongsa, T, Romero, R, Espinoza, J, Bujold, E, Mee Kim, Y, Goncalves, LF, Gomez, R, Edwin, S. 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; 190:1541-1547; discussion 1547-1550.
142. Zhang, J, Klebanoff, MA, Roberts, JM. Prediction of adverse outcomes by common definitions of hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2001; 97:261-267.
143. von Dadelszen, P, Payne, B, Li, J, Ansermino, JM, Broughton Pipkin, F, Cote, AM, Douglas, MJ, Gruslin, A, Hutcheon, JA, Joseph, KS, Kyle, PM, Lee, T, Loughna, P, Menzies, JM, Merialdi, M, Millman, AL, Moore, MP, Moutquin, JM, Ouellet, AB, Smith, GN, Walker, JJ, Walley, KR, Walters, BN, Widmer, M, Lee, SK, Russell, JA, Magee, LA. Prediction of adverse maternal outcomes in pre-eclampsia: development and validation of the fullPIERS model. *Lancet*. 377:219-227.
144. Soto-Wright, V, Bernstein, M, Goldstein, DP, Berkowitz, RS. The changing clinical presentation of complete molar pregnancy. *Obstet Gynecol*. 1995; 86:775-779.

Danksagung

Zuallererst danke ich Herrn Professor Wolfgang Henrich, Direktor der Klinik für Geburtsmedizin und Herrn Professor Joachim W. Dudenhausen, emeritierter Direktor der Klinik. Beide haben mich zu jeder Zeit unterstützt, mich in der Klinik ausgebildet und mir die Freiräume gelassen, mich als Wissenschaftler zu entfalten. Auch Herrn Professor Ernst Beinder gilt mein Dank. Er hat mir in der kurzen Zeit, in der wir zusammengearbeitet haben, wichtige Anregungen für meinen weiteren Weg als Arzt und Forscher gegeben. Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Professor Andreas Plagemann. Er hat meine wissenschaftlichen Aktivitäten von der ersten Minute an wohlwollend begleitet und stand mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Friedrich Luft und Herrn Privatdozent Ralf Dechend. Sie haben mich mit dem Forschungsthema Präeklampsie vertraut gemacht und mir ermöglicht, mich zeitweise ganz auf meine Forschungsarbeit zu konzentrieren. Meine Begeisterung für die Wissenschaft verdanke ich Friedrich Luft. Ralf Dechend hat mich das Handwerkszeug der Forschung gelehrt und mich stets gefördert. Mein Dank gilt weiterhin der Arbeitsgruppe von Ralf Dechend. Sie hat die grundlagenwissenschaftlichen Arbeiten kritisch begleitet und war mir in vielen Situationen eine wichtige Hilfe.

Bei Herrn Professor Holger Stepan bedanke ich mich ganz herzlich. Er war und ist mir ein wichtiger Mentor. Ohne seine fortwährende Unterstützung wäre der klinische Teil dieser Arbeit nicht denkbar gewesen.

Schließlich gilt mein Dank meinen Doktorandinnen. Ihr Fleiß und ihr ausnahmslos überdurchschnittliches Engagement hat die Entstehung dieser Arbeit ermöglicht. Vielen Dank an: Manuela Niehoff, Juliane Pape, Theresa Engels, Katharina Schoofs, Lisa Antonia Dröge und Dorothea Raskovic. Aus meiner Arbeitsgruppe habe ich immer wieder Kraft und Motivation für die tägliche Arbeit geschöpft.

Meine Eltern waren und sind mir zu jeder Zeit eine wichtige Stütze, bei ihnen bedanke ich mich herzlich.

Schließlich danke ich von ganzem Herzen meiner lieben Frau Anneke. Ohne ihre Unterstützung und Toleranz in vielen Situationen hätte diese Arbeit nicht entstehen können.

Eidesstattliche Erklärung

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/ Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, den 23. März 2012

Dr. med. Stefan Verlohren