

# Angiogene proteiner: mulige markører for patofysiologiske processer under fosterudvikling

Stud.med. Tina Marie Petersen, Torben Larsen & Hans Jørgen Nielsen

## Resumé

Angiogenese (karnydannelse) er essentiel under graviditeten. Processen reguleres af specifikke vækstfaktorer og receptorer, bl.a. *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *placenta growth factor* og en cirkulerende VEGF-1-receptor. Disse proteiner er påvist bl.a. i maternelt serum/plasma. Graviditetsrelaterede patologiske tilstande (præeklampsi og vækstretardering) synes at være relaterede til abnorm ekspression af disse molekyler, og muligheden for at benytte dem som tidlige markører for udviklingen af graviditetskomplikationer er nærliggende. Imidlertid induceres angiogenese også af bl.a. inflammation og cancer. Validering af markørernes specificitet og sensitivitet nødvendiggør målinger af vækstfaktorer i forhold til gestationstidspunkt, evt. suppleret med målinger af andre endotelderiverede molekyler.

Angiogenese er en forudsætning for vækst og differentiering af væv og organer. Til stadighed remodeleres organismens kargebeter, både ved fysiologiske processer og som led i patologiske tilstande (Fig. 1). Angiogenese er en kompleks proces, der reguleres via pro- og antiangiogene molekyler. Processen er helt essentiel under graviditet, dels pga. fosterets stadige vækst, dels for at sikre en sufficient placentaudvikling. Denne oversigt vil fokusere på angiogenesen under graviditet, en specifikt reguleret, fysiologisk tilstand og på mulighederne for at benytte angiogene molekyler som markører for patologiske graviditetsrelaterede tilstande, såsom præeklampsi og vækstretardering, idet der er evidens for, at angiogen dysregulering og generel endotelaktivering spiller en rolle i patogenesen.

Oversigten er baseret på Pub Med-søgninger (søgeord: VEGF, PlGF, sVEGFR-1, *angiogenesis*, *pregnancy*, *preeclampsia*, *IUGR*, *plasma*, *endothelium* og *placenta*), og de udvalgte referencer repræsenterer dels status- og oversigtsartikler om *vascular endothelial growth factor* (VEGF)-proteineres roller i forbindelse med fosterudvikling, dels de relevante og velgennemførte studier, der belyser VEGF-proteineres potentiale som markører for graviditetsrelaterede patologiske tilstande. Alle referencer, som omhandler proteiner af VEGF-familien, er publiceret i årene 1996-2001. Der foreligger ingen Cochrane-reviews om emnet.

## Angiogene molekyler, VEGF-familien

Angiogenese reguleres af adskillige molekyler, hvis indbyrdes samspil ikke er klarlagt i detaljer. De væsentligste angiogene-

### Normalfysiologiske tilstande

Embryogenese  
Vækst af knogler og organer under opvækst  
Cyklisk proliferation af kargebet i uterus og ovarier  
Graviditet (placenta dannelse og fostervækst)  
Hensigtsmæssig (kompensatorisk) hypertrofi af visse organer

### Patologiske tilstande

Akut og kronisk inflammation (udløst af patogener eller på autoimmun basis)  
– infektioner  
– psoriasis  
– reumatoid artrit  
– colitis (mb. Crohn, colitis ulcerosa)

### Sårheling

– eksterne og interne sår med dannelse af granulationsvæv

Cancer (afhængigt af type og udbredelse)

### Vævsiskæmi

– ekstremiteter (følge af perifære aterosklerotiske forandringer)  
– myocardium (følge af koronarinsufficiens)

### Graviditetsrelaterede tilstande

– præeklampsi  
– IUGR (intrauterine growth restriction)

### Proliferative øjensygdomme

– diabetisk retinopati  
– AMD (aldersrelateret maculadegeneration)  
– ROP (præmatur retinopati)

Fig. 1. Tilstande med op- eller dysreguleret angiogenese (primært *vascular endothelial growth factor* [VEGF]-medieret).

seinducere og -inhibitorer og de celletyper, der producerer dem, er gennemgået i tidligere arbejder [1]. I dette arbejde fokuserer vi på »VEGF-familien«: VEGF, VEGF-A, *placenta growth factor* (PlGF) og de specifikke receptorer VEGFR-1 og VEGFR-2, som synes at være blandt de mest udslagsgivende angiogene faktorer under graviditet.

VEGF-proteiner omfatter undertyperne VEGF-A, -B, -C, -D og PlGF, der findes i adskillige isoformer. Ekspressionen af de forskellige VEGF-former foregår i bl.a. granulocytter, megakaryocytter (trombocytter) og celler i glatte muskler. Under graviditet er trofoblasten den væsentligste producent af PlGF. En oversigt over VEGF-proteinernes kendte funktioner fremgår af Tabel 1.

Forskellene mellem VEGF-formerne er bl.a. baseret på affiniteten for de specifikke VEGF-receptorer, hvoraf der kendes tre: VEGF-receptor 1 (VEGFR-1/flt-1), VEGFR-2 (KDR/flk-2), samt VEGFR-3 (flk-4), (Tabel 1) [2]. Receptorerne er transmembrane proteiner med et tilknyttet intracellulært tyrosin-

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Tabel 1. Kendte *vascular endothelial growth factor* (VEGF)-beslægtede proteiner.

VEGF-protein (kendte isoformer)	Matrixbunden (m)/ Solubel (s)	Specifik receptor	Funktion, medieret via membranbundne specifikke receptorer
VEGF-A		VEGFR-1	<ul style="list-style-type: none"> <li>- stimulerer endotelceller til proliferation, især via VEGFR-2 (neo-angiogenese, vaskulogenese)</li> <li>- stimulerer endotelceller til migration</li> <li>- remodulering af kargebeter (VEGFR-1 synes bl.a. at binde lokalt, relativt VEGF-overskud i væv)</li> <li>- medierer antiapoptosesignal til endotel</li> <li>- inducerer øget mikrovaskulær permeabilitet</li> <li>- aktiverer leukocytter til cytokinproduktion og kemotaxi</li> <li>- opregulerer ekspresionen af plasminogenaktivator og andre proteaser</li> <li>- stimulerer til endotelcelleproliferation</li> </ul>
VEGF-121	s	VEGFR-2	
VEGF-165	s	sVEGFR-1	
VEGF-189	m	-	
VEGF-206	m	-	
VEGF-B		VEGFR-1	
VEGF-C		VEGFR-2 VEGFR-3	<ul style="list-style-type: none"> <li>- øger den vaskulære permeabilitet</li> <li>- stimulerer til endotelcelleproliferation og migration, primært i forbindelse med lymfangiogenese</li> </ul>
VEGF-D		VEGFR-2 VEGFR-3	<ul style="list-style-type: none"> <li>- stimulerer til endotelcelleproliferation og migration</li> </ul>
PlGF		VEGFR-1	<ul style="list-style-type: none"> <li>- stimulerer trofoblaster til proliferation, invasion og differentiering</li> <li>- kan inducere proliferation, migration og aktivering af endotelceller, mindre potent end VEGF</li> <li>- hæmmer apoptose i trofoblasten</li> <li>- potentiører den VEGF-medierede karpermeabilitet</li> <li>- hæmmer effekten af VEGF pga. dimerdannelse</li> </ul>
PlGF-1	s	VEGFR-1	
PlGF-2	m	sVEGFR-1	

kinase-domæne. Både VEGF-molekyler og -receptorer danner dimere komplekser under ligand/receptorinteraktionen, som resulterer i fosforylering af intracellulære receptordomæner, sekundær *messenger*-regulerede kaskadereaktioner og ændret gentranskription [2]. VEGFR-1, receptoren med den højeste affinitet for VEGF-A, findes også i en forkortet, solubel form, betegnet sVEGFR-1, som produceres ved posttranskriptionel modifikation af mRNA for den membranbundne receptor. Den soluble receptor menes at regulere VEGF's biologiske aktivitet [3] dels ved at sekvestrere VEGF og dermed forhindre interaktion med membranbundne receptorer, dels ved at danne heterodimere receptorer med membranbundne receptorer, inkl. VEGFR-2, hvorved signaltransmissionen blokeres [4]. VEGF-receptorerne findes næsten udelukkende på endotelceller. Umodent endotel med sparsom rekruttering af pericytter og glatte muskelceller er afhængigt af VEGF, som via receptorerne medierer et antiapoptosesignal [1, 2]. Modent, hvilende endotel er stabilt og synes ikke at behøve et stadigt VEGF-stimulus.

### Angiogenese under graviditet

Under fostervækst og placentaudvikling sker primært en ud-differentiering af angioblaster, der organiserer sig i strenge med efterfølgende lumendannelse. Denne proces kaldes vaskulogenese og er kritisk afhængig af VEGF og VEGFR-1 og -2. Forsøg på knockoutmus med inaktiverede gener for netop disse proteiner resulterede i manglende differentiering og organisering af angioblaster og resorption af fosteret efter 8-10 dage [2, 5]. De grundlæggende kargebeter i det humane foster dannes omkring tredje uge, hvorefter der sker et gradvist skift fra vaskulogenese til egentlig angiogenese - kapillærnydannelse ved knopskydning - som kendetegner selve organudviklingen. En optimalt fungerende placenta kræver tæt, koordineret udvikling af maternelle og føtale kargebeter. Det uteroplacentale kredsløb etableres fra omkring tolvte-

dagen, hvor den ekstravilløse trofoblast invaderer karvægge i endometriets spiralarterier og bevirker omdannelsen til uteroplacentale arterier med lav impedans. Den villøse trofoblast med primære solide villi, invaderes omkring tyvendedagen af mesodermale celler, der efterfølgende differentierer ud til blod- og endotelceller. Ultimativt dannes terminale villi med kar præget af længdevækst og loopdannelse, dvs. karrene prolaberer ud direkte under villus' overflade. Diffusionen mellem føtalt og maternelt kredsløb kan dermed ske over den få µm tynde vaskulosyncytielle membran. Udvekslingen mellem det maternelle og det embryonale kredsløb er endeligt etableret, når de villøse kapillærer opnår forbindelse med kapillærerne i chorionpladen og i den fremtidige navlestreng [6].

### Reguleringen af angiogenese

Flere har undersøgt føtalt og placentalt væv (placentabiopsier og navlestrengsendotel) for ekspresion af vækstfaktorer, receptorer eller cytokiner i håb om at belyse ukendte aspekter af angiogeneseprocessen og især patogenesen ved graviditetsrelaterede sygdomme. Ekspressionsstudier af humane placentae har dokumenteret tilstedeværelsen af adskillige angiogene vækstfaktorer og deres receptorer og givet detaljeret, men ikke entydig, viden om angiogenesereguleringen.

Resultaterne tyder på store svingninger i distributionen af VEGF, PlGF og receptorer i placenta gennem hele gestationsperioden, og i studierne konkluderes det generelt, at VEGF-relaterede proteiner spiller væsentlige roller i reguleringen af vækst og differentiering af placenta både via parakrine og autokrine mekanismer. Reguleringen er både spatialt og temporalt reguleret via VEGFR-1, som især blev detekteret i første trimester, diffust i både villi og i den ekstravilløse trofoblast. VEGFR-2 kunne påvises i placentale endotelceller gennem hele gestationen, mens PlGF-proteinet især var lokaliseret til den villøse trofoblast (syncytiotrofoblasten) i første og tredje trimester. VEGF-protein blev påvist i kirtelepitel og vil-

løst stroma, moderat svingende gennem gestationsperioden [7, 8].

Et helt grundlæggende signal til angiogenese er lokal hypoksi, som via hypoksiresponsive transkriptionsfaktorer, bl.a. *hypoxia inducible factor 1* (HIF-1), regulerer ekspresionen af endotelspecifikke vækstfaktorer, herunder VEGF. Hypoksi bevirker desuden øget stabilisering af visse geners mRNA, hvilket resulterer i øgede mængder genprodukt [9].

I forbindelse med angiogenesen ved graviditet spiller hormoner, især østrogen og hCG, regulerende roller, bl.a. er ekspresionen af VEGF i uterus øget under graviditet [10], og østradiol i fysiologiske koncentrationer resulterer i signifikant øgede mængder VEGF og VEGFR-2 mRNA og nedsat ekspresion af VEGFR-1 i endometriestroma [11]. Østrogener synes også at potentiere den vasodilatoriske effekt af VEGF, sandsynligvis via en øget NO-produktion [12]. Kardilatation øger som regel karpermeabiliteten, og ekstravaserende plasmaproteiner danner formentlig en ekstravaskulær matrix, der optimerer omstændighederne for karindvækst [13].

HCG inducerer ekspresion af VEGF i endometriet [14] og både hCG og specifikke hCG-receptorer produceres af trofoblaster [15], bl.a. afhængigt af O<sub>2</sub>-tilbuddet [16].

### Præeklampsii og føtal væksthæmning

Morfologiske studier har vist, at præeklamptiske placentae er kendetegnet ved et ekstremt udbygget villøst kargebet, mens syncytiotrofoblastlaget er relativt tyndt. Omdannelsen af spiralarterier til uteroplacentale kar er inkomplet og medfører uteroplacentale O<sub>2</sub>-insufficiens [6]. Patologiske (intrauterin væksthæmning [IUGR]) placentae (defineret ved UL-Doppler-påvist reduceret eller ophørt slutdiastolisk flow i aa. umbilicales) er derimod kendetegnet ved øget mitotisk aktivitet i den ekstravilløse trofoblast og kompromitteret kapillærvækst med forlængede, uforgrenede kar [17].

Den O<sub>2</sub>-afhængige regulering af VEGF-, PlGF- og VEGF-receptorer, ikke mindst den soluble receptor sVEGFR-1, menes at være helt centrale for udviklingen af præeklampsii og IUGR. Placentavæv reagerer i gentagne studier på hypoksi med øget VEGF-ekspresion, samtidig med at PlGF nedreguleres [18, 19]. Effekten heraf svarer til de morfologiske fund på placentae fra gravide med præeklampsii, hvor den kompensatoriske VEGF-stigning må forventes at medføre en udtalt, men ineffektiv, vaskulær »knopskydning«. Analyser af IUGR-placentae har vist opregulering af PlGF og lave mængder VEGF. Resultaterne har ført til hypotesen om relativ placentale hyperoksi ved IUGR, hvilket understøttes af, at der i blodet i de intervilløse rum i disse placentae er fundet høje O<sub>2</sub>-niveauer [20].

De gestationelle svingninger i ekspresionen af VEGF-proteiner og receptorer i normale placentae tyder på, at VEGF via VEGFR-2 og VEGFR-1 medierer den tidlige forekommende (første trimester) forgrenede angiogenese, mens PlGF/VEGFR-1 interaktionen resulterer i den senere kapillære

længdevækst, der er nødvendig for dannelsen af terminale villi. Samtidig sker der en regulering på receptorniveau, idet den soluble sVEGFR-1, der primært produceres af trofoblasten, opreguleres af hypoksi og hæmmes af hyperoksi [20]. Da sVEGFR-1 hovedsagelig menes at fungere som VEGF- og PlGF antagonist ved at binde proteinerne uden at mediere nogen effekt, resulterer hypoksi i mere VEGF og flere receptorer, der primært hæmmer effekten af det allerede nedregulerede PlGF – alt i alt en øget VEGF-effekt som ved fundene hos gravide med præeklampsii. Tidlig hyperoksi, som ved IUGR, medfører derimod færre receptorer, mindre VEGF, men en væsentlig forstærket PlGF-effekt i placenta, resulterende i dårlig proliferation/øget apoptose af cytotrofoblasten, færre karforgreninger og høj impedans i det føtoplacentale kargebet, dvs. forringede muligheder for O<sub>2</sub>-ekstraktion fra det materielle blod.

Flere har undersøgt, hvordan den ekstravilløse trofoblast påvirkes af VEGF og PlGF mht. invasion og motilitet, men i in vitro-forsøg med trofoblaster kunne det ikke bekræftes, at ændrede vækstfaktor-niveauer allerede under den tidligste invasion af decidua resulterer i den overfladiske/insufficiente placentadannelse, der observeres ved præeklampsii eller IUGR [21].

### VEGF, PlGF og sVEGFR-1 som markører for præeklampsii

VEGF, PlGF og soluble receptorkoncentrationer er ved hjælp af *enzyme linked immuno sorbent assay* (ELISA)- og *radio immuno assay* (RIA) – metoder blevet målt i serum, plasma og amnionvæske, både under normale og komplicerede graviditeter. Skønt de fundne mængder – afhængig af testmetoder og prøvehåndtering – varierer væsentligt, er der efterhånden konsensus om, at abnorm vækstfaktorkoncentration i føtale og materielle væv spiller en rolle, ikke blot for fostervæksten, men også for materielle komplikationer (ødemdannelse, proteinuri og hypertension), der menes udløst af en systemisk endotelaktivering med accelereret cytokinproduktion, abnorm karreaktivitet og koagulation [22]. I flest studier har man undersøgt VEGF, målt i serum fra præeklamptiske patienter, altså tredjetrimester-målinger. Resultaterne har som regel været sammenholdt med en kontrolgruppe af raske gravide og evt. med et antal ikkegravide. Disse undersøgelser viste dels, at gravide typisk har forhøjede VEGF-værdier i forhold til ikkegravide, dels at manifesteret præeklampti medfører yderligere, markante forhøjelser af VEGF-spejlet [23, 24]. Hvorvidt VEGF spiller en rolle i patogenesen og kan bruges som tidlig markør for præeklampsii er ikke muligt at afgøre ud fra disse undersøgelser.

Andre har indsamlet serum eller plasma fra gravide med nogenlunde faste intervaller, typisk én gang i hvert trimester. Undersøgelserne viste, at VEGF-spejlet stiger gradvist gennem første trimester og første del af andet trimester og når et plateau omkring uge 20 [25]. Tidlige (gennemsnitlig i uge 14) VEGF-målinger på 539 gravide, viste ikkesignifikante for-

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Tabel 2. Angiogenesemarkører ved præeklampsii.

Mulige plasmamarkører for præeklampsii	Cellulær oprindelse (graviditetspecifikt væv)	Typiske fund ved præeklampsii (tidligt/sent i gestationen)
<i>Vascular endothelial growth factor</i> (VEGF)	Aktiverede makrofager i villi og decidua. Glatte muskelceller (uterus og karvægge). Udifferenteret villøst mesenkym. Maternelt kirtlepitel.	Forøget stigning i løbet af 2. trimester. Ydeligere stigning i 3. trimester. Total-VEGF signifikant forøget ved manifest præeklampsii, på trods af nedsatte mængder. VEGF-mRNA i placentavæv.
PIGF	Villøs og ekstravilløs trofoblast. Intravilløse karvægge.	Gradvis stigende, men generelt lave værdier omkring 2. trimester (20. uge). Fravær af typisk peak tidligt i 3. trimester (30. uge). Signifikant lavere værdier i 3. trimester.
sVEGFR-1	Endotel i umbilikale kar (HUVE celle-kultur). Villøs og ekstravilløs trofoblast.	Signifikant forhøjede værdier i 3. trimester (målt i amnionvæske).

HUVE: *Human umbilical venous endothelium*.

skelle mellem de 16 kvinder, der senere fik præeklampsii og de øvrige [26]. Et casekontrolstudium med 48 gravide, hvoraf ti fik præeklampsii, viste en klar tendens i prøver fra uge 20 og signifikante VEGF-stigninger i prøverne fra uge 30, altså før kliniske tegn på præeklampsii. På dette grundlag konkluderedes, at VEGF har potentiale som sygdomsmarkør [27]. En endelig validering af markørens specificitet og sensitivitet i serum foreligger endnu ikke, men formentlig kan der hos dem, der senere får præeklampsii, detekteres stigninger i VEGF fra sidst i andet trimester.

Enkelte arbejder har drejet sig om PIGF. Generelt er der fundet signifikant højere niveauer hos raske gravide end hos patienter med præeklampsii [28-30], hvilket umiddelbart stemmer overens med den nævnte O<sub>2</sub>-hypotese. Et studie med serum fra 308 raske gravide med løbende prøver fra midt i første trimester til sidst i andet trimester viste en klar profil, med tiltagende PIGF efter uge 16 indtil uge 30 (højeste værdi), hvorefter værdierne faldt gradvist mod terminen. Der blev desuden målt PIGF hos 30 gravide med præeklampsii omkring 36. uge, og disse værdier blev sammenlignet med værdierne fra raske gravide med samme gestationstidspunkt. Man fandt signifikant lavere værdier ved præeklampsii, men ingen signifikante korrelationer mellem sværhedsgraden af præeklampsii, fødselsvægt og PIGF-værdier [31]. Målinger af total-PIGF hos 25 raske gravide og 14 gravide med præeklampsii i første, andet og tredje trimester viste, at gravide med præeklampsii allerede fra første trimester og igennem hele graviditeten havde signifikant lavere PIGF-niveauer som tegn på en tidligt udviklet placentahypoksi, hvilket tydede på, at lav PIGF var en ret specifik og tidligt optrædende markør for præeklampsii [32]. I et andet casekontrolstudium, hvor man har sammenlignet plasma-PIGF tidligt i graviditeten (uge 15) fra 22 kvinder inden udviklingen af præeklampsii-symptomer med 22 raske gravide, fandt man dog ikke, at PIGF var en klinisk anvendelig præeklampsii-markør, idet forhøjede værdier blev målt hos de gravide, der senere fik præeklampsii [33].

Den soluble VEGFR-1 er måske også en brugbar markør. Placenta secererer receptor-proteinet, og detektion i plasma er mulig. Endnu foreligger der dog ingen publicerede studier. I et enkelt studium har man målt amnionvæskes indhold af

sVEGFR-1 hos raske gravide (andet og tredje trimester) og hos gravide med præeklampsii (tredje trimester) ved hjælp af en nyudviklet ELISA. Man fandt relativt højere værdier hos raske gravide i andet trimester end i tredje trimester, mens receptormængderne hos gravide med præeklampsii var signifikant forhøjede i tredje trimester [34]. Igen stemmer resultaterne overens med O<sub>2</sub>-hypotesen, og de forhøjede serum/plasma-VEGF-værdier (total) hos gravide med præeklampsii er måske direkte relaterede til det øgede niveau af sVEGFR-1. I Tabel 2 opsummeres markørfundene.

## Diskussion

Præeklampsii, IUGR og tilstande, der giver udtalte ødemer tidligt i graviditeten, er forsøgt relateret til VEGF-ekspressionen i relevante væv. De ofte modstridende resultater, der præsenteres i forbindelse med VEGF-målinger og VEGF-udløste effekter, kan oftest relateres til forskelle i analysemetoder, især mht. de benyttede ELISA'er, der enten måler total (receptorbundet + frit) eller kun frit VEGF, afhængigt af de antistoffer, der indgår i den pågældende undersøgelse. Den soluble VEGFR-1 receptor og evt. andre ukendte VEGF-bindende proteiner har således forvoldt væsentlige problemer med mangelfuld detektering af VEGF og reproducerbarhed. Også tolkningen af resultaterne er præget af usikkerhed, idet effekten af VEGF formentlig reduceres ved binding. Der er efterhånden enighed om, at VEGF totalt er øget i serum og plasma hos patienter med præeklampsii, mens den biologiske VEGF-effekt reelt er nedsat pga. receptorbinding. En eventuel umættet VEGF-bindingskapacitet i vævsvæsker eller blodfraktioner, sandsynligvis som følge af forhøjet eller dysreguleret produktion af serum-VEGFR-1, kan tænkes at påvirke lokale effekter af PIGF og VEGF og resultere i placentainsufficiens, der så igen udløser et maternelt systemisk respons via VEGF og andre mediatorer. Trombocytter spiller måske en rolle i denne generelle aktivering, idet VEGF frigives fra aktiverede trombocytter. Signifikant nedsatte trombocytter er påvist hos gravide med præeklampsii [31, 35]. Potentialet for VEGF-, sVEGFR-1- og især PIGF-målinger som prognostiske markører skal stadig valideres i større prospektive undersøgelser. I forbindelse med graviditet er det problematisk, at markørkon-

centrationerne svinger ganske meget inden for få uger, idet de afspejler den diskontinuerte foster- og placentaudvikling. Markørprøver skal således tages med stor tidsmæssig nøjagtighed og først ca. 20 uger henne i graviditeten for at have prognostisk værdi. Klarlægelse af naturlige svingninger i vækstfaktor- og receptorniveauer, dels i forbindelse med graviditet, men også ved bl.a. inflammatoriske tilstande, er forudsætningen for vurdering af resultaterne. Endnu foreligger der ingen systematiske undersøgelser af, hvordan andre vækstfaktorniveauer, bl.a. IUGR, influerer på vækstfaktorniveauerne.

### Perspektiver

Som regel er øgede niveauer af proangiogenesefaktorer mere sensitive markører end fald i inhiberende faktorer. Imidlertid er det muligt, at den komplekse regulering af angiogenesis under graviditet kan belyses bedre ved at inddrage angiogeneseinhibitorer. sVEGFR-1 spiller utvivlsomt en rolle, afspejlet ved den påviste stigning i serumniveauet hos patienter med præeklamsi, og det er måske snarere en forhøjet eller tidsmæssig uheldig placental receptorekspression, der udløser de patologiske tilstande. Abnorme udtryk af endotel- og trombocytderiverede faktorer og adhæsionsmolekyler [22] synes også at have en vis prædiktiv værdi mhp. tidlig diagnostik af præeklamsi. Måltrettet forskning i nye, koagulationsrelaterede markører og terapier bør udføres/styrkes. Tidlig diagnostik af graviditetskomplikationer, der helt eller delvist bunder i angiogen dysregulering, kan dels optimere behandlingen ved at komme »patologien i forkøbet«, dels belyse mere generelle aspekter ved angiogenese, bl.a. omkring den normale opretholdelse af ikkeaktiveret endotel. Tidligere intervention med optimeret, symptomatisk behandling er naturligvis en gevinst i sig selv, men såfremt abnorme vækstfaktorudtryk rationelt forklarer en sygdomsproces, er der håb om nye strategier mhp. at målrette fremtidige pro- og antiangiogenesebehandlinger.

### Summary

Tina Marie Petersen, Torben Larsen & Hans Jørgen Nielsen: **Angiogenesis during pregnancy: diagnostic uses of angiogenic proteins as markers of pathological conditions.** Ugeskr Læger 2003;165: 3082-7

Pregnancy involves the coordinated formation of new vessels, a process known as angiogenesis. Several growth factors and specific receptors, e.g. vascular endothelial growth factor (VEGF), PlGF (placenta growth factor) and the soluble VEGF-1 receptor (VEGFR-1) play essential roles in the process. Pregnancy-related pathological conditions (preeclampsia and intrauterine growth restriction (IUGR)) are associated with aberrant expressions of these molecules, which can be measured in blood fractions from pregnant women. Using these as markers before a clinical diagnosis is evident, seems feasible. Pathological conditions, such as inflammation and cancer, also induce

angiogenesis. Measurements of other endothelium-derived molecules may add to the specificity and sensitivity of angiogenic proteins as markers.

Reprints: Tina Marie Petersen, Gastroenheden, Kirurgisk Sektion, afsnit 435, H:S Hvidovre Hospital, DK-2650 Hvidovre.  
E-mail: tinampdk@yahoo.com

Antaget den 12. maj 2003.  
H:S Hvidovre Hospital, Gastroenheden, Kirurgisk Sektion, og Amtssygehuset i Herlev, Ultralydafdelingen.

Bent Ottesen takkes for konstruktiv kritik på et tidligt stadium i manuskriptskrivningen.

### Litteratur

- Jimenez B, Volpert OV. Mechanistic insights on the inhibition of tumor angiogenesis. *J Mol Med* 2001;78:663-72.
- Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med* 1999;77:527-43.
- Shibuya M. Structure and dual function of vascular endothelial growth factor receptor-1 (Flt-1). *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33:409-20.
- Kendall RL, Wang G, Thomas KA. Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;226:324-8.
- Carmeliet P, Ferreira V, Breier G et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996;380:435-9.
- Kingdom J, Huppertz B, Seaward G et al. Development of the placental villous tree and its consequences for fetal growth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;92:35-43.
- Clark DE, Smith SK, Sharkey AM et al. Localization of VEGF and expression of its receptors flt and KDR in human placenta throughout pregnancy. *Hum Reprod* 1996;11:1090-8.
- Clark DE, Smith SK, Licence D et al. Comparison of expression patterns for placenta growth factor, vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF-B and VEGF-C in the human placenta throughout gestation. *J Endocrinol* 1998;159:459-67.
- Minet E, Michel G, Remacle J et al. Role of HIF-1 as a transcription factor involved in embryonic development, cancer progression and apoptosis. *Int J Mol Med* 2000;5:253-9.
- Ni Y, May V, Braas K et al. Pregnancy augments uteroplacental vascular endothelial growth factor gene expression and vasodilator effects. *Am J Physiol* 1997;273(2 Pt 2):H938-H944.
- Perrot-Applanat M, Ancelin M, Buteau-Lozano H et al. Ovarian steroids in endometrial angiogenesis. *Steroids* 2000;65:599-603.
- Storment JM, Meyer M, Osol G. Estrogen augments the vasodilatory effects of vascular endothelial growth factor in the uterine circulation of the rat. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:449-53.
- Dvorak HF, Nagy JA, Feng D et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and the significance of microvascular hyperpermeability in angiogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999;237:97-132.
- Licht P, Russu V, Wildt L. On the role of human chorionic gonadotropin (hCG) in the embryo-endometrial microenvironment: implications for differentiation and implantation. *Semin Reprod Med* 2001;19:37-47.
- Rodway MR, Rao CV. A novel perspective on the role of human chorionic gonadotropin during pregnancy and in gestational trophoblastic disease. *Early Pregnancy* 1995;1:176-87.
- Esterman A, Finlay TH, Dancis J. The effect of hypoxia on term trophoblast: hormone synthesis and release. *Placenta* 1996;17:217-22.
- Krebs C, Macara LM, Leiser R et al. Intrauterine growth restriction with absent end-diastolic flow velocity in the umbilical artery is associated with maldevelopment of the placental terminal villous tree. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1534-42.
- Kingdom JC, Kaufmann P. Oxygen and placental vascular development. *Adv Exp Med Biol* 1999;474:259-75.
- Khaliq A, Dunk C, Jiang J et al. Hypoxia down-regulates placenta growth factor, whereas fetal growth restriction up-regulates placenta growth factor expression: molecular evidence for »placental hyperoxia« in intrauterine growth restriction. *Lab Invest* 1999;79:151-70.
- Ahmed A, Dunk C, Ahmad S et al. Regulation of placental vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PlGF) and soluble Flt-1 by oxygen – a review. *Placenta* 2000;21(suppl A):S16-24.
- Lash GE, Cartwright JE, Whitley GS et al. The effects of angiogenic growth factors on extravillous trophoblast invasion and motility. *Placenta* 1999;20:661-7.

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | ORIGINAL MEDDELELSE

22. Hayman R, Brockelsby J, Kenny L et al. Preeclampsia: the endothelium, circulating factor(s) and vascular endothelial growth factor. *J Soc Gynecol Invest* 1999;6:3-10.
23. Sharkey AM, Cooper JC, Balmforth JR et al. Maternal plasma levels of vascular endothelial growth factor in normotensive pregnancies and in pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Eur J Clin Invest* 1996;26:1182-5.
24. Kupferminc MJ, Daniel Y, Englender T et al. Vascular endothelial growth factor is increased in patients with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1997;38:302-6.
25. Evans PW, Wheeler T, Anthony FW et al. A longitudinal study of maternal serum vascular endothelial growth factor in early pregnancy. *Hum Reprod* 1998;13:1057-62.
26. Wheeler T, Evans PW, Anthony FW et al. Relationship between maternal serum vascular endothelial growth factor concentration in early pregnancy and fetal and placental growth. *Hum Reprod* 1999;14:1619-23.
27. Hunter A, Aitkenhead M, Caldwell C et al. Serum levels of vascular endothelial growth factor in preeclamptic and normotensive pregnancy. *Hypertension* 2000;36:965-9.
28. Reuvekamp A, Velsing-Aarts FV, Poulina IE, et al. Selective deficit of angiogenic growth factors characterises pregnancies complicated by preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:1019-22.
29. Livingston JC, Chin R, Haddad B et al. Reductions of vascular endothelial growth factor and placental growth factor concentrations in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1554-7.
30. Helske S, Vuorela P, Carpen O et al. Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies. *Mol.Hum.Reprod.* 2001;7(2):205-10.
31. Torry DS, Wang HS, Wang TH et al. Preeclampsia is associated with reduced serum levels of placenta growth factor. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1539-44.
32. Tidwell SC, Ho HN, Chiu WH et al. Low maternal serum levels of placenta growth factor as an antecedent of clinical preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1267-72.
33. Livingston JC, Haddad B, Gorski LA et al. Placenta growth factor is not an early marker for the development of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1218-20.
34. Vuorela P, Helske S, Hornig C et al. Amniotic fluid - soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2000;95:353-7.
35. Jaremo P, Lindahl TL, Lennmarken C et al. The use of platelet density and volume measurements to estimate the severity of pre-eclampsia. *Eur J Clin Invest* 2000;30:1113-8.

## Hugormebid

Mette Høj Lauridsen

### Resumé

**Introduktion:** Hugormen er Danmarks eneste giftslange. På Ringkøbing Sygehus indlægges omkring fem børn og voksne hvert år med hugormebid. Formålet med undersøgelsen var at belyse, hvem der blev bidt og hvornår, symptomer og behandling samt at præsentere forslag til en behandlingsstrategi.

**Materiale og metoder:** Der er foretaget en retrospektiv undersøgelse med gennemgang af journaler på patienter, der i perioden fra den 1. januar 1995 til den 17. juni 2000 blev udskrevet med diagnosen DT630 hugormebid fra Ringkøbing Sygehus.

**Resultater:** I alt 31 patienter mellem to år og 78 år, af hvilke 55% var under 14 år, blev indlagt pga. hugormebid. Tredive af de 31 var turister i området. Gennemsnitsindlæggelsestiden var godt 20 timer. De almindeligste symptomer var ødem, smerter, kvalme og opkastning samt tegn på shock. 35% blev forgiftet moderat, resten let eller slet ikke. Symptomatisk behandling var tilstrækkelig. Tre ud af fem patienter, der havde behov for mere end 24 timers indlæggelse, var børn.

**Diskussion:** Indlæggelsestiden var kortere end i andre opgørelser. Antibiotika og antihistamin blev anvendt – som i andre undersøgelser – oftere end det anbefales i litteraturen. Alle, der bliver bidt, bør indlægges til observation i mindst seks timer og have anlagt en intravenøs adgang, der bør desuden laves laboratorieundersøgelser. Efter relevant tetanusrevaccination kan patienter uden symptomer udskrives. Patienter med symptomer bør observeres i mindst 24 timer. Behandlingen er symptomatisk. Et øpen-set antistof, ViperaTAb er mindre allergent end de antisera, vi hidtil har kunnet anvende, og bør anvendes ved svære forgiftninger.

Hugormen er den eneste giftslange, der lever frit i Danmark. Den har været fredet siden 1981. Hugormen er 40-70 cm lang, sort eller brun og ofte med en zig-zag-stribe. Den findes især på Jyllands og Sjællands vestkyst og på de fleste øer. Hugormen ligger i hi i de kolde måneder. Dens bid er ubehageligt og kan være farligt. Hugormens gift består af proteiner med enzymatisk og toksisk aktivitet og giften frisætter endogene substanser f.eks. histamin [1].

På Ringkøbing Sygehus bliver omkring fem børn og voksne hvert år indlagt til observation efter hugormebid. Der findes ingen nyere danske caseserier om emnet, og formålet med analysen af journalmaterialet var at belyse patientpopulationen (mht. alder, køn og nationalitet) samt årstidsvariationen og symptomatologien. Forslag til behandlingsstrategi og forebyggelse fremlægges.

### Materiale og metoder

Der blev foretaget en retrospektiv undersøgelse med gennemgang af patientjournaler fra Ringkøbing Sygehus, hvor udskrivningsdiagnosen i perioden fra den 1. januar 1995 til den 17. juni 2000 var DT630, morsus serpentis venenosi (slanger). Følgende blev registreret: alder, køn, nationalitet, måned, bidomstændigheder og -lokalisering, indlæggelsestidspunkt i forhold til biddet, symptomer og behandling samt indlæggelsesvarighed.