

GEBELERDE PREEKLAMPSİ TANISINDA MATERNAL ÜRİNER NGAL DÜZEYLERİ; POTANSİYEL DİYAGNOSTİK BİR BİYOBELİRTEÇ

Nilgün Tekkeşin,¹ Asena Ayar²

¹Özel Şişli Memorial Hastanesi, Biyokimya Bölümü, İstanbul

²Özel Şişli Memorial Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İstanbul

ÖZET

Amaç: Preeklampsi, gebeliğin 20. haftasından sonra ortaya çıkan hipertansiyon ve proteinüri ile karakterize gebelikle ilişkili bir bozukluktur. Bu hastalığın etiyojisi bilinmemektedir, fakat yakın zamanda yapılan çalışmalar hastalığın plasenta kaynaklı olduğu ve yaygın maternal endotel disfonksiyonu ile karakterize olduğunu göstermektedir. Serum NGAL'i (nötrofil jelatinaz-ilişkili lipokalin), endotel hasarıyla yakın ilişkilidir ve preeklampside arttığı gösterilmiştir. Biz, invazif olmayan, otomatize bir sistem kullanarak preeklampsi olguları ve komplike olmamış gebelerde prospektif olarak idrarda NGAL (uNGAL) düzeyindeki değişikliği incelemek istedik.

Materyal ve Metot: Preeklampsi tanısı konan 30 hastada, idrarda NGAL düzeyleri 10-12 gestasyon haftası, 24-26 gestasyon haftası ve doğumda incelendi. Otuz adet komplike olmayan gebe de kontrol grubunu oluşturdu.

Bulgular: Preeklampsi grubunda (n=30) uNGAL konsantrasyonu, kontrol grubuna (n=30) göre daha yüksek olup, her trimesterde da belirgin farklılık gösterdi. uNGAL ile kan basıncı arasında pozitif bir ilişki bulduk. Ayrıca, uNGAL ile proteinüri arasında da belirgin bir ilişki elde ettik.

Sonuç: Bu, normal ve preeklampsi gebelerde prospektif olarak uNGAL düzeyini değerlendiren ve iki grup arasında belirgin farkı gösteren ilk çalışmadır. Diagnostik açıdan bakıldığında, araştırmadaki bu gelişmenin, preeklampsinin bir belirteci olması için onaylanmasına ihtiyaç vardır. İdrarda cut-off seviyesinin yerleşebilmesi için büyük kohort çalışmaları gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Preeklampsi, gebelikte hipertansif bozukluk, idrar nötrofil jelatinaz-ilişkili lipokalin, gebelik. Nobel Med 2015; 11(3): 37-41

MATERNAL URINARY NGAL LEVELS FOR DIAGNOSIS OF PREECLAMPSIA IN PREGNANT WOMAN: A POTENTIAL DIAGNOSTIC BIOMARKER

ABSTRACT

Objective: Preeclampsia is a pregnancy related disorder characterized by hypertension and proteinuria noticeable after 20 weeks of gestation. The aetiology of the disease is unknown, but recent studies have revealed that this disorder appears to originate in placenta and is characterized by widespread maternal endothelial dysfunction. Serum level of NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) is closely related to endothelial injury and have been shown to increase in preeclampsia. We aimed to evaluate changes in urinary NGAL (uNGAL) prospectively during uncomplicated pregnancy and in cases of preeclampsia using a noninvasive, automated method.

Material and Method: Thirty women affected by preeclampsia enrolled in the study were evaluated for urinary

NGAL levels at 10-12 weeks gestation, at 24-26 weeks gestation and at delivery. Thirty women with uncomplicated pregnancies formed the control group.

Results: uNGAL concentrations in the preeclampsia group (n=30) were higher compared to the control group (n=30), with significant differences in each trimester. We found a positive correlation between uNGAL with blood pressure. Furthermore, we observed significant correlations between uNGAL and proteinuria.

Conclusion: This is the first study that has prospectively evaluated uNGAL concentrations in normal and in preeclampsia pregnancies, showing a difference in each trimester between the two groups. From a diagnostic standpoint, confirmation of this development in the search for a promising biomarker of preeclampsia is needed the discovery of uNGAL. Large cohort studies are required to establish the useful cut-off urinary levels.

Keywords: Preeclampsia, hypertensive disorders of pregnancy, urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin, pregnancy
Nobel Med 2015; 11(3): 37-41

GİRİŞ

Nötrofil jelatinaz-ilişkili lipokalin (NGAL), diğer adıyla lipokalin-2, 25-kDa ağırlığında bir glikoprotein olup insan nötrofil granüllerinde bulunur.¹ NGAL, aynı zamanda böbrek, meme, kolon gibi diğer insan dokularında da eksprese olur ve ciddi derecede epitel hasarının olduğu enflamasyon veya neoplazilerde de belirgin olarak üretimi artar.^{2,3} Renal yetmezlikte de hızla NGAL üretimi olur ve serum ve idrar düzeyleri ile rezidüel renal fonksiyon arasında belirgin bir ilişki görülür.⁴⁻⁶

Plazma NGAL düzeyinin hipertansif kadınlarda olmayanlara göre daha yüksek bulunması nedeni ile NGAL direkt olarak hipertansiyonla ilişkilendirilmiştir.⁷ Gebelikte hipertansif bozukluğun görülme oranı ilk gebelikte %10 iken tüm gebelerde %3-5 arası tespit edilir.⁸⁻¹⁰ Bu bozuklukların arasında yer alan preeklampsi (PE) ve eklampsi, gebelik süresince anne ve fetusun hayatını tehlikeye sokan ciddi bir durumdur. Maternal mortalitesi, gelişmiş ülkelerde %16,1 iken hipertansiyonla ilişkili fetüs ölümlerinin %18'ini oluşturmaktadır.^{11,12} Gebelikte komplike hipertansif bozuklukların patogenezi, tümüyle netleşmemiştir. Çok faktörlü bir hastalıktır ve temel patogenezinde, maternal endotel hücrelerinin sistemik aktivasyonu yer alır. Bu durum hipertansiyon, proteinüri, inflamasyon ve anti-anjiyogenik faktörlerin konsantrasyonlarında artış ile karakterizedir. NGAL düzeyi, endotel hasarı ile yakın ilişkili olduğundan gebelikteki vasküler endotel disfonksiyonun sonucunda

değişebilir.⁵ Preeklampside proteinüri, glomerüler kaynaklı olup, mekanizması net olarak anlaşılamamıştır.¹³ Endotel hücrelerinin şişmesine bağlı gomerüllerden sızıntı meydana gelir.¹⁴

Gebelikte PE'yi tayin edebilmek zorunlu olup invazif olmayan belirteçlerin kullanıldığı tanısal belirteçlerin tayini, büyük önem taşımaktadır. Yakın zamanda yapılan çalışmada, 2. trimestrin son dönemlerinde preeklampsi ile seyreden gebelerde, serum NGAL düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş ve NGAL'in bu bozukluk için prediktif olabileceği öne sürülmüştür.¹⁵ Biz de, gebelikte oluşabilecek endotel hasarının gelişimini önceden tespit edebilmek üzere ilk kez invazif olmayan, ölçüm tekniği olarak çok daha pratik, otomatize bir sistem kullanarak idrarda NGAL (uNGAL) düzeyini değerlendirdik. Amacımız, normal gebelerde ve preeklampsi tanısı konan gebelerde tüm gebelik süresi boyunca her trimesterde idrarda NGAL düzeyini ölçerek, komplike olmadan preeklampsi vakalarını noninvazif bir yöntemle tespit edebilmektir.

MATERYAL VE METOT

2013 yılının başından bu yana, hastanemize gelen ve sonrasında preeklampsi tanısı konan 30 gebe takip edildi. Hastanemize başvuran gebelerden 1. ve 2. trimester testleri için alınan kan örnekleri ve proteinüri takibi için gelen idrar örnekleri uygun koşullarda saklanmıştı. Bunların arasından preeklampsi tanısı konulan 30 hastaya ileriye dönük çalışma hakkında bilgi verildi

ve imzalı rıza formları alındı. Çalışma 29.03.2013 tarihinde Hastane Etik Kurulu (toplantı no: 14) tarafından onaylandı.

Hastalar, tekli gebeydiler, kronik hipertansiyon, diyabet, üriner sistem enfeksiyonu ve renal hastalıkları yoktu. Gebeliğin başlangıcında proteinürileri yoktu. Bu hastaların biri hariç (27. haftada doğum) tümünde geç-başlangıçlı preeklampsi gelişti ve gestasyonel yaşta yeterli fetus doğum ağırlığına sahip olup ≥ 34 . haftada doğumları gerçekleşti.

Preeklampsi tanısı, öncesinde normotansif olan ve 20. haftadan sonra 6 saat arayla en az iki kez ardışık ölçüm sonrasında kan basıncı $\geq 140/90$ mmHg'nın üzerinde bulunması ve beraberinde 24 saatlik idrarda ≥ 300 mg protein tespit edilmesiyle konulmuştur.¹⁰ Her bir hastadan üçer adet kan örneği alındı;

- I. Örnek: Down taramasının yapıldığı dönem (10-12 gestasyon haftası) - 1. trimester
- II. Örnek: Gestasyonel diyabetin tarandığı dönem (24-26 gestasyon haftası) - 2. trimester
- III. Örnek: Preeklampsi tanısı alan gebelerin doğumundan hemen önce-son dönem.

Kontrol grubunda tekli gebeliği olan, gestasyonel yaşta yeterli fetus doğum ağırlığına sahip doğumu gerçekleşen, komplike olmamış 30 adet gebe yer aldı. Hastaların ilk ölçümleri içinde yer alan bilgiler [materyal yaş, gebelik sayısı, gebelik öncesi vücut kitle indeksi (VKİ)] ile preeklampsi tanısı konması sonrasındaki bilgileri [doğum ağırlığı, sistolik kan basıncı (SKB), diastolik kan basıncı (DKB), serum/idrar kreatinin ve proteinüri düzeyleri], kontrol grubunun eş zamanlı değerleriyle birlikte kaydedildi. Buna göre kontrol grubu ile çalışılan hasta grubu, yaş, gebelik sayısı, VKİ ve 1. ve 2. trimester taramalarındaki gestasyonel haftalar bakımından uyumluydular. Tüm gruplarda gestasyonel yaş, son adet tarihi ve ultrason ile doğrulanmış tarihe göre hesaplandı. Tüm gebelerde Down tarama sonucu negatif, gestasyonel diyabet yoktu ve sigara içmiyorlardı.

Bir gecelik açlık sonrası, Down taraması için ve gestasyonel diyabet taraması için (yaklaşık 400 hasta/yıl) gelen tüm gebelerden ve son olarak da doğuma gelenlerden ve aynı sürelerde kontrol grubundan düz tüpe 5 mL kan alındı, 4°C'da 6000 rpm'de 15 dk santrifüj edilerek serum ayrıştırıldı. Aynı zamanda, spot idrar örnekleri alındı, 2000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek, süpernatantı ayrıştırıldı. Örnekler, ölçüm yapıncaya kadar -20°C'de saklandı.

uNGAL ölçümleri, bir dizi değişkenlerden, özellikle de mevcut renal hastalıktan etkilenebileceğinden hastalarda serum ve idrar kreatinin düzeyine de bakıldı. Bunun

Tablo 1. Çalışma grubunun demografik ve klinik özellikleri			
	Kontrol Grubu (n=30)	PE Grubu (n=30)	p değeri
Maternal yaş (yıl)	25,5 ± 0,8	25,1 ± 0,5	0,91 ^a
Nulliparite (%)	33,4	29,7	0,78 ^b
Gebelik öncesi VKİ	24,2 ± 2,1	24,8 ± 1,3	0,95 ^a
Doğum ağırlığı (kg)	3,104 ± 318	2,587 ± 288	0,001 ^a
GY- I. örnek (gün)	75 ± 4	72 ± 2	0,17 ^a
GY- II. örnek (gün)	175 ± 3	174 ± 5	0,18 ^a
GY- III. örnek (gün)	267 ± 5	250 ± 14	< 0,001 ^a
Sistolik kan basıncı (mmHg)	117 ± 7	156 ± 12	< 0,001 ^a
Diastolik kan basıncı (mmHg)	65 ± 7	99 ± 12	< 0,001 ^a
Serum kreatinin (mg/dL)	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,3	0,78 ^a
Proteinüri (mg/24 sa)	12 ± 0,1	689 ± 78	< 0,001 ^a

PE: Preeklampsi, GY: gestasyonel yaş, VKİ: vücut kitle indeksi, ^a: Mann Whitney-U test, ^b: Ki-kare test

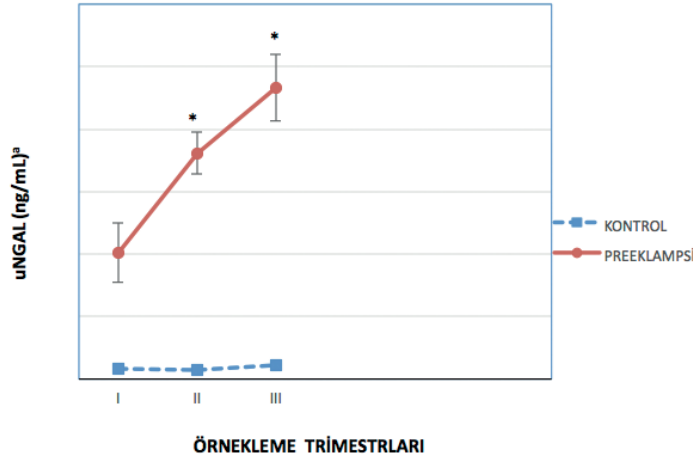
için üretici firmanın reaktifleri kullanılarak otomatize bir sistemde ölçüm yapıldı (COBAS Integra 800, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim).

İdrarda total protein ölçümü için 24 saatlik özel toplama kaplarında idrar numunesi biriktirildi. Bu örnekler, bekletilmeden çalışmaya alındı ve otoanalizörde üretici firmanın önerisi doğrultusunda mevcut reaktifleri kullanılarak (COBAS Integra 400, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) ölçümleri yapıldı. Bu yöntemde, benzetonyum klorür kullanılmakta ve türbidimetrik olarak ölçüm yapılmaktadır.

uNGAL ölçümü, spot idrar örneğinde yapıldı. Alınan numune 5 dk ≥ 400 RCF'de çevrildikten sonra bekletilmeden ARCHITECT® NGAL (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL) reaktifleri ve sitem kullanılarak yapıldı. Testin ölçüm aralığı, 10-1500 ng/mL'dir. Üretici firmanın belirlediği referans aralığı, <132 ng/mL, olup >250 ng/mL'da akut böbrek yetmezliğinden bahsedilmektedir. uNGAL konsantrasyonu 120 ng/mL'de CV değerleri sırasıyla %3,7 ve %5,8 bulundu.

Kan basıncı ölçümü, civalı tansiyon aleti kullanılarak sağ koldan süpin pozisyonunda yapıldı ve Korotkoff V sesleri diastolik kan basıncı olarak kaydedildi.

İstatistiksel analiz için SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA), versiyon 13 Windows kullanıldı. Normal dağılım gösteren veriler ortalama \pm SS olarak verildi, uNGAL için medyan ve interkuantil aralık (IR) kullanıldı. Hasta grupları arasında sürekli değişkenler için Student t-test, sürekli veri için Mann-Whitney U-testi ve kategorik değişkenler için de Ki-kare testi kullanıldı. Friedman's testi, grup içinde uNGAL değerlerinin trimesterler arasında değişimlerinin karşılaştırılması için kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişki, Spearman korelasyonu analizi ile değerlendirildi.



Şekil. Her bir örneklem döneminde preeklampsi ve normal gebelerde uNGAL düzeyleri.

*: p değeri, I vs II için <0,05, II vs III için <0,05. a: Değerler Medyan (%25-75) cinsinden verilmiştir.

	Kontrol Grubu (n=30)	PE Grubu (n=30)	p değeri
I. Örnek	16,6 (8,1-21,2)	201,9 (152,1-541,1)	< 0,001
II. Örnek	14,3 (10,3-19,3)	361,6 (178,3-612,6)	< 0,001
III. Örnek	21,8 (9,7-25,5)	466,2 (128,7-702,9)	< 0,001

p değeri kontrol ile preeklampsi grubu arasındaki anlamlılığı vermektedir. *: Değerler Medyan (IR-interkuantil aralık) ng/mL cinsinden verilmiştir. PE: Preeklampsi

BULGULAR

Çalışılan hastaların (n=30) ve kontrol grubunun (n=30) demografik ve klinik özellikleri, Tablo 1'de verilmiştir. Demografik özellikler açısından iki grup arasında sadece doğum ağırlığında belirgin fark izlendi. Klinik özelliklerde ise SKB, DKB ve idrarda protein miktarı belirgin fark gösterdi (p<0,001). Her iki grubun da serum ve idrar kreatinin düzeyleri herhangi bir fark göstermeksizin belirlenen referans aralığı içindeydi (28-217 mg/dL). Bu nedenle de hastalara ait uNGAL değerleri için kreatinine göre oranlama yapılmadı.

Her bir trimester döneminde kontrol gruplarıyla preeklampsi grupları arasındaki uNGAL karşılaştırması yapıldı (Tablo 2). Ancak, gestasyonel yaşla birlikte uNGAL değerleri, kontrol grubunda bir değişiklik göstermedi (p=0,23). Bunun aksine, preeklampsi olgularında 1. trimester ile kıyaslandığında 2. trimester ve doğumdaki uNGAL değerleri anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p<0,001) (Şekil).

Preeklampsi grubunda 1., 2. trimester ve son dönemdeki uNGAL değerleri ile kan basıncı kıyaslandığında; sistolik kan basıncında 1. trimester için pozitif korelasyon

(r=0,87, p<0,001); 2. trimester için pozitif korelasyon (r=0,57, p<0,001) ve son dönem için de pozitif korelasyon (r=0,61, p<0,001) bulundu. Keza diastolik kan basıncında da her dönem için pozitif korelasyon bulundu (1. trimester için r=0,65, p<0,001, 2. trimester için 0,69, p<0,001 ve son dönem için r=0,58, p<0,001). Ayrıca, uNGAL değeri ile proteinüri düzeyi arasında belirgin bir ilişki bulundu. (1. trimester için r=0,77, p<0,001, 2. trimester için r=0,87, p<0,001 ve son dönem için r=0,68, p<0,001). uNGAL ile diğer özellikler (maternal yaş, gebelik öncesi VKİ ve gebelik sayısı) arasında ise doğum ağırlığı hariç bir ilişki saptanmadı. Ancak, doğum ağırlığı ile uNGAL arasındaki negatif yönlü bir ilişki (r=-0,70, p<0,001) mevcuttu.

TARTIŞMA

Preeklampsi, hipertansiyon, proteinüri ve enflamasyonla karakterize olup antianjiyogenik faktörlerin seviyesinde yüksek artışlarla karakterizedir.¹⁶ Yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda, serum NGAL düzeyindeki artışın özellikle gebeliğin 2. trimestrinde çok belirgin olduğu ve bu kişilerde preeklampsi geliştiği gösterilmesi üzerine NGAL'nin bu sendrom için prediktif olabileceğine dair yorumlar yapılmıştır.¹⁵

Dolaşımdaki NGAL düzeyinin artışı, lökosit aracılı enflamasyon aktivitenin ve endotelial aktivitenin bir sonucu olduğu ileri sürülmektedir.¹⁷ Her iki durum da, özellikle gebelikte preeklampsi ile ortaya çıkan hipertansiyon patofizyolojisinde yer alır. Dolayısıyla, 2. trimesterden sonra, preeklampsi gelişmesinde ciddi etkisi olan endotel disfonksiyonu ve enflamatuvar aktivite varlığında serum NGAL düzeyindeki artışın temel nedeni olabileceği yönünde argümanlar başlamıştır.

Çalışmamızda 30 adet preeklampsi olgunun yanında yine demografik özellikleri bakımından uyum gösteren 30 adet de kontrol olgusu yer almıştır. Genç yaş grubu ve ilk hamilelik, preeklampsi gelişiminde bilinen risk faktörüdür.¹⁸ Yaş dağılımının preeklampsi grubunda 28,4±2,1 yıl iken, kontrol grubunda 28,5±2,4 yıl olup bir farklılık göstermemesi, bu faktörden bağımsız uNGAL düzeyini takip etmemizi sağlamıştır (p=0,91).

Çalışmamızda preeklampsi grubunda uNGAL ile SKB ve DKB arasında her bir örneklem yapıldığı dönemde pozitif ve anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Benzer bazı çalışmalar da bu pozitif ilişkiyi serum NGAL ve kan basıncı arasında bulmuşlardır.^{15,19} Aynı zamanda uNGAL ile proteinüri arasında da pozitif ilişki bulunmuştur (r=0,87, p<0,001). Bu ilişkiler, hipertansiyon ve proteinüri ile seyreden endotel disfonksiyonunun bir sonucu olabilir.²⁰ Serum NGAL ile proteinüri gelişimi ve tablonun ciddiyeti arasında pozitif ilişkiler bulunmuştur.¹⁵

Gebe olmayan hipertansif kadınlarda da serum NGAL düzeyi kontrol grubuna göre yüksek ve DKB ile direkt ilişkili tespit edilmiştir.²⁰ Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, uNGAL düzeyinin, akut böbrek hasarının erken bulgusu olabileceğine dair veriler sunulmuştur.⁶ Çalışmamızda da tespit edilen uNGAL ile proteinüri arasındaki pozitif ilişki, preeklampside izlenen glomerüler sızıntının erken bir bulgusu olarak karşımıza çıkabilir.

Doğum ağırlığı ile uNGAL arasındaki dikkat çeken negatif ilişki ($r=-0,70$, $p<0,001$), uNGAL'de artışın intrauterin gelişim geriliği gibi ağırlığın azalmasıyla giden durumlara işaret edebileceği hususunda anlamlı olabilir. uNGAL değeri, preeklampsinin olduğu grup ile kontrol grubu arasında belirgin fark göstermiştir. Bu farklılık sadece, her dönemde tespit edilen değişimin ötesinde gebelik boyunca farklılık göstermesiyle de dikkat çekmiştir. Kontrol grubunda tüm gebelik boyunca uNGAL düzeyinde bir değişiklik olmaz iken preeklampsisi grubunda uNGAL 1. trimesterden itibaren 2. trimester ve doğumdaki sürece göre belirgin artış göstermiştir. Benzer bir şekilde Kim SM ve ark. preeklampsinin varlığı ve cid-

diyetindeki artış ile beraber serum NGAL düzeylerindeki artışlara dikkat çekmişlerdir.²¹

Bu bulgular ilgi çekici olabilir, çünkü bizim preeklampsisi olgularımızın tümü geç başlangıçlı olup, sonuçta, orta düzeydeki preeklampsisi vakalarında erken evrede endotel disfonksiyonu olabileceği ve gebeliğin ikinci yarısında da pik düzeye ulaşabileceğini işaret edebilir.

Nitekim endotel disfonksiyonunun bir sonucu olarak SKB, DKB ve proteinüri varlığı ile serum NGAL arasında pozitif bir korelasyonun gösterildiği çalışmalar da bildirilmiştir.^{22,23} Neticede, bu verilerin, bir dizi ileri çalışmalarla doğrulanması ve preeklampsisi tespit etmede doğru güvenilir uNGAL cut off değerinin tespitine yönelik çalışmaların türetilmesi gerekir. Özellikle de ilk trimester vakalarında preeklampsisi tehditini işaret edecek değerlere ulaşabilmek anne ve fetüs sağlığı açısından çok değerli olacaktır.

* Yazarlar herhangi bir çıkar ilişkisi içinde bulunmadıklarını bildirmişlerdir.



C	İLETİŞİM İÇİN: Nilgün Tekkeşin Özel Şişli Memorial Hastanesi, Biyokimya Bölümü, 34385, Şişli, İstanbul nittek@hotmail.com
✓	GÖNDERİLDİĞİ TARİH: 17 / 04 / 2014 • KABUL TARİHİ: 26 / 01 / 2015

KAYNAKLAR

1. Kjeldsen L, Bainton DF, Sengelov H, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel matrix protein of specific granules in human neutrophils. *Blood* 1994; 83: 799-807.
2. Cowland JB, Sorensen OE, Sehested M, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is up-regulated in human epithelial cells by IL-1b, but not by TNF-a. *J Immunol* 2003; 171: 6630-6639.
3. Fernandez CA, Yan L, Louis G, et al. The matrix metalloproteinase-9/neutrophil gelatinase-associated lipocalin complex plays a role in breast tumor growth and is present in the urine of breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5390-5395.
4. Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, et al. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. *Ann Intern Med* 2008; 148: 810-819.
5. Utenthal LO. NGAL: a marker molecule for the distressed kidney? *Clin Lab Int* 2005; 29: 39-41.
6. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005; 365: 1231-1238.
7. Elneihom AM, Falke P, Hedblad B, et al. Leukocyte activation in atherosclerosis: correlation with risk factors. *Atherosclerosis* 1997; 131: 79-84.
8. ACOG Technical bulletin: Hypertension in pregnancy. No. 219. Jan 1996 (Replaces No. 91, February 1988). Committee on technical bulletins of the ACOG. *Int J Gynecol Obstet* 1996; 53: 175-183.
9. Roberts JM, Pearson G, Cutler J, et al. NHLBI Working group on research on hypertension during pregnancy. Summary of the NHLBI working group on hypertension during pregnancy. *Hypertension* 2003; 41: 437-446.
10. Norwitz ER, Hsu CD, Repke JT. Acute complications of preeclampsia. *Clin Obstet and Gynecol* 2002; 45: 308-329.
11. Khan KS, Wojdyla D, Say L, et al. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet* 2006; 367: 1066-1074.
12. Montan S, Sjoberg NO, Svenningsen N. Hypertension in pregnancy -Fetal and infant outcome. A cohort study. *Clinical & Experimental Hypertension - Part B, Hypertens Pregnancy* 1987; 6: 337-348.
13. Hladunewich M, Karumanchi SA, Lafayette R. Pathophysiology of the clinical manifestations of preeclampsia. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2: 543-549.
14. Stillmann IE, Karumanchi SA. The glomerular injury of preeclampsia. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2281-2284.
15. D'Anna R, Baviera G, Giordano D, et al. Second trimester neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a prediagnostic marker of preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; 24: 1-4.
16. Strevens H, Wide-Svensson D, Hansen A, et al. Glomerular endotheliosis in normal pregnancy and preeclampsia. *BJOG* 2003; 110: 831-836.
17. Var A, Yildiran Y, Onur E, et al. Endothelial dysfunction in preeclampsia: Increased homocysteine and decreased nitric acid levels. *Gynecol Obstet Invest* 2003; 56: 221-224.
18. Essam AE, Hamed OK, Soliman MA, et al. Risk Factors and Impacts of Pre-Eclampsia: An Epidemiological Study among Pregnant Mothers in Cairo, Egypt. *Journal of American Science* 2011; 7:311-323.
19. Roberts JM, Gammil HS. Preeclampsia: recent insights. *Hypertension* 2005; 46: 1263-1269.
20. De Vivo A, Baviera G, Giordano D, et al. Endoglin, PlGF and sFlt-1 as a marker for predicting preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; 26: 1-6.
21. Kim SM, Park JS, Norwitz ER, et al. Circulating levels of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) correlate with the presence and severity of preeclampsia. *Reprod Sci* 2013; 20: 1083-1089.
22. Rachan S. Serum Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin: Predictor of Pre-Eclampsia, Eclampsia and Its Correlation with Severity of Disease. *International Journal Medicine and Medical Sciences* 2013; 46: 1170-1178.
23. Ulkumen B, Guvenc Y, Goker A, Gozukara C. Relationship of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and procalcitonin levels with the presence and severity of the preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2014: 1-6.