

Aus der
Universitätsfrauenklinik
des Klinikum Südstadt Rostock
Direktor: Prof. Dr. med. B. Gerber



Angiogenesefaktoren und Akute-Phase-Proteine
als Serummarker für
das HELLP-Syndrom und die Präeklampsie

Inauguraldissertation
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von
Henrike Rohrmann

Rostock
2012

Dekan: Prof. Dr. med. Emil Christian Reisinger

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. Toralf Reimer
Universitätsfrauenklinik am Klinikum Südstadt Rostock
2. Prof. Dr. rer. nat. Michael O. Glocker
Proteomzentrum Rostock
3. Prof. Dr. med. Alexander Mustea
Universitätsfrauenklinik Greifswald

Datum der Einreichung: 13.04.2012

Datum der Verteidigung: 14.11.2012

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
1.1	Das HELLP-Syndrom	5
1.2	Die Präeklampsie	8
1.3	Die Pathogenese	11
1.4	Fragestellung und Zielsetzung	15
2	Material und Methoden	16
2.1	Studienkollektiv und Studiendesign	16
2.2	Nephelometrie zur Bestimmung von Serum Amyloid A	21
2.3	Turbidimetrie zur Bestimmung von CRP	22
2.4	ELISA zur Bestimmung von sFlt-1, PlGF und Endoglin	22
2.5	Auswertung	24
3	Ergebnisse	26
3.1	Serum Amyloid A	26
3.2	Das C-reaktive Protein	28
3.3	sFlt-1	29
3.4	PlGF	30
3.5	Endoglin	31
3.6	Ratio sFlt-1/PlGF	33
3.7	Ratio SAA/PlGF	35
3.8	Vergleich der einzelnen Marker	37
3.8.1	Diagnostik des HELLP-Syndroms	37
3.8.2	Diagnostik der Präeklampsie	40
4	Diskussion	44
4.1	Serum Amyloid A und C-reaktives Protein	44
4.2	sFlt-1	46
4.3	PlGF	48

4.4	Endoglin	50
4.5	Ratios	50
4.6	Fehleranalyse	52
4.7	Schlussfolgerung und Ausblick	53
5	Zusammenfassung	55
6	Thesen	57
7	Literaturverzeichnis	58
8	Anhang	69
8.1	Abkürzungsverzeichnis	69
8.2	Abbildungsverzeichnis	70
8.3	Tabellenverzeichnis	71
8.4	Eidesstattliche Erklärung	72
8.5	Danksagung	73

1 Einleitung

Das HELLP-Syndrom und die Präeklampsie gehören zu den hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen mit einer hohen fetalen und maternalen Morbidität und Mortalität (1-3). Dabei wird diskutiert, ob das HELLP-Syndrom als eine Sonderform der schweren Präeklampsie oder auch als dessen Komplikation angesehen werden soll (4, 5).

1.1 Das HELLP-Syndrom

Das HELLP-Syndrom ist eine Multisystemerkrankung, die in bis zu 0,9% aller Schwangerschaften manifest wird (4). Die Erkrankung mit der typischen Laborwertkonstellation wurde erstmals im Jahr 1982 beschrieben. Das Akronym steht für Hämolyse (H), erhöhte Leberenzyme (Elevated Liver Enzymes - EL) und Thrombozytopenie (Low Platelet Count - LP) (6). In 70% der Fälle tritt es präpartal auf. In der Mehrzahl manifestiert es sich zwischen der 27. und der 37. Schwangerschaftswoche (SSW). In bis zu 30% tritt es postpartal auf, innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Entbindung (4). Das HELLP-Syndrom ist in 10-20% der Fälle mit einer schweren Präeklampsie vergesellschaftet (7), tritt aber auch unabhängig davon auf (3).

In der Literatur werden verschiedene Kriterien zur Diagnostik des HELLP-Syndroms herangezogen. Die Kriterien der Tennessee Klassifikation umfassen die Hämolyse mit einer erhöhten Laktatdehydrogenase ($LDH \geq 600$ U/L), eine Erhöhung der Leberenzyme ($ASAT \geq 70$ U/l) und eine Thrombozytopenie ($\leq 100 \cdot 10^9/l$). Die Mississippi Klassifikation unterscheidet verschiedene Stadien des HELLP-Syndroms mit Hilfe abgestufter Grenzwerte für die Thrombozytenzahl (4). Zur Diagnostik der Hämolyse wird heute Haptoglobin (<1 g/l - $<0,4$ g/l) bevorzugt (8). Es gehört zu den sensitiven Markern des HELLP-Syndroms, die frühzeitig eine Hämolyse anzeigen noch bevor es zu einem Anstieg des unkonjugierten Bilirubins oder zu einem Hämoglobinabfall kommt. Neben dem kompletten HELLP-Syndrom gibt es die inkomplette Form, bei der nur ein oder zwei Kriterien der Tennessee Klassifikation

vorliegen. Im Krankheitsverlauf der inkompletten Form sollen weniger Komplikationen auftreten (9).

Zu den typischen klinischen Symptomen des HELLP-Syndroms gehören der rechtsseitige Oberbauchschmerz, arterielle Hypertonie, Proteinurie, Übelkeit und Erbrechen, Kopfschmerzen und visuelle Symptome (4). Neunzig Prozent der Patientinnen klagen bereits einige Tage vor Manifestation über unspezifische Krankheitszeichen (3). Eine übermäßige Gewichtszunahme während der Schwangerschaft und generalisierte Ödeme gehen einem HELLP-Syndrom in über 50% der Fälle voraus (10). Die arterielle Hypertonie muss bei einem HELLP-Syndrom nicht dauerhaft vorhanden sein und kann in bis zu 18% der Fälle sogar fehlen (3). Ebenso fehlt eine Proteinurie bei bis zu 13% der HELLP-Patientinnen (11). Es hat sich gezeigt, dass sich die Ausprägung der klinischen Symptome besser eignet Komplikationen vorherzusagen als die Ausprägung der gemessenen Laborparameter (12). Vergleicht man die klinischen Symptome beim HELLP-Syndrom und bei der Präeklampsie kommt es bei Patientinnen mit einem HELLP-Syndrom häufiger zu einer Eklampsie (13% vs. 3%). Diese ist definiert als das Auftreten von unklaren tonisch-klonischen Krämpfen bei einer Schwangeren vor oder kurz nach der Entbindung (13). Frauen mit einem HELLP-Syndrom zeigen weniger häufig Anzeichen eines metabolischen Syndroms, sie sind seltener adipös (9% vs. 33%) und leiden seltener an einer Hypertriglyzeridämie (1% vs. 15%) oder einer Hyperglykämie (0% vs. 11%) verglichen mit Präeklampsie-Patientinnen (5). Das Durchschnittsalter von HELLP-Patientinnen liegt höher als das von Frauen mit einer Präeklampsie (9, 14).

Entscheidend für die Prognose der Erkrankung ist die schnelle Diagnosestellung (11). Essentiell ist dabei die Früherkennung der Hämolyse, veränderter Leberwerte und Nierenfunktionsstörungen (11, 15, 16, 17). Zu den notwendigen diagnostischen Maßnahmen gehören die Anamneseerhebung, die klinische Untersuchung, die Blutdruckmessung, die laborchemische Untersuchung, die Kardiotokografie (CTG) und eine Ultraschalluntersuchung inklusive Dopplerflussmessung. Die laborchemische Untersuchung beinhaltet das kleine Blutbild, die Gerinnungsparameter, ASAT, LDH, Haptoglobin und eine Urinuntersuchung (18). Die Sonografie der Leber ist wichtig, um subkapsuläre und intraparenchymatöse Blutungen oder auch eine Leberruptur zu erkennen (19). Im akuten Stadium erfolgt zur Kreislaufstabilisierung die Infusion von Flüssigkeit. Es werden außerdem blutdrucksenkende Medikamente und, falls notwendig, Magnesiumsulfat als Antieklampsie-Tropf verabreicht (7, 11). Überaus wichtig ist eine engmaschige Überwachung der Schwangeren und die Durchführung der fetalen Lungenreifeinduktion vor der 34. SSW (18).

Als einzig mögliche kausale Therapie des HELLP-Syndroms muss bei Manifestation nach der 34. SSW, oder wenn sich der mütterliche oder fetale Zustand verschlechtert, die sofortige Entbindung erfolgen (4). Bei einer Schwangerschaftsdauer zwischen der 27. und 34. Woche kann initial auch konservativ behandelt werden um den Zustand der Mutter zu stabilisieren und die fetale Lungenreife abzuwarten. Danach erfolgt umgehend die Entbindung. Vor Abschluss der 27. SSW ist ein abwartendes konservatives Vorgehen je nach Zustand der Schwangeren gerechtfertigt (11, 20, 21, 22), jedoch umstritten (23).

Die fetale Lungenreifeinduktion erfolgt mittels Gabe von Glucocorticoiden. In einigen Studien kam es bei Applikation von niedrig-dosierten Glucocorticoiden zur Verbesserung der Thrombozytopenie bei HELLP-Patientinnen (24, 25). Andere Studien konnten diesen Vorteil nicht bestätigen. Deshalb sollten Glucocorticoide nur in ausgewählten Fällen bei drohender Frühgeburt zwischen der 24. und 34. SSW verabreicht werden (26). Vierundzwanzig Stunden später sollte die Entbindung erfolgen (11). Durch die Lungenreifeinduktion konnte die Inzidenz fetaler respiratorischer Komplikationen bei Frühgeburten signifikant gesenkt werden (27).

Im Falle eines postpartalen HELLP-Syndroms mit einer anhaltenden Bilirubin- und Kreatinin-Erhöhung kann ein Plasma-Austausch (Plasmapherese) versucht werden. Erythrozyten-, Thrombozyten- oder Albumin-Substitutionen können je nach Zustand der Patientin und der entsprechenden Laborparameter notwendig werden (28).

Zu den gefürchteten Komplikationen eines HELLP-Syndroms zählen die Plazentalösung, die disseminierte intravasale Gerinnung und die verstärkte postpartale Blutung (18). Weiterhin können zerebrale Blutungen, Nierenschäden und eine Leberruptur auftreten (3). Einige wenige Patientinnen entwickeln eine schwerwiegende Nierenbeteiligung, unabhängig von der Höhe der Blutdruckwerte und dem Grad der Hämolyse. Eine Harnsäureausscheidung $>7,8$ mg/dl stellt einen zusätzlichen Risikofaktor für eine erhöhte maternale und fetale Morbidität und Mortalität dar (29). Die mütterliche Sterblichkeit unter HELLP-Patientinnen beträgt im Durchschnitt 1,1% (30). Die kindliche Sterblichkeit liegt höher, zwischen 7,4 und 34%, abhängig vom Gestationsalter (21).

HELLP-Patientinnen haben ein erhöhtes Risiko von mindestens 20% in der darauffolgenden Schwangerschaft ebenfalls an einer Form der schwangerschaftsassozierten Hypertonie zu erkranken (20, 31).

1.2 Die Präeklampsie

Die Präeklampsie gehört mit der schwangerschaftsinduzierten Hypertonie (SIH), der chronischen Hypertonie und der Pfropfpräeklampsie zu der Gruppe der hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen (32). Eine Präeklampsie tritt bei 3-5% aller Schwangerschaften (33), typischerweise nach der 20. SSW auf (34). Sie entwickelt sich fortschreitend (4). Bis zu 42% aller mütterlichen Todesfälle weltweit sind auf die Präeklampsie zurückzuführen (35). Die schwere Präeklampsie stellt eine der Hauptursachen für ein ungünstiges perinatales Outcome dar, hervorgerufen durch Frühgeburtlichkeit und intrauterine Wachstumsretardierung (36). Die Zahl der Neuerkrankungen in den USA hat in den letzten Jahren zugenommen (37, 38). Dies kann mit dem Anstieg der Prävalenz prädisponierender Krankheiten in der Bevölkerung wie der chronischen Hypertonie, Diabetes mellitus und Adipositas zusammenhängen (38).

Zu den Leitsymptomen der Präeklampsie gehören eine neu aufgetretene arterielle Hypertonie und Proteinurie (39). Die Präeklampsie wird gemeinhin definiert als eine Erhöhung des systolischen Blutdrucks ≥ 140 mmHg und/oder des diastolischen Blutdrucks ≥ 90 mmHg bei zwei Messungen im Abstand von 4 bis 6 Stunden bei einer Schwangeren ohne Bluthochdruck vor der 20. SSW (40). Eine signifikante Proteinurie besteht bei einer Ausscheidung von $\geq 0,3$ g Protein/24h nach der 20. SSW (41). Nach neuer Definition liegt bei einer Multiorganbeteiligung mit Nierenfunktionsstörung (Kreatinin $\geq 0,9$ g/l oder Oligurie < 500 ml/Tag), Leberbeteiligung (Oberbauchschmerzen, Transaminasenerhöhung), Lungenödem, hämatologischen Störungen (Thrombozytopenie, Hämolyse, disseminierte intravasale Gerinnung), neurologischen Beschwerden (schwere Kopfschmerzen, anhaltende visuelle Störungen, Hyperreflexie) oder intrauteriner Wachstumsretardierung trotz Abwesenheit einer Proteinurie eine schwere Präeklampsie vor (32). Das klinische Erscheinungsbild der Präeklampsie ist sehr variabel, da es sowohl die schwere und schnell fortschreitende Early-onset Präeklampsie umfasst, als auch die leichtere Form der Late-onset Präeklampsie (42). Bei einem Auftreten vor der 34. SSW spricht man von einer Early-onset Präeklampsie, danach von einer Late-onset Präeklampsie (43). Eine chronische Hypertonie kann in 22% der Fälle in die prognostisch ungünstigere Pfropfpräeklampsie übergehen (44). Dabei kommt es zu einer neu aufgetretenen Proteinurie oder zu einem plötzlichen Anstieg des Blutdrucks in der Schwangerschaft. Eine neu aufgetretene Thrombozytopenie, erhöhte Leberwerte oder bei einer vorbestehenden Proteinurie ein plötzlicher Anstieg der Proteinurie

können ebenfalls auf eine Pfropfpräeklampsie hinweisen (33). In 1-2% der schweren Präeklampsien kommt es zu einer Eklampsie (45).

Erstgebärende und Frauen älter als 40 Jahre haben ein erhöhtes Risiko an einer Präeklampsie zu erkranken. Ebenso steigt das Risiko deutlich an, wenn es in einer vorausgegangenen Schwangerschaft zu einer hypertensiven Schwangerschaftserkrankung kam (32). Weitere Risikofaktoren sind ein Body-Mass-Index (BMI) größer 30 kg/m^2 , familiäre Disposition, Mehrlingsschwangerschaften und vorbestehende Krankheiten wie chronische Hypertonie, Nierenerkrankungen oder Diabetes mellitus in der Eigenanamnese (32, 46, 47).

Die oben genannten Risikofaktoren können bei der ersten Schwangerschaftsuntersuchung einfach erfragt werden und so das Risiko der Schwangeren für die Entwicklung einer Präeklampsie ermittelt werden (46). Bei einer Untersuchung nach der 20. SSW sollte besonderes Augenmerk auf das Erkennen folgender Anzeichen und Symptome gelegt werden: eine neu aufgetretene Hypertonie, eine neu aufgetretene Proteinurie, Kopfschmerzen, Sehstörungen, epigastrische Beschwerden, Erbrechen, verminderte Kindsbewegungen und ein hypotropher Fetus (48). Außer der Anamneseerhebung ist die physikalische Untersuchung inklusive Messung des Blutdrucks und der Proteinausscheidung im Urin richtungsweisend für die Diagnosestellung einer Präeklampsie (43). Die Höhe der Proteinurie allerdings scheint ein schlechter Marker für den Schweregrad der Präeklampsie zu sein und sollte daher nicht für Therapieentscheidungen herangezogen werden (49). Auch anhand von Hypertonie und Proteinurie lassen sich keine Vorhersagen bezüglich eines günstigen oder ungünstigen Outcome der Mutter oder des Feten treffen (50). Mit Hilfe der Doppleruntersuchung können Flusstörungen der Plazenta bereits ab der 12. SSW erkannt werden (51). Bei einem pathologischen Doppler in der 22.-24. SSW (bilateraler Notch und erhöhter Pulsatilitätsindex der Arteriae uterinae beidseits) entwickelten über 60% der Patientinnen im weiteren Schwangerschaftsverlauf eine Präeklampsie oder intrauterine Wachstumsretardierung. Deshalb wird von einigen Autoren die Dopplersonografie der Arteriae uterinae im Rahmen der Schwangerschaftsvorsorge im I./II. Trimenon bei Risikopatientinnen empfohlen (32).

Die frühzeitige und verlässliche Identifizierung von Hochrisiko-Patientinnen und deren umgehende stationäre Überwachung ist von äußerster Wichtigkeit um die maternale und fetale Morbidität zu senken. Eine schnelle Diagnostik erlaubt zudem eine rasche Einleitung der Therapie mit Antihypertensiva, eventuell mit Glucocorticoiden zur Lungenreifeinduktion und Magnesiumsulfat zur Krampfanfallprophylaxe (52-54). Trotz vermindertem intravasalen Volumen hat eine Volumentherapie bei Präeklampsie-Patientinnen keinen Einfluss auf das

mütterliche und fetale Outcome gezeigt (55). Abhängig vom Gestationsalter und dem Schweregrad der Präeklampsie erfolgt die konservative Therapie oder die Entbindung. Der Zustand des Feten wird mittels Ultraschall (Biometrie, Messung der Fruchtwassermenge, Doppleruntersuchung der Nabelschnurarterie und des Ductus venosus) und Kardiotokografie überwacht (56). Bei Manifestation nach der 34. SSW ist die umgehende Entbindung angezeigt. Zwischen der 27. und 34. SSW wird zuerst der Zustand der Mutter stabilisiert und die Lungenreifeinduktion mittels Glucocorticoiden abgewartet. Danach erfolgt die Entbindung. Wenn möglich, wird einer vaginalen Entbindung der Vorzug gegeben. Vor der 27. SSW ist ein abwartendes konservatives Vorgehen gerechtfertigt (21, 22). Bei Patientinnen mit einer Early-onset Präeklampsie sollte nach Antiphospholipid-Antikörpern gesucht werden (57), da in dieser Kombination die mütterliche und kindliche Sterblichkeit um bis zu 50% erhöht ist (58).

Das Wiederholungsrisiko für eine leichte Präeklampsie liegt bei 10%, das einer schweren Präeklampsie bei bis zu 40% (1). Adipositas und eine Zunahme des Body-Mass-Index zwischen zwei Schwangerschaften steigern das Risiko an einer wiederholten Präeklampsie zu erkranken. Eine Gewichtsreduktion hingegen wirkt protektiv (59).

1.3 Die Pathogenese

Die Pathogenese des HELLP-Syndroms und der Präeklampsie ist nach wie vor nicht vollständig geklärt (3, 60). Sie ist wahrscheinlich auf eine multifaktorielle Genese zurückzuführen (33). Gegenwärtig werden verschiedene Ansätze diskutiert, die hier aufgeführt werden sollen.

Bei der Pathogenese der Präeklampsie wird von einer Plazentationsstörung in der Frühschwangerschaft ausgegangen. In der Literatur werden zwei Phasen der Präeklampsie-Entstehung beschrieben. In der ersten Phase, während der Implantation, erfolgt der erste Kontakt des Embryos mit der mütterlichen Dezidua. Störungen in dieser Phase könnten das Präeklampsie-Risiko erhöhen (61, 62). Während der Implantation wandern embryonale Trophoblastzellen in das Myometrium der Mutter ein (63). Es kommt zur Interaktion von trophoblastärem HLA-C, HLA-E und HLA-G mit uterinen natürlichen Killerzellen und dendritischen Zellen. Diese Interaktion scheint für die Regulation der Einwanderung von Bedeutung zu sein (64). Eine atypische mütterliche Immunantwort auf die Trophoblastzellen (65) und ein Ausbleiben der uterinen Präkonditionierung werden als mögliche Ursache für die Entstehung der Präeklampsie genannt (66). Demzufolge wäre die Präeklampsie eine Erkrankung, die durch eine gestörte Wechselwirkung zwischen zwei genetisch verschiedenen Organismen hervorgerufen wird (67).

Im intervillösen Raum umspült das mütterliche Blut die kindlichen Chorionzotten ab der 7. bis 8. SSW durch Verbindung der Spiralarterien mit den Lakunen in der Wand der implantierten Blastozyste (68). Physiologischerweise werden die Spiralarterien durch Trophoblastzellen teilweise verschlossen, damit der mütterliche Blutfluss in die Plazenta begrenzt wird und der Embryo gegen zu hohe Sauerstoffkonzentrationen geschützt ist. Der Embryo entwickelt sich somit in einer Umgebung mit niedriger Sauerstoffkonzentration und sich differenzierende Zellen sind vor freien Radikalen geschützt. Kommt es zu einer frühzeitigen Öffnung der Spiralarterien durch eine gestörte Trophoblasten-Aktivität könnte das zu einer erhöhten Rate von Frühaborten oder Präeklampsien führen (69). Nach Abschluss der Embryogenese steigt die Sauerstoffkonzentration in der Plazenta durch Auflösen der Trophoblasten-Ansammlungen in den Spiralarterien an. Der Blutfluss im intervillösen Raum beginnt physiologisch von der Peripherie der Plazenta aus anzusteigen. Der oxidative Stress in der Peripherie führt zur Bildung der kindlichen Chorionplatte. Durch eine gestörte Auflösung des Trophoblasten und einen frühzeitigen intervillösen Blutfluss, der nicht nur auf die Peripherie der Plazenta begrenzt ist, könnte es zur Entwicklung einer pathologisch kleinen

Plazenta (69) und dadurch zum Auftreten einer intrauterinen Wachstumsretardierung und einer Early-onset Präeklampsie kommen (1).

Weiterhin wird der in mehreren Schritten verlaufende, fehlerhafte Umbau der mütterlichen Spiralarterien für die Entstehung der Präeklampsie verantwortlich gemacht (70, 71). Nach dem steilen Anstieg der Sauerstoffkonzentration in der Plazenta kommt es ab der 15. SSW zum Einwandern embryonaler Zytotrophoblastzellen in die Spiralarterien der Uteruswand. Die Spiralarterien haben eine stark ausgebildete Muskelschicht und werden physiologischerweise in Gefäße mit niedrigem Widerstand umgebaut. So wird eine ausreichende Versorgung des Feten mit Nährstoffen gewährleistet. Bei der Präeklampsie ist diese Invasion gestört oder unzureichend, die Spiralarterien behalten ihre glatte Muskulatur und reagieren deshalb weiterhin mit erhöhtem Widerstand auf vasoaktive Substanzen (72). Dadurch kommt es zu einer Unterversorgung des Uterus und zu oxidativem Stress der Plazenta mit einer gestörten Proteinsynthese (73). Ein fetaler Sauerstoffmangel ist die Folge. Reaktiv werden von der Plazenta vermehrt vasoaktive Substanzen ausgeschüttet, die wiederum die arterielle Hypertonie unterhalten (72).

In der zweiten Phase der Präeklampsie-Entstehung kommt es im Vergleich mit der normalen Schwangerschaft zu einer überhöhten endothelialen Aktivierung und einer generalisierten Entzündungsreaktion im mütterlichen Kreislauf (74). Das Gefäßendothel wird geschädigt und es bilden sich Fibringerinnsel. Die Plättchenaktivierung und die Freisetzung von Arachidonsäure und anderer vasoaktiver Mediatoren führt zu Vasokonstriktion, Vasospasmus und zu einer beschleunigten Plättchenaggregation (75, 76). Eine plazentare Ischämie und die Reperfusion führen zu oxidativem Stress mit anschließender Apoptose und Nekrose des betroffenen Plazentagewebes (77). Außerdem kommt es zur Freisetzung verschiedener Faktoren aus dem intervillösen Raum, die im mütterlichen Kreislauf die Produktion von entzündungsfördernden Zytokinen anregen. Zusammen mit bioaktiven Überbleibseln des Trophoblasten zirkulieren im mütterlichen Blut anti-angiogene Faktoren, beispielsweise lösliches Endoglin und die lösliche Form des VEGF-Rezeptors (sFlt-1). Ein Ungleichgewicht zwischen pro-angiogenen Faktoren, wie dem Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) oder dem Placental Growth Factor (PlGF), und anti-angiogenen Faktoren, wie der Soluble FMS-like Tyrosine Kinase 1 (sFlt-1), scheint eng mit der Pathogenese der Präeklampsie zusammenzuhängen (78). Eine erhöhte Produktion anti-angiogener Faktoren durch den Trophoblasten wurde auch bei Molenschwangerschaften festgestellt. Es ist bekannt, dass diese Erkrankung die Entstehung einer Präeklampsie begünstigt (79, 80).

Wie zuvor erwähnt, kommt es bei der Präeklampsie zu einer starken systemischen Entzündungsreaktion (81), die zu einer endothelialen Dysfunktion führt (82). Ist das

Gefäßendothel nicht mehr intakt, kommt es zur Umverteilung des Natriumgleichgewichts und damit zur Umkehrung vieler kardiovaskulärer Veränderungen, die physiologischerweise die normale Schwangerschaft begleiten (z.B. erhöhte kardiale Auswurfleistung und erhöhtes intravasales Volumen). Demzufolge kommt es bei der Präeklampsie zu einer erniedrigten Ejektionsfraktion des Herzens und zu einem erhöhten peripheren Widerstand mit paradoxerweise niedrigen Aldosteron- und Renin-Konzentrationen (83).

Im Rahmen der normalen Entzündungsreaktion, wie sie z.B. bei Trauma und Infektionen auftritt, kommt es bei Schwangeren und Nicht-Schwangeren zu einem Anstieg von Akute-Phase-Proteinen im Serum. Zu den Akute-Phase-Proteinen gehören unter anderem das C-reaktive Protein (CRP), Fibrinogen, Haptoglobin, Plasminogen und Serum Amyloid A. Bei Präeklampsie-Patientinnen konnte ein Anstieg des hochsensitiven CRP (hs-CRP) im Serum nachgewiesen werden (84).

Verschiedene, bisher noch unbekannte Mechanismen verbinden die zwei Phasen der Pathogenese und könnten damit die verschiedenen Ausprägungen der Präeklampsie und des HELLP-Syndroms erklären (85). Ob eine Präeklampsie früh oder spät manifest wird, kann davon abhängen, ob es bereits in der ersten Phase der Präeklampsie-Entstehung zu einer Plazentaschädigung und in der Folge zu einer phänotypisch kleinen Plazenta durch ein angiogenes Ungleichgewicht gekommen ist (86). Eine inadäquate plazentare Entwicklung sollte allerdings nicht als Ursache der Präeklampsie gelten, vielmehr sollte sie als ein stark begünstigender Faktor der Präeklampsie angesehen werden (74). Entspricht die Plazentagröße dem Gestationsalter können kardiovaskuläre und metabolische Erkrankungen der Mutter ebenfalls eine Kaskade der Entzündung und oxidativen Stress auslösen und so zu einer Late-onset Präeklampsie führen. Interaktionen zwischen Umweltfaktoren und mütterlichen genetischen und körperlichen Faktoren beeinflussen beide Phasen der Präeklampsie-Entstehung (87). Eine verminderte Antioxidantien-Aktivität und Biotransformation im mütterlichen Blut und in der Plazenta scheinen ebenfalls zu einem erhöhten Präeklampsie-Risiko beizutragen (88).

Der Fetus kommt durch das Einwandern von Zytotrophoblastzellen erstmals in Kontakt mit den maternalen Immunzellen (89). Im dritten Trimester kommt es zu einer Aktivierung mütterlicher Leukozyten im peripheren Blut. Fetales lösliches HLA-Antigen (sHLA-DR) wird von den aktivierten maternalen Immunzellen gebunden und eine Immunantwort wird ausgelöst. Da sHLA-DR-Moleküle eine Apoptose induzieren, können selbst niedrige sHLA-DR-Level von Bedeutung für das fetomaternale Gleichgewicht sein. Beim HELLP-Syndrom wurden erhöhte Plasmaspiegel von sHLA-DR im mütterlichen Blut

gefunden. Das HELLP-Syndrom kann in diesem Zusammenhang als eine akute Abstoßungsreaktion des Fetus angesehen werden. Zudem gibt es Hinweise, dass die Messung der sHLA-DR-Konzentration genutzt werden könnte, um unter Präeklampsie-Patientinnen diejenigen zu identifizieren, die ein hohes Risiko haben ein HELLP-Syndrom zu entwickeln (90).

Beim HELLP-Syndrom kommt es zu einer Hämolyse, weil die Erythrozyten bei Passage der kleinen Gefäße geschädigt werden. Die mikroangiopathische hämolytische Anämie wird durch Intimaschäden, endotheliale Dysfunktion und Fibrinablagerung der kleinen Gefäße hervorgerufen (91). Es kommt zum kompensatorischen Anstieg der Retikulozyten im Blut, die Konzentration des Hämoglobin fällt ab und im Serum wird eine erhöhte Konzentration der Laktatdehydrogenase (LDH) gefunden. Haptoglobin bindet freies Hämoglobin und deshalb sinkt die Haptoglobin-Konzentration im Serum (92). Zu einer Erhöhung der Leberenzyme Aspartat-Aminotransferase (ASAT) und Alanin-Aminotransferase (ALAT) kommt es durch eine Nekrose der Hepatozyten, hervorgerufen durch die Schädigung der arteriellen Endstrombahn und sinusoidale Obstruktionen (17). Beim HELLP-Syndrom binden zirkulierende Blutplättchen an geschädigtes oder aktiviertes Gefäßendothel und es kommt zu einem erhöhten Plättchenverbrauch (91, 93). Eine verstärkte Gefäßwandpermeabilität bewirkt eine Ödembildung und durch zerebrale Vasokonstriktion kann es zu Kopfschmerzen, Augenflimmern und eklamptischen Anfällen kommen (34).

Weiterhin gibt es Hinweise für genetische Ursachen der Erkrankung. Transmembranöse Fas-Proteine scheinen in der Pathogenese ebenfalls eine Rolle zu spielen. Sie gehören zur Familie der Tumor-Nekrose-Faktoren (TNFRSF) und werden von T-Lymphozyten exprimiert, die das Eindringen der Trophoblastzellen in das Myometrium regulieren. Wird ein einzelnes Nukleotid in der Position 670 des mütterlichen TNFRSF6-Gens substituiert, kommt es dazu, dass maternale Lymphozyten vermehrt Trophoblastzellen während des Einwanderns in die Uteruswand und die Spiralarterien erkennen und zerstören. Das Risiko an einem HELLP-Syndrom zu erkranken steigt (94).

1.4 Fragestellung und Zielsetzung

Im Jahr 2004 veröffentlichte die World Health Organization (WHO), dass es bisher noch keinen geeigneten Marker gebe um eine Präeklampsie zuverlässig vorherzusagen (95). Seitdem wurde besonders auf dem Gebiet der Angiogenesefaktoren geforscht und es haben sich vielversprechende Ansätze ergeben, die hier aufgegriffen und diskutiert werden sollen. Veränderungen der Serumkonzentration pro-angiogener und anti-angiogener Faktoren werden in der Literatur als bedeutsam für die Entstehung der Präeklampsie beschrieben und es gibt Hinweise darauf, dass sie für die Diagnostik der Präeklampsie hilfreich sein könnten (96-98). Als besonders erfolgsversprechende Parameter haben sich der Placental Growth Factor (PlGF) und die Soluble FMS-like Tyrosine Kinase 1 (sFlt-1) herausgestellt, da sie bereits vor Manifestation der Erkrankung im Serum der Schwangeren Veränderungen aufweisen (99). Somit könnten sie als mögliche Vorhersageparameter für die Präeklampsie und das HELLP-Syndrom interessant sein (78). Hinsichtlich der Veränderungen der Angiogenesefaktoren sFlt-1, PlGF und Endoglin bei HELLP-Patientinnen gibt es bisher nur wenige veröffentlichte Untersuchungen. Grundlage dieser Arbeit bilden die Untersuchungen von Frau Heitner aus dem Jahr 2006, die im Rahmen ihrer Dissertation an der Universität Rostock nach einem spezifischen Proteinprofil im Sinne einer Marker-Signatur beim HELLP-Syndrom suchte. Sie konnte einen signifikanten Anstieg des Akute-Phase-Proteins Serum Amyloid A (SAA) bei HELLP-Patientinnen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe nachweisen (100). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten die Serumkonzentrationen von Serum Amyloid A, CRP, sFlt-1, PlGF und Endoglin bei HELLP-Patientinnen, Präeklampsie-Patientinnen und gesunden Schwangeren der Kontrollgruppe untersucht und verglichen werden. Ziel war es zu überprüfen, welcher Marker sich zur Diagnostik der Präeklampsie und des HELLP-Syndroms am besten eignet. Zukünftiges Ziel soll es sein Marker zu finden, die schon vor Auftreten der klinischen Symptomatik ein Risiko für ein HELLP-Syndrom oder eine Präeklampsie anzeigen können. Dazu soll diese Arbeit einen Beitrag leisten.

2 Material und Methoden

2.1 Studienkollektiv und Studiendesign

Es wurde von allen Schwangeren im dritten Trimester, die vom 01.04.2007 bis zum 31.03.2008 in den Kreißaal der Universitätsfrauenklinik am Klinikum Südstadt Rostock aufgenommen wurden und von denen im Rahmen der Routinediagnostik Blut abgenommen wurde, eine zusätzliche Blutprobe entnommen. Ein weiteres Jahr lang bis zum 31.03.2009 wurden weitere Proben von HELLP- und Präeklampsie-Patientinnen gesammelt um eine höhere Fallzahl zu erreichen. Die Studie begann nach Zustimmung der Ethikkommission der Ärztekammer Mecklenburg-Vorpommern. Die Blutentnahme erfolgte nach Aufklärung und Zustimmung der Patientin. Bei Auftreten der klinischen Symptomatik wurden die Serumproben der HELLP- und Präeklampsie-Patientinnen gewonnen. Die Serumproben der Kontrollgruppe wurden bei Aufnahme in den Kreißaal während des dritten Trimesters entnommen. Die Blutentnahme (1x 10ml) erfolgte aus venösem Blut unter standardisierten Bedingungen in eine Serummonovette (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland). Die Blutproben wurden im Labor bei 1000 min^{-1} für 15 Minuten bei 5°C zentrifugiert, das Serum wurde abpipettiert und bei einer Temperatur von -80°C aufbewahrt. Es wurden insgesamt 900 Proben von gesunden Schwangeren, Patientinnen mit HELLP-Syndrom und Patientinnen mit Präeklampsie gesammelt.

Ein HELLP-Syndrom (n=23) lag vor bei einer (i) Thrombozytopenie $<130.000/\mu\text{l}$ (Normwert: $150.000-450.000/\mu\text{l}$), (ii) ASAT oder ALAT $>65 \text{ U/l}$ (Normwert: ASAT $0-31 \text{ U/l}$; ALAT $0-34 \text{ U/l}$), und (iii) Haptoglobin $<0,3 \text{ g/l}$ (Normwert: $0,3-2,0 \text{ g/l}$) oder Hämatokrit $<36\%$ (Normwert: $36-46\%$) und Hämoglobin $<7,5 \text{ mmol/l}$ (Normwert: $7,5-9,9 \text{ mmol/l}$). Als Präeklampsie (n=42) wurde das Auftreten eines Bluthochdrucks $\geq 140/90 \text{ mmHg}$, gemessen zweimalig im Abstand von 6 Stunden, und eine Proteinurie $\geq 2+$ oder $\geq 300 \text{ mg}$ im 24-Stunden-Sammelurin definiert.

Eine Unterscheidung zwischen HELLP-Syndrom und postpartalem HELLP-Syndrom erfolgte aufgrund der geringen Fallzahl nicht. Early-onset und Late-onset Präeklampsien wurden aufgrund geringer Fallzahlen (6 Fälle Early-onset Präeklampsie; 14,3%) ebenfalls nicht unterschieden. Das Gestationsalter wurde vom ersten Tag der letzten Menstruation berechnet. Zeigte sich in der Ersttrimester-Ultraschalluntersuchung eine Diskrepanz von 14 Tagen oder mehr, erfolgte eine Korrektur.

Den Proben der HELLP- (n=23) und Präeklampsie-Patientinnen (n=46) wurden gesunde Frauen der Kontrollgruppe (n=127) im Verhältnis 1:2 zugeordnet, die nach vergleichbaren Werten bezüglich Alter, Gestationsalter, Body-Mass-Index, Rauchen und Nebenerkrankungen ausgesucht wurden. Zum Ausschluss aus der Studie führten Mehrlingsschwangerschaften, bekannte Infektionen, Diabetes und anamnestisch bekannte Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises. Schwierig war es passende gesunde Kontrollen für HELLP- und Präeklampsie-Patientinnen mit einem Gestationsalter kleiner 30 SSW zu finden. Daher mussten diesen Patientinnen häufig gesunde Schwangere mit einem Gestationsalter größer 36 SSW als Vergleichspatientinnen zugeordnet werden.

Es ergaben sich folgende zu vergleichende Gruppen: HELLP-Patientinnen und Präeklampsie-Patientinnen mit der jeweiligen Kontrollgruppe (Tabelle 1).

	HELLP	Präeklampsie
Anzahl Proben	23	42
Anzahl Kontrollen	46	81

Tabelle 1: Subgruppen für die Serumanalysen.

Die Informationen zu den mütterlichen Daten sowie zum kindlichen Outcome wurden den medizinischen Akten entnommen. In den folgenden Tabellen (Tabellen 2 und 3) sind die relevanten klinischen Parameter der HELLP- und Präeklampsie-Patientinnen und der Feten im Überblick dargestellt.

Patienten	Alter ^{a)}	Para	SSW ^{b)}	Geburt	GC ^{c)}	Apgar 5 Min.	NA-pH ^{d)}
HELLP 1	36	1	29	Sectio	+	5	7,31
HELLP 2	24	1	34	Sectio	+	7	7,28
HELLP 3	22	1	30	Sectio	+	7	e)
HELLP 4	21	1	29	Sectio	+	5	7,33
HELLP 5	18	1	34	Sectio	+	7	7,32
HELLP 6	28	2	32	Sectio	-	8	7,32
HELLP 7	27	1	27	Sectio	+	9	7,37
HELLP 8	22	1	39	Sectio	-	8	7,12
HELLP 9	33	2	35	Sectio	-	9	7,31
HELLP 10	32	2	35	Sectio	-	9	7,34
HELLP 11*	33	1	39	vaginal	-	10	7,35
HELLP 12	20	1	38	Sectio	-	9	7,28
HELLP 13	39	3	33	Sectio	+	7	7,32
HELLP 14	23	1	34	Sectio	+	7	7,29
HELLP 15	29	2	36	Sectio	-	8	7,29
HELLP 16	30	1	41	Sectio	-	9	7,31
HELLP 17	38	1	39	Sectio	-	10	7,27
HELLP 18	35	1	37	Sectio	-	9	7,37
HELLP 19	27	1	39	Sectio	-	9	7,26
HELLP 20	29	1	37	Sectio	+	8	7,37
HELLP 21	23	1	31	Sectio	+	8	7,33
HELLP 22	28	1	39	Sectio	-	9	7,33
HELLP 23	23	1	36	Sectio	-	8	7,36

a) Alter in Jahren

b) vollendete Schwangerschaftswochen

c) Glucocorticoidgabe zur Lungenreifeinduktion

d) Nabelarterien-pH-Wert

e) keine Angabe

* Manifestation postpartal

Tabelle 2: Anamnese, klinische Parameter und fetales Outcome der HELLP-Patientinnen.

Patienten	Alter ^{a)}	Para	BMI ^{b)}	SSW ^{c)}	Geburt	GC ^{d)}	Apgar 5 Min.	NA-pH ^{e)}
PE 1	36	1	32	37	Sectio	+	9	7,22
PE 2	22	1	32	28	vaginal	+	8	7,18
PE 3	28	1	28	29	Sectio	+	8	7,34
PE 4	29	1	21	34	Sectio	-	9	7,40
PE 5	26	1	22	36	Sectio	-	10	7,37
PE 6	22	1	23	39	vaginal	-	8	7,10
PE 7	30	1	24	39	Sectio	-	9	7,17
PE 8	27	1	30	39	vaginal	-	9	7,21
PE 9	29	2	31	37	Sectio	-	9	7,30
PE 10*	25	1	30	36	Sectio	-	9	7,18
PE 11	24	1	23	40	vaginal	-	10	7,23
PE 12	26	1	29	34	Sectio	-	9	7,35
PE 13	21	1	39	39	Sectio	-	10	7,31
PE 14	39	1	20	37	Sectio	-	9	7,37
PE 15	30	1	20	39	Sectio	-	9	7,27
PE 16	30	1	20	39	vaginal	-	9	7,31
PE 17	19	1	23	38	Sectio	-	9	7,35
PE 18	38	1	28	35	Sectio	-	9	7,30
PE 19	21	1	39	39	vaginal	-	9	7,35
PE 20	38	1	28	38	vaginal	-	9	7,30
PE 21	24	2	32	40	vaginal	-	10	7,24
PE 22	17	1	25	39	Sectio	-	9	7,31
PE 23	29	1	33	39	vaginal	-	10	7,26
PE 24	24	1	28	41	vaginal	-	9	7,21
PE 25	26	1	23	38	vaginal	+	10	7,31
PE 26	31	1	28	36	Sectio	+	7	7,05
PE 27	35	2	27	38	vaginal	-	9	7,21
PE 28	25	1	39	37	Sectio	-	9	7,30
PE 29*	27	1	35	32	Sectio	-	8	7,20

a) Alter in Jahren

b) BMI bei Schwangerschaftsfeststellung

c) vollendete Schwangerschaftswochen

d) Glucocorticoidgabe zur Lungenreifeinduktion

e) Nabelarterien-pH-Wert

* Pfropfpräeklampsie

Tabelle 3 (Teil 1): Anamnese, klinische Parameter und fetales Outcome der Präeklampsie-Patientinnen (PE).

Patienten	Alter ^{a)}	Para	BMI ^{b)}	SSW ^{c)}	Geburt	GC ^{d)}	Apgar 5 Min.	NA-pH ^{e)}
PE 30	27	1	26	27	Sectio	-	7	7,28
PE 31	31	2	29	40	Sectio	-	10	7,29
PE 32*	23	1	40	38	Sectio	+	8	7,38
PE 33*	23	1	28	39	Sectio	-	10	7,14
PE 34	19	1	31	40	vaginal	-	10	7,34
PE 35	27	1	28	42	vaginal	-	9	7,28
PE 36	21	1	37	41	vaginal	-	10	7,21
PE 37	21	1	23	41	vaginal	-	10	7,27
PE 38	24	1	42	39	vaginal	-	10	7,25
PE 39	29	1	20	40	Sectio	-	9	7,24
PE 40*	24	1	20	35	Sectio	-	9	7,31
PE 41	35	3	27	40	vaginal	-	9	7,24
PE 42	43	2	29	36	Sectio	-	9	7,30

- a) Alter in Jahren
b) BMI bei Schwangerschaftsfeststellung
c) vollendete Schwangerschaftswochen
d) Glucocorticoidgabe zur Lungenreifeinduktion
e) Nabelarterien-pH-Wert
* Pfropfpräeklampsie

Tabelle 3 (Teil 2): Anamnese, klinische Parameter und fetales Outcome der Präeklampsie-Patientinnen (PE).

2.2 Nephelometrie zur Bestimmung von Serum Amyloid A

Zur Konzentrationsbestimmung von Serum Amyloid A wurde das Verfahren der partikelverstärkten Immun-Nephelometrie angewandt. Das für die Messung erforderliche Zubehör ist in Tabelle 4 aufgelistet.

N Latex SAA (OQMP)	Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland
BN ProSpec® System (Abb. 1)	Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland

Tabelle 4: Verwendetes Material für die Nephelometrie.



Abbildung 1: Das Nephelometer BN ProSpec® System.

Der Latex-verstärkte immun-nephelometrische Test nutzt Polystyrol-Partikel, die mit Antikörpern gegen humanes Serum Amyloid A beladen sind und dieses in der Probe binden. Es bilden sich Aggregate, an denen eingestrahktes Licht gestreut wird. Die Intensität des Streulichts wird mit dem BN ProSpec® System gemessen und ist abhängig von der Konzentration des Serum Amyloid A in der Probe. Die Auswertung erfolgt durch Vergleich mit einem Standard bekannter Konzentration mittels der Referenzkurve.

Die Reagenzien wurden vorbereitet und das Gerät BN ProSpec® System wurde bestückt. Die Proben wurden vom Gerät automatisch 1:400 verdünnt. Für die Erstellung der Referenzkurve wurden automatisch Verdünnungsreihen des Serum-Amyloid-A-Standards hergestellt. Die Auswertung erfolgte ebenfalls automatisch. Alle Messungen wurden einfach durchgeführt.

2.3 Turbidimetrie zur Bestimmung von CRP

Der quantitative Nachweis des C-reaktiven Proteins erfolgte mit Hilfe eines turbidimetrischen Immuntests. Die verwendeten Materialien sind in Tabelle 5 aufgeführt.

CRP Latex OSR6199	Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland
AU640	Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland

Tabelle 5: Verwendetes Material für die Turbidimetrie.

Das in der Probe enthaltene CRP reagiert spezifisch mit den dazugegebenen anti-humanen CRP-Antikörpern an den Latexpartikeln. Es werden nicht lösliche Aggregate erzeugt, deren Absorption proportional zur CRP-Konzentration in der Probe ist.

Dazu wurde das Gerät AU640 kalibriert, mit den vorbereiteten Reagenzien bestückt und es berechnete automatisch die CRP-Konzentration jeder Probe. Alle Messungen wurden einfach durchgeführt.

2.4 ELISA zur Bestimmung von sFlt-1, PlGF und Endoglin

Die Konzentrationen der Soluble FMS-like Tyrosine Kinase 1 (sFlt-1), des Placental Growth Factor (PlGF) und des Markers Endoglin wurden mit Hilfe von ELISA-Tests bestimmt. Es wurde das in Tabelle 6 aufgelistete Zubehör verwendet.

Quantikine [®] Human Soluble VEGF R1/Flt-1 Immunoassay	R&D Systems GmbH, Wiesbaden, Deutschland
Quantikine [®] Human PlGF Immunoassay	R&D Systems GmbH, Wiesbaden, Deutschland
Quantikine [®] Human Endoglin/CD105 Immunoassay	R&D Systems GmbH, Wiesbaden, Deutschland
Microplate Reader Model 680	Bio-Rad, München, Deutschland
Rüttelplatte	

Tabelle 6: Verwendete Materialien für die ELISA-Tests.

Des Weiteren wurden Pipetten, Pipettenspitzen, Reaktionsgefäße und Racks benutzt. Nach Herstellerangaben beträgt die mittlere minimale nachweisbare Dosis für sFlt-1 3,5 pg/ml, für PlGF <7 pg/ml und für Endoglin 0,007 ng/ml.

Der Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ist ein Test, bei dem zwei Antikörper spezifisch an das nachzuweisende Antigen binden und mittels einer enzymatischen Farbreaktion eine quantitative Bestimmung des Antigens erfolgt. Bei den kommerziell erhältlichen ELISA sind die Böden der Mikrotiterplatten mit einem monoklonalen Antikörper gegen das jeweilige Protein beschichtet. Es bindet der an die Platte gebundene Antikörper das in der Probe und dem Standard vorhandene Antigen. Nach Ablauf der Inkubationszeit wird die Platte gewaschen und ungebundene Partikel werden entfernt. Es wird der Enzymgebundene Detektions-Antikörper hinzugegeben, der ebenfalls an anderer Stelle an das Antigen bindet. Nach der Inkubationszeit wird nochmals gründlich gewaschen. Es verbleiben nur die Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexe am Boden der Mikrotiterplatte. Durch Zugabe der Substratlösung und Inkubation erfolgt der Farbumschlag. Das Substrat wird enzymatisch zum Reaktionsprodukt umgesetzt. Die Intensität der Farbe ist dabei proportional zur Konzentration des zu bestimmenden Antigens in der Probe.

Mit je einem ELISA-Test erfolgte die Analyse der Soluble FMS-like Tyrosine Kinase 1 (sFlt-1), des Placental Growth Factor (PIGF) und des Markers Endoglin. Der Arbeitsablauf war in allen drei Tests bis auf Mengen, Inkubationszeiten und verwendeten Reagenzien identisch. Hier soll exemplarisch die Durchführung des ELISA für sFlt-1 beschrieben werden. Alle Messungen wurden einfach durchgeführt.

Nach Vorbereitung des Waschpuffers, des Standards und der Substratlösung wurden je 100 μ l der Serumproben und der Verdünnungsreihe in die vorbereiteten Wells der Mikrotiterplatte pipettiert und auf dem Shaker für zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Der Standard diente dabei zur Herstellung der Verdünnungsreihe mit acht verschiedenen Konzentrationen. Nach viermaligem Waschen wurden je 200 μ l der Konjugatlösung mit dem Detektions-Antikörper hinzugegeben. Wieder wurde zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Nach erneutem viermaligen Waschen wurden je 200 μ l der Substratlösung hinzugegeben und nochmals 30 Minuten im Dunklen inkubiert. Nach Zugabe von je 50 μ l der Stopp-Lösung wurde die Absorption bei 450 nm am Photometer (Microplate Reader) gemessen. Der quantitative Nachweis von sFlt-1 erfolgte mittels Berechnung mit Hilfe der Kalibrierungskurve.

2.5 Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem IBM SPSS Statistics Package, Version 19 (IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland) durchgeführt. Die Signifikanzprüfung erfolgte mittels Mann-Whitney-U-Test (U-Test), Chi²-Test und der Regressionsanalyse. Als statistisch signifikant gilt ein p-Wert $<0,05$. Die Receiver Operating Characteristic (ROC) –Analyse wurde zur Berechnung der Area Under the Curve (AUC) durchgeführt. Damit konnte die Sensitivität und Spezifität der getesteten Parameter und ihre diagnostische Güte eingeschätzt werden.

Im Ergebnisteil aufgeführte Werte und Tabellen wurden mit Hilfe von Microsoft Excel 2011 (Microsoft Deutschland GmbH, München, Deutschland) errechnet und erstellt. Boxplots und ROC-Kurven wurden mit dem IBM SPSS Statistics Package, Version 19 angefertigt. Zur differenzierten Analyse wurden Mittelwerte, 95%-Konfidenzintervalle (95%KI) und der Median angegeben.

Interpretation der Boxplots

Aus den Boxplots ist der Median als mittlere Linie ersichtlich. Die Box entspricht dem Bereich zwischen dem 25%- und dem 75%-Perzentilwert in dem die mittleren 50% der Daten liegen. Die vertikalen Linien nach oben und unten, Whisker genannt, schließen die Ausreißer ein. Das sind Werte, deren Abstand vom 25%-Perzentil nach unten bzw. vom 75%-Perzentil nach oben zwischen dem 1,5-fachen und dem 3-fachen der Boxhöhe liegen. Extremwerte, bei denen der Abstand von dem 25%- oder dem 75%-Perzentil mehr als das Dreifache beträgt, werden nach oben und unten je als Kreise und Sternchen dargestellt (101).

Interpretation der ROC-Kurve und der AUC

Verläuft die Receiver Operating Characteristic (ROC) -Kurve nahe der Diagonalen, deutet das auf einen Zufallsprozess hin. Die Trefferquote entspricht dann der Falschpositivquote. Die ideale ROC-Kurve steigt zunächst senkrecht an. Die Trefferquote liegt dann nahe bei 100%, während die Fehlerquote noch niedrig bleibt. Erst im weiteren Verlauf steigt die Falschpositivrate an und die ROC-Kurve verläuft in einer Kurve.

Zu der ROC-Kurve berechnet man die AUC, die Fläche unterhalb der Kurve (Area Under the Curve). Die AUC kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen, wobei 0,5 den schlechtesten Wert darstellt. Wie zuvor beschrieben ist eine ROC-Kurve nahe der Diagonalen das zu erwartende Ergebnis eines Zufallsprozesses und hat eine Fläche (AUC) von 0,5.

3 Ergebnisse

Es wurde das Serum von 23 HELLP-Patientinnen untersucht, davon waren 18 Frauen Erstgebärende (78%). Der Altersdurchschnitt der Frauen lag bei 27,8 Jahren und 8 Patientinnen waren bei der Entbindung 30 Jahre oder älter (27%). Nach der Definition der WHO waren zum Zeitpunkt der Schwangerschaftsfeststellung 15 Frauen (68%) normalgewichtig (BMI 18,5–24,9 kg/m²), 6 Frauen (27%) übergewichtig (BMI 25–29,9 kg/m²) und 1 Frau (5%) war adipös (BMI \geq 30 kg/m²). Das HELLP-Syndrom entwickelte sich sowohl im Durchschnitt als auch im Median in der 35+0. SSW. In 10 Fällen (43,5%) kam es zum Early-onset HELLP-Syndrom mit Manifestation vor der 35. SSW. Eine Patientin entwickelte ein postpartales HELLP-Syndrom.

Von 42 Präeklampsie-Patientinnen waren 35 Erstgebärende (83%). Die Frauen waren im Durchschnitt 27,3 Jahren alt. Zwölf Frauen waren 30 Jahre oder älter (29%). Dreizehn Patientinnen (31%) waren zum Zeitpunkt der Schwangerschaftsfeststellung normalgewichtig (BMI 18,5–24,9 kg/m²), 14 Frauen (33%) übergewichtig (BMI 25–29,9 kg/m²) und 15 Frauen (36%) waren adipös (BMI \geq 30 kg/m²). In sechs Fällen (14,3%) kam es zur Early-onset Präeklampsie. Die Late-onset Präeklampsie entwickelte sich durchschnittlich in der 38+3. SSW, im Median in der 39+0. SSW. Fünf Patientinnen (12%) hatten eine vorbestehende Hypertonie und entwickelten eine Pfropfpräeklampsie während der Schwangerschaft.

3.1 Serum Amyloid A

In der Gruppe der HELLP-Patientinnen kam es zu einem signifikanten Anstieg von Serum Amyloid A verglichen mit der Kontrollgruppe ($p < 0,001$, Tab. 7, Abb. 2). Die durchschnittliche Konzentration von Serum Amyloid A war zehnfach höher als in der Kontrollgruppe (HELLP: 94,0 mg/l [95%KI: 41,4–146,6] vs. Kontrollgruppe: 8,7 mg/l [2,3–15,1]). In der Präeklampsie-Gruppe kam es ebenfalls zu einem leichten Anstieg von SAA. Im Vergleich mit der Kontrollgruppe ergab sich jedoch keine statistische Signifikanz

(PE: 55,4 mg/l [7,7-103,0] vs. Kontrollgruppe: 6,5 mg/l [5,1-8,0], $p=0,382$). Die SAA-Werte in der Gruppe der HELLP-Patientinnen waren signifikant höher verglichen mit der Präeklampsie-Gruppe ($p<0,001$). Auffallend ist bei den Präeklampsie-Patientinnen die Abweichung des Mittelwertes (55,4 mg/l) vom Median (5,4 mg/l). Drei Patientinnen der Präeklampsie-Gruppe wiesen sehr hohe Werte für SAA auf, welche den Mittelwert beeinflusst haben (sogenannte Ausreißer). Der Median hingegen ist unempfindlich gegenüber Ausreißern.

SAA mg/l	Median	Mittelwert	95%-Konfidenzintervall
HELLP	70,5	94,0	41,4-146,6
Kontrollen HELLP	3,6	8,7	2,3-15,1
Präeklampsie	5,4	55,4	7,7-103,0
Kontrollen PE	4,0	6,5	5,1-8,0

Tabelle 7: Übersicht über die ermittelten Werte für SAA.

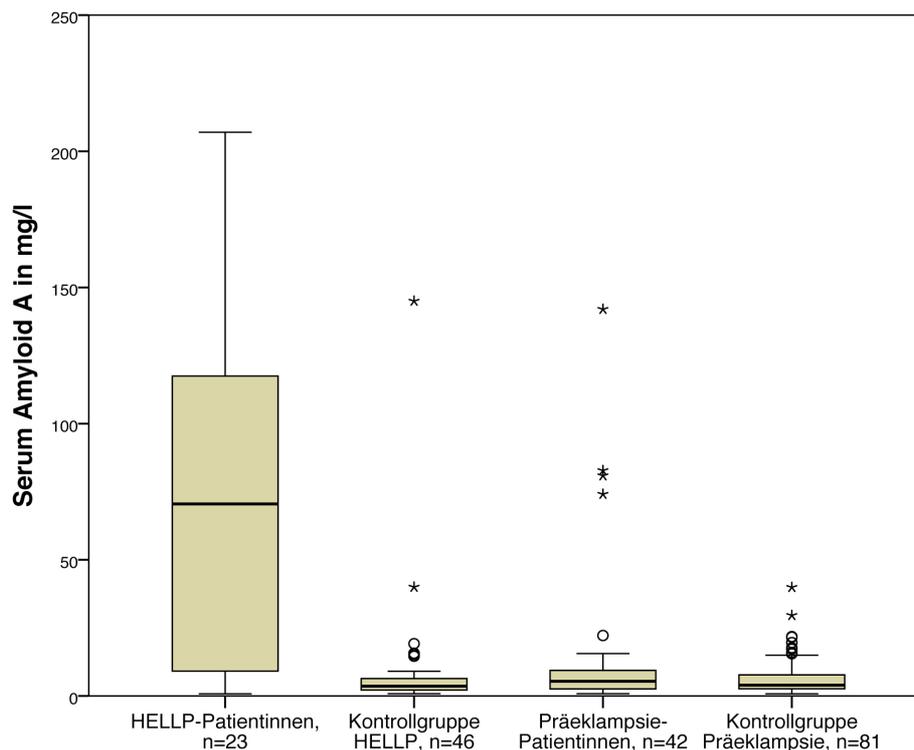


Abbildung 2: Darstellung der Konzentration von SAA in mg/l in den vier Subgruppen.

Zur besseren Übersicht wurde auf die Darstellung von 5 Extremwerten >250 mg/l verzichtet (2 Werte für HELLP, 3 Werte für Präeklampsie).

Im Hinblick auf einen möglichen klinischen Einsatz sollte ein Grenzwert gefunden werden. Die Boxen der HELLP-Patientinnen und der Kontrollgruppe überschneiden sich nicht und daher war die Trennung zwischen dem 25%-Perzentil der einen und dem 75%-Perzentil der anderen Box gut möglich. Unter Beachtung von Sensitivität und Spezifität wurde der

Grenzwert zur Detektion eines HELLP-Syndroms auf 9 mg/l festgelegt. 18 HELLP-Patientinnen hatten einen Wert größer 9 mg/l (78%), wohingegen nur 7 Patientinnen der Kontrollgruppe (15%) so hohe Werte aufwiesen (Abb. 3). Eine statistische Signifikanz konnte nachgewiesen werden ($p < 0,05$).

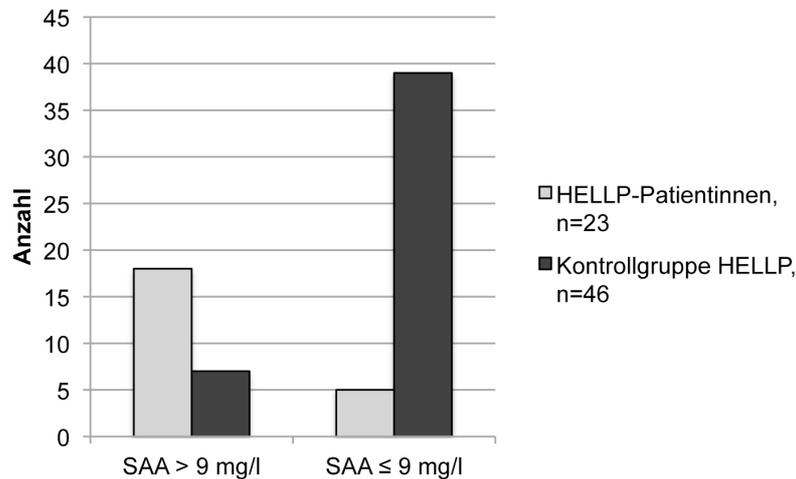


Abbildung 3: Darstellung der Ergebnisse der SAA-Messung bei einem Grenzwert von 9 mg/l in der Subgruppe der HELLP-Patientinnen.

3.2 Das C-reaktive Protein

Die Ergebnisse für das zweite Akute-Phase-Protein CRP sind vergleichbar mit den Ergebnissen der Analyse für Serum Amyloid A. Es kam zu einem signifikanten Anstieg des CRP bei den HELLP-Patientinnen verglichen mit der Kontrollgruppe (HELLP: 45,7 mg/l [22,3-69,1] vs. Kontrollgruppe: 5,7 mg/l [4,4-6,9], $p < 0,001$). Die gesunden Schwangeren wiesen normwertige CRP-Konzentrationen auf. Der Mittelwert des CRP war in der Gruppe der Präeklampsie-Patientinnen höher als in der Kontrollgruppe (PE: 18,3 mg/l [7,6-29,1] vs. Kontrollgruppe: 9,0 mg/l [6,0-12,0]), jedoch ohne statistische Signifikanz ($p = 0,391$). Es zeigte sich auch, dass die CRP-Werte in der Gruppe der HELLP-Patientinnen verglichen mit den Präeklampsie-Patientinnen signifikant höher waren ($p = 0,004$).

Es wurde jedoch nicht für jede in die Studie eingeschlossene Schwangere laborchemisch das CRP bestimmt, daher sind die Fallzahlen in den Subgruppen hier kleiner. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 8 und in Abbildung 4 in einem Boxplot-Diagramm grafisch dargestellt.

CRP mg/l	Median	Mittelwert	95%-Konfidenzintervall
HELLP (n=20)	28,1	45,7	22,3-69,1
Kontrollen HELLP (n=32)	3,8	5,7	4,4-6,9
Präeklampsie (n=42)	4,7	18,3	7,6-29,1
Kontrollen PE (n=58)	4,9	9,0	6,0-12,0

Tabelle 8: Übersicht über die ermittelten Werte für das CRP.

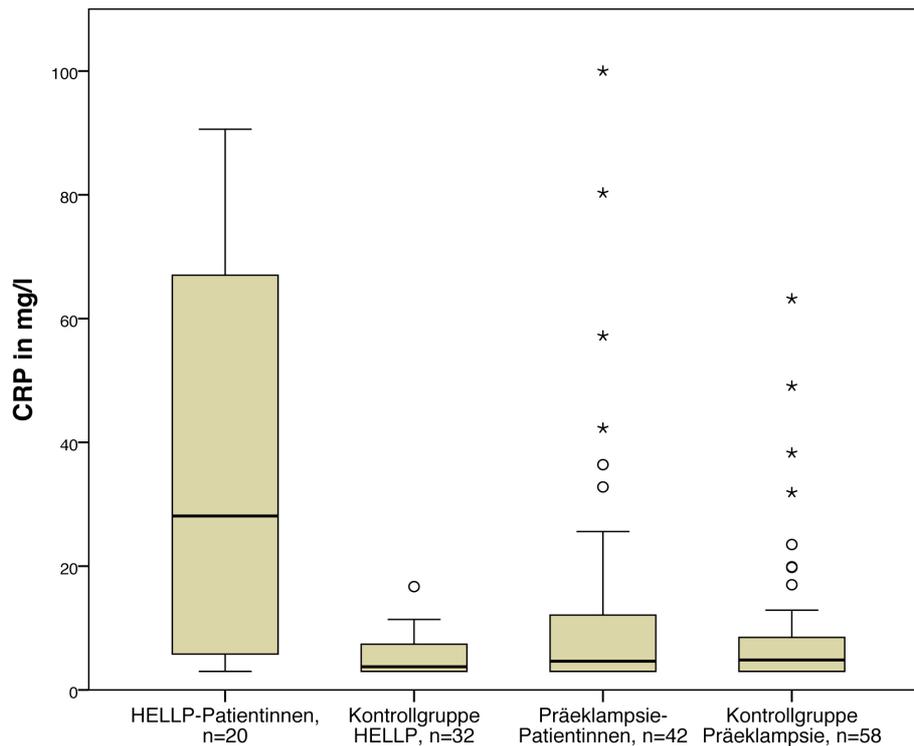


Abbildung 4: Darstellung der Konzentration von CRP in mg/l in den vier Subgruppen. Zur besseren Übersicht wurde auf die Darstellung von 3 Extremwerten >110 mg/l verzichtet (2 Werte für HELLP, 1 Wert für Präeklampsie).

3.3 sFlt-1

Die ELISA-Untersuchung der Soluble FMS-like Tyrosine Kinase 1 (sFlt-1) zeigte einen signifikanten Anstieg des anti-angiogenen Markers bei den HELLP-Patientinnen im Vergleich mit der Kontrollgruppe (HELLP: 25973 pg/ml [13746-38199] vs. Kontrollgruppe: 10670 pg/ml [7557-13783], $p < 0,001$, Tab. 9, Abb. 5). In der Präeklampsie-Gruppe zeigte sich ein weniger starker, ebenfalls signifikanter Anstieg der sFlt-1 (PE: 14432 pg/ml [10793-18073] vs. Kontrollgruppe: 9387 pg/ml [8017-10759], $p = 0,02$). Die Differenz zwischen HELLP- und Präeklampsie-Patientinnen war gleichermaßen signifikant ($p = 0,015$).

sFlt-1 pg/ml	Median	Mittelwert	95%-Konfidenzintervall
HELLP	21265	25973	13746-38199
Kontrollen HELLP	8060	10670	7557-13783
Präeklampsie	11296	14432	10793-18073
Kontrollen PE	8296	9387	8017-10759

Tabelle 9: Übersicht über die ermittelten Werte für sFlt-1.

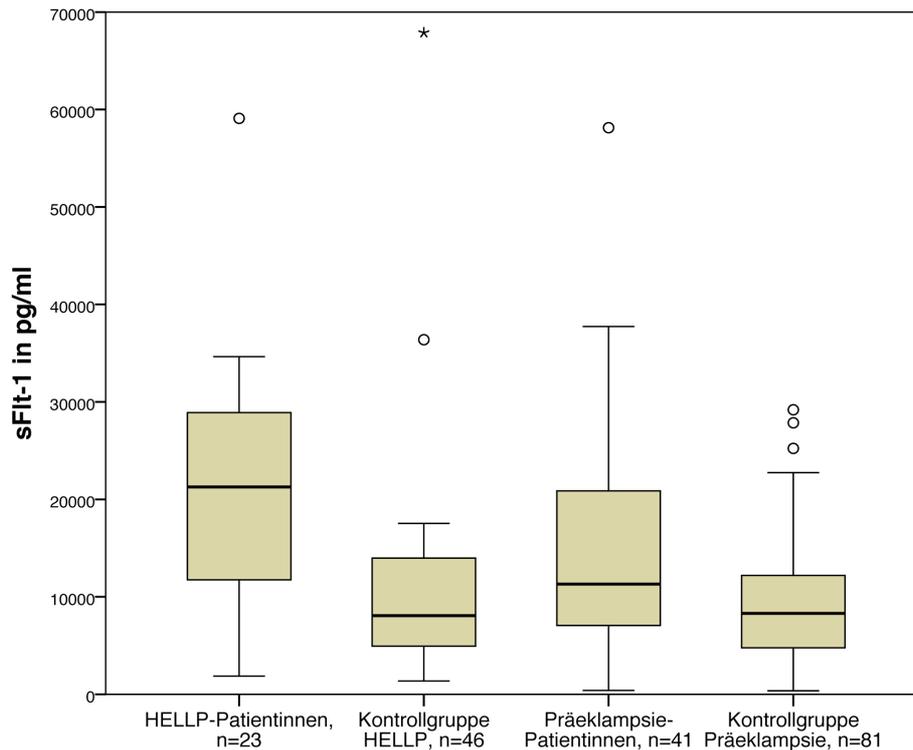


Abbildung 5: Darstellung der Konzentration von sFlt-1 in pg/ml in den vier Subgruppen. Zur besseren Übersicht wurde auf die Darstellung von einem Extremwert >70000 pg/ml verzichtet (1 Wert für HELLP).

3.4 PIGF

Es konnte ein signifikanter Abfall des pro-angiogenen Placental Growth Factor (PIGF) in der Gruppe der HELLP-Patientinnen nachgewiesen werden (HELLP: 71,6 pg/ml [49,5-93,6] vs. Kontrollgruppe: 189,0 pg/ml [130,8-247,2], $p < 0,001$, Tab. 10, Abb. 6). Wie in der Literatur beschrieben, kam es auch bei den Präeklampsie-Patientinnen zu einem signifikanten Abfall des PIGF (PE: 88,9 pg/ml [68,8-109,0] vs. Kontrollgruppe: 186,3 pg/ml [150,0-222,8], $p < 0,001$). Der Unterschied zwischen HELLP- und Präeklampsie-Patientinnen war statistisch nicht signifikant ($p = 0,369$).

PIGF pg/ml	Median	Mittelwert	95%-Konfidenzintervall
HELLP	55,9	71,6	49,5-93,6
Kontrollen HELLP	125,2	189,0	130,8-247,2
Präeklampsie	81,5	88,9	68,8-109,0
Kontrollen PE	139,2	186,3	150,0-222,8

Tabelle 10: Übersicht über die ermittelten Werte für PIGF.

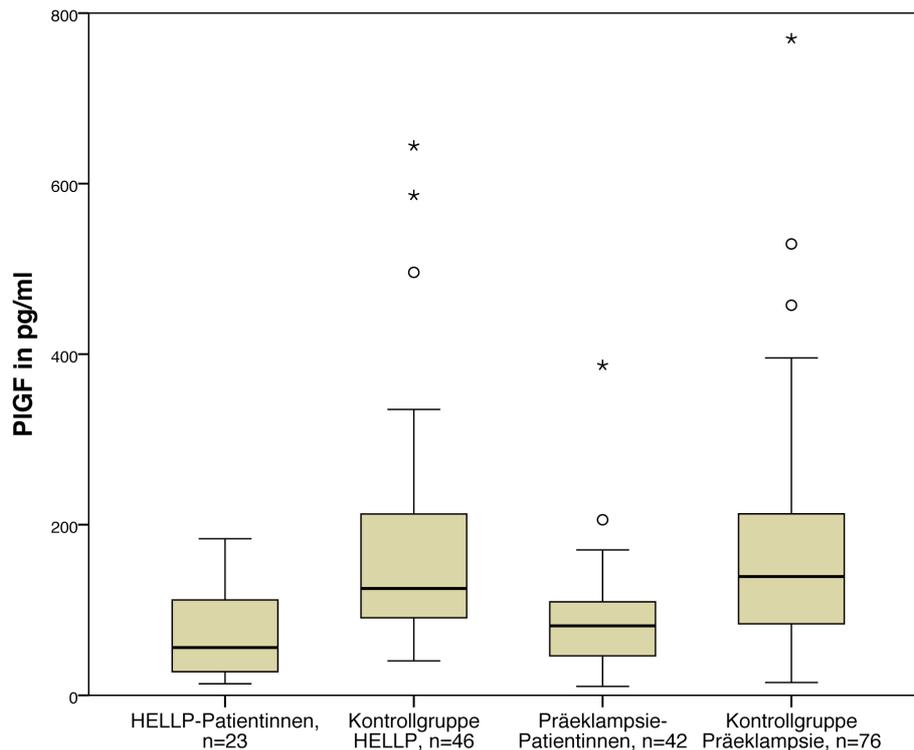


Abbildung 6: Darstellung der Konzentration von PIGF in pg/ml in den vier Subgruppen. Zur besseren Übersicht wurde auf die Darstellung von 2 Extremwerten >800 pg/ml verzichtet (1 Wert Kontrollgruppe HELLP, 1 Wert Kontrollgruppe Präeklampsie).

3.5 Endoglin

In der Gruppe der HELLP-Patientinnen kam es zu einem signifikanten Anstieg des anti-angiogenen Markers Endoglin (HELLP: 56,0 ng/ml [42,9-69,2] vs. Kontrollgruppe: 21,9 ng/ml [16,9-27,0], $p < 0,001$, Tab. 11, Abb. 7). Bei den Präeklampsie-Patientinnen konnte ein weniger starker, aber ebenfalls signifikanter Anstieg von Endoglin verglichen mit der Kontrollgruppe beobachtet werden (PE: 38,2 ng/ml [28,8-47,6] vs. Kontrollgruppe: 21,4 ng/ml [18,0-24,7], $p < 0,05$). Der Unterschied zwischen HELLP- und Präeklampsie-Patientinnen war statistisch signifikant ($p = 0,014$).

Endoglin ng/ml	Median	Mittelwert	95%-Konfidenzintervall
HELLP	55,5	56,0	42,9-69,2
Kontrollen HELLP	18,3	21,9	16,9-27,0
Präeklampsie	33,8	38,2	28,8-47,6
Kontrollen PE	14,6	21,4	18,0-24,7

Tabelle 11: Übersicht über die ermittelten Werte für Endoglin.

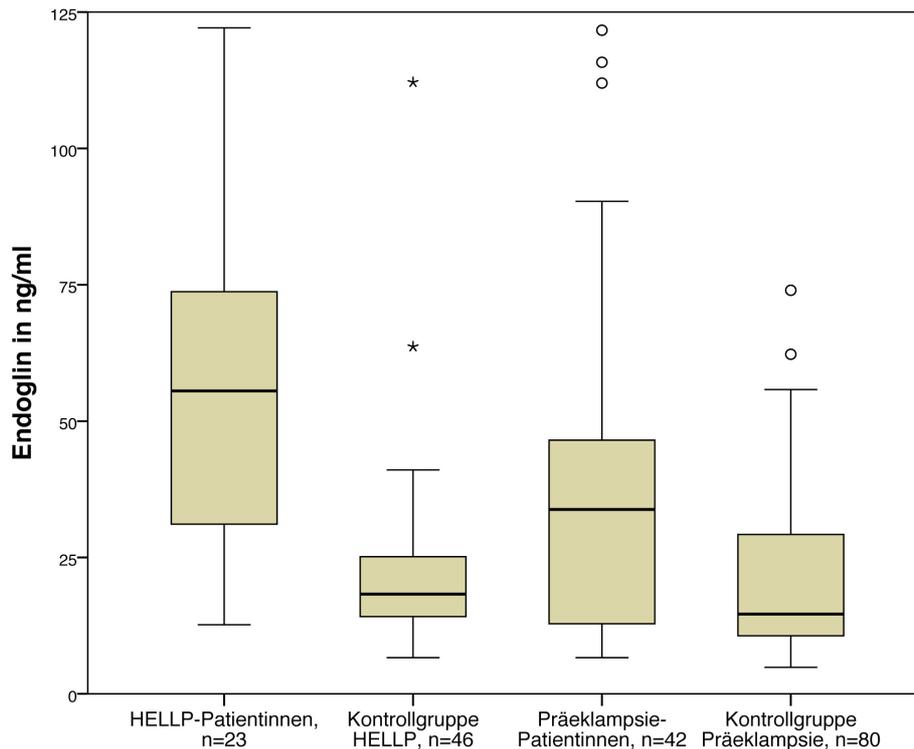


Abbildung 7: Darstellung der Konzentrationen von Endoglin in ng/ml in den vier Subgruppen.

Aufgrund der guten Abgrenzung zwischen HELLP-Patientinnen und Kontrollgruppe im Boxplot-Diagramm, wurde der Grenzwert für Endoglin unter Beachtung von Sensitivität und Spezifität auf 21 ng/ml festgelegt. 21 der 23 HELLP-Patientinnen (91%) und 15 Patientinnen der Kontrollgruppe (33%) wiesen einen Wert größer 21 ng/ml auf (Abb. 8). Die statistische Signifikanz konnte mittels des Chi²-Tests bewiesen werden ($p < 0,001$).

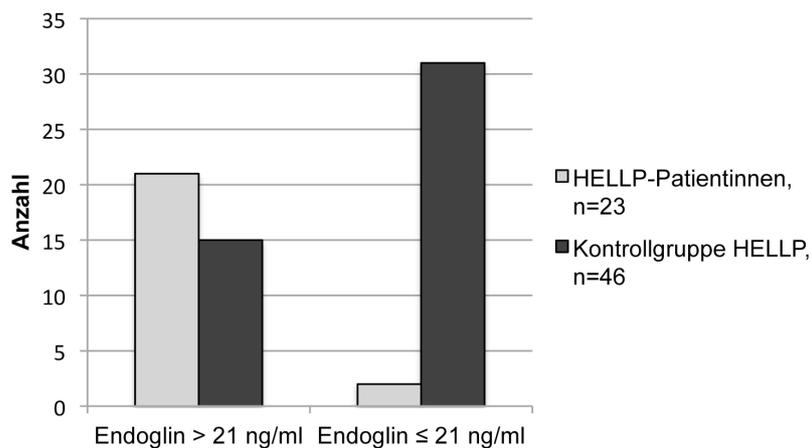


Abbildung 8: Darstellung der Ergebnisse der Endoglin-Konzentration bei einem Grenzwert von 21 ng/ml in der Subgruppe der HELLP-Patientinnen.

3.6 Ratio sFlt-1/PlGF

Analog zu Vorpublikationen wurde eine Ratio der Marker sFlt-1 und PlGF gebildet. Es konnte bei den HELLP-Patientinnen eine sechsfach höhere Ratio im Vergleich mit der Kontrollgruppe errechnet werden (HELLP: 755,1 [51,8-1458,5] vs. Kontrollgruppe: 120,0 [50,5-189,5], $p < 0,001$, Tab. 12). In der Gruppe der Präeklampsie-Patientinnen war die Ratio weniger stark, jedoch ebenfalls signifikant erhöht (PE: 236,5 [141,0-332,0] vs. Kontrollgruppe: 92,2 [70,5-114,0], $p < 0,001$). Die Ratio sFlt-1/PlGF zeigte sich außerdem signifikant erhöht in der Gruppe der HELLP-Patientinnen verglichen mit den Präeklampsie-Patientinnen ($p = 0,006$). Die Ergebnisse sind in einem Boxplot-Diagramm grafisch dargestellt (Abb. 9).

Ratio sFlt-1/PlGF	Median	Mittelwert	95%-Konfidenzintervall
HELLP	224,3	755,1	51,8-1458,5
Kontrollen HELLP	67,4	120,0	50,5-189,5
Präeklampsie	145,8	236,5	141,0-332,0
Kontrollen PE	59,1	92,2	70,5-114,0

Tabelle 12: Übersicht über die ermittelten Werte der Ratio sFlt-1/PlGF.

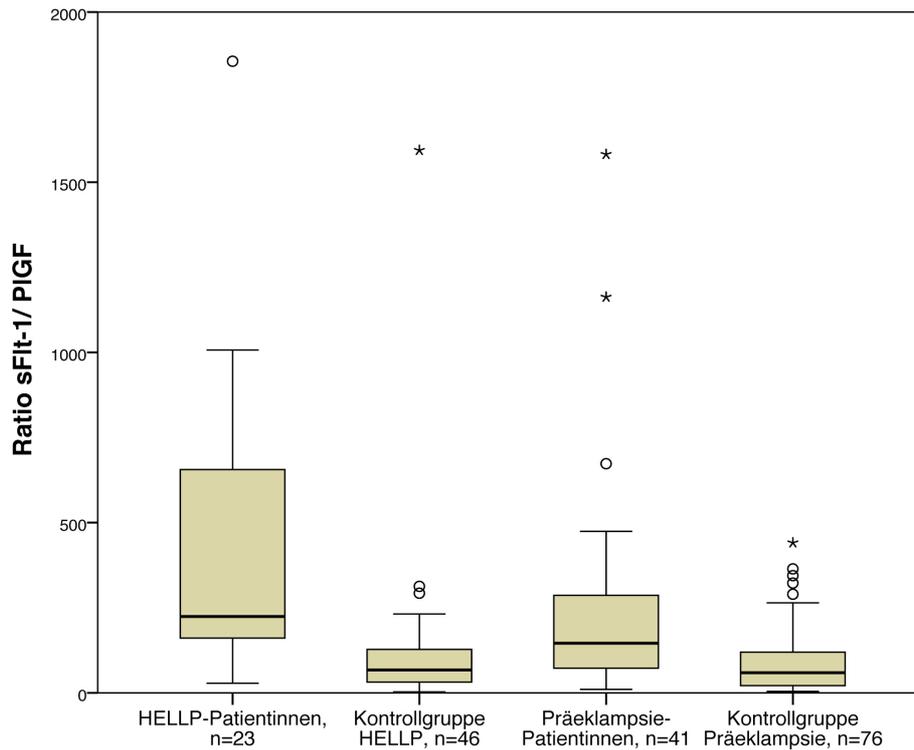


Abbildung 9: Darstellung der Werte der Ratio sFit-1/PIGF in den vier Subgruppen.
Zur besseren Übersicht wurde auf die Darstellung von einem Extremwert >2000 verzichtet (1 Wert HELLP).

Auch hier sollte ein möglicher Grenzwert gefunden werden. Es wurde zwischen dem 25%-Perzentil der Box der HELLP-Patientinnen und dem 75%-Perzentil der Box der zugehörigen Kontrollgruppe unter Beachtung der Sensitivität und Spezifität der Grenzwert auf 124 festgelegt. Zweiundzwanzig HELLP-Patientinnen (95%) und zwölf Patientinnen der Kontrollgruppe (26%) wiesen Werte größer 124 auf (Abb. 10). Eine statistische Signifikanz konnte mit Hilfe des Chi²-Tests nachgewiesen werden ($p < 0,05$).

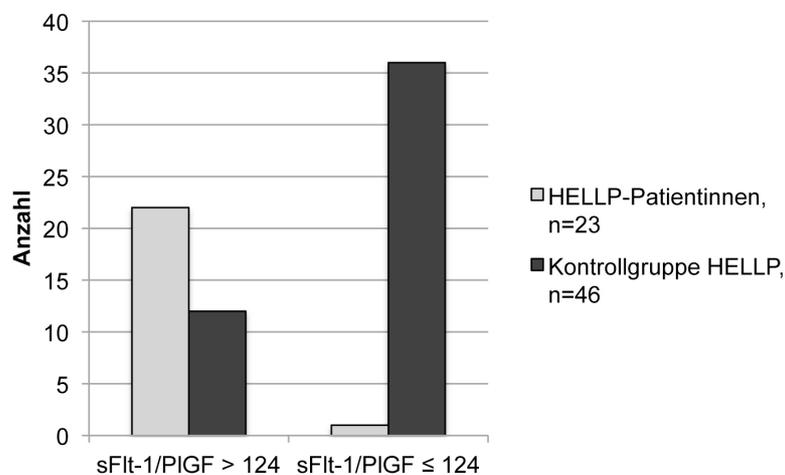


Abbildung 10: Darstellung der Ergebnisse der Ratio sFit-1/PIGF bei einem Grenzwert von 124 in der Untergruppe der HELLP-Patientinnen.

3.7 Ratio SAA/PIGF

Aufgrund der guten Diskrimination des Akute-Phase-Proteins SAA und des pro-angiogenen Markers PIGF zwischen HELLP-Patientinnen und gesunden Schwangeren sollte überprüft werden, ob die Verknüpfung beider Marker zu einer besseren Sensitivität führt. Es konnte bei den HELLP-Patientinnen ein Anstieg der Ratio SAA/PIGF im Vergleich mit der Kontrollgruppe ermittelt werden (HELLP: $3,29 \times 10^6$ [0,24-6,34] vs. Kontrollgruppe: $0,13 \times 10^6$ [0-0,28], $p < 0,001$, Tab. 13, Abb. 11). Es kam zu einem weniger starken, jedoch ebenfalls signifikanten Anstieg der Ratio bei den Präeklampsie-Patientinnen (PE: $1,93 \times 10^6$ [0,82-3,78] vs. Kontrollgruppe: $0,09 \times 10^6$ [0,04-0,14], $p < 0,05$). Gegenüber der Präeklampsie-Gruppe war die Ratio SAA/PIGF bei den HELLP-Patientinnen signifikant erhöht ($p < 0,001$).

Ratio SAA/PIGF $\times 10^6$	Median	Mittelwert	95%-Konfidenzintervall
HELLP	0,68	3,29	0,24-6,34
Kontrollen HELLP	0,03	0,13	0-0,28
Präeklampsie	0,05	1,93	0,82-3,78
Kontrollen PE	0,03	0,09	0,04-0,14

Tabelle 13: Übersicht über die ermittelten Werte der Ratio SAA/PIGF.

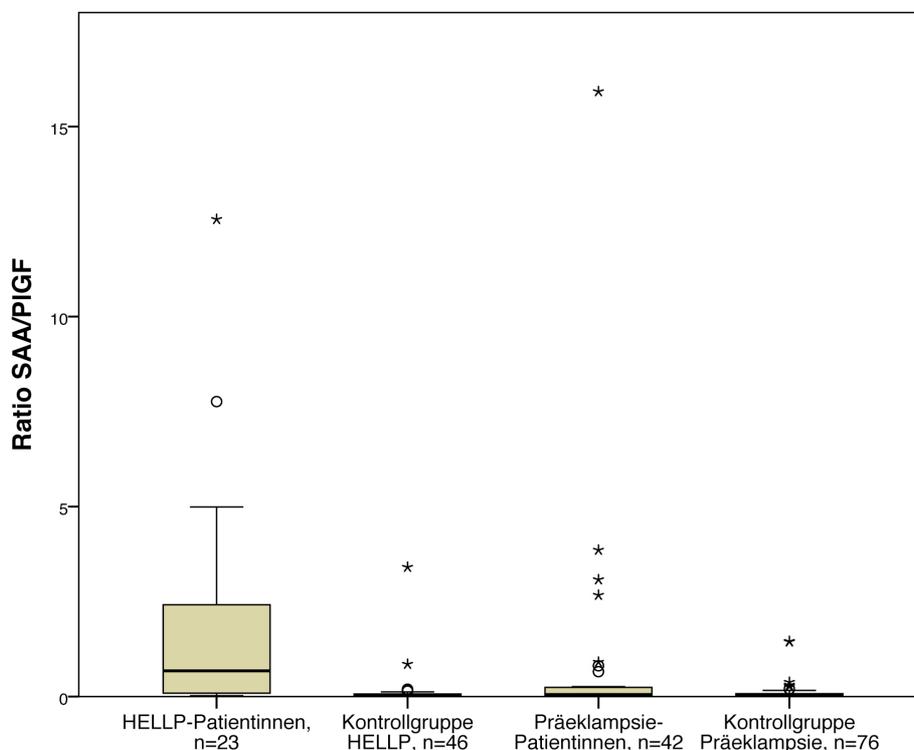


Abbildung 11: Darstellung der Werte der Ratio SAA/PIGF $\times 10^6$ in den vier Subgruppen.

Zur besseren Übersicht wurde auf die Darstellung von 3 Extremwerten > 18 verzichtet (1 Wert HELLP, 2 Werte Präeklampsie).

Es sollte ein Schwellenwert zur Diagnostik des HELLP-Syndroms gefunden werden. Bei einem Grenzwert von $0,25 \times 10^6$ wiesen 16 HELLP-Patientinnen (69,6%) und 2 Patientinnen der Kontrollgruppe (4,3%) eine höhere Ratio SAA/PIGF auf (Abb. 12). Die statistische Signifikanz konnte nachgewiesen werden ($p < 0,05$).

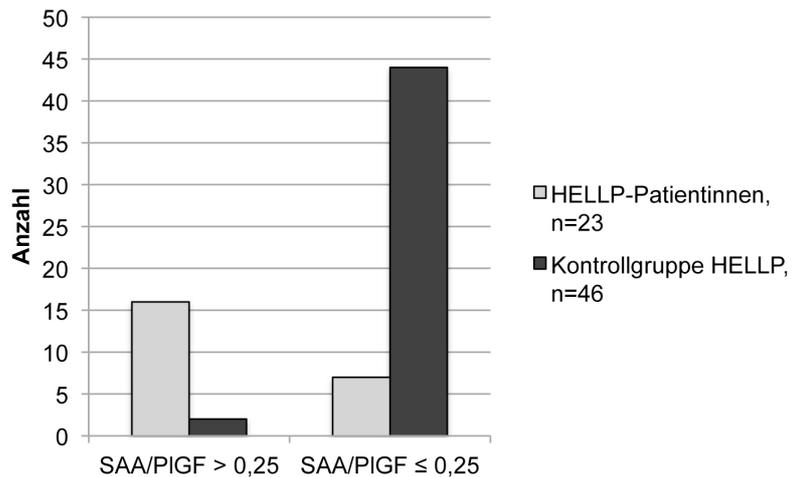


Abbildung 12: Darstellung der Ergebnisse der Ratio SAA/PIGF bei einem Grenzwert von $0,25 \times 10^6$ in der Subgruppe der HELLP-Patientinnen.

3.8 Vergleich der einzelnen Marker

Es sollte überprüft werden, welcher Marker sich am besten eignet ein HELLP-Syndrom oder eine Präeklampsie zu erkennen und ob eine Ratio den einzelnen Markern überlegen ist. Um die diagnostische Güte einzuschätzen wurden ROC-Kurven verwendet (103).

3.8.1 Diagnostik des HELLP-Syndroms

Die höchste Sensitivität bei einer Spezifität von 95% und einer Falsch-Positiv-Rate von 5% zur Unterscheidung zwischen einer HELLP-Patientin und einer gesunden Schwangeren wurde mit 69,6% für die Ratio SAA/PIGF erreicht (Tab. 14). Mit einer hohen Sensitivität konnten auch die Akute-Phase-Proteine SAA und CRP ein HELLP-Syndrom erkennen (SAA 61%, CRP 60%). Die AUC betrug für die Ratio SAA/PIGF 0,89, für SAA 0,85 und für CRP 0,82. Damit eigneten sich diese Marker am besten zur Diagnostik eines HELLP-Syndroms. Die Angiogenesefaktoren erreichten eine niedrigere Sensitivität von 41,3%-56,5%. Die AUC als Maß für die Güte eines diagnostischen Tests lag für alle Marker zwischen 0,77 und 0,89 (Tab. 14, Abb. 13-19).

Marker	AUC	Sensitivität bei 95% Spezifität
SAA	0,85	61,0%
CRP	0,82	60,0%
sFlt-1	0,77	56,5%
PIGF	0,80	41,3%
Endoglin	0,88	56,0%
Ratio sFlt-1/PIGF	0,88	43,5%
Ratio SAA/PIGF	0,89	69,6%

Tabelle 14: Übersicht Sensitivität und AUC in der Diagnostik des HELLP-Syndroms.

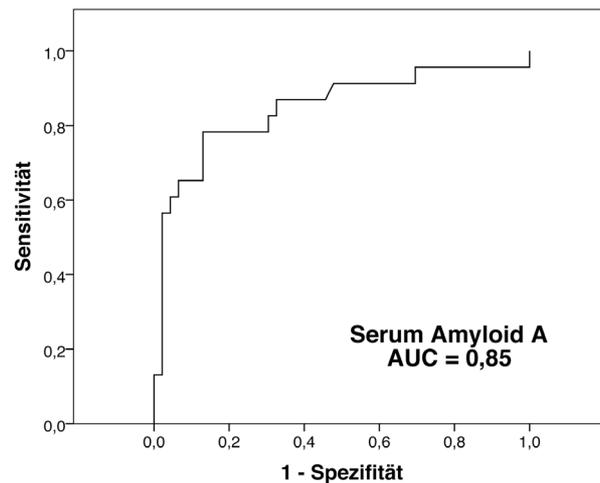


Abbildung 13: Darstellung der ROC-Kurve für Serum Amyloid A in der Diagnostik des HELLP-Syndroms (n=69).

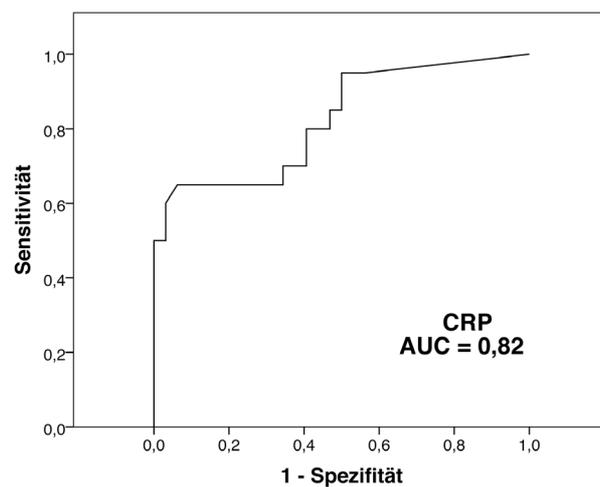


Abbildung 14: Darstellung der ROC-Kurve für CRP in der Diagnostik des HELLP-Syndroms (n=52).

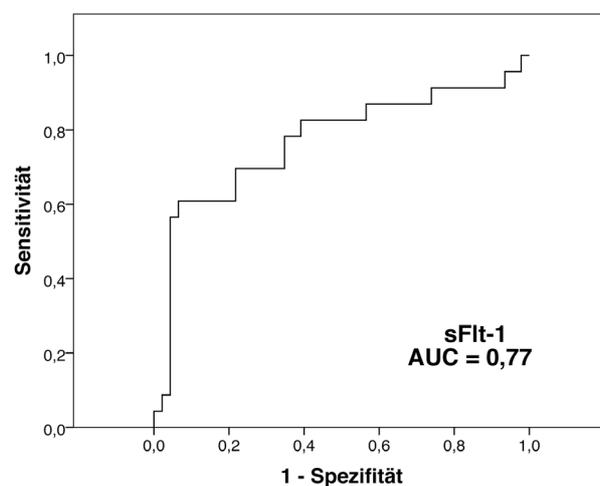


Abbildung 15: Darstellung der ROC-Kurve für sFlt-1 in der Diagnostik des HELLP-Syndroms (n=69).

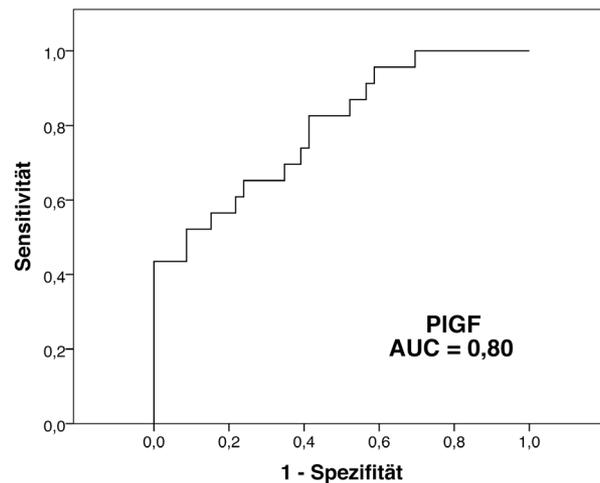


Abbildung 16: Darstellung der ROC-Kurve für PIGF in der Diagnostik des HELLP-Syndroms (n=69).

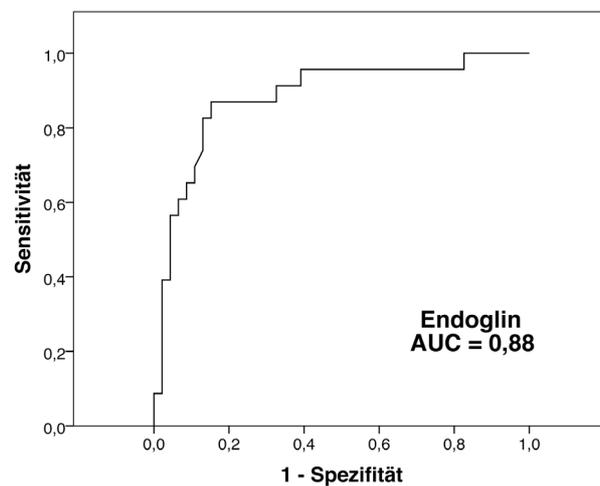


Abbildung 17: Darstellung der ROC-Kurve für Endoglin in der Diagnostik des HELLP-Syndroms (n=69).

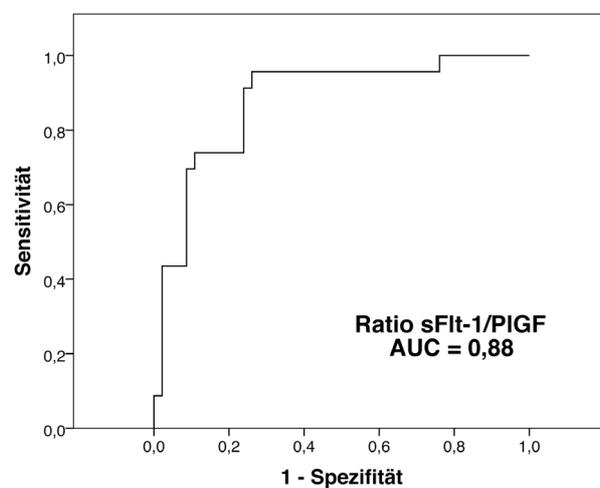


Abbildung 18: Darstellung der ROC-Kurve der Ratio sFlt-1/PIGF in der Diagnostik des HELLP-Syndroms (n=69).

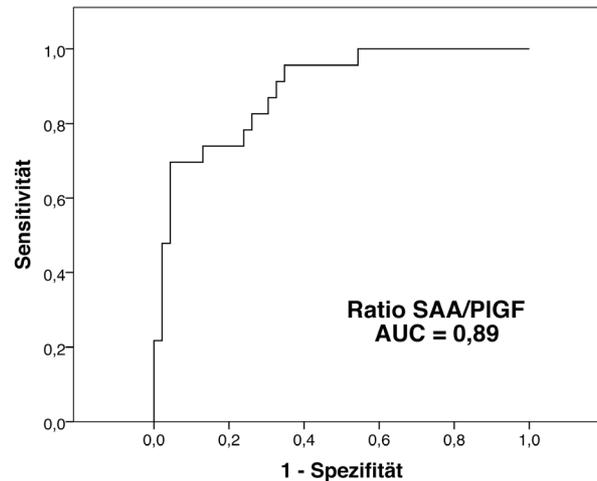


Abbildung 19: Darstellung der ROC-Kurve der Ratio SAA/PIGF in der Diagnostik des HELLP-Syndroms (n=69).

3.8.2 Diagnostik der Präeklampsie

Verglichen mit dem HELLP-Syndrom wiesen die einzelnen Marker zur Diagnostik der Präeklampsie eine geringere Sensitivität auf bei gleicher Spezifität von 95% (Tab. 15). Die ROC-Kurven der Akute-Phase-Proteine SAA und CRP (Abb. 20, 21) verliefen nahe der Diagonalen und somit muss ein Zufallsprozess unterstellt werden. Die AUC von SAA und CRP betragen 0,55 und damit eignen sich diese Marker nicht zur Unterscheidung zwischen einer Präeklampsie-Patientin und einer gesunden Schwangeren. Betrachtet man die Angiogenesefaktoren (Abb. 22-26) betrug die AUC für sFlt-1 0,63, für PlGF 0,76 und für Endoglin 0,68. Die Sensitivität lag für die einzelnen Marker zwischen 33% und 35% und damit können die Angiogenesefaktoren zur Diagnostik einer Präeklampsie beitragen. Interessanterweise führte die Verknüpfung der einzelnen Marker zur Ratio nicht zu einer Verbesserung der Sensitivität.

Marker	AUC	Sensitivität bei 95% Spezifität
SAA	0,55	19,0%
CRP	0,55	11,9%
sFlt-1	0,63	34,1%
PlGF	0,76	35,5%
Endoglin	0,68	33,3%
Ratio sFlt-1/PlGF	0,72	29,3%
Ratio SAA/PlGF	0,66	28,6%

Tabelle 15: Übersicht Sensitivität und AUC in der Diagnostik der Präeklampsie.

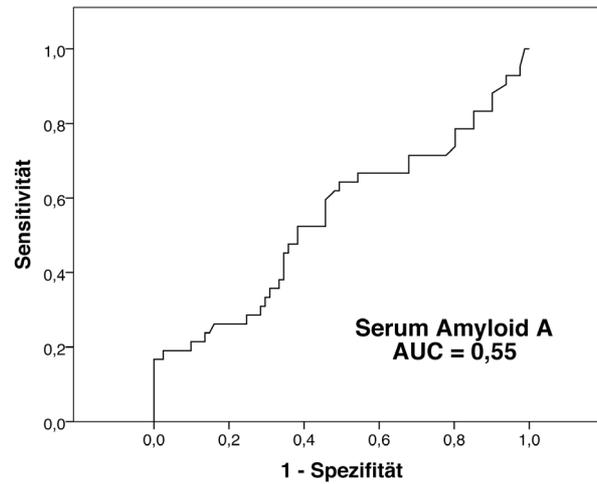


Abbildung 20: Darstellung der ROC-Kurve für Serum Amyloid A in der Diagnostik der Präeklampsie (n=123).

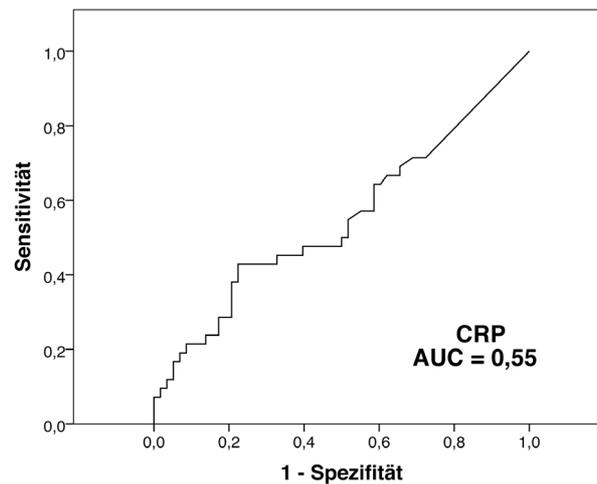


Abbildung 21: Darstellung der ROC-Kurve für CRP in der Diagnostik der Präeklampsie (n=100).

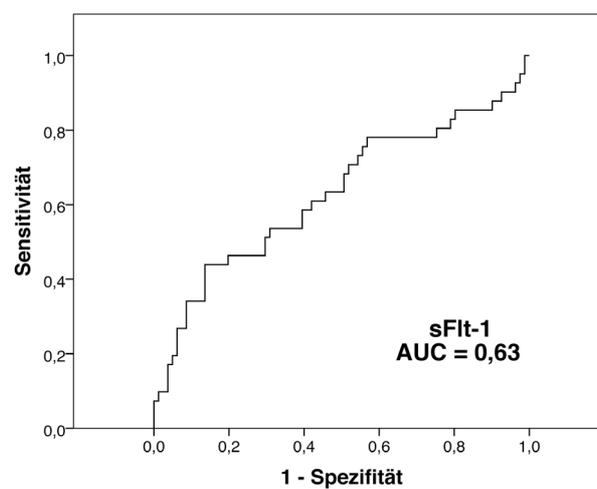


Abbildung 22: Darstellung der ROC-Kurve für sFlt-1 in der Diagnostik der Präeklampsie (n=122).

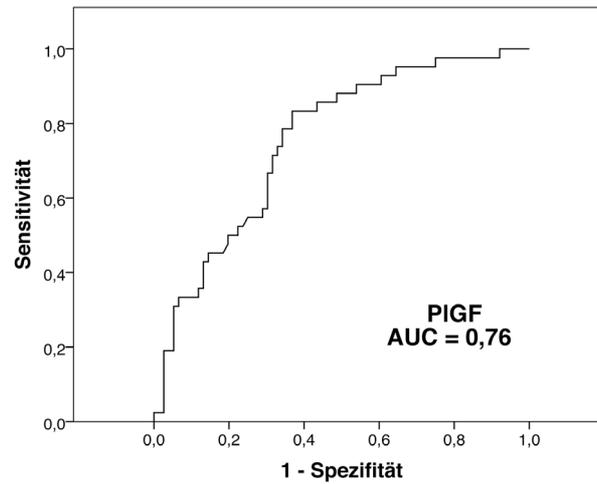


Abbildung 23: Darstellung der ROC-Kurve für PIGF in der Diagnostik der Präeklampsie (n=118).

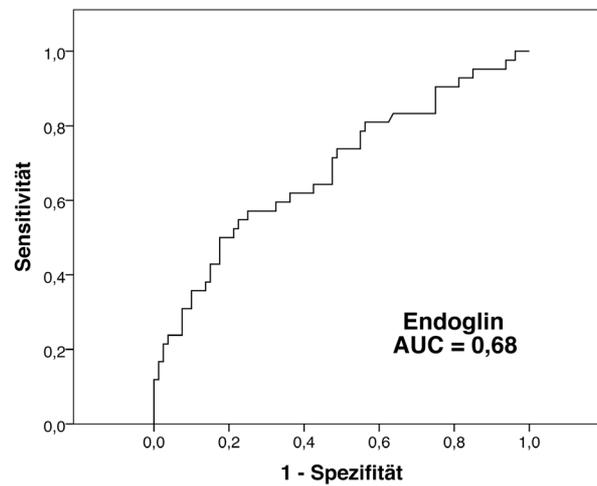


Abbildung 24: Darstellung der ROC-Kurve für Endoglin in der Diagnostik der Präeklampsie (n=122).

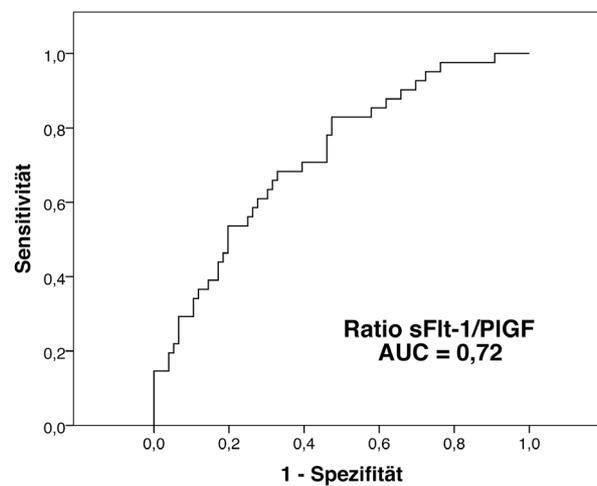


Abbildung 25: Darstellung der ROC-Kurve der Ratio sFlt-1/PIGF in der Diagnostik der Präeklampsie (n=117).

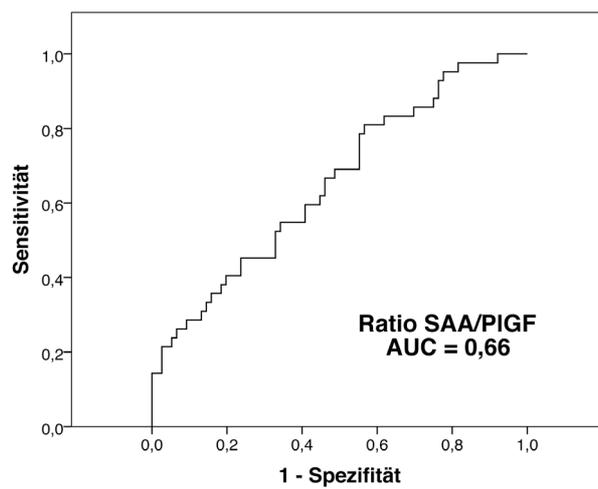


Abbildung 26: Darstellung der ROC-Kurve der Ratio sFlt-1/PIGF in der Diagnostik der Präeklampsie (n=118).

4 Diskussion

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte der Nutzen von Angiogenesefaktoren und Akute-Phase-Proteine zur Diagnostik des HELLP-Syndroms und der Präeklampsie untersucht werden. Es wurden die Konzentrationen im Serum schwangerer HELLP- und Präeklampsie-Patientinnen gemessen und mit gesunden Schwangeren verglichen.

4.1 Serum Amyloid A und C-reaktives Protein

Das C-reaktive Protein und Serum Amyloid A gehören zur Gruppe der Akute-Phase-Proteine und werden hauptsächlich in der Leber gebildet (104). Außerdem können Lymphozyten, aktivierte Monozyten und Makrophagen CRP und Serum Amyloid A freisetzen (105). Die SAA- und CRP-Synthese wird durch Cytokine gesteuert, hauptsächlich durch Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor- α . Diese Faktoren werden bei Entzündung, Verletzung und bei Stress freigesetzt und eignen sich damit zur Diagnostik und Überwachung von Infektionen und Traumata (106). Trotz gleicher Sensitivität wie CRP findet Serum Amyloid A in der Routine selten Anwendung. Untersuchungen haben ergeben, dass SAA als Apolipoprotein eng mit Veränderungen der Plasma-Lipoproteine gekoppelt ist. Es gibt Hinweise darauf, dass Serum Amyloid A bei der Entstehung von Gefäßschäden und Arteriosklerose beteiligt sein könnte (107). Außerdem konnte gezeigt werden, dass erhöhte CRP- und Serum-Amyloid-A-Konzentrationen Gefäßentzündungen anzeigen können und sich die Marker damit zur Vorhersage kardiovaskulärer Ereignisse eignen (108). Im Unterschied zu CRP, welches hauptsächlich in der Leber gebildet wird, wird Serum Amyloid A außerdem in Fettzellen und in der Plazenta exprimiert (109, 110). Es wird angenommen, dass die Präeklampsie mit einer ausgedehnten endothelialen Dysfunktion assoziiert ist, die durch eine starke systemische Entzündungsantwort der Mutter ausgelöst sein könnte. Deshalb würde man annehmen, dass die Plasmaspiegel von Serum Amyloid A und CRP im mütterlichen Blut verglichen mit gesunden Schwangeren erhöht sind (105). Dass es bei der Präeklampsie und beim HELLP-Syndrom zu einem Anstieg des C-reaktiven Proteins kommt, konnten Paternoster et al. feststellen. Sie legten damit den Entzündungsprozess als gemeinsame pathogenetische

Ursache zugrunde (111). Eine aktuelle Studie stützt die These der Entzündungsreaktion bei der Präeklampsie. Es konnte in der Massenspektrometrie ein Abfall des negativen Akute-Phase-Proteins Transthyretin bei Early-onset Präeklampsien beobachtet werden. Die Serumkonzentration von Transthyretin sinkt nach Trauma, Entzündung und Mangelernährung (112). In unseren Untersuchungen konnten wir keinen signifikanten Anstieg der Akute-Phase-Proteine bei der Präeklampsie nachweisen. Nur beim HELLP-Syndrom kam es zu einem signifikanten Anstieg von SAA und CRP. Man könnte deshalb vermuten, dass dies durch eine obligate Leberbeteiligung beim HELLP-Syndrom hervorgerufen wird. Außerdem könnte der deutliche Anstieg der Akute-Phase-Proteine beim HELLP-Syndrom für eine noch stärkere Entzündungsantwort als bei der Präeklampsie sprechen.

Vorausgegangene Studien zu Serum Amyloid A und CRP bei Präeklampsie-Patientinnen zeigten keine übereinstimmenden Ergebnisse. Kristensen et al. beobachteten, dass die Plasmakonzentrationen von Serum Amyloid A und CRP bei Frauen mit einer Präeklampsie im Vergleich zu gesunden Schwangeren nicht erhöht waren. Sie schlussfolgerten, dass die Beschreibung der Präeklampsie als einen Zustand der systemischen Entzündung durch die Messung von SAA und CRP nicht gestützt werden kann. Die Studie kam außerdem zu dem Ergebnis, dass die Plasmakonzentrationen von CRP und Coeruloplasmin bei schwangeren Frauen mit und ohne Präeklampsie verglichen mit den Werten nicht-schwangerer Frauen erhöht waren (105). In anderen Studien konnte ebenfalls ein Anstieg des CRP bei schwangeren Frauen im Vergleich mit nicht-schwangeren Frauen nachgewiesen werden (113). Als mögliche Ursachen wurden ein erhöhter Hormonspiegel in der Schwangerschaft, ein vermehrter Körperfettanteil und sekundäre Veränderungen der mütterlichen Entzündungsantwort diskutiert (114). Andere Studiengruppen wiederum kamen zu dem Ergebnis, dass es bei Präeklampsie-Patientinnen im Vergleich zu gesunden Schwangeren zu einem Anstieg des CRP kommt (115-117). In zwei dieser Studien wurde der Body-Mass-Index der Frauen allerdings nicht hinreichend berücksichtigt. Die Ergebnisse waren nicht mehr eindeutig, nachdem sie mit dem BMI der Frauen abgeglichen wurden (115, 117). In diesen Fällen könnte das im Fettgewebe freigesetzte Interleukin-6 zu fälschlich erhöhten CRP-Spiegeln geführt haben (118, 119). Es wurde weiterhin der Einfluss von Adipositas auf den Serum-Amyloid-A-Spiegel untersucht. Die Adipositas wird als ein Zustand niedriggradiger chronischer Entzündung angesehen. Es wurden bei adipösen Patientinnen verglichen mit der schlanken Vergleichsgruppe signifikant höhere Konzentrationen von Serum Amyloid A im Blut gemessen und es zeigte sich eine erhöhte mRNA-Expression von SAA im adipösen Gewebe des Omentum (120). Deshalb gilt es in Studien genau zu differenzieren, welcher Faktor bei einer adipösen Präeklampsie-Patientin

den Anstieg des SAA-Spiegels bewirkt. In der vorliegenden Arbeit waren in der Gruppe der Präeklampsie-Patientinnen etwa je ein Drittel der eingeschlossenen Patientinnen zum Zeitpunkt der Schwangerschaftsfeststellung normalgewichtig, übergewichtig und adipös. Das bedeutet, dass einzelne erhöhte SAA-Werte durch die Adipositas bedingt sein könnten. In der HELLP-Gruppe waren deutlich mehr Patientinnen normalgewichtig (68%) und leicht übergewichtig (27%), so dass die Adipositas als alleiniger Grund für die signifikante Erhöhung des Serum Amyloid A unwahrscheinlich scheint.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass sich in der Literatur widersprüchliche Angaben bezüglich der Höhe von Serum Amyloid A und CRP bei Präeklampsie-Patientinnen finden. In der vorliegenden Arbeit konnte kein signifikanter Anstieg von Serum Amyloid A und CRP bei Präeklampsie-Patientinnen festgestellt werden. Die Rostocker Vorarbeiten von Heitner et al. konnten erstmals eine signifikante Erhöhung von Serum Amyloid A bei HELLP-Patientinnen im Vergleich mit gesunden Schwangeren mittels der Proteomanalyse nachweisen. Als Grenzwert für Serum Amyloid A ermittelten sie einen Wert von 3,51 mg/l (100). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen, dass es beim HELLP-Syndrom zu einem signifikanten Anstieg von Serum Amyloid A kommt. Wir konnten in einem größeren Kollektiv unter Verwendung eines anderen diagnostischen Tests den Grenzwert auf 9 mg/l festlegen. Außerdem konnte eine Korrelation von Serum Amyloid A und CRP nachgewiesen werden. Die Sensitivität bei einer Spezifität von 95% lag nach unseren Untersuchungen für SAA beim HELLP-Syndrom bei 61% und für CRP bei 60%.

4.2 sFlt-1

Die Soluble FMS-like Tyrosine Kinase 1 (sFlt-1), auch bekannt als Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1 (VEGF R1) wirkt anti-angiogen auf die Gefäßentwicklung. Es ist ein lösliches Fragment des VEGF Rezeptor-1. Es bindet und hemmt VEGF und PlGF und hat somit einen starken anti-angiogenen Effekt (121, 122). An Tiermodellen konnte gezeigt werden, dass sFlt-1 präeklampsische Symptome wie Hypertonie, Proteinurie und Nierenschäden auslösen kann. Somit scheint sFlt-1 ein effektiver Mediator der Präeklampsie zu sein. In den Plazenten von Präeklampsie-Patientinnen konnten zudem erhöhte Konzentrationen von sFlt-1 nachgewiesen werden (97). Es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einer essentiellen Hypertonie ebenfalls höhere Plasmakonzentrationen von sFlt-1 aufweisen als Probanden der gesunden Vergleichsgruppe (123). Während der normalen

Schwangerschaft wurde ein Anstieg der sFlt-1 beobachtet (124). Raucher hingegen weisen niedrige sFlt-1-Spiegel auf (125).

Verschiedene Arbeitsgruppen haben die sFlt-1-Konzentration bei Präeklampsie-Patientinnen untersucht. Die Konzentrationsunterschiede von sFlt-1 zwischen Präeklampsie-Patientinnen und gesunden Schwangeren fielen in diesen Studien sehr deutlich aus. Verlohren et al. konnten zeigen, dass es bei gesunden Schwangeren im Verlauf der Schwangerschaft zu einem progressiven Anstieg der sFlt-1 kam. In der 10.-14. SSW wurden die niedrigsten Konzentrationen mit einem Durchschnittswert von 1445 pg/ml gemessen. Gesunde Schwangere in der 37. SSW und darüber hinaus wiesen einen Durchschnittswert von 4400 pg/ml auf. Bei Präeklampsie-Patientinnen war die durchschnittliche Konzentration der sFlt-1 signifikant höher als bei den Patientinnen der Kontrollgruppe (Präeklampsie: 12981 ± 966 pg/ml vs. Kontrollgruppe: 2641 ± 101 pg/ml) (33). Levine et al. berichteten von einer durchschnittlichen Konzentration der sFlt-1 von 4382 pg/ml bei Präeklampsie-Patientinnen im Vergleich zu 1643 pg/ml in der gesunden Kontrollgruppe (126). Ähnliche Werte wurden durch Shibata et al. ermittelt (Präeklampsie: 5221 pg/ml vs. Kontrollgruppe: 1857 pg/ml) (96). Es gibt weitere Studien, in denen die Konzentration von sFlt-1 ermittelt wurde und sich Unterschiede zwischen gesunden Schwangeren und Präeklampsie-Patientinnen zeigten (98, 121, 122, 128). Die Höhe der sFlt-1 in den verschiedenen Forschungsgruppen war allerdings insgesamt uneinheitlich. Das wurde damit erklärt, dass in vielen Studien der handelsübliche ELISA der ersten Generation der Firma R&D Systems (Wiesbaden, Deutschland) verwendet wurde um die Serumkonzentration der sFlt-1 zu messen. Eine neue Normierung der sFlt-1 ELISA von R&D Systems im Jahr 2005 hatte laut Herstellerangabe zu einer Veränderung des Messbereiches geführt (33).

Es gibt Hinweise darauf, dass bei Präeklampsie-Patientinnen der signifikante Anstieg der sFlt-1 den Abfall des VEGF und des PlGF verstärken könnte. Dies lässt sich bereits ab etwa fünf Wochen vor Auftreten der Präeklampsie nachweisen (121, 122, 126, 127). Die Autoren schlussfolgerten, dass der Marker sFlt-1 somit als möglicher Vorhersageparameter für die Präeklampsie interessant sein könnte (54, 78).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stehen in Übereinstimmung mit zahlreichen Studien, obgleich es in anderen Studien zu einem deutlich höheren Anstieg der sFlt-1 in der Gruppe der Präeklampsie-Patientinnen kam. Eine Erklärung dafür könnte der in den Studien unterschiedliche Zeitpunkt der Blutentnahme sein und der damit unterschiedliche Abstand zur vollständigen Manifestation der Präeklampsie. Außerdem könnte sich der Schweregrad der in die Studie einbezogenen Präeklampsie-Patientinnen unterscheiden. Im Vergleich zu

Verlohren et al. waren in unserer Studie deutlich weniger Fälle der Early-onset Präeklampsien eingeschlossen. Die Ergebnisse für die HELLP-Patientinnen dagegen fielen eindeutiger aus. Es kam zu einem deutlichen Anstieg des Markers sFlt-1 im Vergleich zu der gesunden Kontrollgruppe. Zur Diagnostik des HELLP-Syndroms wies die sFlt-1 eine Sensitivität von 56,5% bei einer Spezifität von 95% auf. Die aktuellen Untersuchungen von Young et al. bestätigen dieses Ergebnis. Sie konnten zeigen, dass es bei HELLP-Patientinnen (n=11) verglichen mit Schwangeren mit einer Schwangerschaftsthombozytopenie (n=9) zu einem Anstieg von sFlt-1 kommt (129). Da das HELLP-Syndrom auch als Sonderform oder Komplikation der Präeklampsie angesehen wird (4), und man von einer ähnlichen Pathogenese ausgeht, könnte es beim HELLP-Syndrom zu einem ähnlichen Verlauf des sFlt-1-Spiegels kommen wie von der Präeklampsie berichtet. Verschiedene Arbeitsgruppen kamen zu dem Ergebnis, dass es zu einem Anstieg der sFlt-1 schon vor Manifestation der Präeklampsie kommt (121, 122, 126, 127). In diesem Zusammenhang wären weitere Untersuchungen interessant, die klären inwieweit sich die Konzentration von sFlt-1 in Abhängigkeit von der SSW schon vor Manifestation des HELLP-Syndroms verändert. Es wäre demnach möglich, dass sich die Soluble FMS-like Tyrosine Kinase (sFlt-1) zur Vorhersage des HELLP-Syndroms eignet.

4.3 PIGF

Zu den pro-angiogenen Faktoren gehören der Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) und der Placental Growth Factor (PIGF), die beide der gleichen Familie der Gefäß-Wachstumsfaktoren angehören (130). Sie sind wichtige Mediatoren für die Entstehung des Gefäßendothels und des lymphatischen Endothels (131). Der PIGF wurde zuerst aus der gesunden menschlichen Plazenta isoliert (132). Außerdem kommt er in der menschlichen Nabelschnurvene, im Knochenmark, in uterinen natürlichen Killerzellen und in Keratinozyten vor (133). Bei der Wundheilung und Tumorbildung wurden erhöhte Konzentrationen des PIGF gemessen (134). Der genaue Wirkmechanismus ist noch Gegenstand der Forschung. Man nimmt an, dass der PIGF synergistisch zu VEGF die Angiogenese und die Gefäßdurchlässigkeit fördert. Es gibt Hinweise darauf, dass sFlt-1 als Reservoir für VEGF fungieren könnte, der PIGF das VEGF am Rezeptor ersetzt und so VEGF frei wird (135). Weiterhin könnten die Faktoren PIGF/sFlt-1 die Gefäßneubildung durch die Transaktivierung von VEGF verstärken (136). Es ist zudem bekannt, dass die von Monozyten und Makrophagen sezernierten Stoffe die Gefäßneubildung fördern. In vitro führte der PIGF ebenfalls zur Aktivierung und Chemotaxis der Monozyten (137). Eine erhöhte PIGF-

Expression findet sich in der Plazenta in den Zytotrophoblast- und den Synzytiotrophoblastzellen. Inwieweit der PIGF an der Entstehung der Plazenta beteiligt ist, wird jedoch kontrovers diskutiert (133).

In mehreren Publikationen wurde die Konzentration des PIGF bei Präeklampsie-Patientinnen beschrieben. Einige Autoren konnten niedrige Konzentrationen nachweisen (126, 138, 139). Verlohen et al. beschrieben den Verlauf der Plasmakonzentration des PIGF bei gesunden Schwangeren. Dabei kam es zu einem kontinuierlichen Anstieg des PIGF bis zur Mitte des dritten Trimesters und dann zu einem Abfall zum Ende der Schwangerschaft. Die Durchschnittswerte in der Untersuchung gesunder schwangerer Frauen reichten von 62,8 pg/ml in der 10.-14. SSW bis zu einem Maximum von 439 pg/ml in der 29.-33. SSW. In der Gruppe der Präeklampsie-Patientinnen fanden sich signifikant niedrigere Durchschnittswerte für PIGF im Vergleich mit gesunden Schwangeren (PE: 76 ± 11 pg/ml vs. Kontrollgruppe: 342 ± 14 pg/ml) (33). Levine et al. beschrieben ebenfalls den Anstieg des PIGF während der normalen Schwangerschaft und den kontinuierlichen Abfall nach der 32. SSW. Plasma-, Serum- und Urinspiegel des PIGF bei Frauen mit Präeklampsie oder denen, die in naher Zukunft eine Präeklampsie entwickelten, waren signifikant niedriger als bei gesunden Schwangeren. Es wurde ein durchschnittlicher Wert des PIGF von 137 pg/ml bei Präeklampsie-Patientinnen und 669 pg/ml in der Kontrollgruppe ermittelt (126). Es konnte sogar gezeigt werden, dass die Konzentration des PIGF bereits ab Beginn des zweiten Trimesters bei Präeklampsie-Patientinnen deutlich vermindert war (99). Ausgehend von dieser Beobachtung könnte sich der PIGF als Screening-Parameter für die Präeklampsie eignen (54, 78, 99). Unsere Untersuchungen konnten einen signifikanten Abfall des PIGF bei den HELLP-Patientinnen nachweisen. Bei den Präeklampsie-Patientinnen kam es ebenfalls zu einem leichten Abfall des PIGF, statistisch gesehen war das Ergebnis jedoch nicht signifikant. Die Untersuchungen von Young et al., die das Verhalten des PIGF bei HELLP-Patientinnen untersuchten, bestätigen unsere Ergebnisse. Sie konnten einen Abfall des PIGF unter die 10. Perzentile nachweisen (129). Es wäre interessant herauszufinden, ob die PIGF-Konzentration, wie bei Präeklampsie-Patientinnen beschrieben (99), schon im zweiten Trimester vor Manifestation der Erkrankung vermindert ist. Damit bleibt offen, ob sich der PIGF als Diagnostikparameter und Frühmarker für das HELLP-Syndrom eignen könnte.

4.4 Endoglin

Lösliches Endoglin (Soluble Endoglin) gehört ebenfalls zu den anti-angiogenen Proteinen (140). Es wird auf dem Gefäßendothel und auf den Synzytiotrophoblastzellen der reifen Plazenta exprimiert (141). Anhand von Untersuchungen am Tiermodell wurde Endoglin in der Pathophysiologie des HELLP-Syndroms eine wichtige Rolle zugeschrieben. In einer weiteren Studie konnte der Nutzen dieses Markers zur Unterscheidung von HELLP-Syndrom und Präeklampsie jedoch nicht belegt werden (142). Wir konnten einen signifikanten Anstieg der Endoglin-Konzentration beim HELLP-Syndrom und bei der Präeklampsie nachweisen. Die aktuellen Untersuchungen von Young et al. zeigen ebenfalls einen signifikanten Anstieg von Endoglin in der Gruppe der HELLP-Patientinnen (129). Vorpublikationen bestätigen, dass es auch im Serum von Präeklampsie-Patientinnen zu einem signifikanten Anstieg von Endoglin kommt. Venkatesha et al. identifizierten Endoglin als einen Marker, der bei Präeklampsie-Patientinnen ansteigt und mit dem Schweregrad der Erkrankung korreliert (140). Einige Autoren postulierten, dass Endoglin als Marker besonders interessant sei, da er bereits Wochen vor der Manifestation einer Präeklampsie erhöht ist. Bei Patientinnen mit einer Early-onset Präeklampsie konnte ein starker Anstieg der Werte bis auf das Doppelte bereits ab der 17.-20. SSW im Vergleich zu gesunden Schwangeren gezeigt werden (127).

4.5 Ratios

Von den in dieser Studie ermittelten Werten für sFlt-1 und PlGF wurde analog zu Vorpublikationen die Ratio sFlt-1/PlGF gebildet. Es konnte ein signifikanter Anstieg der Ratio in der Gruppe der HELLP- und Präeklampsie-Patientinnen verglichen mit den Kontrollgruppen beobachtet werden. Im Vergleich mit den anderen Markern war die Ratio sFlt-1/PlGF mit einer Sensitivität von 43,5% bei einer Spezifität von 95% in der Diagnostik des HELLP-Syndroms jedoch nicht überlegen. In der Literatur ist die Ratio sFlt-1/PlGF bei HELLP-Patientinnen bislang noch nicht beschrieben. Zur Diagnostik der Präeklampsie eignet sich die Ratio nach den vorliegenden Ergebnissen aufgrund der geringen Sensitivität von 29,3% nur eingeschränkt. Verlohren et al. kamen in einer ähnlichen Studie zu dem gegenteiligen Ergebnis, dass die Ratio sFlt-1/PlGF den einzelnen Markern in der Diagnostik der Präeklampsie überlegen ist. In dieser Studie wurden auch die Serumkonzentrationen von sFlt-1 und PlGF bei gesunden Schwangeren bestimmt und die

Ratio berechnet. Die niedrigste durchschnittliche Ratio wurde zwischen der 24. und 28. SSW mit 3,8 errechnet. Höhere Werte wurden am Anfang (Ratio sFlt-1/PIGF 22,7 in der 10.-14. SSW) und zum Ende der Schwangerschaft (Ratio sFlt-1/PIGF 26,2 ab der 37. SSW) ermittelt (33). Die Untersuchungen von Hirashima et al. bestätigen diese Ergebnisse. Sie konnten ähnliche Werte bei gesunden schwangeren Frauen ermitteln (143). Verlohren et al. bestimmten für Präeklampsie-Patientinnen eine durchschnittliche Ratio sFlt-1/PIGF von 355 ± 45 und in der Kontrollgruppe eine Ratio von 19 ± 2 (33). Die Autoren stellten fest, dass sich die Ratio sFlt-1/PIGF besser als die einzelnen Marker sFlt-1 und PIGF zur Diagnostik der Präeklampsie eignet. Die beste Sensitivität und Spezifität wurde in der Gruppe der Early-onset Präeklampsie beobachtet. Als Cutoff für die Ratio schlugen die Autoren 85 vor. Alle Präeklampsien zusammen genommen hatte der Test damit eine Sensitivität von 82% bei einer Spezifität von 95%. Aufgrund der geringen Fallzahl, räumten die Autoren ein, muss der Grenzwert aber noch weiter untersucht werden. Verlohren et al. empfahlen die Ratio sFlt-1/PIGF im klinischen Alltag zu nutzen, da sie zur Unterscheidung der Differentialdiagnosen der Präeklampsie beitragen kann (33). Romero et al. verwendeten die Ratio PIGF/sFlt-1 (99). Die Ergebnisse dieser prospektiven Untersuchung sind vergleichbar mit denen anderer Studien im Bezug auf die Anwendbarkeit der Ratio als Diagnoseparameter für die Präeklampsie (33). Die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse konnten in dieser Arbeit nicht bestätigt werden. Es kam zwar zu einem Anstieg der durchschnittlichen Ratio sFlt-1/PIGF bei den Präeklampsie-Patientinnen, ein Vorteil der Ratio gegenüber den anderen Markern in der Diagnostik der Präeklampsie zeigte sich jedoch nicht. Wie von Verlohren et al. beschrieben war die Ratio in der Gruppe der Early-onset Präeklampsien besonders aussagekräftig (144). Mit nur sechs Fällen (14,3%) war der Anteil der Early-onset Präeklampsien an der Gesamtzahl der eingeschlossenen Präeklampsie-Patientinnen in der vorliegenden Arbeit jedoch niedrig. In einer aktuellen Studie unterteilten Verlohren et al. die Kontrollgruppe nach der Schwangerschaftswoche. Sie konnten signifikant höhere Werte der Ratio sFlt-1/PIGF bei gesunden Schwangeren nach der 34. SSW nachweisen ($32,5 \pm 4,9$) verglichen mit den Werten bis zur 34. SSW ($9,1 \pm 2,1$). Die Werte wurden mit dem Elecsys[®] (Roche, Penzberg, Deutschland) ermittelt (144). Das Gestationsalter der in der vorliegenden Studie eingeschlossenen Schwangeren der Kontrollgruppe war ausschließlich ≥ 34 . SSW. So ist anzunehmen, dass die Ergebnisse der Ratio sFlt-1/PIGF für die Kontrollgruppe in der vorliegenden Arbeit bei unterschiedlicher Analysesysteme insgesamt höher ausfielen als in einem gemischten Kollektiv. Dies könnten Ursachen dafür sein, dass die vorliegenden Ergebnisse von denen anderer Publikationen abweichen.

Unsere Untersuchungen zeigen, dass die Kombination des Akute-Phase-Proteins Serum Amyloid A und des pro-angiogenen Markers PIGF zu einer Ratio von allen getesteten

Markern die höchste Sensitivität bei der Diagnostik des HELLP-Syndroms aufweist. Die Sensitivität konnte von 61% für den Marker SAA alleine auf 69,6% für die neue Ratio SAA/PIGF angehoben werden. Bisher wurde dieser Marker in der Literatur noch nicht beschrieben, so dass kein Vergleich vorliegt.

4.6 Fehleranalyse

Es sollen mögliche Fehler diskutiert werden, die die Ergebnisse beeinflusst haben könnten. Die niedrige Fallzahl, insbesondere der HELLP-Fälle, ist kritisch zu betrachten. Die Universitätsfrauenklinik Rostock ist mit über 2500 Geburten pro Jahr eine der größten Entbindungseinrichtungen in Deutschland. Da jedoch nur in bis zu 0,9% aller Schwangerschaften ein HELLP-Syndrom auftritt, können nur durch multizentrische Studien oder sehr lange Erfassungszeiträume hohe Fallzahlen generiert werden. Erschwerend kommt hinzu, dass die Definition des HELLP-Syndroms oft nicht einheitlich verwendet wird. Aufgefallen ist in unserer Studie der geringe Anteil von Early-onset Präeklampsien mit nur 14,3%. Viele Autoren fanden die größten Unterschiede zur Kontrollgruppe in eben dieser Subgruppe. Durch den niedrigen Anteil könnten die vorliegenden Ergebnisse im Durchschnitt weniger von der Kontrollgruppe abweichen als in anderen Studien publiziert. Wie zuvor erwähnt, konnte der Blutentnahmezeitpunkt nicht normiert werden. Deshalb mussten Proben und Laborwerte von Patientinnen verglichen werden, die nicht zum gleichen Zeitpunkt gewonnen wurden. Fehler können auch durch das Matching bedingt sein. Schwierig war es das mütterliche Alter anzugleichen und den Early-onset Präeklampsien und HELLP-Patientinnen gesunde Schwangere im gleichen Gestationsalter zuzuordnen. In der Durchführung der Untersuchungen wurden die Proben eingefroren gelagert, mussten jedoch zum Teil mehrfach aufgetaut werden, um die erforderlichen Messungen der Angiogenesefaktoren per ELISA durchzuführen. Ob und in welchem Ausmaß das Auftauen die Messergebnisse beeinflusst haben könnte, ist unklar. Will man Ergebnisse verschiedener Forschungsgruppen vergleichen, müsste außerdem die bisher unterschiedliche Probenaufarbeitung normiert werden und gleiche Testsysteme verwendet werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit sollen somit in Kenntnis der genannten möglichen Fehler interpretiert werden.

4.7 Schlussfolgerung und Ausblick

Nach einem Screeningtest, der das Auftreten einer Präeklampsie oder eines HELLP-Syndroms schon vor der Manifestation klinischer Symptome erkennt, haben schon viele Arbeitsgruppen gesucht. Bisher konnte noch kein zufriedenstellendes Ergebnis erzielt werden. Es wurden eine Vielzahl an Markern identifiziert, die einen positiven prädiktiven Aussagewert bezüglich des Auftretens einer Präeklampsie gezeigt haben. Nach den bisherigen Forschungsergebnissen zu urteilen, ist es jedoch sehr wahrscheinlich, dass ein einzelner Marker nicht ausreichen wird, um eine Präeklampsie oder ein HELLP-Syndrom zuverlässig vorherzusagen. Dabei ist die frühzeitige Diagnostik entscheidend, um eine engmaschige Überwachung der Schwangeren zu erlauben und die Anwendung von Präventivmaßnahmen zu ermöglichen (1). Es hat sich gezeigt, dass die Kombination der Ultraschalluntersuchung mit dem Doppler-Index und die Konzentration der Serummarker die Effektivität der Anamneseerhebung und klinischen Untersuchung zur Vorhersage der Präeklampsie steigern könnte (145). Die Spezifität der Früherkennung von Präeklampsien stieg in einer Untersuchung durch die Kombination der Dopplersonografie der Aa. uterinae mit Biomarkern von 46% (nur Dopplersonografie) auf 73%. Besonders die Vorhersage einer Early-onset Präeklampsie mit Hilfe von sFlt-1 erreichte eine hohe Sensitivität und Spezifität (78). Bei auffälligem uterinen Doppler und Kombination von sFlt-1 und Endoglin konnte in einer anderen Studie eine Sensitivität von 99%, eine Spezifität von 93% und ein positiv prädiktiver Wert von 71% erreicht werden (146). Gegenstand aktueller Forschung ist die Identifizierung von Signaturen mit Hilfe der Massenspektrometrie und das Verständnis der Pathogenese hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen.

Unsere Untersuchungen zeigen, dass es sowohl beim HELLP-Syndrom als auch bei der Präeklampsie zu einem anti-angiogenen Shift (Abfall der pro-angiogenen Faktoren, Anstieg der anti-angiogenen Faktoren) kommt. Eine Entzündungsreaktion ohne klinische Infektionszeichen konnte hingegen nur beim HELLP-Syndrom beobachtet werden. Die gleichartig veränderten Werte der Angiogenesefaktoren beim HELLP-Syndrom und bei der Präeklampsie weisen auf eine gemeinsame Pathogenese der Erkrankungen hin. Diese These wird durch eine Transkriptom-Analyse gestützt, in der gezeigt werden konnte, dass sich die Transkriptome der Plazenten von Early-onset Präeklampsien und dem HELLP-Syndrom stark ähneln (147). Die vorliegende Arbeit kommt zu dem Ergebnis, dass sich die Akute-Phase-Proteine Serum Amyloid A und CRP mit guter Sensitivität zur Diagnostik des HELLP-Syndroms eignen. Bei der Präeklampsie wurde keine signifikante Veränderung von SAA und

CRP beobachtet, so dass der Anstieg der Entzündungsmarker als eine HELLP-spezifische Veränderung angesehen werden muss. Es konnte eine Korrelation von CRP und Serum Amyloid A festgestellt werden. Anhand dieser Ergebnisse kann jedoch keine Aussage bezüglich eines Anstiegs von Serum Amyloid A und CRP vor Manifestation des HELLP-Syndroms gemacht werden. Um den Nutzen der Akute-Phase-Proteine als Frühmarker einzuschätzen, bedarf es weiterer Untersuchungen. Wir konnten den anti-angiogenen Shift bei der Präeklampsie und beim HELLP-Syndrom nachweisen. In vorausgegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass es schon lange vor Manifestation der Präeklampsie zum anti-angiogenen Shift kommt und so eine Präeklampsie frühzeitig diagnostiziert werden könnte (54, 148). Für die Vorhersage des HELLP-Syndroms ist der Nutzen der Angiogenesefaktoren als Frühmarker bisher noch nicht belegt. Es sind weitere Studien notwendig, die den Verlauf der Angiogenesefaktoren abhängig von der Schwangerschaftswoche untersuchen. Durch eine Analyse mit Hilfe der jetzt verfügbaren Routinetests Elecsys[®] PIGF und sFlt-1 von Roche sollte diese Frage jedoch schnell zu klären sein. Wir untersuchten erstmals die Ratio SAA/PIGF. Nach unseren Ergebnissen eignet sich die Ratio SAA/PIGF von allen untersuchten Markern aufgrund der hohen Sensitivität von 69,6% bei einer Spezifität von 95% am besten zur Diagnostik des HELLP-Syndroms. Aufgrund der relativ geringen Fallzahl ist die Aussagekraft jedoch begrenzt. Es gilt die Ergebnisse in multizentrischen Studien zu bestätigen.

Die vorliegende Arbeit konnte Veränderungen der Akute-Phase-Proteine und Angiogenesefaktoren aufzeigen und leistet damit einen Beitrag für zukünftige Diagnostik und therapeutische Ansätze. Es sollte insbesondere die Kombination Serummarker, mütterliche Risikofaktoren und Doppleruntersuchung zur Vorhersage des HELLP-Syndroms und der Präeklampsie untersucht werden. Unsere Ergebnisse bezüglich des anti-angiogenen Shifts weisen auf eine gemeinsame Pathogenese des HELLP-Syndroms und der Präeklampsie hin. Die neue Ratio SAA/PIGF eignete sich gut zur Diagnostik von HELLP-Patientinnen und sollte in zukünftigen Studien eingeschlossen werden.

5 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde nach potentiellen Markern zur Diagnostik des HELLP-Syndroms und der Präeklampsie gesucht. An der Universitätsfrauenklinik am Klinikum Südstadt Rostock wurden im Zeitraum von 2007 bis 2009 die Konzentrationen von Serum Amyloid A, CRP und die Angiogenesefaktoren sFlt-1, PlGF und Endoglin im Serum von HELLP-Patientinnen (n=23), Präeklampsie-Patientinnen (n=46) und gesunden Schwangeren der jeweiligen Kontrollgruppe (n=123) bestimmt. Der Anteil der Early-onset Präeklampsien lag mit sechs Fällen von insgesamt 46 Präeklampsien bei 14,3%. Unsere Untersuchungen zeigen, dass es zu einem signifikanten Anstieg der Akute-Phase-Proteine Serum Amyloid A und CRP in der Gruppe der HELLP-Patientinnen verglichen mit der Kontrollgruppe kam. Außerdem konnte ein signifikanter Anstieg der anti-angiogenen Faktoren sFlt-1 und Endoglin und ein Abfall des pro-angiogenen PlGF beim HELLP-Syndrom nachgewiesen werden. In der Gruppe der Präeklampsie-Patientinnen kam es zu keiner signifikanten Veränderung von SAA und CRP. Es konnte jedoch ebenfalls ein signifikanter Anstieg von sFlt-1 und Endoglin und ein Abfall des PlGF beobachtet werden. Analog zu Vorpublikationen wurde die Ratio sFlt-1/PlGF gebildet, die bei HELLP- und Präeklampsie-Patientinnen signifikant erhöht war. Zudem bildeten wir erstmals die Ratio SAA/PlGF, die durch einen signifikanten Anstieg ebenfalls ein HELLP-Syndrom oder eine Präeklampsie anzeigte. Unsere Ergebnisse bezüglich dem Verhalten der Angiogenesefaktoren stehen in Einklang mit dem in der aktuellen Literatur beschriebenen anti-angiogenen Shift beim HELLP-Syndrom und der Präeklampsie.

Es sollte die Anwendbarkeit der oben genannten Marker in der klinischen Diagnostik überprüft werden. Dazu wurden ROC-Kurven erstellt und die AUC berechnet. Die höchste Sensitivität mit 69,6% bei einer Spezifität von 95% in der Diagnostik des HELLP-Syndroms wurde für die Ratio SAA/PlGF erreicht. Die Sensitivität für die Akute-Phase-Proteine SAA und CRP zur Detektion eines HELLP-Syndroms lag bei 60% und für die Angiogenesefaktoren bei 41%-56%. Es zeigte sich, dass sowohl die einzelnen Marker als auch die Ratio sFlt-1/PlGF und SAA/PlGF in der Gruppe der Präeklampsie-Patientinnen eine geringere Sensitivität von 11%-35% bei einer Spezifität von 95% aufwiesen. Unsere Ergebnisse gehen konform mit den in der Literatur publizierten

Ergebnissen zum Verhalten der Angiogenesefaktoren bei der Präeklampsie. Einige Autoren konnten den anti-angiogenen Shift sogar frühzeitig vor Manifestation der Präeklampsie nachweisen. Damit könnten sich die Angiogenesemarker als Frühmarker zur Diagnostik eignen. Diesbezügliche Untersuchungen für das HELLP-Syndrom stehen noch aus. Die gleichartig veränderten Werte der Serummarker beim HELLP-Syndrom und bei der Präeklampsie könnten jedoch auf eine gemeinsame Pathogenese der Erkrankungen hinweisen.

6 Thesen

- In dieser Arbeit wurden erstmals Akute-Phase-Proteine und Angiogenesefaktoren als geeignete Marker zur Diagnostik des HELLP-Syndroms untersucht.
- Beim HELLP-Syndrom kommt es zu einer Entzündungsreaktion ohne klinische Infektionszeichen mit Anstieg der Akute-Phase-Proteine Serum Amyloid A und CRP. Die Marker eignen sich mit einer Sensitivität von 60% bei einer Spezifität von 95% zur Diagnostik des HELLP-Syndroms.
- Die Akute-Phase-Proteine CRP und Serum Amyloid A eignen sich nicht zur Diagnostik der Präeklampsie. Die Angiogenesefaktoren können mit einer Sensitivität zwischen 33% und 35% bei einer Spezifität von 95% zur Diagnostik der Präeklampsie beitragen.
- Sowohl beim HELLP-Syndrom als auch bei der Präeklampsie kommt es zu einem anti-angiogenen Shift mit Anstieg der anti-angiogenen Faktoren sFlt-1 und Endoglin und Abfall des pro-angiogenen Markers Placental Growth Factor (PlGF). Der anti-angiogene Shift könnte auf eine gemeinsame Pathogenese beider Erkrankungen hinweisen.
- Die Ratio SAA/PlGF eignet sich von den untersuchten Markern am besten zur Diagnostik des HELLP-Syndroms mit einer Sensitivität von 69,9% und einer Spezifität von 95%.
- In der Gruppe der HELLP- und Präeklampsie-Patientinnen war die Ratio sFlt-1/PlGF signifikant erhöht. Sie weist zur Diagnostik des HELLP-Syndroms eine höhere Sensitivität auf (43,5%) als zur Diagnostik der Präeklampsie (29,3%) bei 95% Spezifität.
- Aufgrund der relativ geringen Fallzahl ist die Aussagekraft der Ergebnisse begrenzt und sie sollten in multizentrischen Studien bestätigt werden.

7 Literaturverzeichnis

1. Steegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet* 2010;376:631-44.
2. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005;365:785-99.
3. Mihu D, Costin N, Mihu CM, Seicean A, Ciortea R. HELLP syndrome - a multisystemic disorder. *J Gastrointestin Liver Dis* 2007;16:419-24.
4. Haram K, Svendsen E, Abildgaard U. The HELLP syndrome: clinical issues and management. A Review. *BMC Pregnancy Childbirth* 2009;9:8.
5. Sep S, Verbeek J, Koek G, Smits L, Spaanderman M, Peeters L. Clinical differences between early-onset HELLP syndrome and early-onset preeclampsia during pregnancy and at least 6 months postpartum. *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:271.e1-5.
6. Weinstein L. Syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: a severe consequence of hypertension in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1982;142:159-67.
7. Geary M. The HELLP syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1997;104:887-91.
8. van Runnard Heimel PJ, Franx A, Schobben AF, Huisjes AJ, Derks JB, Bruinse HW. Corticosteroids, pregnancy, and HELLP syndrome: a review. *Obstet Gynecol Surv* 2005;60:57-70.
9. Audibert F, Friedman SA, Frangieh AY, Sibai BM. Clinical utility of strict diagnostic criteria for the HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:460-4.
10. Sibai BM. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): much ado about nothing? *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:311-6.
11. Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *Obstet Gynecol* 2004;103:981-91.
12. Cavkaytar S, Ugurlu EN, Karaer A, Tapisiz OL, Danisman N. Are clinical symptoms more predictive than laboratory parameters for adverse maternal outcome in HELLP syndrome? *Acta Obstet Gynecol Scand* 2007;86:648-51.

13. Knight M, UKOSS. Eclampsia in the United Kingdom 2005. *BJOG* 2007;114:1072-8.
14. Padden MO. HELLP syndrome: recognition and perinatal management. *Am Fam Physician* 1999;60:829-36, 39.
15. Rahman TM, Wendon J. Severe hepatic dysfunction in pregnancy. *QJM* 2002;95:343-57.
16. O'Brien J, Buckley O, Munk PL, Torreggiani WC. An unusual case of elevated liver enzymes (2006: 10b). Hepatic necrosis following HELLP syndrome. *Eur Radiol* 2007;17:289-91.
17. Ch'ng CL, Morgan M, Hainsworth I, Kingham JG. Prospective study of liver dysfunction in pregnancy in Southwest Wales. *Gut* 2002;51:876-80.
18. Ertan AK, Wagner S, Hendrik HJ, Tanriverdi HA, Schmidt W. Clinical and biophysical aspects of HELLP-syndrome. *J Perinat Med* 2002;30:483-9.
19. Nunes JO, Turner MA, Fulcher AS. Abdominal imaging features of HELLP syndrome: a 10-year retrospective review. *AJR Am J Roentgenol* 2005;185:1205-10.
20. Martin JN, Rose CH, Briery CM. Understanding and managing HELLP syndrome: the integral role of aggressive glucocorticoids for mother and child. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:914-34.
21. Gul A, Cebeci A, Aslan H, Polat I, Ozdemir A, Ceylan Y. Perinatal outcomes in severe preeclampsia-eclampsia with and without HELLP syndrome. *Gynecol Obstet Invest* 2005;59:113-8.
22. Sibai BM, Mercer BM, Schiff E, Friedman SA. Aggressive versus expectant management of severe preeclampsia at 28 to 32 weeks' gestation: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:818-22.
23. Barton JR, Sibai BM. Diagnosis and management of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Clin Perinatol* 2004;31:807-33.
24. Isler CM, Barrilleaux PS, Magann EF, Bass JD, Martin JN. A prospective, randomized trial comparing the efficacy of dexamethasone and betamethasone for the treatment of antepartum HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count) syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1332-7.
25. Hincz P, Bielak A, Borowski D, Wojciechowska E, Wojciechowski M, Wilczyński J. The use of steroids in the treatment of HELLP syndrome--case report. *Ginekol Pol* 2007;78:245-7.
26. Vidaeff AC, Yeomans ER. Corticosteroids for the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP): what evidence? *Minerva Ginecol* 2007;59:183-90.

27. O'Shea TM, Doyle LW. Perinatal glucocorticoid therapy and neurodevelopmental outcome: an epidemiologic perspective. *Semin Neonatol* 2001;6:293-307.
28. Eser B, Guven M, Unal A, Coskun R, Altuntas F, Sungur M, et al. The role of plasma exchange in HELLP syndrome. *Clin Appl Thromb Hemost* 2005;11:211-7.
29. Zhang J, Meikle S, Trumble A. Severe maternal morbidity associated with hypertensive disorders in pregnancy in the United States. *Hypertens Pregnancy* 2003;22:203-12.
30. Sibai BM, Ramadan MK, Usta I, Salama M, Mercer BM, Friedman SA. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:1000-6.
31. O'Brien JM, Barton JR. Controversies with the diagnosis and management of HELLP syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 2005;48:460-77.
32. Rath W, Fischer T. The diagnosis and treatment of hypertensive disorders of pregnancy: new findings for antenatal and inpatient care. *Dtsch Arztebl Int* 2009;106:733-8.
33. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, et al. An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:161.e1-e11.
34. Franz MB, Husslein PW, Zeisler H. *Neue Methoden zur Früherkennung der Präeklampsie*: Springer Medizin Verlag; 2009.
35. Noris M, Perico N, Remuzzi G. Mechanisms of disease: Pre-eclampsia. *Nat Clin Pract Nephrol* 2005;1:98-114.
36. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol* 2009;33:130-7.
37. Wallis AB, Saftlas AF, Hsia J, Atrash HK. Secular trends in the rates of preeclampsia, eclampsia, and gestational hypertension, United States, 1987-2004. *Am J Hypertens* 2008;21:521-6.
38. Berg CJ, Mackay AP, Qin C, Callaghan WM. Overview of maternal morbidity during hospitalization for labor and delivery in the United States: 1993-1997 and 2001-2005. *Obstet Gynecol* 2009;113:1075-81.
39. Milne F, Redman C, Walker J, Baker P, Bradley J, Cooper C, et al. The pre-eclampsia community guideline (PRECOG): how to screen for and detect onset of pre-eclampsia in the community. *BMJ* 2005;330:576-80.
40. 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.

41. 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.
42. Sibai BM, Stella CL. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:481.e1-7.
43. Practice ACoO. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 2002;77:67-75.
44. Chappell LC, Enye S, Seed P, Briley AL, Poston L, Shennan AH. Adverse perinatal outcomes and risk factors for preeclampsia in women with chronic hypertension: a prospective study. *Hypertension* 2008;51:1002-9.
45. Sibai BM. Preeclampsia as a cause of preterm and late preterm (near-term) births. *Semin Perinatol* 2006;30:16-9.
46. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ* 2005;330:565.
47. Kaaja R. Predictors and risk factors of pre-eclampsia. *Minerva Ginecol* 2008;60:421-9.
48. Milne F, Redman C, Walker J, Baker P, Black R, Blincowe J, et al. Assessing the onset of pre-eclampsia in the hospital day unit: summary of the pre-eclampsia guideline (PRECOG II). *BMJ* 2009;339:b3129.
49. Lindheimer MD, Kanter D. Interpreting abnormal proteinuria in pregnancy: the need for a more pathophysiological approach. *Obstet Gynecol* 2010;115:365-75.
50. Zhang J, Klebanoff MA, Roberts JM. Prediction of adverse outcomes by common definitions of hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2001;97:261-7.
51. Plasencia W, Maiz N, Bonino S, Kaihura C, Nicolaides KH. Uterine artery Doppler at 11 + 0 to 13 + 6 weeks in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;30:742-9.
52. Practice. CoO. ACOG committee opinion. Antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 2002;78:95-7.
53. Vatten LJ, Nilsen TI, Juul A, Jeansson S, Jenum PA, Eskild A. Changes in circulating level of IGF-I and IGF-binding protein-1 from the first to second trimester as predictors of preeclampsia. *Eur J Endocrinol* 2008;158:101-5.
54. 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.e1-8.

55. Ganzevoort W, Rep A, Bonsel GJ, Fetter WP, van Sonderen L, De Vries JI, et al. A randomised controlled trial comparing two temporising management strategies, one with and one without plasma volume expansion, for severe and early onset pre-eclampsia. *BJOG* 2005;112:1358-68.
56. Freeman RK. Antepartum testing in patients with hypertensive disorders in pregnancy. *Semin Perinatol* 2008;32:271-3.
57. Clark EA, Silver RM, Branch DW. Do antiphospholipid antibodies cause preeclampsia and HELLP syndrome? *Curr Rheumatol Rep* 2007;9:219-25.
58. Gómez-Puerta JA, Cervera R, Espinosa G, Asherson RA, García-Carrasco M, da Costa IP, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome during pregnancy and puerperium: maternal and fetal characteristics of 15 cases. *Ann Rheum Dis* 2007;66:740-6.
59. Mostello D, Jen Chang J, Allen J, Luehr L, Shyken J, Leet T. Recurrent preeclampsia: the effect of weight change between pregnancies. *Obstet Gynecol* 2010;116:667-72.
60. Davison JM, Homuth V, Jeyabalan A, Conrad KP, Karumanchi SA, Quaggin S, et al. New aspects in the pathophysiology of preeclampsia. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:2440-8.
61. Pandian Z, Bhattacharya S, Templeton A. Review of unexplained infertility and obstetric outcome: a 10 year review. *Hum Reprod* 2001;16:2593-7.
62. Trogstad L, Magnus P, Moffett A, Stoltenberg C. The effect of recurrent miscarriage and infertility on the risk of pre-eclampsia. *BJOG* 2009;116:108-13.
63. Ng EH, Chan CC, Tang OS, Yeung WS, Ho PC. The role of endometrial and subendometrial vascularity measured by three-dimensional power Doppler ultrasound in the prediction of pregnancy during frozen-thawed embryo transfer cycles. *Hum Reprod* 2006;21:1612-7.
64. Le Bouteiller P, Pizzato N, Barakonyi A, Solier C. HLA-G, pre-eclampsia, immunity and vascular events. *J Reprod Immunol* 2003;59:219-34.
65. Jauniaux E, Poston L, Burton GJ. Placental-related diseases of pregnancy: Involvement of oxidative stress and implications in human evolution. *Hum Reprod Update* 2006;12:747-55.
66. Brosens JJ, Parker MG, McIndoe A, Pijnenborg R, Brosens IA. A role for menstruation in preconditioning the uterus for successful pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:615.e1-6.
67. Haig D. Altercation of generations: genetic conflicts of pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1996;35:226-32.
68. Burton GJ, Jauniaux E, Watson AL. Maternal arterial connections to the placental intervillous space during the first trimester of human pregnancy: the Boyd collection revisited. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:718-24.

69. Burton GJ, Jauniaux E. Placental oxidative stress: from miscarriage to preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig* 2004;11:342-52.
70. Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Annu* 1972;1:177-91.
71. Pijnenborg R, Vercruyssen L, Hanssens M. The uterine spiral arteries in human pregnancy: facts and controversies. *Placenta* 2006;27:939-58.
72. Lee ES, Oh MJ, Jung JW, Lim JE, Seol HJ, Lee KJ, et al. The levels of circulating vascular endothelial growth factor and soluble Flt-1 in pregnancies complicated by preeclampsia. *J Korean Med Sci* 2007;22:94-8.
73. Burton GJ, Yung HW, Cindrova-Davies T, Charnock-Jones DS. Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia. *Placenta* 2009;30:S43-8.
74. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:499-506.
75. Agatisa PK, Ness RB, Roberts JM, Costantino JP, Kuller LH, McLaughlin MK. Impairment of endothelial function in women with a history of preeclampsia: an indicator of cardiovascular risk. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;286:H1389-93.
76. Zhou Y, McMaster M, Woo K, Janatpour M, Perry J, Karpanen T, et al. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Am J Pathol* 2002;160:1405-23.
77. Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension* 2008;51:970-5.
78. Stepan H, Unversucht A, Wessel N, Faber R. Predictive value of maternal angiogenic factors in second trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion. *Hypertension* 2007;49:818-24.
79. Koga K, Osuga Y, Tajima T, Hirota Y, Igarashi T, Fujii T, et al. Elevated serum soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) level in women with hydatidiform mole. *Fertil Steril* 2010;94:305-8.
80. Kanter D, Lindheimer MD, Wang E, Borromeo RG, Bousfield E, Karumanchi SA, et al. Angiogenic dysfunction in molar pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:184.e1-5.
81. Redman CW, Sargent IL. Placental stress and pre-eclampsia: a revised view. *Placenta* 2009;30:S38-42.
82. Myers J, Mires G, Macleod M, Baker P. In preeclampsia, the circulating factors capable of altering in vitro endothelial function precede clinical disease. *Hypertension* 2005;45:258-63.

83. Irani RA, Xia Y. The functional role of the renin-angiotensin system in pregnancy and preeclampsia. *Placenta* 2008;29:763-71.
84. Kumru S, Godekmerdan A, Kutlu S, Ozcan Z. Correlation of maternal serum high-sensitive C-reactive protein levels with biochemical and clinical parameters in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006;124:164-7.
85. Buimer M, Keijser R, Jebbink JM, Wehkamp D, van Kampen AH, Boer K, et al. Seven placental transcripts characterize HELLP-syndrome. *Placenta* 2008;29:444-53.
86. Wikström AK, Larsson A, Akerud H, Olovsson M. Increased circulating levels of the antiangiogenic factor endostatin in early-onset but not late-onset preeclampsia. *Reprod Sci* 2009;16:995-1000.
87. Roberts JM, Hubel CA. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta* 2009;30:S32-7.
88. Zusterzeel PL, Peters WH, Burton GJ, Visser W, Roelofs HM, Steegers EA. Susceptibility to pre-eclampsia is associated with multiple genetic polymorphisms in maternal biotransformation enzymes. *Gynecol Obstet Invest* 2007;63:209-13.
89. Sibai BM, Caritis S, Hauth J, Network NIOCHaHDM-FMU. What we have learned about preeclampsia. *Semin Perinatol* 2003;27:239-46.
90. Steinborn A, Rebmann V, Scharf A, Sohn C, Grosse-Wilde H. Soluble HLA-DR levels in the maternal circulation of normal and pathologic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:473-9.
91. Baxter JK, Weinstein L. HELLP syndrome: the state of the art. *Obstet Gynecol Surv* 2004;59:838-45.
92. Wilke G, Rath W, Schutz E, Armstrong VW, Kuhn W. Haptoglobin as a sensitive marker of hemolysis in HELLP-syndrome. *Int J Gynaecol Obstet* 1992;39:29-34.
93. Kam PC, Thompson SA, Liew AC. Thrombocytopenia in the parturient. *Anaesthesia* 2004;59:255-64.
94. Sziller I, Hupuczi P, Normand N, Halmos A, Papp Z, Witkin SS. Fas (TNFRSF6) gene polymorphism in pregnant women with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets and in their neonates. *Obstet Gynecol* 2006;107:582-7.
95. Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2004;104:1367-91.
96. Shibata E, Rajakumar A, Powers RW, Larkin RW, Gilmour C, Bodnar LM, et al. Soluble fms-like tyrosine kinase 1 is increased in preeclampsia but not in normotensive pregnancies with small-for-gestational-age neonates: relationship to circulating placental growth factor. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4895-903.

97. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003;111:649-58.
98. Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, Bujold E, Mee Kim Y, Gonçalves LF, et al. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. Young Investigator Award. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:1541-7.
99. Romero R, Nien JK, Espinoza J, Todem D, Fu W, Chung H, et al. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2008;21:9-23.
100. Heitner JC, Koy C, Kreutzer M, Gerber B, Reimer T, Glocker MO. Differentiation of HELLP patients from healthy pregnant women by proteome analysis--on the way towards a clinical marker set. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2006;840:10-9.
101.
http://www.molar.unibe.ch/help/statistics/SPSS/34_Boxplots_und_Fehlerbalken.pdf.
102. http://de.wikipedia.org/wiki/Receiver_Operating_Characteristic.
103. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 1988;44:837-45.
104. Cicarelli LM, Perroni AG, Zugaib M, de Albuquerque PB, Campa A. Maternal and cord blood levels of serum amyloid A, C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interleukin-8 during and after delivery. *Mediators Inflamm* 2005;2005:96-100.
105. Kristensen K, Wide-Svensson D, Lindstrom V, Schmidt C, Grubb A, Strevens H. Serum amyloid a protein and C-reactive protein in normal pregnancy and preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 2009;67:275-80.
106. Nakayama T, Sonoda S, Urano T, Yamada T, Okada M. Monitoring both serum amyloid protein A and C-reactive protein as inflammatory markers in infectious diseases. *Clin Chem* 1993;39:293-7.
107. Malle E, De Beer FC. Human serum amyloid A (SAA) protein: a prominent acute-phase reactant for clinical practice. *Eur J Clin Invest* 1996;26:427-35.
108. Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res* 2001;89:763-71.
109. Zhao Y, He X, Shi X, Huang C, Liu J, Zhou S, et al. Association between serum amyloid A and obesity: a meta-analysis and systematic review. *Inflamm Res* 2010;59:323-34.

110. Kovacevic A, Hammer A, Sundl M, Pfister B, Hrzenjak A, Ray A, et al. Expression of serum amyloid A transcripts in human trophoblast and fetal-derived trophoblast-like choriocarcinoma cells. *FEBS Lett* 2006;580:161-7.
111. Paternoster DM, Fantinato S, Stella A, Nanhornguè KN, Milani M, Plebani M, et al. C-reactive protein in hypertensive disorders in pregnancy. *Clin Appl Thromb Hemost* 2006;12:330-7.
112. Pecks U, Seidenspinner F, Röwer C, Reimer T, Rath W, Glocker MO. Multifactorial analysis of affinity-mass spectrometry data from serum protein samples: a strategy to distinguish patients with preeclampsia from matching control individuals. *J Am Soc Mass Spectrom* 2010;21:1699-711.
113. Sacks GP, Seyani L, Lavery S, Trew G. Maternal C-reactive protein levels are raised at 4 weeks gestation. *Hum Reprod* 2004;19:1025-30.
114. Sacks GP, Studena K, Sargent K, Redman CW. Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:80-6.
115. Wolf M, Kettyle E, Sandler L, Ecker JL, Roberts J, Thadhani R. Obesity and preeclampsia: the potential role of inflammation. *Obstet Gynecol* 2001;98:757-62.
116. Teran E, Escudero C, Moya W, Flores M, Vallance P, Lopez-Jaramillo P. Elevated C-reactive protein and pro-inflammatory cytokines in Andean women with pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 2001;75:243-9.
117. Belo L, Santos-Silva A, Rocha S, Caslake M, Cooney J, Pereira-Leite L, et al. Fluctuations in C-reactive protein concentration and neutrophil activation during normal human pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;123:46-51.
118. Thorn CF, Lu ZY, Whitehead AS. Regulation of the human acute phase serum amyloid A genes by tumour necrosis factor-alpha, interleukin-6 and glucocorticoids in hepatic and epithelial cell lines. *Scand J Immunol* 2004;59:152-8.
119. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:972-8.
120. Gómez-Ambrosi J, Salvador J, Rotellar F, Silva C, Catalán V, Rodríguez A, et al. Increased serum amyloid A concentrations in morbid obesity decrease after gastric bypass. *Obes Surg* 2006;16:262-9.
121. Koga K, Osuga Y, Yoshino O, Hirota Y, Ruimeng X, Hirata T, et al. Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2348-51.

122. Stepan H, Geide A, Faber R. Soluble fms-like tyrosine kinase 1. *N Engl J Med* 2004;351:2241-2.
123. Belgore FM, Blann AD, Li-Saw-Hee FL, Beevers DG, Lip GY. Plasma levels of vascular endothelial growth factor and its soluble receptor (sFlt-1) in essential hypertension. *Am J Cardiol* 2001;87:805-7, A9.
124. Clark DE, Smith SK, He Y, Day KA, Licence DR, Corps AN, et al. A vascular endothelial growth factor antagonist is produced by the human placenta and released into the maternal circulation. *Biol Reprod* 1998;59:1540-8.
125. Belgore FM, Lip GY, Blann AD. Vascular endothelial growth factor and its receptor, Flt-1, in smokers and non-smokers. *Br J Biomed Sci* 2000;57:207-13.
126. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004;350:672-83.
127. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006;355:992-1005.
128. Robinson CJ, Johnson DD, Chang EY, Armstrong DM, Wang W. Evaluation of placenta growth factor and soluble Fms-like tyrosine kinase 1 receptor levels in mild and severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:255-9.
129. Young B, Levine RJ, Salahuddin S, Qian C, Lim KH, Karumanchi SA, et al. The use of angiogenic biomarkers to differentiate non-HELLP related thrombocytopenia from HELLP syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010;23:366-70.
130. Li X, Eriksson U. Novel PDGF family members: PDGF-C and PDGF-D. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003;14:91-8.
131. McColl BK, Stacker SA, Achen MG. Molecular regulation of the VEGF family -- inducers of angiogenesis and lymphangiogenesis. *APMIS* 2004;112:463-80.
132. Yang W, Ahn H, Hinrichs M, Torry RJ, Torry DS. Evidence of a novel isoform of placenta growth factor (PlGF-4) expressed in human trophoblast and endothelial cells. *J Reprod Immunol* 2003;60:53-60.
133. Torry DS, Mukherjea D, Arroyo J, Torry RJ. Expression and function of placenta growth factor: implications for abnormal placentation. *J Soc Gynecol Investig* 2003;10:178-88.
134. Luttun A, Tjwa M, Moons L, Wu Y, Angelillo-Scherrer A, Liao F, et al. Revascularization of ischemic tissues by PlGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1. *Nat Med* 2002;8:831-40.
135. Park JE, Chen HH, Winer J, Houck KA, Ferrara N. Placenta growth factor. Potentiation of vascular endothelial growth factor bioactivity, in vitro and in vivo, and high affinity binding to Flt-1 but not to Flk-1/KDR. *J Biol Chem* 1994;269:25646-54.

136. Autiero M, Waltenberger J, Communi D, Kranz A, Moons L, Lambrechts D, et al. Role of PlGF in the intra- and intermolecular cross talk between the VEGF receptors Flt1 and Flk1. *Nat Med* 2003;9:936-43.
137. Pipp F, Heil M, Issbrücker K, Ziegelhoeffer T, Martin S, van den Heuvel J, et al. VEGFR-1-selective VEGF homologue PlGF is arteriogenic: evidence for a monocyte-mediated mechanism. *Circ Res* 2003;92:378-85.
138. Kim SY, Ryu HM, Yang JH, Kim MY, Han JY, Kim JO, et al. Increased sFlt-1 to PlGF ratio in women who subsequently develop preeclampsia. *J Korean Med Sci* 2007;22:873-7.
139. Tidwell SC, Ho HN, Chiu WH, Torry RJ, Torry DS. Low maternal serum levels of placenta growth factor as an antecedent of clinical preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1267-72.
140. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 2006;12:642-9.
141. Gougos A, St Jacques S, Greaves A, O'Connell PJ, d'Apice AJ, Bühring HJ, et al. Identification of distinct epitopes of endoglin, an RGD-containing glycoprotein of endothelial cells, leukemic cells, and syncytiotrophoblasts. *Int Immunol* 1992;4:83-92.
142. Hertig A, Fort J, Lefevre G, Chabbert-Buffet N, Uzan M, Rondeau E, et al. Soluble endoglin in preeclamptic patients with or without HELLP syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:594.e1-4.
143. Hirashima C, Ohkuchi A, Arai F, Takahashi K, Suzuki H, Watanabe T, et al. Establishing reference values for both total soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and free placental growth factor in pregnant women. *Hypertens Res* 2005;28:727-32.
144. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H, et al. The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol* 2012;206:58.e1-8.
145. Thilaganathan B, Wormald B, Zanardini C, Sheldon J, Ralph E, Papageorghiou AT. Early-pregnancy multiple serum markers and second-trimester uterine artery Doppler in predicting preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2010;115:1233-8.
146. Stepan H, Geipel A, Schwarz F, Krämer T, Wessel N, Faber R. Circulatory soluble endoglin and its predictive value for preeclampsia in second-trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:175.e1-6.
147. Várkonyi T, Nagy B, Füle T, Tarca AL, Karászi K, Schönleber J, et al. Microarray profiling reveals that placental transcriptomes of early-onset HELLP syndrome and preeclampsia are similar. *Placenta* 2011;32:S21-9.
148. Stepan H, Jank A. Angiogenic factors and their role in pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Z Geburtshilfe Neonatol* 2009;213:101-5.

8 Anhang

8.1 Abkürzungsverzeichnis

ASAT	Aspartat-Aminotransferase
AUC	Area Under the Curve
BMI	Body-Mass-Index
CRP	C-reaktives Protein
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Endoglin	Soluble Endoglin
HELLP	Hemolysis, Elevated Liver Enzymes, and Low Platelet Count
LDH	Laktatdehydrogenase
PE	Präeklampsie
PIGF	Placental Growth Factor
ROC-Kurve	Receiver Operating Characteristic-Kurve
SAA	Serum Amyloid A
sFlt-1	Soluble FMS-like Tyrosine Kinase 1
SSW	Schwangerschaftswoche
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
95%KI	95%-Konfidenzintervall

8.2 Abbildungsverzeichnis

	Seite	
Abb. 1	Das Nephelometer BN ProSpec [®] System (Foto).	21
Abb. 2	Konzentration von SAA in den Subgruppen (Boxplot).	27
Abb. 3	Ergebnisse von SAA bei einem Grenzwert von 9 mg/l (Diagramm).	28
Abb. 4	Konzentration von CRP in den Subgruppen (Boxplot).	29
Abb. 5	Konzentration von sFlt-1 in den Subgruppen (Boxplot).	30
Abb. 6	Konzentration von PIGF in den Subgruppen (Boxplot).	31
Abb. 7	Konzentration von Endoglin in den Subgruppen (Boxplot).	32
Abb. 8	Ergebnisse von Endoglin bei einem Grenzwert von 21 ng/ml (Diagramm).	33
Abb. 9	Werte der Ratio sFlt-1/PIGF in den Subgruppen (Boxplot).	34
Abb. 10	Ergebnisse der Ratio sFlt-1/PIGF bei einem Grenzwert von 124 (Diagramm).	34
Abb. 11	Werte der Ratio SAA/PIGF in den Subgruppen (Boxplot).	35
Abb. 12	Ergebnisse der Ratio SAA/PIGF bei einem Grenzwert von 0,25 (Diagramm).	36
Abb. 13	ROC-Kurve für SAA in der Diagnostik des HELLP-Syndroms.	38
Abb. 14	ROC-Kurve für CRP in der Diagnostik des HELLP-Syndroms.	38
Abb. 15	ROC-Kurve für sFlt-1 in der Diagnostik des HELLP-Syndroms.	38
Abb. 16	ROC-Kurve für PIGF in der Diagnostik des HELLP-Syndroms.	39
Abb. 17	ROC-Kurve für Endoglin in der Diagnostik des HELLP-Syndroms.	39
Abb. 18	ROC-Kurve der Ratio sFlt-1/PIGF in der Diagnostik des HELLP-Syndroms.	39
Abb. 19	ROC-Kurve der Ratio SAA/PIGF in der Diagnostik des HELLP-Syndroms.	40
Abb. 20	ROC-Kurve für SAA in der Diagnostik der Präeklampsie.	41
Abb. 21	ROC-Kurve für CRP in der Diagnostik der Präeklampsie.	41
Abb. 22	ROC-Kurve für sFlt-1 in der Diagnostik der Präeklampsie.	41
Abb. 23	ROC-Kurve für PIGF in der Diagnostik der Präeklampsie.	42
Abb. 24	ROC-Kurve für Endoglin in der Diagnostik der Präeklampsie.	42
Abb. 25	ROC-Kurve der Ratio sFlt-1/PIGF in der Diagnostik der Präeklampsie.	42
Abb. 26	ROC-Kurve der Ratio SAA/PIGF in der Diagnostik der Präeklampsie.	43

8.3 Tabellenverzeichnis

	Seite
Tab. 1 Subgruppen für die Serumanalysen.	17
Tab. 2 Anamnese, klinische Parameter und fetales Outcome der HELLP-Patientinnen.	18
Tab. 3 Anamnese, klinische Parameter und fetales Outcome der Präeklampsie-Patientinnen.	19-20
Tab. 4 Verwendetes Material für die Nephelometrie.	21
Tab. 5 Verwendetes Material für die Turbidimetrie.	22
Tab. 6 Verwendete Materialien für die ELISA-Tests.	22
Tab. 7 Übersicht über die ermittelten Werte für SAA.	27
Tab. 8 Übersicht über die ermittelten Werte für das CRP.	29
Tab. 9 Übersicht über die ermittelten Werte für sFlt-1.	30
Tab. 10 Übersicht über die ermittelten Werte für PlGF.	31
Tab. 11 Übersicht über die ermittelten Werte für Endoglin.	32
Tab. 12 Übersicht über die ermittelten Werte der Ratio sFlt-1/PlGF.	33
Tab. 13 Übersicht über die ermittelten Werte der Ratio SAA/PlGF.	35
Tab. 14 Übersicht der Sensitivität und AUC beim HELLP-Syndrom.	37
Tab. 15 Übersicht der Sensitivität und AUC bei der Präeklampsie.	40

8.4 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich eidesstattlich, dass ich, Henrike Rohrmann, die vorliegende Dissertation selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Weder diese noch eine andere Dissertation habe ich bisher an dieser oder einer anderen Fakultät vorgelegt.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Rostock, April 2012

Henrike Rohrmann

8.5 Danksagung

Herzlich danken möchte ich Prof. Dr. med. Toralf Reimer für die Vergabe des Themas, für die gute Betreuung und für Anregungen und Hilfestellungen bei der Anfertigung der Arbeit.

Mein Dank gilt auch Frau Dipl.-Biol. A.-K. Krüger und Frau Dipl.-Chem. I. Reischke aus der Abteilung für Labordiagnostik des Klinikum Südstadt für die laborchemische Bestimmung der Akute-Phase-Proteine und das Sammeln und Einfrieren der Serumproben.

Außerdem möchte ich Frau Dr. D.-U. Richter und Frau Greschkowitz aus dem Forschungslabor der Universitätsfrauenklinik danken, die mir bei der Durchführung der ELISA-Untersuchungen mit Rat und Tat zur Seite standen.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie für den Rückhalt und die fortwährende Unterstützung auf meinem gesamten Lebensweg.