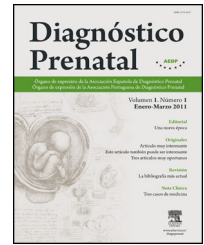




Diagnóstico Prenatal

www.elsevier.es/diagnprenat



Original

Endostatina sérica en preeclampsia y eclampsia

Eduardo Reyna-Villasmil*, Jorly Mejia-Montilla, Nadia Reyna-Villasmil, Duly Torres-Cepeda y Joel Santos-Bolívar

Servicio de Obstetricia y Ginecología, Maternidad Dr. Nerio Beloso, Hospital Central Dr. Urquinaona, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 31 de diciembre de 2012

Aceptado el 20 de marzo de 2013

On-line el 16 de mayo de 2013

Palabras clave:

Endostatina

Preeclampsia

Eclampsia

RESUMEN

Objetivo: Comparar las concentraciones de endostatina sérica en eclámpticas, preeclámpticas y embarazadas normotensas.

Materiales y método: Se incluyó a 30 pacientes con preeclampsia leve (grupo A), a 30 pacientes con preeclampsia grave (grupo B) y a 30 pacientes con eclampsia (grupo C). El grupo control fue seleccionado por tener edad e índice de masa corporal similares a los de los grupos en estudio y consistió en 30 embarazadas sanas (grupo D). Solo se incluyó a pacientes nulíparas. Las muestras de sangre se recolectaron antes del parto y, en los grupos en estudio, inmediatamente después del diagnóstico para la determinación de endostatina sérica.

Resultados: Los valores más altos de endostatina se observaron en el grupo de pacientes eclámpticas junto con las preeclámpticas graves. Se encontraron valores más bajos en las preeclámpticas leves. Los grupos en estudio presentaron valores de endostatina significativamente superiores a los controles ($p < 0,05$). El análisis de regresión lineal mostró que los factores que afectaban significativamente la concentración plasmática de endostatina fueron el ácido úrico y la proteinuria en 24 h ($p < 0,05$).

Conclusión: Las pacientes eclámpticas y preeclámpticas presentan concentraciones de endostatina sérica más altas que las embarazadas normotensas.

© 2012 Asociación Española de Diagnóstico Prenatal. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Serum endostatins in pre-eclampsia and eclampsia

ABSTRACT

Objective: To compare serum endostatin concentrations in eclamptic, pre-eclamptic and normotensive pregnant women.

Materials and method: The study included 30 patients with mild preeclampsia (group A), 30 patients with severe pre-eclampsia (group B), and 30 patients with eclampsia (group C). A control group, consisting of 30 healthy pregnant women of similar age and body mass index to the study groups, was selected (group D). Only nuliparous patients were included. Blood samples were collected for serum endostatin determination from all patients before delivery, and from the study groups immediately after diagnosis.

Keywords:

Endostatin

Pre-eclampsia

Eclampsia

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: sippenbauch@gmail.com (E. Reyna-Villasmil).

2173-4127/\$ – see front matter © 2012 Asociación Española de Diagnóstico Prenatal. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.diapre.2013.03.003>

Results: Higher values of endostatin were observed in eclamptic patients together with severe pre-eclamptic patients. Lower values were found in mild pre-eclamptic patients. The study groups had significantly higher values of endostatin compared with the control group ($P<.05$). Linear regression analysis, found that factors that significantly affected plasma endostatin concentrations were uric acid and 24-hour proteinuria.

Conclusion: The findings of this study showed that eclamptic and pre-eclamptic patients had higher serum endostatin concentrations than normotensive pregnant women.

© 2012 Asociación Española de Diagnóstico Prenatal. Published by Elsevier España, S.L.

All rights reserved.

Introducción

La preeclampsia es una causa importante de morbimortalidad materna y perinatal. Las complicaciones maternas incluyen coagulopatía, insuficiencia renal y enfermedad cerebrovascular hemorrágica¹. La disfunción endotelial provoca vasoconstricción generalizada, activación plaquetaria, trombosis y disminución del volumen plasmático, con posterior reducción del flujo sanguíneo a múltiples órganos². El principal hallazgo fisiopatológico de la preeclampsia es la alteración de la vasodilatación de los vasos maternos, mediada por diferentes compuestos que se producen en el endotelio³.

La endostatina, una proteína de 20 Kd, es un fragmento de unión de la región terminal C del colágeno XVIII⁴, el cual está localizado en la membrana basal de los vasos sanguíneos⁵. Es una molécula de la matriz extracelular con un potente factor antiangiogénico^{6,7}. Ejerce sus efectos al inhibir la proliferación, migración y formación de túbulos mientras induce directamente la apoptosis de las células endoteliales⁸. Estas células y los pericitos microvasculares humanos producen endostatina⁷, la cual es regulada por la hipoxia. Además, se ha demostrado que la administración exógena de endostatina causa una marcada reducción en las concentraciones de las proteínas antiapoptóticas bcl-2 y bcl-xl, sin afectar las concentraciones de la proteína proapoptótica bax.

Se conocen 4 estudios previos del potencial papel de la endostatina en la preeclampsia y ninguno de ellos ha manejado los diferentes estadios de la enfermedad o las concentraciones en las pacientes con eclampsia. Dos de los estudios^{9,10} demostraron concentraciones más altas de endostatina en preeclámpticas que en embarazadas controles sanas. En el tercer estudio¹¹, se demostró que las concentraciones séricas de endostatina estaban elevadas a las 16-20 semanas en mujeres que posteriormente desarrollaban preeclampsia. Un estudio más reciente¹² demostró que las mujeres con aparición de preeclampsia en etapas más tempranas (antes de las 32 semanas) tienen concentraciones más elevadas de endostatina que las pacientes en las que la enfermedad aparece en forma más tardía (después de las 35 semanas)⁹⁻¹¹.

El objetivo de la investigación fue comparar las concentraciones séricas de endostatina en eclámpticas, preeclámpticas y embarazadas normotensas.

Métodos

Este estudio de casos y controles se realizó en el Servicio de Obstetricia del Hospital Central Dr. Urquinaona en Maracaibo, Venezuela, de enero del 2006 a febrero del 2012. El

Comité de Ética del hospital aprobó el estudio. Se incluyó a 30 pacientes con preeclampsia leve (grupo A), a 30 pacientes con preeclampsia grave (grupo B) y a 30 pacientes con eclampsia (grupo C). El grupo control fue seleccionado por tener edad materna e índice de masa corporal similares a los de los grupos en estudio y consistió en 30 embarazadas sanas sin enfermedades obstétricas o sistémicas (grupo D). Solo se incluyó a pacientes nulíparas en la investigación.

La preeclampsia leve se definió como la presión arterial sistólica de 140 mm de Hg o más o presión arterial diastólica de 90 mm de Hg o más confirmada por 6 o más horas de diferencia, mientras que la proteinuria se definió como 300 mg o más de proteína en una muestra de 24 h, o 1 a 2 cruces de proteinuria en un examen cualitativo después de las 20 semanas de gestación. La preeclampsia grave se definió si la presión arterial diastólica estaba por encima de 110 mm de Hg o la presión arterial sistólica era de 160 mm de Hg o más, junto con 3 cruces de proteinuria en un examen cualitativo o 5 g en una muestra de orina de 24 h, con presencia de cefalea, alteraciones visuales, dolor abdominal, oliguria (menos de 500 ml/24 h), hiperbilirrubinemia, elevación de las concentraciones séricas de creatinina (mayor de 1,0 mg/dl), trombocitopenia (menos de 150.000 mm³) y elevación de las concentraciones de las transaminasas después de las 20 semanas de gestación. La eclampsia se definió como la aparición de convulsiones o coma en pacientes con signos y síntomas de preeclampsia. La presión sanguínea se midió en posición sentada después de 15 min de descanso.

Se excluyó a las embarazadas polihidramnios, con hemorragia del tercer trimestre (desprendimiento prematuro de placenta, placenta previa), con sospecha de restricción del crecimiento intrauterino del feto (circunferencia cefálica, circunferencia abdominal y longitud del fémur menor del percentil 10 de referencia con confirmación posnatal de peso menor al percentil 10 de referencia), con síndrome de HELLP, alteraciones de la frecuencia cardíaca fetal, gestaciones múltiples, presencia de infección intrauterina o materna activa, enfermedad hipertensiva crónica (antes de las 20 semanas de embarazo), en tratamiento con antihipertensivos, con enfermedad cardíaca, hepática, renal o sistémica crónica, diabetes mellitus pre- o gestacional, hábito tabáquico. También se excluyó a las pacientes que se negaron a participar en la investigación.

Las muestras de sangre se recolectaron en un tubo libre de pirógenos en todas las pacientes antes del parto y, en los grupos en estudio, inmediatamente después del diagnóstico y antes de cualquier intervención. Las muestras fueron centrifugadas inmediatamente después de que se produjera la

Tabla 1 – Características generales de los grupos de estudio y control

	Grupo A Preeclampsia leve (n = 30)	Grupo B Preeclampsia grave (n = 30)	Grupo C Eclampsia (n = 30)	Grupo D Controles (n = 30)
Edad materna, años	20,4 ± 2,2	20,1 ± 2,5	21,6 ± 3,2	21,3 ± 1,8
Edad gestacional al momento del parto, semanas	37,0 ± 1,7	34,1 ± 1,3*	34,7 ± 1,9*	37,6 ± 1,78
Índice de masa corporal, kg/m ²	27,9 ± 1,1	27,4 ± 1,2	27,1 ± 0,8	27,6 ± 0,8
Peso del recién nacido, gramos	2.845 ± 295*	2.319 ± 357*	2.041 ± 301*	3.251 ± 469
Presión arterial sistólica, mm de Hg	136,0 ± 6,7*	152,3 ± 7,7*	142,3 ± 13,3*	104,9 ± 6,59
Presión arterial diastólica, mm de Hg	97,6 ± 5,0*	110,3 ± 6,1*	112,3 ± 6,9*	73,9 ± 7,7
Proteinuria, g/24 h	1,7 ± 0,6*	5,6 ± 0,8*	6,2 ± 1,1*	0,2 ± 0,1

* p < 0,05 comparado con el grupo control.

coagulación a temperatura ambiente y el sobrenadante del suero fue separado y almacenado a -20 °C. La determinación de las concentraciones de endostatina fue realizada utilizando una prueba de ELISA (R&D Systems, Inc., EE.UU.). Todas las mediciones fueron hechas por duplicado y el promedio fue utilizado como resultado final. La sensibilidad fue de 2 ng/ml. El coeficiente de variación intra- e interensayo fue menor del 10%.

Los datos se presentan como valores promedios ± desviación estándar. El análisis estadístico entre los grupos se realizó con la prueba de ANOVA con posprueba de Dunnett para comparar las características demográficas, el promedio de presión arterial y las concentraciones de endostatina entre los grupos, tomando como controles a las normotensas sanas (grupo D). Los coeficientes de correlación entre la endostatina y los parámetros de laboratorio en las preeclámpticas y eclámpticas se evaluaron usando la prueba de Pearson. Se consideró un valor p < 0,05 como estadísticamente significativo.

Resultados

Las características generales de las pacientes de los 4 grupos se muestran en la [tabla 1](#). No hubo diferencias significativas en la edad materna ni en el índice de masa corporal entre los controles y los grupos en estudio. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la edad gestacional al momento del parto entre los grupos B y C comparada con los controles (p < 0,05). También se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los controles y los 3 grupos de estudio con respecto al peso de los recién nacidos (p < 0,05).

Se observaron diferencias estadísticas en los valores promedio de presión arterial sistólica, presión arterial diastólica y proteinuria de los 3 grupos en estudio comparados con los controles (p < 0,05).

Las pacientes con preeclampsia grave presentaron las mayores concentraciones de hemoglobina de los 4 grupos estudiados, siendo esta diferencia estadísticamente significativa comparada con los controles (p < 0,05). Las preeclámpticas graves y las eclámpticas presentaron valores más altos de transaminasas, deshidrogenasa láctica y ácido úrico comparados con los controles (p < 0,05) ([tabla 2](#)). Los niveles promedio de plaquetas fueron significativamente menores en los 3 grupos de estudio comparados con los controles (p < 0,05).

Las concentraciones de endostatina en cada uno de los grupos se muestran en la [tabla 2](#). Los valores más elevados se observaron en el grupo de pacientes eclámpticas (45,6 ± 8,9 ng/ml) junto con las preeclámpticas graves (45,4 ± 8,4 ng/ml). También se encontraron valores elevados en las preeclámpticas leves (37,1 ± 3,3 ng/ml). Los grupos en estudio presentaron valores de endostatina significativamente superiores a los controles (18,3 ± 3,5 ng/ml; p < 0,05).

Al correlacionar las concentraciones de endostatina con los diferentes parámetros de laboratorio, se observó una correlación positiva y significativa con los valores de proteinuria en 24 h (r = 0,440; p < 0,05), ALT (r = 0,406; p < 0,05), AST (r = 0,401; p < 0,05) y LDH (r = 0,372; p < 0,05) y correlación negativa y significativa con el número de plaquetas (r = -0,214; p < 0,05). El análisis de regresión lineal mostró que los factores que modificaban significativamente la concentración plasmática de endostatina eran: el valor de la proteinuria en 24 h y las concentraciones de ácido úrico (p < 0,05).

Tabla 2 – Parámetros de laboratorio grupos estudio y control

	Grupo A Preeclampsia leve (n = 30)	Grupo B Preeclampsia grave (n = 30)	Grupo C Eclampsia (n = 30)	Grupo D Controles (n = 30)
Hemoglobina, g/dl	10,3 ± 1,0	11,9 ± 1,6	9,4 ± 0,9	10,1 ± 1,5
Plaquetas, × mm ³	199.000 ± 29.914*	149.000 ± 41.292*	138.343 ± 28.945*	252.000 ± 32.335
AST, UI/dl	31,3 ± 10,0	133,1 ± 46,3*	170,7 ± 60,3*	23,8 ± 5,1
ALT, UI/dl	20,8 ± 5,0	148,4 ± 46,9*	137,9 ± 33,1	18,9 ± 0,4
LDH, UI/dl	614,8 ± 97,6	1169,3 ± 181,1*	1733,8 ± 641,2*	531,8 ± 64,0
Creatinina, mg/dl	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,6	1,0 ± 0,3*	0,7 ± 0,2
Acido úrico, mg/dl	5,9 ± 1,1*	7,1 ± 1,5*	8,6 ± 0,9*	3,6 ± 0,4
Endostatina, ng/dl	37,1 ± 3,3*	45,4 ± 8,4*	45,6 ± 8,9*	18,3 ± 3,5

* p < 0,05 comparado con el grupo control.

Discusión

Los resultados de esta investigación demuestran que las pacientes eclámpicas y preeclámpicas tienen concentraciones plasmáticas de endostatina más altas comparadas con las pacientes normotensas. También se demostró que las concentraciones de endostatina se correlacionan en forma positiva con la proteinuria en 24h, las aminotransaminasas y la deshidrogenasa láctica, y en forma negativa con el número de plaquetas.

En la preeclampsia, las células mononucleares sanguíneas aumentan la respuesta Th1 y disminuyen la actividad Th2, reflejando el hecho de que las citocinas que son benéficas para el embarazo disminuyen sus concentraciones en las preeclámpicas¹³. Las citocinas Th1 (como el factor de necrosis tumoral alfa) están aumentadas en la preeclampsia y disminuyen potencialmente la vasodilatación dependiente del endotelio¹⁴. Por lo tanto, un cambio hacia la respuesta proinflamatoria puede llevar a la activación de las células endoteliales, lo cual resultaría en un aumento en las concentraciones de endostatina.

La endostatina endógena afecta negativamente diferentes vías de señalización celular en el endotelio microvascular humano asociado a la actividad proangiogénica y, simultáneamente, aumenta la expresión de varios de los genes antiangiogénicos¹⁵. Se ha sugerido que las altas concentraciones representan en parte un mecanismo de defensa para proteger al organismo de la angiogénesis tumoral debido a que el sistema inmunológico materno reacciona a la invasión del trofoblasto como si este fuera una condición maligna, ya que el desarrollo placentario humano combina elementos de tumorigénesis y vasculogénesis¹⁶. En pacientes con linfoma no Hodgkin, las concentraciones de endostatina se asociaron en forma significativa con las concentraciones de factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), sugiriendo que esta asociación entre los factores de promoción e inhibición de la angiogénesis controlan la tasa de crecimiento del tumor¹⁷. Las alteraciones en la producción de endostatina no solo han sido detectadas en pacientes con varios tipos de cáncer sino también en pacientes con asma bronquial, lupus eritematoso o artritis reumatoidea^{18,19}.

El incremento en las concentraciones de endostatina sérica, reportado en otra investigación previa y apoyado por los hallazgos de esta investigación, puede originarse de diferentes fuentes maternas, como las plaquetas o los vasos sanguíneos que tienen la capacidad de producir factores pro- y antiangiogénicos en ciertas condiciones. La potencial condición hipóxica e inflamatoria de la preeclampsia podría también inducir la liberación de este inhibidor por la placenta²⁰. La endostatina bloquea la fosforilización inducida por el VEGF del receptor 2 del VEGF, disminuyendo la capacidad de señalización, induciendo la apoptosis, e inhibiendo la proliferación y migración de las células endoteliales a través de la señalización de la ciclina D1 y Wnt, respectivamente^{8,21}. El efecto de inhibición afecta las interacciones de la matriz-células, ya que interactúa con la integrina en la superficie de las células endoteliales²². También bloquea la síntesis de óxido nítrico inducida por el VEGF. Todos estos efectos producen inhibición de la angiogénesis²³. Además,

puede agravar los efectos perniciosos del balance desfavorable del VEGF y sus antagonistas. Más aún, se puede unir a la quinasa de tirosina soluble similar al FMS y bloquear la interacción con el VEGF²¹.

Las altas concentraciones de endostatina en las preeclámpicas y eclámpicas podrían ser explicadas por la hipoxia que acompaña a las manifestaciones del síndrome, que modifica la producción⁷. En la placenta humana, el colágeno XVIII está localizado en la membrana basal y en las células miofibroblásticas²⁴, lo cual sugiere que este órgano puede ser una fuente de endostatina. Además, por una parte, la hipoxia puede afectar la síntesis o la degradación del colágeno XVIII⁷. Sin embargo, a diferencia de los resultados de la presente investigación, Hirtenlehner et al.¹⁰ no reportaron aumento en las concentraciones de endostatina en embarazadas sanas comparadas con no embarazadas, sugiriendo que la placenta no contribuye a las concentraciones de endostatina sérica. Se ha documentado que, en condiciones de hipoxia, la producción de VEGF es inducida en las células endoteliales y pericitos, resultando en la promoción del crecimiento de las células endoteliales y la formación de túbulos²⁵. En condiciones de bajas concentraciones de oxígeno, se produce una disminución en las sustancias estimulantes de la angiogénesis, favoreciendo la inhibición de esta⁷.

La preeclampsia está asociada a un incremento de la apoptosis del citotrofoblasto placentario, lo cual incrementa la cantidad de los desechos del sincicio celular observados en la preeclampsia^{26,27}. Los desechos del sincicio celular son la causa de la disfunción de las células endoteliales in vivo y en vasos aislados y podría ser importante en la patogénesis y el mantenimiento del síndrome materno en la preeclampsia²⁸. El hallazgo de altas concentraciones de endostatina podría ser la causa de la apoptosis placentaria.

Hasta donde se conoce, este estudio es el primero de pocas investigaciones sobre endostatina que reporta una correlación significativa entre las concentraciones séricas de endostatina y algunos de los parámetros de funcionalismo renal (proteinuria y ácido úrico) en preeclámpicas. Futrakul et al.²⁹ describieron concentraciones elevadas de endostatina en pacientes con enfermedad renal crónica y alteraciones de la tasa de filtración glomerular. Sin embargo, en esa investigación no se reportaron los valores de proteinuria. Por otra parte, Chen y et al.³⁰ encontraron una asociación positiva entre las concentraciones de endostatina y los valores de proteinuria ($r=0,663$) en pacientes con enfermedad renal crónica. Estos datos sugieren que la endostatina puede llevar a alteración de la función renal, ya que se han reportado efectos inhibitorios de la endostatina sobre el mantenimiento de la estructura de los capilares glomerulares y en el proceso de reparación posterior a la lesión de las células endoteliales glomerulares y capilares peritubulares, expresión de sustancias y células angiogénicas endoteliales²⁵. No se conoce ninguna investigación que aporte información sobre la relación con el ácido úrico, aunque una reducción del flujo sanguíneo hacia el riñón, lo que causa daño y alteración de la función, produce aumento de las concentraciones de este producto final del metabolismo de las purinas.

Las concentraciones elevadas de endostatina observadas en esta investigación pueden ser un componente mayor del plasma de las preeclámpicas, alterando el crecimiento y

la función de las células endoteliales y contribuyendo a la aparición de las lesiones endoteliales observadas en la pre-eclampsia. También podrían producir efectos adversos en el proceso de desarrollo placentario como la angiogénesis, las ramificaciones de las vellosidades y la diferenciación del trofoblasto.

Conclusiones

Los hallazgos de esta investigación demuestran que las pacientes eclámpicas y preeclámpicas presentan concentraciones de endostatina plasmática más altas que las embarazadas normotensas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Wang A, Rana S, Karumanchi S. Preeclampsia: The role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology (Bethesda)*. 2009;24:147-58.
- Gagnon A, Wilson R, Audibert F, Allen V, Blight C, Brock J, et al. Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. *J Obstet Gynaecol Can*. 2008;30:918-49.
- Lyall F. Mechanisms regulating cytotrophoblast invasion in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2006;46:266-73.
- Morbidelli L, Donnini S, Chillemi F, Giachetti A, Ziche M. Angiosuppressive and angiostimulatory effects exerted by synthetic partial sequences of endostatin. *Clin Cancer Res*. 2003;9:5358-69.
- Cichy M, Rocha F, Tristão V, Pessoa E, Cenedeze M, Nürnberg Junior R, et al. Collagen XVIII/endostatin expression in experimental endotoxemic acute renal failure. *Braz J Med Biol Res*. 2009;42:1150-5.
- Van Hinsbergh V, Koolwijk P. Endothelial sprouting and angiogenesis: Matrix metalloproteinases in the lead. *Cardiovasc Res*. 2008;78:203-12.
- Wu P, Yonekura H, Li H, Nozaki I, Tomono Y, Naito I, et al. Hypoxia down-regulates endostatin production by human microvascular endothelial cells and pericytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;288:1149-54.
- Hanai J, Dhanabal M, Karumanchi S, Albanese C, Waterman M, Chan B, et al. Endostatin causes G1 arrest of endothelial cells through inhibition of cyclin D1. *J Biol Chem*. 2002;277:16464-9.
- Mahmound R, Abdel-Raouf M. Serum endostatin and vascular endothelial growth factor levels in patients with pre-eclampsia. *East Mediterr Health J*. 2006;12:178-87.
- Hirtenlehner K, Pollheimer J, Lichtenberger C, Wolschek M, Zeisler H, Husslein P, et al. Elevated serum concentrations of the angiogenesis inhibitor endostatin in preeclamptic women. *J Soc Gynecol Investig*. 2003;10:412-7.
- Wathén K, Ylikorkala O, Andersson S, Alfthan H, Stenman U, Vuorela P. Maternal serum endostatin at gestational weeks 16-20 is elevated in subsequent pre-eclampsia but not in intrauterine growth retardation. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2009;88:593-8.
- Wikström A, 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.
- Rein D, Schondorf T, Gohring U, Kurbacher C, Pinto I, Breidenbach M, et al. Cytokine expression in peripheral blood lymphocytes indicates a switch to T(HELPER) cells in patients with preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2002;54:133-42.
- Johansen M, Redman C, Wilkins T, Sargent I. Trophoblast deportation in human pregnancy—its relevance for pre-eclampsia. *Placenta*. 1999;20:531-9.
- Abdollahi A, Hahnfeldt P, Maercker C, Gröne H, Debus J, Ansorge W, et al. Endostatin's antiangiogenic signaling network. *Mol Cell*. 2004;13:649-63.
- 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.
- Heljasvaara R, Nyberg P, Luostarinen J, Parikka M, Heikkilä P, Rehn M, et al. Generation of biologically active endostatin fragments from human collagen XVIII by distinct matrix metalloproteinases. *Exp Cell Res*. 2005;307:292-304.
- Dhar D, Ono T, Yamanoi A, Soda Y, Yamaguchi E, Rahman M, et al. Serum endostatin predicts tumor vascularity in hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 2002;95:2188-95.
- Robak E, Woźniacka A, Sysa-Jedrzejowska A, Stepień H, Robak T. Circulating angiogenesis inhibitor endostatin and positive endothelial growth regulators in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2002;11:348-55.
- Eriksson K, Magnusson P, Dixelius J, Claesson-Welsh L, Cross M. Angiostatin and endostatin inhibit endothelial cell migration in response to FGF and VEGF without interfering with specific intracellular signal transduction pathways. *FEBS Lett*. 2003;536:19-24.
- Kim Y, Hwang S, Kim Y, Pyun B, Kim T, Lee S, et al. Endostatin blocks vascular endothelial growth factor-mediated signaling via direct interaction with KDR/Flk-1. *J Biol Chem*. 2002;277:27872-9.
- Wickström S, Alitalo K, Keski-Oja J. Endostatin associates with lipid rafts and induces reorganization of the actin cytoskeleton via down-regulation of RhoA activity. *J Biol Chem*. 2003;278:37895-901.
- Urbich C, Reissner A, Chavakis E, Dernbach E, Haendeler J, Fleming I, et al. Dephosphorylation of endothelial nitric oxide synthase contributes to the anti-angiogenic effects of endostatin. *FASEB J*. 2002;16:706-8.
- Elamäa H, Snellman A, Rehn M, Autio-Harmainen H, Pihlajaniemi T. Characterization of the human type XVIII collagen gene and proteolytic processing and tissue location of the variant containing a frizzled motif. *Matrix Biol*. 2003;22:427-42.
- Yamagishi S, Yonekura H, Yamamoto Y, Fujimori H, Sakurai S, Tanaka N, et al. Vascular endothelial growth factor acts as a pericyte mitogen under hypoxic conditions. *Lab Invest*. 1999;79:501-9.
- Li H, Dakour J, Guilbert L, Winkler-Lowen B, Lyall F, Morrish D. PL74, a novel member of the transforming growth factor-beta superfamily, is overexpressed in preeclampsia and causes apoptosis in trophoblast cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:3045-53.
- Reddy A, Zhong X, Rusterholz C, Hahn S, Holzgreve W, Redman C, et al. The effect of labour and placental separation on the shedding of syncytiotrophoblast microparticles, cell-free DNA and mRNA in

-
- normal pregnancy and pre-eclampsia. *Placenta*. 2008;29:942–9.
28. Van Wijk M, Boer K, Nisell H, Smarason A, Van Bavel E, Kublickiene K. Endothelial function in myometrial resistance arteries of normal pregnant women perfused with syncytiotrophoblast microvillous membranes. *BJOG*. 2001;108:967–72.
29. Futrakul N, Butthep P, Laohareungpanya N, Chaisuriya P, Ratanabanangkoon K. A defective angiogenesis in chronic kidney disease. *Ren Fail*. 2008;30:215–7.
30. Chen J, Hamm L, Kleinpeter M, Husserl F, Khan I, Chen C, et al. Elevated plasma levels of endostatin are associated with chronic kidney disease. *Am J Nephrol*. 2012;35:335–40.