

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİMDALI

**İTERLÖKİN 2 GENİ -384 PROMOTOR BÖLGESİNDEKİ
POLİMORFİZMİN PREEKLAMSI İLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

ÖZGÜR TURGUT

YÜKSEK LİSANS

**TIBBİ BİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI YÜKSEK
LİSANS TEZİ**

**DANIŞMANI
Prof. Dr. H. Ümit LÜLEYAP**

ADANA-2014

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİMDALI

**İTERLÖKİN 2 GENİ -384 PROMOTOR BÖLGESİNDEKİ
POLİMORFİZMİN PREEKLAMSI İLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

ÖZGÜR TURGUT

YÜKSEK LİSANS

**TIBBİ BİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI YÜKSEK
LİSANS TEZİ**

**DANIŞMANI
Prof. Dr. H. Ümit LÜLEYAP**

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından TF2010YL1 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

TezNo:.....
ADANA-2014

KABUL VE ONAY

TıbbiBiyoloji Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “İnterlökin 2 Geni -384 Promotor Bölgesindeki Polimorfizmin Preeklamsi İle İlişkinin Araştırılması”adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak Kabul edilmiştir.

Tarih:

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof.Dr. H. Ümit LÜLEYAP ÇukurovaÜniversitesi

Başkan

Prof. Dr. Davut ALPTEKİN
ÇukurovaÜniversitesi

Üye

Prof. Dr. Akif ÇÜRÜK
ÇukurovaÜniversitesi

Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun...../...../.....tarih ve.....sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Şeref ERDOĞAN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren, tez konumun seçilmesinde ve çalışmamın her aşamasında beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. H. Ümit LÜLEYAP'a en içten dileklerle teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimime katkıda bulunan Anabilim Dalımız Öğretim Üyelerine teşekkürlerimi sunuyorum.

Laboratuvar çalışmalarında ve tez yazımında her türlü desteklerinden dolayı Dr. Erdal TUNÇ'a, özellikle Uzm. Bio. Mehmet Ali ERKOÇ ve Dr. Ceyhan BEREKETOĞLU'na, Uzm. Bio Gamze CÖMERTPAY, Uzm. Bio. Turan TUFAN ve diğer emeği geçen öğrenci dostlarım ve Tıbbi Biyoloji çalışanlarına teşekkürlerimi sunuyorum.

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Fatma Tuncay ÖZGÜNEN hocamıza saygımı sunar, hocama ve Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı asistanları ve çalışanlarına teşekkür ederim.

İstatistik uygulamalarımnda yardımcı olan Ç.Ü. Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı Bölüm Başkanı ve Öğretim Üyesi Prof. Dr. Refik BURGUT hocama teşekkür ederim.

Bu tez çalışması TF2010YL1 numaralı proje ile Ç.Ü. Rektörlüğü Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

Son olarak manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli aileme, beni yalnız bırakmayan tüm dostlarıma teşekkür borç bilir sevgimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Preeklampsi	4
2.1.1. Preeklampsinin Tarihçesi	4
2.1.2. Preeklampsinin Tanımı ve Sınıflandırılması	4
2.1.3. Eklampsi	6
2.1.4. İnsidans, Prevelans, Mortalite ve Morbidite	6
2.1.5. Risk Faktörleri	7
2.1.6. Preeklampsinin Tedavisi	9
2.1.7. Preeklampsinin Etiyolojisi ve Patofizyolojisi	10
2.1.7.1. Kardiovasküler sistem:	13
2.1.7.2. Hematolojik sistem:	14
2.1.7.3. Böbrek fonksiyonları:	15
2.1.7.4. Endokrin ve metabolik değişiklikler:	16
2.1.7.5. Pulmoner değişiklikler:	16
2.1.7.6. Karaciğer bozukluğu:	16
2.1.7.7. Nörolojik değişiklikler:	16
2.1.7.8. HELLP sendromu:	17
2.1.7.9. Pulmoner ödem:	18
2.1.7.10. Plasenta dekolmanı:	18
2.2. Preeklampsi Genetiği	18

2.2.1. Aile Çalışmaları	18
2.2.2. İkiz Çalışmaları	19
2.2.3. Fetüsteki Genetik Aberasyon	20
2.2.4. Paternal Genotipin Katkısı	20
2.2.5. Paterniti ve Gebelik Aralığındaki Değişiklik	21
2.2.6. Aday Gen Çalışmaları	21
2.2.7. Kapsamlı Genom Taramaları	24
2.2.8. Genetik Polimorfizmler	26
2.3. Sitokinler	27
2.3.1. Sitokinlerin Genel Özellikleri	29
2.3.2. Sitokinlerin Etki Mekanizmaları	29
2.3.3. İnterlökin -2 nin Özellikleri	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Araç ve Gereçler	32
3.1.1. Kimyasal Malzemeler	32
3.1.2. Cihazlar ve Teknik Malzemeler	33
3.2. Kan Örneklerinin Sağlanması	33
3.2.1. Hasta Rızası	34
3.3. Yöntem	34
3.3.1. Periferik Kandan DNA Elde Edilmesi	34
3.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yönteminin Uygulanması	35
3.3.2.1. IL-2 Geni 384 Promotor Bölgesi için PZR Yönteminin Uygulanması	36
3.3.3. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP; Restriction Fragment Length Polymorphism) Yönteminin Uygulanması	37
3.3.3.1. IL-2 Geni 384 Promotor Polimorfizminin Belirlenmesi İçin Bfa-1 Restriksiyon Enzimi İle Kesimi	38
3.3.4. Agaroz Jelin Hazırlanması	39
3.3.5. Örneklerin Agaroz Jele Yüklenmesi ve Yürütülmesi	40
3.4. İstatistiksel Analiz	41
4. BULGULAR	42
4.1. Preeklampsi ile ilgili genel bulgular	42

4.2. Moleküler Genetik Verileri	43
4.2.1. IL-2 Geni 384 Promotor Bölgesi Polimorfizmi İçin Genetik Analiz Sonuçları	43
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	51
KAYNAKLAR	52
EKLER	59
ÖZGEÇMİŞ	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 2.1. Preeklampsi patofizyolojisi için öne sürülen mekanizmalar	11
Şekil 2.2. IL-2 geninin kromozom lokalizasyonu	31
Şekil 3.1. Bfa-1 ve Mwo-1 enzimlerinin teorik ve pratikteki kesim görüntüleri	39
Şekil 4.1. IL-2 384 promotor bölgesi PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü	44
Şekil 4.2. IL-2 384 promotor bölgesi RFLP ürünleri agaroz jel görüntüsü	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	<u>Sayfa No:</u>
Çizelge 2.1. ortaya çıkan hipertansif bozuklukların tanı kriterleri ve sınıflandırılması	5
Çizelge 2.2. Preeklampsi için risk faktörleri	9
Çizelge 2.3. Preeklampside belirlenmiş olan aday genler	23
Çizelge 2.4. Preeklampsi için kapsamlı genom çalışmaları	26
Çizelge 2.5. İnterlöklinlerin kaynakları ve biyolojik etkileri	28
Çizelge 3.1. IL-2 geninin 384 promotor bölgesi amplifikasyonu için kullanılan primer çiftleri	36
Çizelge 3.2. IL-2 geni 384 promotor bölgesinin optimal amplifikasyonlarının gerçekleşmesinde kullanılan maddeler ve miktarları	37
Çizelge 3.3. IL-2 geni 384 promotor bölgesinin optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PZR programı ısı döngüleri	37
Çizelge 3.4. RFLP reaksiyon koşulları	38
Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubunun klinik özellikleri ve ortalamaları	42
Çizelge 4.2. Hasta grubu IL-2 384 promotor bölgesi için <i>Bfa-I</i> enzimi kesim bantlarına göre genotipleri	45
Çizelge 4.3. Kontrol grubu IL-2 384 promotor bölgesi için <i>Bfa-I</i> enzimi kesim bantlarına göre genotipleri	46
Çizelge 4.4. Hasta ve kontrol gruplarının IL-2 geni 384 promotor bölgesi için genotip dağılımları ve allel frekansları	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APS	: amonyum persülfat
ASSHP	: Australasian Society for the Study Hypertension in Pregnancy
Bç	: Baz Çifti
BMI	: Vücut Kitle İndeksi
°C	: Santigrat Derece
D	: Delesyon
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksi Nükleotit Tri Fosfat
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
eNOS3	: Endotelial Nitrik Oksit Sentetaz 3
EtBr	: Etidyum Bromür
F5	: Faktör 5 Leiden
g	: Gram
G-CSF	: Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör
Gm-CSF	: Granülosit-Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
GOPEC	: Preeklampsi Genetiği Birliği
IFN	: Interferon
IFN-γ	: İnterferon Gama
Ig E	: İmmüoglobulin E
IL-1	: İnterlökin 1
IL-1β	: İnterlökin 1 Beta
IL-2	: İnterlökin 2
IL-3	: İnterlökin 3
IL-4	: İnterlökin 4
IL-5	: İnterlökin 5
IL-6	: İnterlökin 6
IL-7	: İnterlökin 7
IL-8	: İnterlökin 8

IL-9	: İnterlökin 9
IL-10	: İnterlökin 10
IL-11	: İnterlökin 11
IL-12	: İnterlökin 12
IL-13	: İnterlökin 13
IL-14	: İnterlökin 14
IL-15	: İnterlökin 15
IL-16	: İnterlökin 16
IL-17	: İnterlökin 17
IL-18	: İnterlökin 18
kb	: Kilobaz
kDa	: Kilo Dalton
kg	: Kilogram
L	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mmHg	: Milimetre Civa
MTHFR	: Metilentetrahidrofolat Redüktaz
M-CSF	: Monosit-Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
µl	: Mikrolitre
NaCl	: Sodyum Klorür
ng	: Nanogram
NHBPEP	: High Blood Pressure Education Program
OD	: Otozomal Dominant
OR	: Otozomal Resesif
pmol	: Pikomol
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon Parça Uzunluk
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SNP	: Tek Nükleotit Değişikliği

Sn	: Saniye
TBE	: Tris Borat EDTA
TE	: Tris EDTA
TEMED	: Tetrametilendiamin
TGF- β	: Transforming Büyüme Faktörü Beta
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa

ÖZET

Interlökin-2 geninin -384 bölgesindeki polimorfizmin preeklampsi ile ilişkisinin araştırılması

Sağlıklı bir gebelik dönemi ve başarılı bir doğumla sonuçlanan hamilelik, annenin genetik olarak doğru ve iyi çalışan immün sistemi elemanlarına (vücut içi savunma sistemi) bağlıdır. Bu sistemde rol alan sitokinlerden biri de interlökin-2'dir.

Preeklampsi, maternal ya da fetal mortalite ve morbiditede önde gelen sebeplerdendir. Gebelikte 20. haftadan itibaren hipertansiyon, proteiniüri ve ödem ile belirir. İnsidansı %2-5 olup tedavi edilmediği takdirde eklempsiye dönüşüp anne ve/veya bebekte mortaliteye sebep olabilir. Preeklampsi genellikle 1. gebelikte ortaya çıkan, genetik ve immünolojik etkenlerin olası sebeplerinin düşünüldüğü bir hastalıktır. Preeklampsinin ilişkili olduğu durumlar, endotelial bozukluk, anormal plasantasyon ve intravasküler enflamasyondur.

Interlökinler, lökositler arasında özel etkileşim sağlayan, makrofajlar ve T lenfositler tarafından salınan sitokinlerdir. IL-2, Aktif haldeki T lenfositler tarafından üretilen ve enfeksiyon anında makrofajlarla antijen sunumunda hücrel ve da humoral cevabı belirleyen önemli sitokinlerden biridir.

Bu çalışmada IL-2 genindeki polimorfizmler ve bunların preeklampsi ile ilişkisinin araştırılması amaçlandı. Bu amaçla stabil preeklampsi hastaları ile sağlıklı kontrollerden kan örnekleri alınacaktır. Bu kan örneklerinden izole edilen genomik DNA örneklerinde, polimeraz zincir reaksiyonu (Polimeraz Chain Reaction [PCR]) temeline dayalı yöntemlerinden restriksiyon uzunluk parça polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism [RFLP]) yöntemi kullanılarak, preeklampsi hastalarındaki bu gene ait olası polimorfizmler araştırılacaktır.

Çalışmamıza dâhil etmiş olup sonuçlandırılabilmiş 89 preeklamptik kadından 38'inin TT, 36'sının GT, 15'inin GG; 57 normal gebe kadından 28'inin TT, 22'sinin GT ve 7'sinin GG olduğu yapılan RFLP analiziyle tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Preeklampsi, RFLP, Polimorfizm, IL-2.

ABSTRACT

Investigations of relationship between IL-2 gene -384 region polymorphism and patients with preeclampsia

A healthy pregnancy resulting in a successful birth is related to genetically determined immune system of the mother. One of the cytokines involved in this system is interleukin 2.

Preeclampsia is one of the primary factors of maternal and/or fetal mortality and morbidity. After 20th weeks of the pregnancy, it is diagnosed by the hypertension, proteinuria and edema. Its incidence is 2-5%, if untreated, preeclampsia can progress to eclampsia and lead to death of the mother or baby or both. Preeclampsia is primarily a disease of first pregnancy and is thought to be caused by immunological and genetical factors. Preeclampsia is associated with endothelial dysfunction, abnormal placentation and intravascular inflammation.

Interleukins are cytokines secreted by macrophages and T lymphocytes which provide special interaction between leukocytes. IL-2, produced by activated form T lymphocyte, is one of the important cytokines and during the infection in antigen presentation, IL-2 and macrophages determine cellular or humoral response.

In this study, it is aimed to investigate the relationship between Interleukin 2 gene polymorphisms and preeclampsia. For this purpose, blood samples will be collected from both preeclampsia patients and healthy controls. After isolation of genomic DNA samples from collected blood samples, possible roles of these gene polymorphisms will be investigated in preeclampsia patients by employing PCR-based RFLP technique.

Keywords: Preeclampsia, IL-2, RFLP, polymorphism.

1. GİRİŞ

Preeklampsi, gebelik sonucu ortaya çıkan hipertansiyonla birlikte proteinüri ve de ödem ile seyreden bir hastalıktır. Perinatal mortalite ve morbiditenin ve hatta maternal mortalitenin en önemli sebeplerinden birini oluşturmaktadır^{1,2}. Gebeliğin 20. haftasından sonra ortaya çıkıp doğumla birlikte ortadan kalkar. En uygun tedavi doğum olarak bilinir^{3,4}. Tüm gebeliklerin %3-5'inde görülür⁵.

Preeklampsi tanı ve teşhisinde ASSHP (Australasian Society for the Study of Hypertension in Pregnancy) ve NHBPEP (National High Blood Pressure Education Program) kriterleri kullanılmaktadır. Preeklampsi hastalığındaki yüksek risk grubunu; primigravida, çok genç veya ileri yaş, hipertansiyon ya da diyabet gibi sistemik hastalıklara sahip olma ve/veya önceki gebelikteki preeklampsi öyküsü oluşturmaktadır⁶.

Preeklampsinin etiyolojisi ve patogenezi henüz tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Son yıllarda, yüksek kan basıncı yerine idrarda protein gibi diğer belirtilere de dikkat çekilmesiyle hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasında önemli gelişmeler elde edilmektedir. Preeklampsi patofizyolojisinin temelinde plasental ve maternal faktörlerin yer aldığı bilinmektedir. Damar endotel hasarı, kronik hipertansiyon gibi plasental ve maternal faktörlerin preeklampside önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Preeklampsiye neden olan plasental ve maternal faktörler arasındaki dengenin farklı, gebeliklerde farklı olduğu ihtimali göz önünde bulundurulmaktadır. Oksidatif stres, hem plasental ve hem de maternal faktörlerin her ikisinde yer alan preeklampsi patofizyolojisinin önemli bir sebebidir. Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalarda immün ve genetik faktörler üzerinde de yoğun bir şekilde durulmakta ve bu faktörlerin preeklampsi oluşumunun ardında yatan faktörlerin başında yer alabileceği düşünülmektedir. Genetik faktörler, insan hastalıklarının neredeyse tümünde etkilidir ve hastalıkta genetik faktörlerin oynadığı rolün anlaşılması genetik olmayan, çevresel faktörlerin de anlaşılmasını sağlamaktadır. Bu durumun doğası gereği preeklampsinin genetik araştırmasında ortaya çıkan engellere rağmen, bu alanda kayda değer gelişmeler sağlanmaktadır. Preeklampsinin genetik temelini anlaşılmasında aile çalışmaları, ikiz çalışmaları, fetüsteki genetik aberasyonun etkisi, paternal genotipin katkısı, paterniti ve

gebelik aralığındaki değişiklik ve preeklampsideki moleküler genetik çalışmalar üzerine yoğunlaşılmıştır^{5,2}.

Preeklampsinin oluşumunun ardında yatan genetik faktörlerin araştırılmasında şu ana kadar 50'den fazla gen araştırılmış ve bunlardan 8'inin aday gen olabileceği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda preeklampsi ile bu genlerdeki değişiklikler arasında %70 gibi bir bağlantı elde edilmiştir. Ancak sonuçların birbirleriyle çelişkili olmasından dolayı şu ana kadar bu hastalıkla tam olarak ilişkilendirilmiş bir gen mevcut değildir. Ayrıca bu aday genler içerisinde çeşitli bölgelerde farklı polimorfizm tiplerinde yapılan araştırmalarda da evrensel bir sonuca varılamamıştır^{6,7}.

Başarılı bir gebelik annenin genetik olarak kararlı bir savunma mekanizmasına bağlıdır. Savunma sisteminde rol alan sitokinlerden birisi de interlökin-2(IL-2)'dir. IL-2 geninin promotor bölgesindeki genetik çeşitliliğin (polimorfizmlerin) preeklampsi ile sonuçlanan anormal plasantasyon ile ilişkilendirilen maternal savunma mekanizmasındaki belirleyici faktörlerden biri olabileceği ihtimali düşünölmektedir. Bu kapsamda IL genlerinin promotor bölgesindeki polimorfizmler farklı toplumlarda araştırılarak preeklampsi ile ilişkisi konusunda farklı sonuçlar elde edilmiştir^{8,9}.

Preeklampsi için IL-2 -384 promotor bölgesi polimorfizmi ulusal düzeyde henüz çalışılmamıştır. Evrensel olarak preeklampsi Tümör nekrozis faktör-alfa gibi çeşitli genlerle ilgili polimorfizmlerle ilişkilendirilmiştir^{10,11}. IL-2 geni çeşitli hastalıklarda alışılmıştır^{12,13}. Ulusal bazda Tümör nekrozis faktör-alfa geni ile yapılan bir çalışmada bu genin G-308A ve C-850 pozisyonlarındaki promotor bölgeleri genotiplendirilmiş olup bu bölgelerde elde edilen sonuçlara bakıldığında Türk toplumunda 308 pozisyonunda AA genotipinin preeklampitik hastalarda yüksek, 850 pozisyonuna bakıldığında ise TT genotipinin preeklampitik hastalarda düşük bir insidansa sahip olduğu ortaya ıkarılmıştır¹⁰. Bu sonuçlar 308AA genotipinin preeklampsi için yatkınlığa, 850TT genotipinin ise koruyuculuğa sebep olduğunu düşöndürmektedir.

Hollanda toplumunda mikrozomal epoksit hidrolaz geni ile yapılan bir çalışmada ise bu genin ekzon 3 bölgesindeki homozigot Tirozin 113 genotipinin yüksek enzim aktivitesi gösterdiği ve preeklampsi ile ilişkilendirildiği görölmektedir¹⁴.

Çalışmamızda preeklampitik Türk kadınlarında interlökin 2 geninin promotor bölgesindeki -384 ve +114 polimorfizmi çalışılarak genotiplendirme yapılacak ve hangi genotipin koruyucu olduğu belirlenmeye çalışılacaktır. Böylece ulusal ve uluslararası

literatürdeki boşluğun doldurulması ve Türk toplumundaki genotip dağılımının ortaya çıkarılması sağlanacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. PREEKLAMPSİ

2.1.1.Preeklampsinin Tarihçesi

Scott ve Jenkins'in preeklampsinin etiyolojisi adlı derlemesine göre Hipokrat; uyku, nöbet ve komanın gebe kadınlarda ciddi prognostik öneme sahip olduğunu belirtmiş ve 1619'da Varandaeus gebe kadınların nöbet öncesi şikayetleri için Yunan terimi olan "eklampsi" terimini kullanmıştır¹⁵. Ancak, 1739'a kadar eklampsi epilepsiden keskin noktalarla ayırt edilememiştir. Sauvages yıllar boyunca tekrarlayan nöbetler sonucu oluşan epilepsinin kronik bir hastalık olduğunu belirtmiş, yine de akut kökenli nöbetlere eklampsi demiştir⁶. 1843'te Lever eklamptiklerde albuminüri görüldüğünü ve nöbet öncesinde hipertansiyon ve bazen de ödem olduğunu rapor etmiştir. Böylece preeklampsi sendromu tanımlanmıştır¹⁵. Preeklampsi alanında yapılan çalışmalar, ilk kez 1968'de Chesley tarafından özetlenmiştir⁶

2.1.2.Preeklampsinin Tanımı ve Sınıflandırılması

Preeklampsiye ait evrensel bir tanım ve gebeliğe bağlı hipertansif bozukluklara ait evrensel bir sınıflandırma yoktur. Yıllar boyunca yayınlanmış çalışmalarda çeşitli terminoloji ve tanı kriterleri kullanılmıştır¹⁷. Son zamanlarda, uluslararası birçok tanım yapıldığı görülmüştür¹⁸. Gebeliğe bağlı hipertansiyon çalışmalarında, sınıflandırma ve tanımlar için yaygın olarak kullanılan raporlar ASSHP (Australasian Society for the Study of Hypertension in Pregnancy) ve NHBPEP (National High Blood Pressure Education Program)' den alınmıştır. Gebelikteki hipertansiyon tanımları her iki raporda da aynıdır; gebeliğin 20. haftasından itibaren sistolik kan basıncı >140 mmHg ve diastolik kan basıncı > 90 mmHg'dir^{19,20}.

Gebelik süresince ortaya çıkan hipertansif bozukluklar 5 kategori altında toplanmıştır; preeklampsi, eklampsi, gestasyonel hipertansiyon, kronik hipertansiyon ve süperempoze preeklampsi (Çizelge 2.1)²⁰.

Çizelge 2.1. Gebeliklerde ortaya çıkan hipertansif bozuklukların tanı kriterleri ve sınıflandırılması²⁰

Sınıflandırma	Tanı Kriteri
Gestasyonel Hipertansiyon	Normotensif bir kadında gebeliğin 20. haftasından sonra: - Sistolik kan basıncı > 140 mmHg - Diastolik kan basıncı > 90 mmHg
Preeklampsi	Normal kan basıncına sahip kadında gebeliğin 20. haftasından sonra: - Sistolik kan basıncı > 140 mmHg - Diastolik kan basıncı > 90 mmHg Proteinüri: 24 saatlik idrar örneğinde protein > 0,3 g/L olması
Kronik Hipertansiyon	Gebeliğin 20. haftasından önce ortaya çıkan ve/veya doğumdan 6 hafta sonrasına kadar devam eden hipertansiyon
Süperempoze Preeklampsi	Kronik hipertansiyona gebelik döneminde proteinürinin eklenmesi
Eklampsi	Preeklampsi olan kadında epilepsi v.b. sebeplere dayanmayan nöbet ve koma gelişimi

Preeklampsi, hipertansiyon ve proteinürinin kombinasyonu olarak tanımlanmıştır. Hipertansiyon ve proteinüriye bazen de ödem eşlik edebilir. Gebeliğin 20. haftasından sonra, daha önce normal kan basıncı ölçüleri olan kadında en az 6 saat ara ile yapılan iki ölçümde sistolik kan basıncının 140 mmHg ve üzeri ve diastolik kan basıncının 90 mmHg ve üzerinde ölçülmesi ve bunun yanı sıra 24 saatlik idrar ölçümünde 300mg/L ve üzeri protein saptanması veya 6 saatlik arayla rasgele alınan en az 2 idrar örneğinde +1 veya daha yüksek proteinüri olması preeklampsinin varlığına kanıttır. Ayrıca sınıflandırmada preeklampsi hafif ve şiddetli preeklampsi olarak alt gruplara ayrılmıştır. Şiddetli preeklampsi, sistolik kan basıncının 160 mmHg ve üzeri ve

diastolik kan basıncının 110 mmHg ve üzeri ölçülmesi ve 24 saatlik idrarda protein miktarının 3g/L ve üzeri bulunması olarak tanımlanmıştır²⁰.

2.1.3. Eklampsi:

Preeklampsi zemininde tonik-klonik konvülsiyonun tabloya eklenmesidir. Kısaca tanımlanan bu sınıflamada görüleceği üzere, tablonun ağırlık derecesine göre sınıflama değişmektedir. Burada kritik olan nokta, orta preeklampsi olgularıdır. Kabaca ifade etmek istenirse; kronik hipertansiyon, gebelik hipertansiyonu ve hafif preeklampsi olguları *hafif grubu* oluşturur. Bu grupta fetal ya da mortalite yüksek değildir. Ancak morbidite, özellikle fetal morbidite, sorundur. Orta preeklampsi, ağır preeklampsi, gebeliğin ağırlaştırdığı kronik hipertansiyon ve eklampsi *ağır grubu* oluştururlar. Halbuki bu grupta hem maternal hem de fetal mortalite ve morbidite yüksektir. Bu ağır grup içinde 24 -32. gebelik haftasında olan orta preeklampsi olguları, konservatif yaklaşım yapılabilecek olgulardır. Hastane şartlarında izlenmesi gereken ve her an ağır preeklampsi grubuna geçebilecek olan hastalardır. Bu gebeler dışında olan tüm ağır grup olguları, istisnai olgular hariç, gebelik yaşı ne olursa olsun doğurtulmalıdır. Aksi halde maternal mortalite ve morbiditenin engellenmesi ve organizmada gelişecek olan komplikasyonların önüne geçmek söz konusu olamayacaktır.

Sınıflama, maternal morbidite ve mortalite açısından önem kazanmaktadır. Çünkü literatürde ağır preeklampsi olarak sınıflandırılan olguların hangisinde konservatif hangisinde hemen doğum uygulanması konusu açık değildir. Eğer olgu ve patofizyoloji iyi değerlendirilmez ise maternal morbidite ve hatta çoğu zaman maternal mortalite kaçınılmaz olur. Dolayısı ile olgunun doğru değerlendirilip sınıflandırılması ve eğer ağır grupta ise destek tedavisinin doğru yapılıp, doğru doğum yöntemi ile doğurtulması mortalite üzerine etkili en önemli noktalar²¹.

2.1.4. İnsidans, Prevelans, Mortalite ve Morbidite

Gebe kadınların yaklaşık %10'u doğum yapmadan önce, gebeliğin belli bir noktasında yüksek kan basıncına sahip olur. Bununla birlikte dünya genelinde gebelerin yaklaşık %3-5'inde preeklampsi olgusu gelişir. Preeklampsi sıklığı, gelişmekte olan ülkelerde ve toplumlar arasında farklılık göstermektedir²⁶. Örneğin; nulliplarlarda preeklampsi insidansı beyaz kadınlarda %18 iken İspanyol asıllı kadınlarda %20 ve

siyah kadınlarda % 22 olarak bulunmuştur. Yine eklampsi sıklığının yaklaşık olarak her 2000 doğumda 1 olduğu gösterilmiştir^{22,23}.

Preeklampsinin en şiddetli hali olan eklampsi mortalite ile ilişkilidir ve bundan dolayı her yıl 50 000 den fazla maternal ölüm gerçekleşmektedir. Avrupa'da mortalite nadir görülür. Her 10 000 doğumda 2-3 vakada gerçekleşir. Fakat gelişmekte olan ülkelerde bu oran artar ve her 10 000 doğumda 16-69 arasındadır^{24,25}. Gelişmekte olan ülkelerde sağlık hizmetlerinin sınırlı olması bunun muhtemel açıklamasıdır²⁶. Maternal mortalitenin düşük olduğu ülkelerde ölümlerin çok azı eklampsiyle ilişkiliyken, maternal mortalitenin yüksek olduğu ülkelerde ise ölümlerin neredeyse hepsi eklampsiyle ilişkilidir^{27,28}.

Preeklampsi insidansı son 15 yılda %40 oranında artmıştır. Bunun sebepleri arasında dünya genelinde artan obezite hastalığı, ileri anne yaşı, gebelik sayısındaki ve çoğul gebelik sıklığındaki artış gösterilebilir. Böbrek yetmezliği, kalp krizi, felç, karaciğer yetmezliği gibi şiddetli morbiditelerin hepsi preeklampsi ve eklampsiyle ilişkili olup etkilenmiş kadınlar mutlaka yoğun bakıma gereksinim duyarlar²⁷. Diğer taraftan, preeklampsinin kadınlar üzerindeki psikolojik etkisi ile ilgili bazı çalışmalar da yapılmıştır. Preeklampsi zor ve beklenmeyen bir hastalık olduğundan erken doğum ve daha da kötüsü fetal ölümlerle sonuçlanabilir. Ayrıca post-travmatik stres bozukluğu riskini de arttırabilir²⁸.

Düşük gebelik yaşıyla doğmuş bebeklerin %10'undan fazlası preeklamptik gebeliklerden dünyaya gelmiştir. Perinatal mortalite preeklampsi ve eklampside sonradan artar ve bütün neonatal ölümler ve ölü doğumların %25'i hastalıkla ilişkilidir. Bebeklerin mortalite oranları, gelişmekte olan ülkelerle gelişmiş olan ülkeler karşılaştırıldığında preeklampside 3 kat eklampside 4,5 kat daha yüksektir^{27,29}.

2.1.5. Risk Faktörleri

Preeklampsi için risk faktörleri Çizelge 2.2'de özetlenmiştir. Genç ve nullipar kadınların preeklampsi olma riski yüksektir. İlk gebeliklerini yaşayan kadınların 2. ya da daha sonraki gebeliklerini yaşayan kadınlara göre preeklampsi olma riski 3 kat daha yüksektir³⁰. Birden çok doğum yapmış kadınlar eş değiştirdiğinde preeklampsiye yakalanma riski artar. Bunun olası açıklaması preeklampside paternal antijenlere karşı immünolojik reaksiyon oluşmasıdır. Eş değişiminden kaynaklı iki gebelik arasındaki

sürenin uzamasıyla da preeklampsiye eğilimin arttığı gözlenmiştir^{31,32}. Ayrıca, anne yaşı risk faktörü olarak dikkate alınabilir. 40 yaş üstü kadınların preeklampsiye yakalanma riski 40 yaş altı kadınlardan daha yüksektir. Bu da obezite, kronik hipertansiyon gibi yaşa bağlı risk faktörleri ile açıklanabilir. Gerçek obezite yokluğunda bile vücut kitle endeksi (BMI)'nin artışı, yüksek preeklampsi riskiyle bağlantılıdır. Diastolik kan basıncının 110 mmHg üstünde olması süperempoze preeklampsi riskini 5 kat artırır³⁰. Preeklampsi ile ilişkilendirilmiş diğer faktörler, insülin bağımlı diyabet, renal hastalıklar, antifosfolipid sendromu ve otoimmün gibi hastalıklardır^{30,33,34}.

Preeklampsi prevalansı Amerika'da Afrikalı-Amerikan ırkında diğer etnik gruplara göre daha yüksektir ve preeklampsi oluşumunda etnik köken eğilimli bir faktör olabilir. Bununla birlikte kronik hipertansiyon prevalansı bu popülasyonda daha yüksektir^{4,35}.

Preeklampsinin bireysel ve ailesel geçmişi diğer iki risk faktörüdür. İlk gebeliğinde preeklampsi öyküsü olan kadınların, ilk gebeliğini sağlıklı atlatan kadınlarla karşılaştırıldığında ikinci gebeliğinde preeklampsiye yakalanma riskinin daha yüksek olduğu verilerle gösterilmiştir. Ayrıca, preeklampsinin ailesel geçişinin riski 3 kat artırdığı belirtilmiştir. İkiz gebeliklerin normal gebeliklere göre preeklampsi riskini 3'e katladığı ve üçüz gebeliklerin de ikiz gebeliklere göre preeklampsi riskini 3'e katladığı rapor edilmiştir³⁰.

Çizelge 2.2. Preeklampsi için risk faktörleri³⁰

Risk Faktörleri	
Çoğul gebelik Primigravi da	Maternal yaş
	Önceki gebelikte görülen preeklampsi
	Preeklampside ailesel geçmiş
	Vücut kitle endeksi (BMI)
	İki gebelik arasındaki süre
	Partner değişimi
	Afrikanlı-Amerikan ırkı
	Önceden var olan tıbbi hastalıklar:
	İnsülin bağımlı diyabet
	İnsülin rezistansı
	Kronik hipertansiyon
	Böbrek hastalıkları
	Antifosfolipid sendromu
	Otoimmün hastalıklar

2.1.6. Preeklampsinin Tedavisi

Preeklampsinin etiyolojisi ve patogenezi tam olarak belli olmadığı için önlem ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi zordur. Antiplatelet ilaçların kullanımı ile ilgili olumlu sonuçlar yayınlanmış ve tedavi sonrası preeklampsi riskinin azaldığı rapor edilmiştir. Kalsiyum ilavesi de düşük preeklampsi riski ile bağlantılıdır, fakat bebek üzerine net bir etkisi yoktur. Tedavi büyük ölçüde semptomlara yöneltilmiştir. Hafif preeklampsi çoğunlukla anne bakım üniteleri, hastane ya da evde dikkatli bir gözlem ve aktivite sınırlaması ile tedavi edilebilir. Yüksek kan basıncı direkt vasküler zarara sebep olup böbrek yetmezliği, fetal distres ve felç gibi diğer komplikasyonlara yol açtığı için çok yüksek kan basıncına sahip kadınlarda antihipertansif ilaçlar zorunludur. Magnezyum sülfatın preeklampşik kadınlarda eklampsi riskini azalttığı bilinmektedir ve

eklampsi ilişkili nöbetleri önlemek için kullanılabilir. Şu ana kadar en etkili tedavi yöntemi plasentanın alınması ve doğumdur. Gebeliği sonlandırarak anneyi korumak ile şiddetli preeklampsiye sahip kadının zamanını ayarlayarak fetüsü en olgun seviyeye ulaştırmak arasındaki dengeyi kurmak zordur. Çünkü şiddetli preeklampside gebelik çoğunlukla 32. haftadan önce sonlandırılmalıdır^{36,37,38}.

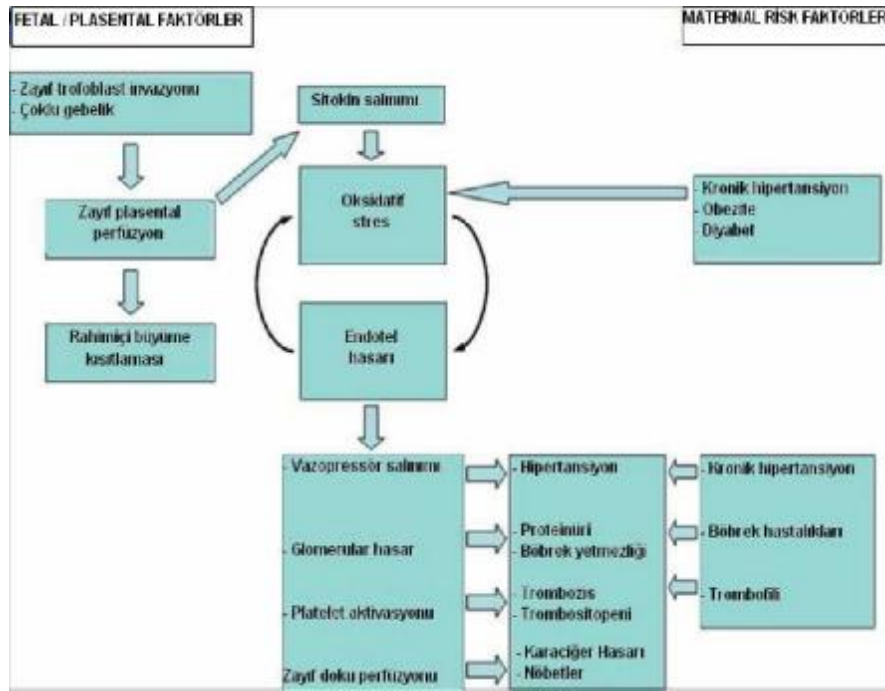
2.1.7. Preeklampsinin Etiyolojisi ve Patofizyolojisi

Preeklampsi teoriler hastalığı olarak adlandırılmaktadır. Bu alanda yapılan birçok çalışmaya rağmen sendromun etiyolojisi ve patofizyolojisi bütünüyle anlaşılamamıştır. Bununla birlikte maternal ve fetal / plasental kökenli, multisistem bir hastalık olduğu bilinmektedir. Ayrıca hem plasenta hem de maternal sistemik sirkülasyon içinde oksidatif stres önemli bir bileşen olarak belirtilmektedir³⁹. Preeklampsideki çalışmalarını zorlaştıran sebeplerden bazıları da preeklampsi için belirli bir test olmaması, ortaya çıkış noktası ve gelişmesinin tahmin edilememesi ve gebeliğin sonlanmasıyla hastalığın ortadan kalkmasıdır. Bunu yanı sıra, spiral arterlerdeki yüzeysel(yetersiz) endovasküler sitotrofoblast invazyonu ve endotelial hücre disfonksiyonu preeklampsinin patogenezinin merkezinde yer alan temel mekanizmalardan ikisi olarak görülmektedir (Şekil 2.1)⁴⁰.

Preeklampsinin başlangıcı, plasental ve spiral arterlerin bozulmuş ekstravillöz invazyonu ile gerçekleşir. Fetal trofoblastik hücreler bazal arterlerden yükselen myometriumu uterusun desidual bölgesine kadar saran spiral arter endotelini, internal elastik laminasını işgal eder. Intervillöz aralıktan myometriyumun iç kısmına kadar vasküler değişiklikler olur ve genellikle bu olay gebeliğin 20. haftasında tamamlanır. Elastik müküler arterler, büyümekte olan fetüsün gereksinimlerini karşılamak amacıyla çaplarını arttırarak yüksek akımlı düşük rezistans sistemine geçerler. Ancak preeklampside bu olaylar gerçekleşmediği için "akut arteroz" adı verilen durum ortaya çıkar. Bununla birlikte, aktif duruma gelmiş trombositler artmış miktarlardaki plasental büyüme faktörünü (PLGF) üretirler. Bu faktörler de endotel proliferasyonuna sebep olur. Bunun sonucu vazoaaktif peptitlerin anormal yıkımından kaynaklanan prostasiklinin azalması ve tromboksan, endotelin-1, fibronektin seviyesinin artması gibi diğer anormallikler görülür⁴¹.

Öne sürülen diğer bir teori immünolojik uyumsuzluk durumudur. Burada lokal antijen bloke edici faktörlerin yetersizliğinden dolayı fetüse karşı maternal bir immün yanıt oluşur. Bu durum, plasentanın hasar görmesine sebep olur. Sonuç olarak, farklı dokular arasında uyumsuzluk ortaya çıkar⁴¹.

Gebeliğin erken haftalarında, sitotrofoblast hücreleri dallanan villuslara doğru göç etmeye başlar. Sinsityotrofoblastlara doğru trofoblast kabuğunu sararak sitotrofoblast kolonlarını oluştururlar. Trofoblast hücreleri göçlerine devam ederek plasental yatak altında, myometriumda kolonize olurlar. Sitotrofoblast hücre kolonları spiral arterlere ulaştınca trofoblast hücreleri lümen içine yerleşirler ve intralüminal tıkaçı oluştururlar. Endovasküler trofoblast hücreleri spiral arterlerin endotel hücrelerinin yerini alır ve medya tabakasını işgal ederler. Bundan dolayı nöral müküler ve elastik yapılar zarar görür^{41,42}.



Şekil 2.1. Preeklampsi patofizyolojisi için öne sürülen mekanizmalar⁴⁰

Gebelikte sistemik vasküler direncin azalması, kan basıncının düşmesi, kardiyak atım hızı ve hacminin yükselmesi, kan hacminin artması gibi maternal kardiyovasküler fizyolojik değişiklikler olur. Bu değişiklikler plasental yatakta hemodinamik

değişiklikler oluşmadan önce, gebeliğin ilk trimesterinde başlar. Myometriuma ve plasental yatağa olan kan akımı uterus dolaşımındaki iki bileşendir ve ayrı kontroller altında yönetilir. Myometriuma olan kan akımı genellikle otheregölasyon ile kontrol edilir. Ancak, plasental yatağa olan akım normal gebeliklerde pasif durumdadır. Normal gebeliklerde vasküler rezistanstaki azalma sonucu uteroplasental yatağa olan kan akımı artar⁴³. Damar sayısının artmasıyla birlikte spiral arterler uteroplasental arterlere dönüşürler. Bu olay yaklaşık olarak 12. haftada başlar ve gebeliğin 18 ila 20. haftalarında en üst seviyeye ulaşır. Trofoblast tabakaları ilerlemeye başlar. Oluşan damarlar görüntü ve işlev olarak arterlerden farklıdır. Sitotrofoblastlar damar lümeni ve duvarına invaze olurlar. Böylece damar kas tabakası dejenere olur, arterler düzleşirler ve büyük bir dilatasyon gerçekleşir. Plasental yatak damarlanması kıvrımlı venlere benzer. Bu damarlar desidua tabakası içinde yayılırlar. Aynı zamanda muskuloelastik özelliklerini kaybederler. Bu sebeple vazoregölator bileşenlere ve basınç değişikliklerine cevap veremezler^{41,43,44}.

Preeklampsi ve plasenta patofizyolojisinde yetersiz trofoblast invazyonu ve damar transformasyonu belirtilmiştir. Başarılı bir trofoblast göçü olmayabilir. Ayrıca fizyolojik vasküler transformasyon eksikliğinden kaynaklanan plasentanın her iki tarafında kardiyovasküler fonksiyon bozukluğu ortaya çıkabilir⁴⁴. Plasenta fetal ve maternal dolaşım sistemleri arasında gazlar, besinler ve artık maddelerin değişimi için gerekli bir vasküler organdır. Embolizasyon ile maternal uteroplasental akımın azalması durumunda fetal umblikal akımda bir azalma gerçekleşir. Bu sebeple hayati önem taşıyan organlar dikkate alınarak kardiyak output fetus tarafından yeniden düzenlenir. Bunun yanı sıra, uterus kan akımının artmasıyla fetal dolaşım hızı da artar^{43,45}.

Preeklampsinin ortaya çıkmasındaki en önemli faktörlerden biri de hipertansiyondur. Periferik damar direnci ve kardiyak output kan basıncını etkileyen iki etmendir. Sağlıklı gebelerde 1. trimesterde kardiyak output gebe olmayan kadınlara göre %30-50 oranında artar ve artışın durmasıyla gebeliğin sonlanmasına kadar aynı seviyede kalır. Ancak, preeklampitik kadınlarda artış durmayarak gebeliğin sonuna kadar yükselmeye devam eder. Bunun yanı sıra, periferik damar direnci normal gebelerde azalırken, preeklampitik gebelerde artar. Bu da preeklampitik kadınlarda ortaya çıkan hipertansiyonun temel sebebi olarak belirtilir⁴⁶

Sağlıklı gebelerde anjiyotensin II'ye karşı direnç oluşurken preeklampitik kadınlarda hassasiyet artar. Preeklampitik kadınlardaki bu durum, 17. haftadan itibaren başlamaktadır. Bundan dolayı, preeklampsisi riski taşıyan hastaların daha önceden hastalığının bilinebileceği belirtilmektedir ⁶.

Sağlıklı gebelerde tromboksan A2 ve prostasiklinin her ikisinde de artış gözlenmesine rağmen denge prostasiklin tarafındadır. Prostrasiklin damar endoteli tarafından üretilir ve vazodilatör bir maddedir. Tromboksan A2 trofoblastlar tarafından üretilir ve vazokonstriktör bir maddedir. Preeklampitik kadınlarda tromboksan A2 / prostasiklin oranı artar. Hasar görmüş endotel hücrelerinden prostasiklin üretiminin azalması sebebiyle tromboksan A2 salınımının ortaya çıkması bu olaydaki temel neden olarak gösterilmektedir ^{46,47}. Preeklampsinin çeşitli sistemlerle ilişkisi bulunmaktadır.

2.1.7.1. Kardiovasküler sistem:

Labil olan kan basıncı, endojen vazopressörlere olan artmış duyarlılığın bir göstergesidir. Plazma volümü, preeklampitik gebelerde normallere nazaran %9 azalmıştır. Bazen ağır olgularda % 30- 40'a kadar azalmaktadır. Ancak pulmoner ödem olmayan preeklampitik gebelerde santral ven basıncı ve pulmoner kapiler basınç normaldir. Plazma volümü azaldığı halde, santral ven basıncı ve pulmoner kapiler basıncın normal olması, intravasküler volümün santral sirkülasyona yönelmesi sonucu normal kardiyak dolum basıncının sağlanması ile mümkün olmaktadır. Preeklampitiklerde hemodinamik değişiklikler konusunda pek çok çeşitli ancak fikir birliği olmayan çalışmalar yapılmış olmakla beraber, bazı çalışmalar hiperdinamik yapı ve artmış kardiyak atım olduğunu ortaya koymuşlardır. Yapılan bir çalışmada (Gronendijk ve ark.) plazma volüm genişleticiler ile vazokonstriksiyonun azaldığı ve kardiyak atımın arttığı tespit edilmiştir⁴⁸. Bu ve benzeri çalışmalar ortaya koymaktadır ki; preeklampside vazokonstriksiyon ve hipoperfüzyon tabloya hakimdir. Diğer bir araştırmada (Easterling ve ark.) preeklampitik gebelerin Doppler ile kardiyak fonksiyonları izlenmiştir. Preeklampsinin ağırlığı arttıkça, tablo hiperdinamiden yüksek sistemik vasküler dirence doğru değişmektedir⁴⁹. Bir başka araştırmacının (Cotton ve ark.) tedavi almayan ağır preeklampsisi olguları üzerine yaptığı çalışmada, 3 aşamalı hiperdinamik yapı tesbit edilmiştir. Bunlar,

1. Olguların çoğunluğu; artmış kardiyak atım, normal ya da hafif artmış sistemik damar direnci, normal ya da hafif azalmış plazma volümü ve dolun basıncı ile karakterize hiperdinamik yapıya sahiptirler.
2. Normal kardiyak atım ve düşük dolun basıncı fakat artmış sistemik damar direnci söz konusudur.
3. Sol ventrikül fonksiyonunda yetersizlik ile ortaya çıkan plazma hacminde belirgin azalma ve önemli derecede artmış sistemik damar direnci mevcuttur.

Preeklampitik gebeler, genellikle normal kan atım hızına sahiptirler. Pek çok çalışmada santral venöz basınç ve pulmoner kapiller basınç ölçümleri yapılmıştır. Ancak santral venöz basınç ve pulmoner kapiller basınç arasında çok zayıf bir ilişki saptanmıştır. Preeklampitik bir hastada belirli bir düzeyde santral venöz basınç sağlamak amacı ile bolus halinde çok sıvı verilmesi zararlıdır. Kolaylıkla pulmoner ödeme yol açabilir. Çünkü kolloid osmotik basınç pulmoner kapiller yatak basınç ilişkisi tersine dönmüştür. Kolloid osmotik basınç, normal gebelerde azalmış albumin konsantrasyonuna bağlı olarak zaten düşüktür. Ancak preeklampitik gebelerde bu düşüklük çok belirgindir. Normal gebelerde 22 mmHg iken preeklampitiklerde 18 mmHg civarındadır. Artmış damar permeabilitesi, intravasküler sıvının ve proteinin interstisyel sahaya kaçışının mevcut olduğu olgularda, düşük kolloid osmotik basınç pulmoner ödem riskini çok artırır⁵⁰.

2.1.7.2 Hematolojik sistem:

Pıhtılaşma bozuklukları, özellikle ağır olgularda belirgindir. Burada hiperkoagübilite, fibrinolizis ve trombosit aktivasyonu olmak üzere 3 ana komponent söz konusudur. Preeklampside hiperkoagülibite, normal gebelikte mevcut olan hiperkoagübilitenin belirgin olarak daha da artması ile kendini gösterir. Artmış protrombin zamanı, pıhtılaşma faktörlerinin bazılarının (II,V,X) aktivasyonu ve azalmış fibrinojen tabloya hakimdir. Koagülasyon ile oluşan fibrinin plazmin ile yıkımı sonucu, dimerik (D-dimer v.b.) yıkım ürünleri açığa çıkar. Fibrin yıkım ürünlerinin ölçülmesi ile fibrinolizis hakkında fikir edinilebilir. Ancak burada aynı zamanda fibrinojen yıkımından açığa çıkan fibrin yıkım ürünleri de mevcuttur. Bu yüzden fibrin yıkım ürünlerinin tam doğru tesbit edilebilmesi için fibrin D-dimer ölçümü yapılması

gerekmektedir. Böylece damar için pıhtılaşma ve fibrinolizisin varlığı daha spesifik olarak tespit edilebilir. Ayrıca ağır preeklampsi olgularında, Faktör VIII antijen/aktivite oranına bakılarak da artmış trombin yapımı hakkında fikir edinilebilir. Preeklampsi olgularının %15-30'unda trombositopeni gelişir. Ağır preeklampsi olgularında, 100.000/ml ve altında trombositopeniye sıklıkla rastlanır. Bir çalışmada, trombosit sayısı ile ilişkili olmayan kanama zamanında uzama saptanmıştır. Buradan hareketle preeklampside hem trombosit fonksiyonlarında hem de sayısında bozukluk olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ayrıca preeklampside; trombositlerden salgılanan beta-tromboglobulinlerde artma, trombosit yarılanma ömründe kısalma ve megatrombositlerin periferik kanda görülmesi diğer parametrelerdir. Ayrıca trombositlerin agregasyonuna karşı olan prostasiklin etkisi, gebelikte, gebe olmayanlara nazaran azalmaktadır. Preeklampside ise daha fazla olup %50 düzeyindedir. Keza ağır preeklampsinin nadir formu bir olan HELLP sendromunda da trombositopeni mevcuttur⁵⁰.

2.1.7.3. Böbrek fonksiyonları:

Glomerüllerdeki intrakapiller hücrelerdeki şişmeye bağlı olan ve oluşan iskemi neticesi oluşan, glomerüllerdeki büyüme, böbreklerdeki tipik lezyonlardır. Glomerülopati sonucu, büyük molekül ağırlıklı proteinlere karşı geçirgenliğin artması sonucu proteinüri gelişir. Proteinürinin derecesi ile glomerüllerdeki histolojik bozulmanın ve hipertansiyonun çok yakın ilişkisi vardır. Albumine ilaveten globulinler, hemoglobin ve transferin gibi diğer proteinlerin de idrarda saptanması ile glomerülopatinin ağırlığı paraleldir. Serum kreatinini nadiren normalin üstüne çıkar, 1gr/dl'nin üzerinde saptanması bir renal tutulmanın göstergesidir. Preeklampside ürat klirensi düşer ve serumda ürik asit artar. Ürik asit yüksekliği preeklampsinin erken belirtecidir.

Oligüri ise preeklampsinin ağırlığı ile paraleldir ve 24 saatte 400 ml'den az idrar çıkışı ile kendini gösteren oligüri varlığı intravasküler volümün ivedilikle değerlendirilmesini gerektirir. Renal yetmezlik çok nadiren gözlenir ve genellikle renal fonksiyonlarda tam bir normalleşmenin geriye dönüşü gözlenir. Ancak bilateral renal kortikal nekroz meydana gelmişse, böbrek yetmezliği yerleşir. Oligüri ve azotemi ile karakterize olan böbrek yetmezliği, doğumu takiben 1 hafta içinde düzelir. Bir

çalışmada (Sibai ve ark) 31 olguluk akut renal yetersizlik serisinde %50'ye yakın dializ gerekliliği bildirmiştir. Proteinüri 1 hafta içinde kaybolurken, bu hastalarda hipertansiyonun normale dönmesi bazen birkaç haftayı alabilmektedir⁵¹.

2.1.7.4. Endokrin ve metabolik değişiklikler:

Endokrin ve metabolik kontrolde renin-angiotensin-aldosteron sistemi önemli bir role sahip olmakla beraber, diğer vazoaaktif (prostaglandinler, vazopressin, atrial natriüretik peptid gibi) hormonlar, sempatik sinir sistemi, kalp, dolaşımdaki kan volümü ve damarlarda kontrol sistemin parçasıdır. Bu kontrol sisteminin amacı, kan basıncının belirli bir düzeyde tutulmasıdır⁵¹.

2.1.7.5. Pulmoner değişiklikler:

Preeklampatik gebelerde, farengolarenal ödemden ve üst solunum yollarındaki daralmadan dolayı artmış bir risk söz konusudur. Eğer pulmoner ödem tabloya eklenmiş ise, ağır preeklampsinin ciddi bir komplikasyonudur. Bu durum yaklaşık % 3 olguda gözlenir. Pulmoner ödemin %30'unun antepartum ve % 70'inin ise postpartum dönemde görüldüğü bildirilmiştir. Pulmoner ödemin Postpartum ogularının çoğunda, doğumdan önce aşırı sıvı yüklenmesinden meydana geldiği saptanmıştır⁵¹.

2.1.7.6. Karaciğer bozukluğu:

Preeklampside serum transaminazların yükselmesi sık gözlenen bir durumdur. Epigastrik ya da subkostal ağrı, ödeme bağlı olarak karaciğer kapsülünün gerilmesinden ya da subkapsüler veya parenkimal kanamadan dolayı gelişir. Nadiren karaciğer kapsülü kanamadan dolayı yırtılabilir. Böylece intraperitoneal kanamaya sebep olabilir. Preeklampatik olguların karaciğer biopsilerinde, hafif periportal fibrin çökmeleri görülebilir. Subendotelyal fibrin çökmesi, tıpkı böbrekte olduğu gibi endotel hasarının sonucudur⁵¹.

2.1.7.7. Nörolojik değişiklikler:

Preeklampsinin klasik nörolojik bulguları; ciddi baş ağrısı, görme bozuklukları, hiperesitabilite ve hiperrefleksidir. Konvülsiyonun gözlenmesi ile eklampsi oluşur. Eklampsinin etyolojisi bilinmemekler beraber, bazı yazarlar tarafından hipertansif

ensefalopati ya da kan basıncının belirli bir eşik değeri aşması ile serebral kan dolaşımı otoregülasyonunun bozulması olarak tarif edilmektedir. Ancak eklampitik olguların yaklaşık %20'sinde, kan basıncı 140/90 mmHg ya da altında saptanmaktadır. Diğer taraftan vazospazm, küçük kanama odakları, mikroinfarktlar, tromboz ve serebral ödemin de eklampside rol oynayabileceği ileri sürülmüştür⁵¹.

2.1.7.8. HELLP sendromu:

Hemoliz, karaciğer enzimlerinde yükselme ve trombositopeni ile karakterize, ağır preeklampsinin bir formudur. Hepatit, gebeliğin akut yağlı karaciğeri ve trombotik trombositopenik purpura ile karıştırılabilir. Mikrovasküler endotel hasarı, intravasküler trombosit aktivasyonu ve hemoliz tabloya hakimdir. Literatürde bildirilen olgulara bakıldığında, tanımlamalar arasında farklılıklar çoktur ve gerçek sıklığı söyleyebilmek olası değildir. Bu konuda bir grubun (Sibai ve ark.) tanımlama açısından önerisi şu şekildedir:

- 1) Anormal periferik yayma ve hiperbilirubinemi,
- 2) Yükselmiş SGOT ($70 \text{ U/l} \leq$),
- 3) 100.000/ml den az trombositopeni

HELLP olgularının %90'ında yorgunluk, sağ üst kadran ağrısı; %50'sinde bulantı ve kusma vardır. Doğumu takiben hemoliz 48 saat içinde geçer. LDH postpartum ilk günde belirgin yüksektir. Trombositler ilk 72 saat içinde genellikle 100.000'in üzerine çıkar. Eğer trombosit sayısı 50.000 ve altında seyrediyorsa maternal morbidite çok artar. HELLP sendromu ne kadar ağır ve uzun sürerse, o ölçüde maternal morbidite ve mortalite artar. Fiyokta olan, masif asit ya da plevral efüzyonu olan ve omuz ağrısı yakınması olan hastalarda, mutlaka ultrason ile karaciğer subkapsüler hematomu veya rüptürü araştırılmalıdır. Bir grup araştırmacı (DeBoer ve ark.) HELLP sendromunda dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) sıklığını araştırmış ve hepsinde kompanse DIC tespit (trombin-ATIII kompleksi, azalmış ATIII ve protein-C fakat normal pıhtılaşma) etmesine karşılık, dekompanse DIC saptamamıştır. Ağır preeklampside olduğu gibi doğum sağlanmalı ve özenle takip-tedavisi yapılmalıdır⁵².

2.1.7.9.Pulmoner ödem:

Çok sık karşılaşılan bir komplikasyon değildir. Altta yatan sebebin tespiti (sepsis, sıvı yüklenmesi, kalp yetmezliği) ve giderilmesi ile tedavi edilir. Hipertansiyona bağlı olarak artmış "afterload" nedeni ile sol ventrikül sistolik fonksiyonu bozulur ve buna bağlı olarak sol atrium basıncı artar ve bu da geriye yansiyarak pulmoner kapiller basınçta artışa yol açar. Böylece ortaya artmış PCWP ve azalmış kolloid onkotik basınç nedeni ile pulmoner ödem gelişir. Bir grubun (Sibai ve ark.) retrospektif olarak incelediği 37 pulmoner ödem olgusunda maternal komplikasyon olarak %46 metritis-sepsis, %32 plasenta dekolmanı, %49'unda DIC, % 27'sinde akut böbrek yetmezliği, %14'ünde kardivasküler yetmezlik, %11'inde maternal mortalite ve %49'unda perinatal mortalite tespit etmiştir. Görüldüğü gibi ciddi maternal komplikasyona neden olan bir preeklampsi komplikasyonudur. Bu nedenle özenle ve doğru bir şekilde tedavi edilmelidir. Oksijenizasyon sağlanması, sıvı kısıtlaması, diüretik uygulanması ilk aşamadaki yaklaşımdır. Düzelmeyen olgularda COP-PCWP oranına bakılarak, düşük olan olgularda kolloid uygulaması yapılmalıdır. Sol ventrikül yetmezliği içinde olan olgularda dopamine uygulanması diğer bir alternatiftir. Eğer tüm tedbirlere rağmen düzelmezse trakeal entübasyon ve ventilasyon gerekebilecektir⁵².

2.1.7.10. Plasenta dekolmanı:

Preeklampsi olgularının yaklaşık %2'sinde görülür. Gebeliğin ağırlaştırdığı kronik hipertansiyon olgularında daha sık görüldüğü bildirilmiştir.Fetusun ölü olduğu dekolman olgularında, maternal kan volümünün en az %50 kadar kanadığı bilinmelidir. Maternal mortalite ve morbidite üzerine, hem kan kaybı hem de gelişebilecek DIC açısından önemli etkisi vardır⁵².

2.2 Preeklampsi Genetiği

2.2.1. Aile Çalışmaları

Preeklampsinin ailesel bir bileşeni vardır. Preeklampsi gebeliklerden doğan kadınların normal gebeliklerden doğan kadınlara göre preeklampsi olma riski 3 kat daha fazladır^{30,53}. Dr. Leon Chesley; 1935'te eklampsi kadınlara yönelik bir çalışma başlatmış ve 1974'e kadar sürdürmüştür. Chesley 1931 ile 1951 yılları arasında dünyaya gelen eklampsi 147 kız kardeş, 248 kız çocuğu, 74 kız torun ve 131 gelin gebelerle

ilgili bilgi toplamıştır. Chesley'in verileri 0.25 olarak varsayılan gen sıklığına sahip tek gen modeli ile neredeyse uyuşmaktadır^{54,55,56}. Yapılan aile çalışmaları Çizelge 2.4'te özetlenmiştir⁵⁴.

Arngrimsson ve arkadaşları birleştirilmiş aile verileri için dört kalıtım modelini test etmişler ve bu verilere azaltılmış penetransa sahip temel maternal dominant gen modeli ya da multifaktöriyel modelin uyduğunu belirtmişlerdir^{54,55,57}. Aile çalışmaları, maternal genlerin preeklampsi etiolojisinde rolleri olduğunu desteklemektedir.

2.2.2. İkiz Çalışmaları

İkiz çalışmaları hastalığın kalıtılabilirliğini hesaplamak için kullanılmıştır. Tek yumurta ikizleri; somatik hücre mutasyonları, mitokondriyal DNA moleküllerinin sayısı ve kadınlardaki X inaktivasyonu modeli hariç genetik olarak aynıdır. Çift yumurta ikizlerinde ise yaklaşık olarak genlerin yarısı aynıdır.

Preeklampsi ile uyumlu iki tane tek yumurta ikizi çalışması yayınlanmıştır, fakat geniş çaplı üç ikiz çalışması preeklampsi ile uyumluluk bulamamıştır⁵⁵. 917 tek yumurta ikizi ve 1199 çift yumurta ikizini içeren bir çalışma, ikiz kardeşi preeklampsi olan kadınların %25'inin aynı hastalığa yakalandığını tespit etmiştir. Çift yumurta ikizlerinde bu oran %6 bulunmuştur. Bu çalışmanın kalıtılabilirlik hesaplamalarına göre, preeklampsinin etiolojisinde çevresel etkiler yaklaşık olarak genetik etkilere eşit bir öneme sahiptir⁵⁸. Preeklampsinin etiolojisinde, ikiz çalışmaları maternal genlerin tek başına rolünden çok maternal ve fetal genlerin etkileşimini destekler. Böyle bir kombinasyon aynı veya farklı genlerin allelleri içerebilir. Preeklampsideki transgenik fare modeli buna iyi bir örnektir ki bu modelde insan anjiyotensin genini taşıyan dişi fare insan renin genini taşıyan erkek fare ile çiftleştirilmiştir. Plasentadaki renin geni ekspresyonu anjiyotensin genini taşıyan dişi farelerde hipertansiyon ve proteinüri ile kendini gösteren preeklampsi benzeri sendromla sonuçlanmıştır. Fakat normal farelerde buna rastlanmamıştır⁵⁵.

İkiz çalışmaları, maternal ve fetal genetik faktörlerin etkilerini çevresel faktörlerden ayıramaz. Bu amaçla, Cnattingius ve çalışma arkadaşları, tüm kardeşlerin yer aldığı geniş çaplı bir çalışmadaki gebelik sonuçlarını analiz etmişlerdir. Analiz sonuçlarına göre, genetik faktörlerin preeklampsideki etkilerinin %50'den çok ve maternal genlerin katkılarının fetal genlerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca, preeklampsi üzerinde güçlü çift etki (çevresel katkı ve maternal ve paternal genler arasında etkileşim) olduğu da belirlenmiştir⁵⁵.

2.2.3. Fetüsteki Genetik Aberasyon

Preeklampsi ve fetal trizomi 13 ya da 13q için kısmi trizomi arasındaki bağlantı, kromozom 13 üzerinde kodlanmış olan bazı fetal genlerin dozaj etkisi olduğunu ileri sürmektedir⁵⁹. Geni kromozom 13q12 üzerinde bulunan ve plasental orijinin doğal olarak meydana gelen anti-anjiyogenik bir molekül olan sFlt-1'in aşırı salınması preeklampsideki maternal sendromun patogeneze katkıda bulunur. Preeklampsi molar plasental değişiklikler sebebiyle anormal hale gelen gebeliklerle ilişkilidir. Tam(komplet) molar gebelik 46 kromozoma sahiptir ve genom sadece paternal katkı içermektedir. Kısmi(parsiyel) molar gebelik 23 maternal ve 46 paternal olmak üzere 69 kromozomludur, hâlbuki 23 paternal ve 46 maternal kromozom içeren triploidi molar plasental değişikliklerle ilişkili değildir. Triploidili 2. trimester gebelik dönemine ait 70 olguya dair raporda, bu gebeliklerin %28,3'ünde plasental molar değişiklikler tespit edilmiştir. Tüm bu gebeliklerin %4,3'ünde preeklampsi tanımlanmıştır, fakat plasental molar değişiklik tespit edilmiş gebeliklerde bu oran %15 olarak bulunmuştur^{60,61,62}.

Trofoblastik genoma hem paternal hem de maternal katkı, hem embriyonik hem de ekstraembriyonik dokuların dengeli gelişiminin korunması için gereklidir. Molar değişikliklerde, preeklampsiye yatkınlığın ileri sürülmesinde birçok olası açıklama mevcuttur. (i) Yüksek gen yüklemesi ve damgalama değişiklikleri fetüsün normal gelişimini bozar. (ii) Anneye yabancı olan fetüsteki genom miktarı artar ve tam molar değişikliklerdeki gebeliklerde anneye tümüyle yabancı olur. Yumurtanın bağışlanmış olduğu gebeliklerde preeklampsi insidansıda artar ki bu gebeliklerde de fetüsün tüm genomu anneye yabancıdır. (iii) Genişlemiş kistik plasentadaki azaltılmış perfüzyon preeklampsiye yatkındır⁵⁵. Fetüsteki genetik aberasyon için yapılan çalışmalar fetal genlerin preeklampsi etiolojisindeki temel rolünü desteklemektedir.

2.2.4. Paternal Genotipin Katkısı

Preeklampside plasentanın merkezi rolü fetüsteki paternal genlerin de hastalığın gelişiminde etkisi olabileceğini göstermektedir. Norveç toplumunda yapılmış bir çalışmaya göre daha önce başka bir kadından preeklamptik gebelik sahibi olmuş bir

erkekten gebe olan bir kadının preeklampsi geçirme riski iki kat daha yüksektir. Bu sonuç Utah toplumundaki verilerle de desteklenmiştir. Preeklampitik bir gebelikten doğmuş bir babanın çocuğunun normal gebelikten doğmuş bir babanın çocuğuna göre preeklampitik bir gebelikten doğma riski iki kat daha yüksektir^{53,63}. Norveçli araştırmacılar Norveç'teki doğum kayıtlarından alınmış olan 438 597 anne ve bebek çifti ile 286 945 baba ve bebek çiftinin bilgilerini inceleyerek preeklampside ikinci nesli çalışmışlardır. Preeklampitik gebelikten doğmuş bir erkeğin preeklampitik bir babalık geçirme riski 1,5 kat artmıştır⁶⁴. Paternal genotipin preeklampsiye katkısı geniş verilere sahip çalışmalarla desteklenmiştir.

2.2.5. Paterniti ve Gebelik Aralığındaki Değişiklik

Preeklampsinin immün temelli veya immünogenetik etiyojolojiye sahip olabileceği hipotezi öne sürülmüştür. Preeklampsi çoğunlukla ilk gebelikte ortaya çıkan bir hastalıktır. Preeklampsinin normal bir gebelikten sonra görülme sıklığı ilk gebelikte görülme sıklığının yarısıdır^{30,31,32,41,63}. Ayrıca ilk gebeliği düşükle sonuçlanmış bir kadının aynı erkekten ikinci gebeliğinde preeklampsiye yakalanma riski yaklaşık olarak yarıya iner. Partner değişiminin daha önce preeklampsi olmamış kadınlarda riski arttırdığı daha önce preeklampsi olmuş kadınlarda ise riski düşürdüğü gösterilmiştir⁶⁵.

2.2.6. Aday Gen Çalışmaları

Genetik bağlantı çalışmaları preeklampsinin patofizyolojisi ile ilişkili aday genlerle yapılır. Kan örnekleri hem hasta hem de kontrol gruplarından toplanır. DNA izolasyonundan sonra aday gendeki genetik polimorfizmlerin prevalansı her iki grupta karşılaştırılır. Genetik polimorfizm her 100 kopyanın en az birinde oluşan DNA sekansındaki varyasyondur ve insan genomu boyunca ortalama her 500-1000 baz çiftinde bir meydana gelebilir. Böylece ilgilenilen genin çalışılması için fonksiyonel olarak anlamlı bir polimorfizmin seçilmesi mümkündür⁶⁶.

Preeklampsideki genetik bağlantı çalışmaları ile ilgili yayınların sayısı son on yılda sürekli artmıştır, fakat bu çalışmalar herkesçe kabul edilen yatkın genler tanımlayamamıştır. Aday genler Çizelge 2.5'te özetlenmiştir. Trombofili, sitokinler, ve anjiyotensinojeni de içeren 8 aday gen kapsamlı bir şekilde çalışılmış, fakat çelişkili sonuçlar elde edilmiştir^{6,54,55,7,67}. Aday gen çalışmalarındaki çelişkili sonuçlar için

birçok açıklama öne sürülebilir: (i) Çalışılan populasyon seçimi. Eğer bir allel bir populasyonda diğer bir populasyondan daha sık bulunuyorsa ve hastalık sıklığı bu iki populasyon arasında değişiyorsa, bu iki populasyon arasında yanlış pozitif sonuçlar elde edilebilir. (ii) Preeklampitik fenotipin tanımı doğru değildir. Birçok sınıflandırma kullanılmıştır. Geçerli tanımlamaların hiçbiri hastalığın ardında yatan farklı patojenik mekanizmaları uygun şekilde yansıtmaz. (iii) Farklı çevresel faktörler genetik faktörlerle etkileşime girebilir ve preeklampsiye eğilimi değiştirebilir. (iv) Aday gen çalışmalarının çoğunda tek nükleotit değişiklikleri (SNP) analiz edilmiştir. Preeklampsi gibi multifaktöriyel hastalıklarda, haplotip analizi genelde bağlantının tespitinde ya da dışlanmasında ek bir güç sağlar. (v) Bağlantı çalışmalarında çoklu testlerin istatistik korelasyonu gereklidir^{55,17}.

Aday gen çalışmalarının çoğunluğunda maternal genotipin rolü üzerinde durulmuştur. Son zamanlarda, Preeklampsi Genetiği Birliği (GOPEC) çok merkezli bir çalışmayla maternal ve fetal genlerin katkısı üzerine yoğunlaşmıştır. Preeklampsiyle ilişkilendirilmiş altı aday geni çalışmışlardır: AGT, AGTR2, TNF, NOS3, MTHFR ve F5. Preeklampside etkilenmiş 657 kadın ve ailesi genotiplendirilmiş maternal ve fetal genler arasındaki etkiler araştırılmıştır. Maternal ya da fetal genotip ile bağlantılı istatistiksel olarak anlamlı hiçbir genotip risk oranı bulunamamıştır⁵⁵.

Genetik bağlantı çalışmalarındaki yönergeler (kılavuzlar) son zamanlarda şunları önermiştir: Yüksek sayıda hasta, etnik kökenle eşleştirilmiş kontrol grupları, yaş ve cinsiyet, çoklu karşılaştırmaların ayarlamaları, fizyolojideki fonksiyonel değişiklikteki polimorfizm, bağımsız örnek grubundaki sonuçların tekrarı ve negatif sonuçlanmış yüksek kalitedeki bağlantı çalışmalarının yayınlanması⁸⁴. Bağlantı çalışmaları fonksiyonel çalışmalar değildir, fakat gelecekte yapılacak klinik çalışmalar için yeni yaklaşımlar sağlamaktadır. Geniş bilgiler içeren populasyon çalışmalarındaki çeşitli aday genlerle ilgili sistematik derlemeler, hastaların tanımlanması, örnekleme, hasta ve kontrollerin sayısı ve sonuçlar okuyucular için yardımcı olabilir. Preeklampside aday gen çalışmaları muhtemelen maternal fetal etkileşimleri içeren genlere yönelik en iyi çalışmalardır^{5,54,55}. Fetal genotip ve maternal fetal genotip etkileşimini araştırarak çalışmaların sayısı azdır ve geçerli yatkın herhangi bir gen tespit edilememiştir. Muhtemelen, preeklampsi ile bağlantılı tek bir temel gen bulunamayacaktır fakat çoklu bağlantılar ortaya çıkarılacaktır. Uygun şekilde yürütülecek bağlantı çalışmaları

araştırmayı teşvik edebilecek ve belki de preeklampsiyle ilgili beklenmeyen biyokimyasal yollara dikkat çekecektir⁵⁵.

Çizelge 2.3 Preeklampside belirlenmiş olan aday genler^{5,54,55}

Gen	Sembol
Trombofili	
Faktör V Leiden	F5
Metilentetrahidrofolat redüktaz	MTHFR
Protrombin	F2
Plasminojen aktivatör faktör-1	PAI-1
İntegrin glikoprotein IIIa	GPIIIa
Oksidatif stres ve Lipid metabolizması	
Apolipoprotein E	ApoE
Lipoprotein lipaz	LPL
Mikrozomal epoksit hidrolaz	EPHX
Glutation S-transferaz	GST
Endotelial fonksiyon ve Angiogenesis	
Endotelial nitrik oksit sentetaz 3	eNOS3
Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü 1	VEGFR-1
Vasküler endotelial büyüme faktörü	VEGF
İmmünoregülasyon	
Tümör nekroz faktör alfa	TNF-a
İnterlökin 1 reseptör antagonisti	IL1Ra
İnterlökin 1 alfa	IL-1a
İnterlökin 10	IL-10
T-lenfosit bağlı protein 4	CTLA4
Hemodinamik	
Anjiyotensinojen	AGT
Anjiyotensin dönüştürücü enzim	ADE
Anjiyotensin II tip 1 reseptörü	AGTR1
Anjiyotensin II tip 2 reseptörü	AGTR2

2.2.7. Kapsamlı Genom Taramaları

Hastalık geninin pozisyonel klonlaması, ilgilenilen hastalıkta aileler boyunca aktarılan kromozom bölgelerinin tanımlanması ile başlar(genetik bağlantı). Kapsamlı genom taramasında düzenli bir şekilde yerleştirilmiş mikrosatellitler (Çok basit DNA dizilerinin kısa tekrar dizileri) kromozomal bölgeleri tanımlamak için genom boyunca kullanılır. Kapsamlı genom taraması hastalığa yatkın genleri çalışmak için zorlu yöntemler içermektedir⁵⁵.

Preeklampsi için kapsamlı genom taramaları Çizelge 2.6'da özetlenmiştir. Kesin tanı kriteri sadece yeni ortaya çıkmış hipertansiyon ve proteinüri veya eklampitik kadınları işaret eder. Halbuki genel tanı kriteri ayrıca yeni ortaya çıkmış hipertansiyonu olan, proteinürisi olmayan kadınları da işaret eder. Muhtemelen, preeklampatik bir ailede genel tanı kriterine sahip bir kadın kesin tanı kriterine sahip etkilenmiş akrabalarıyla aynı genetik risk faktörlerini paylaşır. Sadece kesin tanı kriteri kullanılıyor olsa bile, her zaman bir fenokopi (farklı genetik altyapı ile benzer bir fenotip) ihtimali vardır⁵⁵.

Preeklampsi için ilk kapsamlı genom taraması 1992 de yayınlanmıştır ve analiz için tam olarak etkili resesif kalıtım modeli ve kesin tanı kriteri kullanılmıştır. O dönemlerde bazı bağlantı çalışmalarının yoğunlaştığı aday bölgelerden HLA bölgesinde bağlantıya dair herhangi bir kanıt bulunamamıştır⁶⁸. İkinci kapsamlı genom taraması sonucu kromozom 4q üzerinde bir aday bölge bulunmuştur. Araştırmacılar 2 kalıtım modeli kullanmıştır: yüksek penetranslı resesif gen ya da düşük penetranslı dominant gen ile kesin tanı kriteri ve genel tanı kriteri⁶⁹.

Daha sonraki iki kapsamlı genom taraması ile preeklampsi için kromozom 2 üzerinde maternal yatkınlığı olan bir lokus bulunmuştur. Genel tanı kriteri kullanılarak, İzlanda toplumunda yapılan bir çalışmada 2p13 üzerinde anlamlı bir lokus tespit edilmiş ve bu sonuç iki geniş aile ile desteklenmiştir. Aynı çalışmada iki aile dışındaki diğer ailelerde, genel tanı kriteri ile 2q23 üzerinde diğer bir lokus bulunmuştur⁷⁰. Benzer kriterler ile, Avustralya ve Yeni Zelanda'daki ailelerde yapılan ikinci genom taraması 2q23 için olası bir bağlantı göstermiştir. Bu genişletilmiş aile paneliyle, araştırmacılar daha önceden rapor edilmiş 4q üzerindeki aday bölgeleri doğrulayamamışlardır. İzlanda'daki tarama ile bulunan 2p13 üzerindeki lokus ve Avustralya'daki ikinci taramada bulunan 2q32 üzerindeki lokus arasındaki mesafe yaklaşık olarak 50cM olmasına rağmen araştırmacılar iki çalışmanın da aynı lokusu tespit ettiği çıkarımını

yapmışlar ve lokus preeklampsi, eklampsi geni 1(PEE1) olarak belirlenmiştir. Öte yandan, Hollanda toplumunda kan bağı olan ailelerde yapılan sonraki kapsamlı genom taraması kromozom 2 üzerindeki bağlantıyı tespit edememiştir. Bu çalışma HELLP sendromu kriterini kullanan tek kapsamlı genom taramasıdır. 12q için olası bağlantının HELLP sendromu ile ilişkili olduğu görülmüştür, halbuki 10q ve 22q için olası bağlantı HELLP olmayan ailelerde de bulunmuştur^{71,72}.

Son zamanlardaki kapsamlı genom taraması Finlandiya'da yayınlanmıştır. Genel tanı kriteri kullanılarak kromozom 2p25(PEE2) ve 9p13(PEE3) için anlamlı bağlantı ve kromozom 4q32 için olası bağlantı bulunmuştur. Bu çalışmada kromozom 2p25 üzerindeki yatkın lokus, İzlanda'da yapılmış çalışmadaki 2p13 ve Avustralya/Yeni Zelanda'da yapılmış çalışmadaki 2q23 ile karşılaştırıldığında açık bir biçimde farklılık göstermiştir. 9p13 üzerindeki lokusun Çin ve Finlandiya'da son zamanlarda yapılmış iki kapsamlı genom taramasında tip 2 diyabet için aday bir bölge olabileceği gösterilmiştir^{54,55}. 4q32 üzerindeki lokus Avustralya'da yapılmış ilk kapsamlı genom taramasındaki aday bölgeye yakındır. Kapsamlı genom taramalarının hiçbiri 7q36(nitrik oksit sentetaz gen bölgesinin endotel izoformu) için daha olası bağlantıyı doğrulayamamıştır⁶⁹.

Çizelge 2.4. Preeklampsi için kapsamlı genom çalışmaları^{54,55}

Ülke	Model	Kriter K: Kısıtlı G: Genel	Markır Sayısı	Aile Sayısı	Nominal veya olası bağlantısı olan kromozom	Anlamli bağlantısı olan kromozom
İskoçya	Otozomal Resesif (OR)	K	43	35	3, 9	
Avustralya	OR, Otozomal Dominant (OD)	K,G	90	15	4q34(G)	
İzlanda	Non- parametrik	K,G	440	124	2q23(G)	2p13(G)
Avustralya, Y. Zelanda	Non- parametrik	K,G	400	34	2q23(K), 11q23(G)	
Hollanda	Non- parametrik	K, HELLP	293	67	10q,22q(K), 12q(HELLP)	
Finlandiya	Non- parametrik	K,G	435	15	4q32(G)	2p25(G), 9p13(G)

2.2.8. Genetik Polimorfizmler

Polimorfizm, bir toplumda farklı allellere bağılı olarak genetik açıdan belirlenmiş iki veya daha çok alternatif fenotipin görülmesidir⁷³. Eğer toplumda herhangi bir lokusta en az iki tane yaygın bulunan allel varsa bu lokusun polimorfizm gösterdiği söylenir ve bir allelin toplumdaki sıklığı %1'den fazla olursa bu allel polimorfik olarak adlandırılır^{74,75}.

Çizelge 2.5'te trombofili, hemodinamik, oksidatif stres ve immünite gibi faktörlere göre gruplara ayrılmış ve preeklampsiyle ilişkilendirilmeye çalışılmış aday genler özetlenmiştir. Bu aday genlerin farklı bölgelerindeki polimorfizm tiplerinin çeşitli toplumlarda preeklampsi ile bağlantıları birçok çalışmada araştırılmıştır. Bazı bölgelerdeki polimorfizmler preeklampsi ile anlamlı derecede bağlantılı bulunurken bazı bölgelerdeki polimorfizmler preeklampsi ile ilişkilendirilememiştir. Ayrıca farklı toplumlarda aynı bölgelerdeki polimorfizmlerle yapılan çalışmalarda da çelişkili sonuçlar elde edilmiştir^{6,46}.

2.3. Sitokinler

Sitokinler, etkin monosit, makrofaj, lenfosit ve diğer hücreler tarafından üretilen peptid veya glikoprotein yapısında düzenleyici moleküllerdir. Bağışıklık veya yangısal olaylarda görev yapan hücrelerin etkinliklerini artıran sitokinler, etkilerini sistemik veya lokal olarak gösterirler. Sitokinler; interlökinler, interferonlar, koloni stimulan faktörler ve çeşitli büyüme faktörleri gibi molekül gruplarından oluşmaktadır.

Hücrel ve sıvısal bağışıklık yanıtları, sitokinler olarak adlandırılan protein ve glikoprotein yapısındaki maddeler tarafından düzenlenmekte olup interlökinler (IL-1-18), interferonlar (IFN α , β , γ), granülosit koloni stimulan faktör (G-CSF), monosit koloni stimulan faktör (M-CSF) ve granülosit makrofaj koloni stimulan faktör (GM-CSF) gibi koloni stimulan faktörler, tümör nekroz faktörü (TNF α , β , γ) ve transforming growth faktör beta (TGF- β) ailesi, eritropoietin, nöron gelişim faktörü, epidermal gelişim faktörü, fibroblast gelişim faktörleri, insülin benzeri gelişim faktörleri ve trombositlerden elde edilen gelişim faktörü gibi büyüme faktörleri sitokin sınıfı içerisinde yer almaktadır⁷⁶.

Sitokinlerin hedef hücreleri; salındıkları hücreler, yakınındaki hücrelere veya dolaşıma girmiş sitokinlerle uyarılan uzaktaki hücrelerdir. Sitokinler genellikle depo edilmezler ve üretimleri genlerin transkripsiyonu ile başlar⁷⁷. Lökositler arasındaki haberleşmeyi düzenlemede görev yapan monositler, doku makrofajları ve lenfositler tarafından üretilen moleküllere 1979 yılında “**İnterlökin**” adı verilmiştir^{76,78}.

İnterlökin-2 (IL-2): Önceleri T lenfosit gelişim faktörü olarak adlandırılmış olan IL-2, CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositlerde üretilmektedir (4,5). IL-2, T ve B lenfositler ile timositlerin çoğalmasını artırır. Sitotoksik hücreleri etkinleştirerek, tümör hücrelerinin yok edilmesini sağlar^{76,79}. Yardımcı T lenfositler, B lenfositler, monositler ve NK hücreleri etkileyerek çeşitli sitokinlerin üretimini artırır⁷⁸. IL-2 tarafından etkinleştirilen T lenfositler, TGF- β , GM-CSF, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, lenfotoksin ve IFN γ gibi enfokinleri salgırlar. IL-2'nin in vivo olarak ACTH ile kortizolün serum düzeylerini artırdığı kaydedilmektedir⁸⁰. İnterlökinlerin genel özellikleri ve fonksiyonları çizelge 2.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.5. İnterlökinlerin kaynakları ve biyolojik etkileri^{76,77,78,79,80}

İnterlökin	Temel hücre kaynakları	Biyolojik etkileri
IL-1	Makrofajlar, keratinositler, fibroblastlar, T ve B lenfositler,	T ve B lenfosit farklılaşması, yangı ve kan hücrelerinin yapımı ateş, akut faz proteinlerinin sentezi, sitokin sentezini uyarma
IL-2	T lenfositler	T ve NK hücrelerin aktivasyonu, T ve B lenfosit gelişim faktörü
IL-3	T lenfositler, makrofajlar, mast hücreleri	Hematopoetik büyüme faktörü, ilk myeloid hücrelerin gelişimini artırma, mast hücrelerinin aktivasyonu ve histamin sentezi.
IL-4	Yardımcı T lenfositler	T ve B hücre büyüme faktörü, IgE reaksiyonlarının artırılması
IL-5	Yardımcı T lenfositler, mast hücreleri,	B lenfositler B hücre ve eozinofillerin uyarılması, IgA ve IgE üretiminin artırılması
IL-6	Fibroblastlar, monositler	Fibroblastlar, monositler B hücre büyüme faktörü, poliklonal immunoglobülin üretimi, yangının artırılması
IL-7	Stroma hücreleri, dalak ve böbrek hücreleri	T ve B lenfosit gelişim faktörü, timosit çoğalması ve sitotoksik T lenfosit aktivitesini artırma
IL-8	Makrofajlar, T lenfositler	Nötrofillerin aktivasyonu, nötrofiller ve lenfositlerin yangı bölgesine çekilmesi, IgE sentezinin inhibisyonu
IL-9	T lenfositler	Lenfoid ve megakaryositik hücrelerin gelişimi, immünoglobülin sentezi, alerji
IL-10	T lenfositler, mast hücreleri	Sitokin üretiminin inhibisyonu, NK hücre aktivasyonu, immünoglobülin sentezi
IL-11	Kemik iliği stroma hücreleri	Hemopoetik hücrelerin gelişimi, akut faz proteinlerinin sentezi, kemik rezorpsiyonu, nöron farklılaşması
IL-12	Monositler,makrofajlar,dendritik hücreler, B lenfositler	T lenfositlerin çoğalması, NK hücre sitotoksitesi ve IFN- γ üretimini artırma
IL-13	T lenfositler	IgA ve IgE sentezi
IL-15	Aktif monosit, kemik iliği stroma hücreleri	IFN- γ üretimi, B lenfositlerin çoğalma ve farklılaşması
IL-16	T lenfositler	CD4+ lökositler, eozinofiller ve monositler için kemoatraktant ve CD4+ hücreler için büyüme faktörü
IL-17	T lenfositler	Sitokin üretimini artırma
IL-18	Monosit, makrofajlar	IFN- γ üretimini artırma

2.3.1. Sitokinlerin Genel Özellikleri

Uzak mesafelerde etkisini gösteren ve dokuların normal günlük fonksiyonları için önemli fizyolojik tepkileri düzenleyen endokrin hormonların aksine sitokinler sadece dokularda temel fizyolojik değişiklik ya da bozukluk olduğu zaman rol üstlenirler. Bu tür değişiklik ve bozukluklar enfeksiyon ve doku travması süresince gerçekleşir ve sitokinler bu olaylar boyunca dokuların savunma ve tamirinde temel bir rol oynarlar. Sitokinler immünite ile bağlantılıdır. Doğal ve sonradan elde edilen immün sistem hücrelerini düzenlemenin yanı sıra, hücre büyümesi ve farklılaşmasını düzenler. Ayrıca fetal gelişim ve embriyo implantasyonunu da etkiler. Sitokinler suda çözünebilen, her dokuda ve çoğu hücrede üretilen proteinlerin ya da glikoproteinlerin 8 ile 30 kDa'lık birimlerini içerirler⁶⁰.

Sitokinler birçok farklı hücre tarafından üretilir ve hücre etrafında ya da canlının farklı yerlerinde olabilirler. Ayrıca bu durum ortamda başka sitokinlerin olmasına bağlı bir şekilde gerçekleşebilir. Çünkü sitokinler başka sitokinlerin sentezini etkileyebilir ve biyolojik etkisine ortam hazırlayabilirler. Bu durum bir sitokin diğer bir sitokin etkisini azaltması ya da arttırması şeklinde meydana gelebilir^{81,60}.

2.3.2. Sitokinlerin Etki Mekanizmaları

Sitokinler özel hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanarak etkilerini başlatırlar. Bu reseptörler transmembran proteinleridir. Ekstrasellüler domainleri ile sitokinlere bağlanırlar. Daha sonra hücre içi sinyalleşme kaskatları hücre fonksiyonlarını değiştirir. Bir sitokinin etki seviyesi hücre dışı yoğunluğuna, reseptörün çokluğuna ve reseptör afinitesine bağlıdır. Ancak biyolojik olarak etki gösterebilmek için az bir miktarda sitokin yeterlidir. Bununla birlikte, sitokinler fazla olmalarıyla tanımlanırlar. Bazı sitokinler benzer fonksiyonları paylaşabilirler. Etkileri aşağıdaki gibi gruplandırılabilir:

- Otokrin; sitokin kendisini salgılayan hücreyi etkiler.
- Parakrin; sitokin çevresinde bulunan komşu hücreleri etkiler.
- Endokrin; sitokin gerçek hormonlarda olduğu gibi dolaşım ile uzak mesafelerdeki hücreleri etkiler^{81,82}.

2.3.3.İnterlökin -2 nin Özellikleri

İnterlökin 2 immün sistemdeki sitokin sinyal moleküllerinin bir tipidir. İmmüniteden sorumlu beyaz kan hücrelerinin (lökositler ve sıklıkla lenfositler) aktivitesini düzenleyen bir proteindir. Mikrobiyal enfeksiyona karşı vücudun verdiği doğal cevabın bir parçasıdır. İnterlökin 2, lenfositler tarafından eksprese olan interlökin reseptörlerine bağlanarak etkisini gösterir.

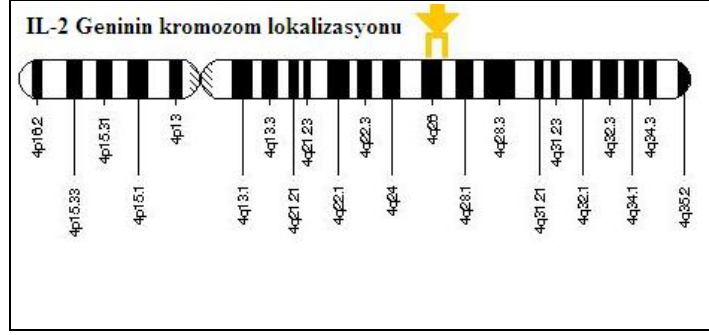
IL-2; IL-2-spesifik IL-2 reseptör alfa (CD25), IL-2 reseptör beta (CD122) ve yaygın gama zinciri (γ c) 'nden oluşan reseptör kompleksi aracılığıyla sinyal vermektedir.

IL-2, T hücrelerinin büyümesi farklılaşması ve proliferasyonu için gereklidir. IL-2 is normal olarak immün yanıt esnasında T hücreleri tarafından üretilir^{83,84}. T hücrelerine bağlanan antijen IL-2 salgısını IL-2 reseptörü IL-2R ekspresyonunu uyarır. IL-2/IL-2R etkileşimi antijen-spesifik CD4+ T hücrelerinin ve CD8+ T hücrelerinin büyüme, farklılaşma ve sağ kalımını uyarır^{85,86,87}. Bu nedenle, IL-2 T hücrelerinin immünolojik hafızasının geliştirilmesi için gereklidir.

İnterlökin 2, timus kaynaklı T- lenfosit hücrelerin büyümesi, bölünmesi ve farklılaşması için gerekli olan bir sitokini üyesidir.

IL-2 normal koşullarda immün cevaba bağlı olarak T hücreleri tarafından sentezlenir. T hücre reseptörlerine (TCR) herhangi bir antikor bağlandığında IL-2 salınımı uyarılır. IL-2 molekülü antijene spesifik CD₄ (T_{yardımcı}) ve sitotoksit T (CD₈) hücreleriyle etkileşimde bulunur. Bu özellikleri nedeniyle immünolojik hafızanın oluşmasında primer rol oynar^{88,89,90}.

IL-2 geni 4. kromozomun q26-27 bölgesinde lokalize olup 4 ekzondan oluşmaktadır. Gen ID si 109471 olan IL-2 geninin iki tane transkripti bulunmaktadır. Bu transkriptlerden 586 bç uzunluğunda olanı herhangi bir protein ürünü vermez iken 1029 bç uzunluğunda olan transkript ise, 153 aminoasit uzunluğunda protein kodlamaktadır⁹¹.



Şekil 2.2: IL-2 geninin kromozom lokalizasyonu⁹¹

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araç ve Gereçler

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, cihazlar ve teknik malzemeler temin edildikleri firmalarla birlikte aşağıda belirtilmiştir.

3.1.1. Kimyasal Malzemeler

- Taq DNA polimeraz enzimi (Vivantis)
- Polimeraz zincir reaksiyonu tamponu (Vivantis)
- Primerler (ITD Integrated DNA Technologies, Biomers.net)
- dNTPs (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) (Dr. Zeydanlı)
- Restriksiyon enzimi Bfa-1 (Biolabs)¹²
- Etiliyum bromid (Sigma)
- Agaroz (Sigma)
- Tris-baz (Sigma)
- Borik asit (Sigma)
- Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) (Sigma)
- Sodyum klorür (NaCl) (Merck)
- Magnezyum klorür
- Tris-HCl
- TritonX100 (Sigma)
- Sükroz (Merck)
- Proteinaz-K (Sigma)
- Sodyum dodesil sülfat (SDS) (Sigma)
- Bromfenol mavisi (Merck)
- Etil alkol (Merck)
- Distile ve bidistile su

3.1.2. Cihazlar ve Teknik Malzemeler

- Soğutmalı santrifüj (Universal 16R)
- Mikrosantrifüj (Techne force 16)
- Su banyoları (Grant)
- Hassas terazi (Sartorius)
- Terazi (Shimadzu 321-33557)
- pH metre (İnolab)
- UV jel görüntüleme sistemi (UVItec)
- Otomatik pipetler (Gilbson, Biohit, Socorex)
- Vorteks (Nüve NM 110)
- Etüv (Dedeoğlu)
- Elektroforez güç kaynağı (EC3000-90)
- Yatay tankı (Biogen)
- PZR cihazı (Bioer Xp Thermal Cyclers)
- Deepfreez (Siemens, Bosch)
- Otoklav (Trans)

Araştırmanın yapıldığı Moleküler Biyoloji ve Genetik laboratuvarı, Ç.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında bulunmaktadır.

3.2 Kan Örneklerinin Sağlanması

Çalışma grupları Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Doğum Anabilim Dalı Doğum Ünitesi, Doğum Servisi ve Obstetrik polikliniğinde takip edilen preeklampsi tanısı konulmuş hastalardan ve herhangi bir hastalık tanısı almamış normal gebelerden oluşturuldu. Gestasyonel hipertansiyon ve süperempoze preeklampsi olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Hasta grubu 1, 2, 3 olarak, kontrol grubu K1 (Kontrol 1), K2, K3 olarak kodlandırıldı. Bu çalışmada, 57 normal, 93 preeklampsi olmak üzere toplam 150 birbiri ile akraba olmayan kadın moleküler biyolojik açıdan değerlendirildi.

Bu kişilerden EDTA'lı tüplere kan alındı. Tüpler alt üst edilerek kanların pıhtılaşması önlenildi. Kan örnekleri DNA elde edilmek üzere kullanıldı.

3.2.1. Hasta Rızası

Çalışmada yer alan tüm hasta ve kontrol grubunun çalışmaya katılımları, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulları Araştırma Projesi Bilgi ve Taahhüt Formunda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmış DNA Çalışması Onam Formları doldurularak sağlandı.

3.3. Yöntem

3.3.1. Periferik Kandan DNA Elde Edilmesi

Bu çalışmada periferik kandan DNA elde etmek için Miller ve arkadaşlarının geliştirdiği “salting out” (tuzla çöktürme) yöntemi modifiye edilerek kullanıldı⁹².

1. 1,5 ml’lik ependorf tüpü içerisine iyice alt üst edilmiş kan örneğinden 700 µl, eritrosit lizis solüsyonundan da 700 µl konulup dikkatlice alt üst edilerek 3-5 dk. oda ısısında bekletildi. 4500 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant kısmı atıldı.
2. Elde edilen pellet üzerine 700µl eritrosit lizis solüsyonu eklendi. Tüp kuvvetlice çalkalanarak pellet çözdürüldü. 4500 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant kısmı atıldı.
3. Pellet üzerine 1000 µl (1 ml) fizyolojik tampon eklenerek çözdürüldü. 4500 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant kısmı atıldı.
4. Pellet üzerine 300 µl TE-9 tamponu ilave edilerek çözdürüldü. Bunun üzerine 100 µl SDS ile 20 µl Proteinaz-K ilave edildi. Vorteks üzerinde tüp içeriği iyice karıştırıldı. 65°C’de 1-2 saat benmaride tutuldu. 20 dk aralıklarla tüp alt üst edildi.
5. İnkübasyon sonunda tüp içerisine 200 µl 6M NaCl ilave edildi. Oluşan beyaz görünümlü yapıyı dağıtmak için tüp kuvvetlice çalkalandı ve 13500 rpm’de 7 dk santrifüj edildi.
6. Santrifüj sonunda süpernatant başka bir tüpe alınıp pellet atıldı. Süpernatant tekrar 13500 rpm’de 7 dk santrifüj edildi.
7. Yine süpernatant başka bir tüpe alınıp pellet atıldı. Tuzdan arınmış olan süpernatantın üzerine 900 µl %100’lük etil alkol eklendi. Tüp iyice karıştırıldı. Bu aşamada DNA ipliksi formunda görülebilmektedir.

8. Ependorf tüpü 13500 rpm'de 7 dk santrifüj edildi. Süpernatant atıldı.
9. Tüpün dibine yapışan DNA'yı kaldırmak için 1000 µl %70'lik etil alkol eklendi. 13500 rpm'de 7 dk santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Bu işlem bir kez daha tekrar edildi.
10. Süpernatant döküldükten sonra tüp ters çevrilip DNA'nın tüpe yapışması için 15 dk beklendi.
11. DNA'nın büyüklüğüne göre 50-100 µl TE (Tris-EDTA) konuldu.
12. DNaz aktivitesini ortadan kaldırmak için 70-80 °C benmaride, 10-15 dk inkübasyona bırakıldı.
13. DNA örnekleri kullanılıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edildi. Uzun süreli saklamalar için ise -20 °C ye alındı.

3.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yönteminin Uygulanması

PZR yöntemi, herhangi bir organizmaya ait genomik DNA'daki dizisi bilinen herhangi bir bölgenin çoğaltılmasını (amplifikasyonunu) sağlayan basit ve hızlı in-vitro DNA sentez yöntemidir.

PZR reaksiyonunun hazırlanmasında temel olarak sırasıyla şu aşamalar takip edildi:

- Reaksiyonda kullanılacak DNA'lar ve çözeltiler -20°C'den alınıp çözdürüldü.
- 200 µl'lik PZR tüpleri üzerlerine örnek numarası yazılarak hazırlandı.
- Tüm DNA örnekleri ve çözeltiler önce vortekslendi, daha sonra kısa bir süre santrifüj edildi.
- Reaksiyon hacmini tamamlamak için steril bidistile su kullanıldı.
- PZR miks hazırlamak için 200 µl'lik PZR tüpüne daha önce hesaplanan miktarlarda PZR tamponu, primerler, dNTP miks ve Taq polimeraz eklendi.
- Tüp önce vortekslendi, daha sonra kısa bir süre santrifüj edildi.
- Numaralandırılmış her bir PZR tüpüne önceden hesap edilen miktarlarda su ve numarasına ait DNA eklendi.
- Daha sonra PZR miks tüplere eşit olarak dağıtıldı.
- Böylece tüplerin herbirine tüm PZR bileşenleri eklenmiş oldu.
- Tüpler önce vortekslendi, daha sonra kısa bir süre santrifüj edildi.

- Tüpler önceden programlanmış thermal cycler'a yerleştirildi ve cihaz çalıştırıldı.

3.3.2.1 IL-2 Geni 384 Promotor Bölgesi için PZR Yönteminin Uygulanması

Çalışmamızda IL-2 geninin 384 promotor bölgesini çoğaltmak için Matesanz¹² ve arkadaşlarının çalışmalarında kullandıkları primerler seçilmiştir. Kullanılan primer çiftlerinin dizileri aşağıda gösterilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. IL-2 geninin 384 promotor bölgesi amplifikasyonu için kullanılan primer çiftleri¹²

Primer F	5'-A TTCACATGTT CAGTGTTAG TTCT-3'
Primer R	5'- GTGATAGCTCTAATT CATGC -3'

Çalışmamıza uygun amplifikasyon koşullarını saptamak için çeşitli denemeler yapıldı. Her denemede sadece bir değişken değiştirilerek primerlerin, Taq polimerazın ve dNTP'nin farklı konsantrasyonları ile PZR programında farklı ısı döngüleri ve annealing (yapışma) ısıları denemeleri yapıldı. En iyi amplifikasyonun görüldüğü koşullar, bütün PZR reaksiyonları için kullanıldı.

PZR reaksiyonunu gerçekleştirmek için kullanılan malzemelerin tümü ticari olarak satın alınmıştır. Amplifiye olan ürünler ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere +4°C'de saklandı.

Çizelge 3.2. IL-2 geni 384 promotor bölgesinin optimal amplifikasyonlarının gerçekleşmesinde kullanılan maddeler ve miktarları¹²

Reaksiyon karışımı	Kullanılan miktar	Son konsantrasyon
10X PZR tamponu	2.5 µl	1X PZR tamponu
dNTP	0.60 µl	10Mm
Taq polimeraz enzimi	0.75 µl	0,05 U/ il
Primer F	1 µl	10 pmol
Primer R	1 µl	10 pmol
Genomik DNA	3 µl	100-200 ng
Bidistile su	16,15 µl	-
Toplam Hacim :	25 µl	

Çizelge 3.3. IL-2 geni 384 promotor bölgesinin optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PZR programı ısı döngüleri¹²

Döngüler	Sıcaklık	Süre
1. Ön denaturasyon	94.0°C	2dk
2. Denaturasyon*	94.0°C	20 sn
3. Yapışma* (Annealing)	52.0°C	40 sn
4. Sentez* (Extension)	72.0°C	20 sn
5. * Her seferinde ikinci basamağa dönerek, toplamda 35 döngü		
6. Son uzama (Final extension)	72.0°C	10 dk
7. Bekletme	4.0°C	∞

Örneklerin amplifikasyonu ve elde edilen bantların kontrolü önce anlatıldığı gibi örnekler agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi.

3.3.3. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP; Restriction Fragment Length Polymorphism) Yönteminin Uygulanması

Agaroz jel elektroforeziyle amplifikasyon kontrolü yapıldı, amplifikasyon görülen örnekler restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim reaksiyonuna alındı. Kesim

reaksiyonunun gerçekleştirilmesi için aşağıda belirtilen şekilde reaksiyon karışımı hazırlandı.

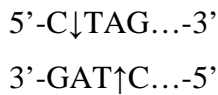
Çizelge 3.4. RFLP reaksiyon koşulları¹²

Reaksiyon Karışımı	Kullanılan Miktar (µl)
Tampon	2.0 µl
Restriksiyon Enzimi	0.5 µl
Amplifiye Ürün (PZR ürünü)	12.5 µl
Steril Bidistile Su	5 µl
Toplam Hacim	20 µl
Reaksiyon Isısı	37 ⁰ C
Reaksiyon Süresi	17 saat

Kesim reaksiyonun sonlandırılması ve kesim ürünlerinin agaroz jelde yürütülmeye hazır hale getirilmesi için reaksiyon süresi sonunda, örnekler 5 µl Bromfenol mavisi (6X) ile karıştırıldı.

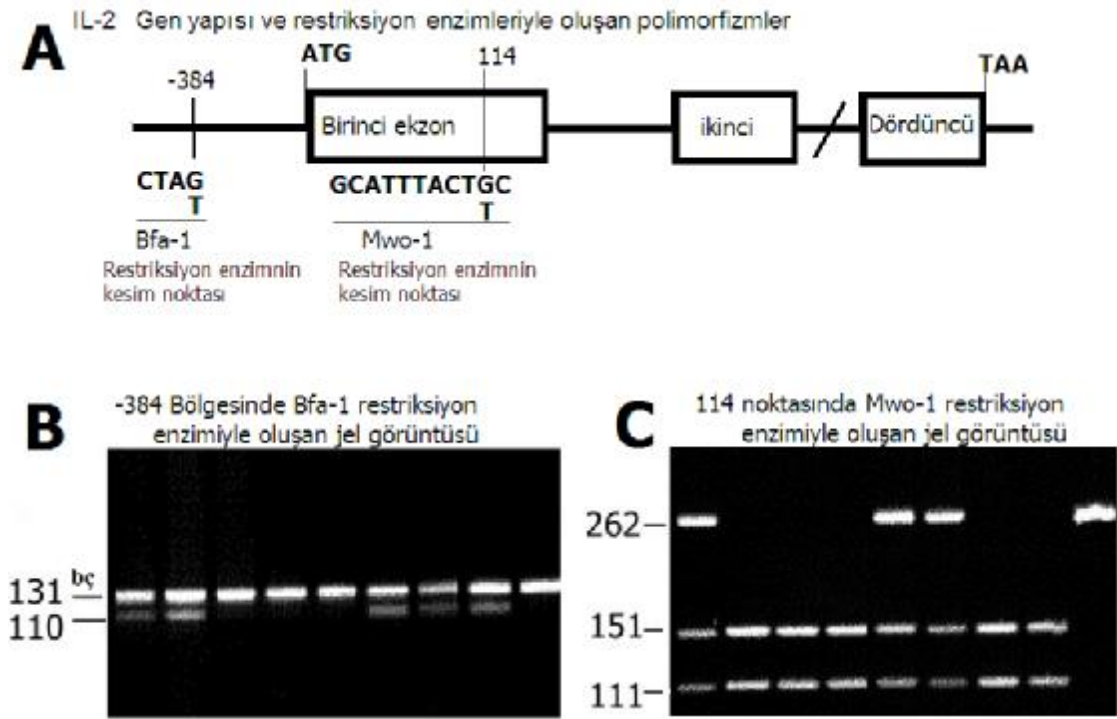
3.3.3.1 *IL-2* Geni 384 Promotor Polimorfizminin Belirlenmesi İçin *Bfa-1* Restriksiyon Enzimi İle Kesimi

Matesanz ve arkadaşlarının yöntemine göre *Bfa-1* restriksiyon enzimi ile kesim yapılmıştır¹². *Bfa-1*, *Bacteroides fragilis*'den elde edilen bir restriksiyon enzimidir. Çift zincirli DNA' yı;



dizisinden tanıyarak yapışkan uçlu kesim yapmaktadır. PZR ile elde edilen 131 bp'lik hedef gen bölgesi *Bfa-1* restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu bölgede Guanin içeren allel (G) *Bfa-1* kesim noktası taşımaktadır. Guaninden Timine (G→T) bir nükleotit değişimi varsa *Bfa-1* enziminin tanıma bölgesi bulunmaz (T alleli). Guanin

nükleotitinden Adenin nükleotidine değişimi olmayan (GG genotipli) bireylerde 110 ve 21 bç'lik iki bant, heterozigot bireylerde (GT genotipli) 131, 110 ve 21 bç'lik üç bant, her iki allelinde değişim görülen bireylerde (TT genotipli) 131 bç'lik tek bant görülecektir. Örneklerde elde edilen kesim ürünleri yine agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi.



Şekil 3.1: Bfa-1 ve Mwo-1 enzimlerinin teorik ve pratikteki kesim görüntüleri¹²

3.3.4. Agaroz Jelin Hazırlanması

PZR sonrasında elde edilen ürünlerin varlığını kontrol etmek için kolay ve hızlı hazırlanması sebebi ile agaroz jellerden yararlanıldı. Genellikle %2 ve %3 oranında agaroz jel kullanıldı.

1. Çalışmaya başlamadan önce jel kabı iyice temizlenip kurutulduktan sonra jel dökme kalıbına yerleştirildi. Bu kalıp, düz bir yüzeye kondu. Kuyuların oluşturulması için kullanılan taraklar düzgünce yerlerine yerleştirildi.
2. Jel dökme kabının boyutları ile jelin kalınlığı dikkate alınarak hesaplama yapıldı.

8 X 9cm boyutundaki jel kabına % 2 ve 3 konsantrasyonlarında jel dökmek için erlenmayerde 1,22 ve 1,55 g agaroz tartılıp, 1X TBE solüsyonu (2 ayrı bölge için) eklenerek 85 ml'ye tamamlandı. Mikrodalga fırında agaroz iyice eriyene kadar ısıtıldı.

3. Jelin içine 5 µl stok EtBr (Etidiyum bromür) solüsyonundan ilave edildi. Kuvvetli mutajen ve toksik olan Etidiyum bromür içeren çözeltilerle çalışırken her zaman eldiven kullanıldı.
4. Agaroz çözeltisi, sıcaklığı 45-50 °C'ye (el yakmayacak sıcaklığa) gelinceye kadar soğutuldu.
5. Ilık agaroz çözeltisi hava kabarcığı oluşturulmadan dikkatlice jel dökme kabına döküldü.
6. Jel, oda sıcaklığında yaklaşık 30-45 dakikada polimerize olması beklendi.
7. Jel elektroforez tankına alındı, tankın içerisine üzerini örtecek kadar 1 X TBE tamponu ilave edildi. Taraklar dikkatlice çekilerek yükleme yapmak için kuyucuklar hazır hale getirildi.

3.3.5. Örneklerin Agaroz Jele Yüklmesi ve Yürütülmesi

Kontrol edilmek istenen DNA örnekleri jel yükleme tamponu (Loading dye) ile birlikte yüklendi.

Jel yükleme (veya DNA yükleme) tamponu; örneğin yoğunluğunu artırarak DNA'nın kuyucuğun içine düzgün olarak aktarılmasını sağlar. Örneği renklendirerek kuyulara yüklenme işlemini basit hale getirir. Elektriksel alanda örneklerin göç hareketinin takip edilmesi sırasında kolaylık sağlar.

- Jelin sağındaki veya solundaki ilk kuyuya moleküler ağırlığı bilinen marker DNA'dan 5µl yüklendi.
- Mikropipet ile 5 µl PZR ürünü ile 1 µl Bromfenolmavisi içeren 6X yükleme tamponu karıştırıldı. Toplamı 6 µl olan karışım kuyucuklara yüklendi. 100 voltta 60 dakika elektrik akımı altında yürütüldü.
- Jel UVİdoc cihazında ultraviyole ışık altında görüntülendi ve jel görüntüleri diskete kaydedildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

(Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde SPSS 13,0 paket programı kullanıldı. Hasta ve kontrol grubunun klinik özellikleri, ortalama ve standart sapmaları bulunarak değerlendirildi. Hasta ve kontrol grubu genotip dağılımları ve allel frekansları karşılaştırıldı. Genotip ve allel frekansları Pearson's Ki kare testi kullanılarak tespit edildi (Tüm testlerde istatistiksel önem değeri $p \leq 0,05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında yatışta ve poliklinikte takip edilen 57 normal, 93 preeklampitik olmak üzere toplam 150 gebe kadın araştırmaya dâhil edildi. Çalışmaya katılan tüm kadınların sistolik ve diastolik kan basıncı ile idrardaki protein miktarları ölçüldü. Tüm gebelerin yaşı, kilosu, gebelik sayısı, gebelik haftası, kronik hipertansif hasta olup olmadıkları yapılan anketlerle sorgulandı. Toplanan kanlardan tuzla çöktürme yöntemiyle elde edilen DNA'larda PZR yöntemi kullanılarak IL-2 geni 384 promotor bölgesi polimorfizmi araştırıldı.

Çukurova Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına bağlı poliklinikte takip edilmekte olup aralarında herhangi bir akrabalık ilişkisi bulunmayan 57 normal, 93 preeklampitik gebe araştırılmaya dâhil edildi.

4.1. Preeklampsi ile ilgili genel bulgular

Hasta ve kontrol grubu kadınlar; gebelik sayısı, gebelik haftası, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, hasta yaşı ve hasta kilosu ortalamaları bakımından değerlendirmeye alındı. Hasta grubunda saptanan yaş, kilo, sistolik ve diastolik kan basıncı değerleri daha yüksek iken aynı hasta grubunda gebelik haftası daha düşük çıkmıştır. Gebelik sayısı birbirine yakındır. Preeklampsi hastaları arasında yapılan genel değerlendirmede sistolik ve diastolik kan basınç ortalamaları Preeklampsi tanı kriterleri içerisinde yer almaktadır.

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubunun klinik özellikleri ve ortalamaları

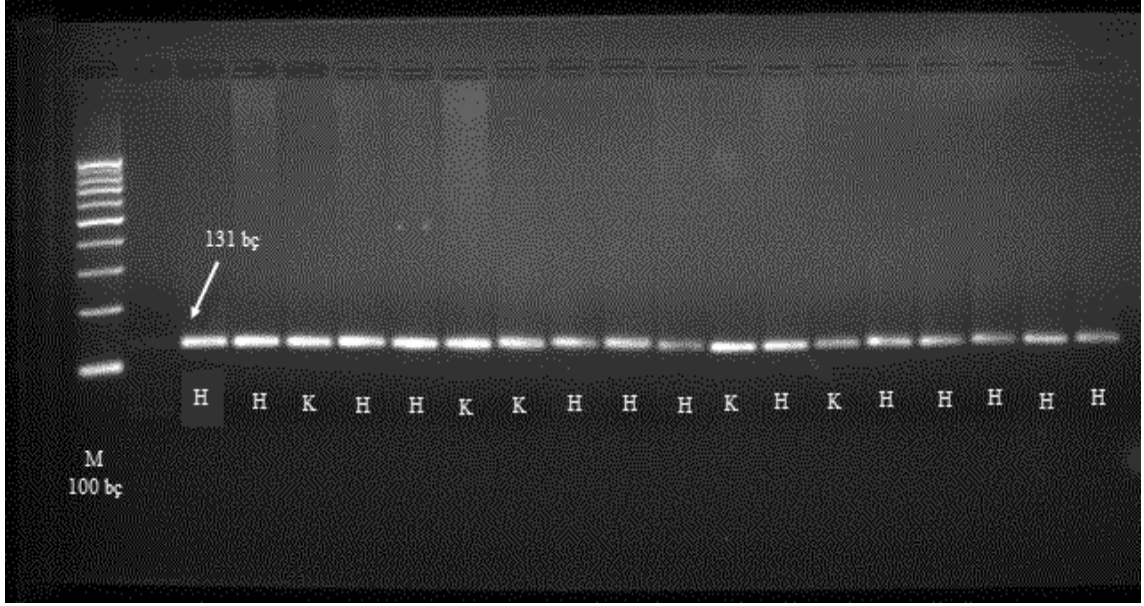
	Gebelik sayısı	Gebelik haftası	Sistolik basınç	Diastolik basınç	Yaş ort. (yıl)	Kilo (kg)
Hasta	2,44±2,12	34,40±3,46	157,14±5,72	101,04±2,65	30,34±1,46	79,96±15,13
Kontrol	2,30±0,42	37,10±0,63	119,55±9,23	77,21±5,68	29,57±2,86	77,02±14,14

Uygunluk tespiti için hasta ve kontrol grubunda, gebeliğe bağılı hipertansiyon çalışmalarında ve sınıflandırma yapmak için genel olarak en fazla kullanılan raporlar olan ASSHP (Australasian Society for the Study of Hypertension in Pregnancy) ve NHBPEP (National High Blood Pressure Education Program) dikkate alınmıştır. Hasta grubu seçimi; gebeliğin 20 haftadan uzundur devam etmesi, daha önce normal kan basıncı ölçülerine sahip (normotensif) kadınlarda en az 6 saat ara ile yapılan iki ölçümde sistolik kan basıncının 140 mmHg ve üzeri ve de diastolik kan basıncının 90 mmHg ve üzerinde olmasına ve dahası 24 saatlik idrar ölçümünde 300mg/L ve üzeri proteine rastlanması veya 6 saatlik arayla rasgele alınan en az 2 idrar örneğinde, idrar (sticker) çubuklarında, +1 veya daha yüksek proteinüri görülmüş olmasına dikkat edilmiştir.

4.2. Moleküler Genetik Verileri

4.2.1. IL-2 Geni 384 Promotor Bölgesi Polimorfizmi İçin Genetik Analiz Sonuçları

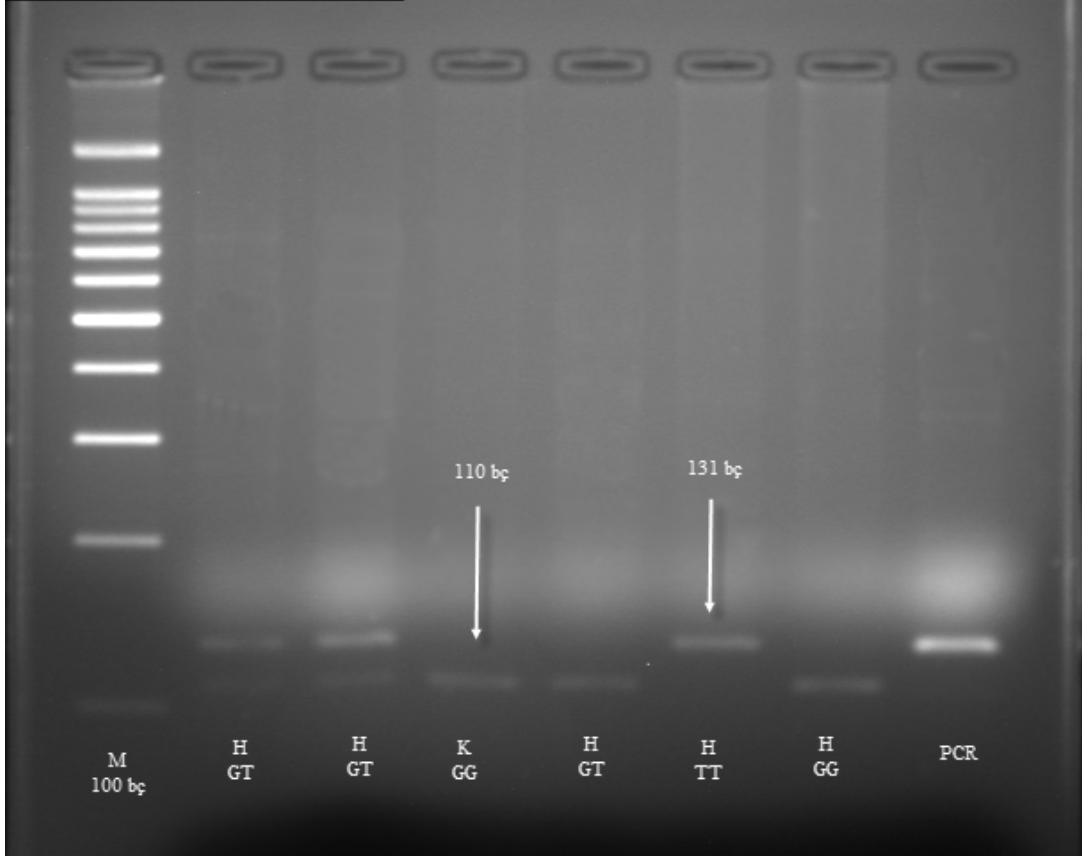
IL-2 geni 384 promotor bölgesinin 131 bç'lik bölümü PZR yöntemi ile çoğaltıldı. Bazı hasta ve kontrollerin PZR yöntemi ile çoğaltılmış IL-2 384 promotor bölgesinin görüntüleri Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.1. IL-2 384 promotor bölgesi PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü

PZR yöntemi ile çoğaltılan IL-2 geni 384 promotor bölgesinin 131 bç'lik bölgesi RFLP yöntemi kullanılarak bfa-1 restriksiyon enzimiyle kesildi. Bfa-1 enzimi IL-2 384 promotor bölgesinde normal genotip varlığında kesim yapan tip II sınıfında bir enzimdir. Primerler buna göre dizayn edilmiştir. Bfa-1 enzimiye kesilmiş homozigot G genotipli amplifiye edilmiş DNA'yı 110 ve 21 bç'lik 2 bant halinde, Heterozigot bireylerde 131, 110 ve 21 bç'lik 3 bant halinde ve de homozigot T genotipli bireylerde 131 bç'lik tek bant halinde görüntülemeyi bekledik. Ancak 21 bç'lik kısım çok küçük olduğundan hızlı yürüdü ve de görülemedi, yine de elde edilen bant görüntüleri varlığına dair kanıt teşkil edebilmiştir. Kesim ürünleri ve de kesim olmayan fragmentler, marker bantlara olan uzaklık tayini ile belirlenmiştir.

Çalışmamıza dâhil etmiş olup sonuçlandırılabilmiş 89 preeklampatik kadından 38'inin TT, 36'sının GT, 15'inin GG; 57 normal gebe kadından 28'inin TT, 22'sinin GT ve 7'sinin GG allele taşıdığı yapılan RFLP analiziyle tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. IL-2 384 promotor bölgesi RFLP ürünleri agaroz jel görüntüsü

Çizelge 4.2. Hasta grubu IL-2 384 promotor bölgesi için *Bfa-I* enzimi kesim bantlarına göre genotipleri

Hasta no	IL-2 384	Hasta no	IL-2 384	Hasta no	IL-2 384	Hasta no	IL-2 384	Hasta no	IL-2 384
1	TT	11	GG	21	GG	31	TT	41	GT
2	TT	12	TT	22	TT	32	TT	42	GG
3	TT	13	GG	23	TT	33	TT	43	GT
4	GT	14	GT	24	TT	34	TT	44	GT
5	GG	15	GG	25	GT	35	GT	45	GT
6	GT	16	GT	26	GG	36	TT	46	TT
7	GT	17	GT	27	TT	37	GT	47	GG
8	TT	18	GT	28	TT	38	GT	48	GT
9	GT	19	GT	29	TT	39	GT	49	TT
10	GT	20	TT	30	GT	40	TT	50	GT

Hasta no	IL-2 384	Hasta no	IL-2 384	Hasta no	IL-2 384	Hasta no	IL-2 384	Hasta no	IL-2 384
51	GT	61	GT	71	GG	81	GT	91	Çalışmadı
52	TT	62	TT	72	GG	82	GT	92	Çalışmadı
53	GT	63	GG	73	GT	83	TT	93	Çalışmadı
54	TT	64	GT	74	TT	84	GT		
55	GT	65	TT	75	TT	85	TT		
56	GT	66	GG	76	TT	86	GG		
57	TT	67	GT	77	TT	87	TT		
58	TT	68	GG	78	GT	88	TT		
59	GT	69	GT	79	GG	89	TT		
60	TT	70	TT	80	TT	90	TT		

Çizelge 4.3. Kontrol grubu IL-2 384 promotor bölgesi için *Bfa-I* enzimi kesim bantlarına göre genotipleri

Kontrol no	IL-2	Kontrol no	IL-2	Kontrol no	IL-2	Kontrol no	IL-2	Kontrol no	IL-2
1	GT	13	TT	25	GT	37	GT	49	TT
2	GT	14	TT	26	GT	38	GG	50	TT
3	GT	15	GT	27	TT	39	TT	51	TT
4	GT	16	GG	28	TT	40	GG	52	TT
5	TT	17	GT	29	TT	41	GT	53	GT
6	GT	18	GT	30	TT	42	GT	54	GT
7	TT	19	TT	31	TT	43	GT	55	GG
8	TT	20	GT	32	TT	44	GG	56	TT
9	GT	21	TT	33	TT	45	TT	57	GT
10	GT	22	TT	34	TT	46	TT		
11	GT	23	GG	35	TT	47	TT		
12	GG	24	GT	36	TT	48	TT		

IL-2 geni 384 promotor bölgesi genotip dağılımları ve allel frekansları SPSS13.0 Ki-Kare testi kullanılarak analiz edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (çizelge 4.4, p=0.660). Allel frekansları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Çizelge 4.4. Hasta ve kontrol gruplarının IL-2 geni 384 promotor bölgesi için genotip dağılımları ve allel frekansları

			Genotip			Total	p değeri
			GG	GT	TT		
Genotip Dağılımı	Hasta	n	15	36	38	90	0.660
		% cinsinden	% 16.9	% 40.4	% 42.7	100,0%	
	Kontrol	n	7	22	28	56	
		% cinsinden	% 12.3	% 38.6	% 49.1	100,0%	

5. TARTIŞMA

Pre-eklampsia hastalığı global ölçekte değerlendirilecek olursa, hamile bayanların yaklaşık olarak % 5'i ile % 8'ni etkilediği ve bu oranın populasyonlara göre farklılık göstermediği saptanmıştır⁹³.

Bu nedenle hamile bayanlar ve yeni-doğanların ölümlerine sonuçlanan hastalıkları içinde önemli bir yüzdeye sahip olan Pre-eklampsia hastalığı, klinik belirtiler bakımından çok geniş bir spektruma sahiptir. Günümüzde Pre-eklampsia ve Eklampsia hastalığının ortaya çıkmasında ve gelişiminde rol oynayan biyolojik faktörler, her ne kadar tam olarak bilinmiyorsa da bağışıklık sisteminin immün cevapla ilişkisi olduğu konusunda çok sayıda bilgi ve veri bulunmaktadır⁹⁴.

İmmün sistemde hücreler arası haberleşmede rol alan Interlökin, İnterferon TNF ve kemokin gibi kimyasal haberciler, sitokin grubunun üyesidirler. Lökositler arasında özel etkileşim sağlayan, makrofajlar ve T lenfositler tarafından salınan sitokinlerden olan IL-2, aktif haldeki T lenfositler tarafından üretilerek enfeksiyon anında makrofajlarla antijen sunumunda görev alarak hem hücre sel hem de hü mor al cevabın modülasyonunu sağlar⁹⁵.

Pre-eklampsia hastalığının immün sistem ve inflamasyon cevabıyla olan yakın ilişkisi göz önünde bulundurularak yapılan çalışmalarda sitokin kodlayan genler ve özellikle de polimorfizm hastalık ilişkisini esas alan çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları; TNF-alfa (-308 G-A), IL-6 promotor (-174 G-C), İnterferon-gamma intron-1 (674 A-T), IL-10 promotor (-1082 A-G), (-819 C-T) ve (-592 C-A), TGF Beta-1 kodon 10 (869 T-C) ve kodon 25 (915 G-C) mutasyon ve/veya polimorfizimlerini esas alan çalışmal ar şeklindedir^{96,97,98,99}.

Çalışmamızda, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında yatışta ve poliklinikte takip edilen 57 normal, 93 preeklamp tik olmak üzere toplam 150 gebe kadın araştırmaya dâhil edildi. Çalışmaya katılan tüm kadınların sistolik ve diastolik kan basıncı ile idrardaki protein miktarları ölçüldü. Tüm gebelerin yaşı, kilosu, gebelik sayısı, gebelik haftası, kronik hipertansif hasta olup olmadıkları yapılan anketlerle sorgulandı. Toplanan kanlardan tuzla

çöktürme yöntemiyle elde edilen DNA'larda PZR yöntemi kullanılarak IL-2 geni 384 promotor bölgesi polimorfizmi ile preeklampsi ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamıza dâhil etmiş olup sonuçlandırılabilmiş 89 preeklampitik kadından 38'inin TT, 36'sının GT, 15'inin GG; 57 normal gebe kadından 28'inin TT, 22'sinin GT ve 7'sinin ise GG olduğu yapılan RFLP analiziyle tespit edilmiştir.

IL-2 geni 384 promotor bölgesi genotip dağılımları ve allel frekansları SPSS-13.0 paket programında Ki-Kare testi kullanılarak analiz edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Çizelge 4.4, $p=0.660$).

IL-2 geni -384 promotor bölgesindeki TT alleleline sahip hasta grubunun frekansı % 42.7, kontrol grubunda ise % 49.1 bulunmuş olup gruplar arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. T allel frekansı ise hasta grubunda % 62.9, kontrol grubunda ise % 67.8 olarak belirlenmiş olup aralarında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Hasta grubunda GG allelinin frekansı % 16.9 olup kontrol grubunda ise bu oran % 12.3 bulunmuş ve istatistiksel analizde gruplar arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. G allel frekansı hasta grubunda % 37.1, kontrol grubunda ise % 32.2 olarak belirlenmiş olup aralarında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Netice itibarıyla T ve G allelleri ile preeklampsi arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

Hasta ve kontrol grubunda sistolik ve diastolik kan basınç değerleri hariç yaş, gebelik sayısı ve gebelik haftası gibi klinik özellikler bakımından benzer ortalamalar elde edilmiştir.

2013 yılında preeklampsi ile ilgili olarak yapılan bir meta analizde 2965 makale değerlendirmeye alınmıştır. Bu makalelerden 542 tanesinin PE hastalığında genetik asosiyasyon ilişkisinin ele alındığı ancak 163 makalenin ise 15 gene ait 22 polimorfizm üzerinde durduğu belirtilmiştir. Yapılan değerlendirmelerde inflamasyon cevabında rol alan sitokin grubuna ait sadece IL-10 geninin promotor bölgelerindeki; (1082 A-G), (819 C-T) ve (592 C-A), polimorfizmleriyle PE hastalığı arasında ilişki bildirilmiştir^{97,9,100,101}. Ancak bağlantı ve ilişkilendirme çalışmalarında saptanan aday genlerin farklı çalışmalarda çelişkili sonuçlar verdiği görüldüğünden dolayı henüz PE ile kesin olarak ilişkilendirilmiş bir gen bulunmamaktadır^{102,103,104,105,106}.

Preeklampsia hastalığının nedenleri konusunda immün sistem odaklı; hamilelik döneminde anne adayının anormal bağışıklık toleransı, eşler arası HLA uyumsuzluğu ve

imprinting gibi faktörlerin ön plana çıktığı göz önünde bulundurulursa, plasenta oluşumuna etkili olan tüm olumsuz faktörlerin dâhil edildiği genetik tabanlı bir araştırmanın yararlı olacağını düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında takip edilen 57 normal, 93 preeklampitik olmak üzere toplam 150 gebe kadın preeklampsi ile ilgili kriterler dikkate alınarak incelenip moleküler biyolojik yönden değerlendirilmiş ve aşağıda belirtilen sonuçlar elde edilmiştir:

1. Hasta ve kontrol grubunda sistolik ve diastolik kan basınç değerleri hariç yaş, gebelik sayısı ve gebelik haftası gibi klinik özellikler bakımından benzer ortalamalar elde edilmiştir.
2. IL-2 geni 384 promotor bölgesindeki TT alleleline sahip hasta grubunda frekans % 42.7 ve kontrol grubunda % 49.1 bulunmuş olup gruplar arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.
3. IL-2 geni 384 promotor bölgesindeki GG alleleline sahip hasta grubunda frekans % 16.9 ve kontrol grubunda % 12.3 bulunmuş olup bu gruplar arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.
4. T allel frekansı ise hasta grubunda % 62.9, kontrol grubunda ise % 67.8 olarak belirlenmiş olup aralarında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.
5. G allel frekansı hasta grubunda % 37.1, kontrol grubunda ise % 32.2 olarak belirlenmiş olup aralarında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.
6. Netice itibariyle T ve G allelleri ile preeklampsi arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

KAYNAKLAR

1. **James MR, Hilary SG.** Preeclampsia: recent insights. *Hypertension*, **2005**; 46:1243-1249.
2. **K, Kaufmann H.** Pathology of the human placenta. 4th. Ed., New York: Springer, **2000**.
3. **Roberts JM, Lain KY.** Recent insight into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta*, **2002**;23:359-372.
4. **Witlin AG, Sibai BM.** Hypertension in pregnancy: current concepts of preeclampsia. *Annu Rev Med*, **1997**; 48:115-127.
5. **Roberts JM, Cooper DW.** Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet*, **2001**; 357: 53–56.
6. **Mütze S, Rudnik-Schöneborn S, Zerres K, Rath W.** Genes and preeclampsia syndorme. *J Perinat Med*, **2008**; 36: 38-58.
7. **Chappell S, Morgan L.** Searching for genetic clues to the causes of pre-eclampsia. *Clinical Science*, **2006**:110; 443-458.
8. **Matthiesen L, Berg G, Ernerudh J, Ekerfelt C, Jonsson Y, Sharma S.** Immunology of preeclampsia. *Immunology of Pregnancy*, **2005**; 89:49–61.
9. **de Groot CJM, Jansen MWJC, Bertina RM, Schonkeren JJM, Helmerhorst FM, Huizinga TWJ.** Interleukin 10-2849AA genotype protects against pre-eclampsia. *Genes and Immunity*, **2004**;5:313–314.
10. **Pazarbaşı A, Kasap M, Güzel Aİ, Kasap H, Onbaşıoğlu M, Özbakır B, Demirkazık A, Özgünen FT and Gürtunç E.** Polymorphisms in the tumor necrosis factor- α gene in Turkish women with pre-eclampsia and eclampsia. *Acta Medica Okayama*, **2007**; 61(3):153-160.
11. **Pascuapina Ciarmila, Sonia Boshi, Enrrico Bloise, Luca Marizio, Chiara Benedetto, Mario Castelluci, Felice Petraglia.** Polimorphism of FAS and FAS ligand genes in preeclamptic women. *E. Journal of Obst. and J. and Reproductive Biology*, **2010**; 148:144-146.
12. **Fuencisla Matesanz, Maria Fedetz, Melania Collado-Romero, Oscar Ferná'ndez.** Allelic expression and interleukin-2 polymorphisms in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, **2001**;119 Ž. 101–105a.
13. **Laivuori H¹, Kaaja R, Ylikorkala O, Hiltunen T, Kontula K.** 677 C>T Polymorphism of the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene and Preeclampsia The American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol*, **2000**;96:277– 80.
14. **Zusterzeel PLM, Peters WHM, Visser W, Hermsen KJM, Roelofs HMJ and Steegers EAP.** A polymorphism in the gene for microsomal epoxide hydrolase is associated with pre-eclampsia. *J Med Genet*, **2001**, 38;234-237.
15. **Scott JS, Jenkins DM.** Immunogenetic factors in aetiology of preeclampsia/eclampsia (gestosis). *J Med Genet*, **1976**; 13:200-207.
16. **Chesley LC.** History and epidemiology of preeclampsia-eclampsia. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, **1984**; 27(4):801-820.

17. **Harlow FH, Brown MA.** The diversity of diagnosis of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*, **2001**; 20:57-67.
18. **Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, ve ark.** 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**; 9-19.
19. **Australasian Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ASSHP).** Management of hypertension in pregnancy: executive summary. *Med J Aust*, **1993**;158:700-702.
20. **National High Blood Pressure Education Program (NHBPEP).** Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, **2000**; 183:1-22.
21. **Şen C:** Maternal Mortalite ve Morbidite Sempozyumu İ.Ü. Cerrahpafla Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri **23 Haziran 1999**, İstanbul, s. 17- 43
22. **Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Gilstrap III LC, Wenstrom KD.** Chapter 34: Hypertensive disorders in pregnancy. *Williams Obstetrics*, 22nd. Ed., USA: McGraw-Hill Companies, **2005**:761-809.
23. **Zhang J, Klebanoff MA, Roberts JM.** Prediction of adverse outcomes by common definition of hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol*, **2001**; 97:261-267.
24. **Frias AE, Belfort MA.** Post Magpie: how should we be managing severe preeclampsia? *Curr Opin Obstet Gynecol*, **2003**; 15; 489-3495.
25. **Kullberg G, Lindeberg S, Hanson U.** Eclampsia in Sweden. *Hypertens Pregnancy*, **2002**; 21:12-21.
26. **Hogberg U.** The World Health Report 2005: “Make every mother and child count”. – including Africans. *Scand J Public Health*, **2005**; 33:409-411.
27. **Duley L.** The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatal*, **2009**; 33:130-137.
28. **van Pampus MG, Wolf H, Weijmar Schultz WC, Neeleman J, ve ark.** Posttraumatic stress disorder following preeclampsia and HELLP syndrome. *J Psychosom Obstet Gynecol*, **2004**; 25:183-187.
29. **Roberts CL, Algert CS, Morris JM, Ford JB, ve ark.** Hypertensive disorders in pregnancy: a population based-study. *Med J Aust*, **2005**; 182:332–335.
30. **Duckitt K, Harrington D.** Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *Bmj*, **2005**; 330:565.
31. **Robillard PY, Hulse TC, Perianin J, Janky E, ve ark.** Association of pregnancy-induced hypertension with duration of sexual cohabitation before conception. *Lancet*, **1994**; 344:973-975.
32. **Skjaerven R, Wilcox AJ, Lie RT.** The interval between pregnancies and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*, **2002**; 346:33-38.
33. **Pattison NS, Chamley LW, McKay EJ, Liggins GC, ve ark.** Antiphospholipid antibodies in pregnancy: prevalence and clinical association. *Br J Obstet Gynecol*, **1993**; 100:909–913.
34. **Yasuda M, Takakuwa K, Tokunaga A, Tanaka K.** Prospective studies of the association between anticardiolipin antibody and outcome of pregnancy. *Obstet Gynecol*, **1995**; 86:555-559.

35. **Kurian AK, Cardarelli KM.** Racial and ethnic differences in cardiovascular disease risk factors: a systematic review. *Ethn Dis*, **2007**; 17:143-152.
36. **Duley L.** Pre-eclampsia and the hypertensive disorders of pregnancy. *Br Med Bull*, **2003**; 67:161-176.
37. **Duley L, Henderson-Smart DJ.** Drugs for rapid treatment of very high blood pressure during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*, **2000**; (2):CD001449.
38. **Villar J, Say L, Shennan A, Lindheimer M, Duley L, Conde-Agudelo A, Merialdi M.** Methodological and technical issues related to the diagnosis, screening, prevention, and treatment of pre- eclampsia and eclampsia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, **2004**; 85(Suppl. 1):28-41.
39. **Roberts JM, Redman CWG.** Preeclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. *Lancet*, **1993**;341:1447-1451.
40. **Roberts JM, Hubel CA.** The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta*, **2009**; 30 (Suppl A) :32-37
41. **Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ.** Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in the syndrome? *Clin Invest*, **1997**; 99:2152-2164.
42. **Allaire AD, Ballenger KA, Wells SR, McMahon MJ, ve ark.** Placental apoptosis in preeclampsia. *Obstet Gynecol*, **2000**; 96:271-276.
43. **Pijnenborg R, Vercruyse L, Hanssens M.** The uterine spiral arteries in human pregnancy: facts and controversies. *Placenta*, **2006**; 27:939-958.
44. **Cheng MH, Wang PH.** Placentation abnormalities and pathophysiology of preeclampsia. *Expert Rev Mol Disagn*, **2009**; 9:37-49.
45. **Clapp JF, McLaughlin MK, Larrow R, Farnham J, Mann L.** The uterine hemodynamic response to repetitive unilateral vascular embolization in the pregnant ewe. *Am J Obstet Gynecol*, **1982**; 144(3):309-318.
46. **Peterson H.** Genetic studies of pre-eclampsia. Department of Biosciences and Nutrition, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden, **2010**.
47. **Redman CW, Sargent IL.** Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response-a review. *Placenta*, **2003**; 24 (Suppl A):21-27.
48. **15.Groenendijk R, Trimbos JB, Wallenburg HC.** Hemodynamic measruements ib preeclampsia:preliminary observatins. *Am J Obstet Gynecol* **1984**; 150: 232-6.
49. **Easterling TR, Watts DH, Schmucker BC, Benedetti TJ.** Measurements of cardiac output during pregnancy:validation of Doppler technique and clinical observations in preeclampsia. *Obstet Gynecol*, **1987**; 69: 845-50.
50. **Cotton DB, Lee W, Huhta JC, Dorman KF.** Hemodynamics profile of severe pregnancy-induced hypertension. *Am J ObstetGynecol*, **1988**; 158: 523-9.
51. **Sibai BH, Villar MA, Mabie BC.** Acure renal failure in hypertensive disorders of pregnancy:pregnancy ourcome and remote prognosis in thirty-one consecutive cases. *Am J Obstet Gynecol*, **1990**; 162(3): 777-81.

52. **Sibai BM.** The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets):much ado about nothing? *Am J Obstet Gynecol*, **1990**; 162: 311-6.
53. **Esplin MS, Fausett MB, Fraser A, Kerber R, Mineau G, Carrillo J, Varner MW.** Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. *N Engl J Med*, **2001**; 344:867-872.
54. **Lachmeijer AMA, Dekker GA, Pals G, Aarnoudse JG, ten Kate LP, Arngrimsson R.** Searching for preeclampsia genes: the current position. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, **2002**;105:94–113.
55. **Laivuori H.** Genetic aspects of preeclampsia. *Frontiers in Bioscience*, **2007**; 12: 2372-2382.
56. **Chesley LC, Cooper DW.** Genetics of hypertension in pregnancy: possible single gene control of pre-eclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women. *Br J Obstet Gynaecol*, **1986**; 93:898-908.
57. **Arngrimsson R, Björnsson H, Geirsson R.** Analysis of different inheritance patterns in preeclampsia/eclampsia syndrome. *Hypertens Pregnancy*, **1995**; 14:27-38.
58. **Ros HS, Lichtenstein P, Lipworth L, Cnattingius S.** Genetic effects on the liability of developing pre-eclampsia and gestational hypertension. *Am J Med Genet*, **2000**; 91:256-260.
59. **Boyd PA, Maher EJ, Lindenbaum RH, Hoogwerf AM, Redman J, Crocker M.** Maternal 3;13 chromosome insertion, with severe pre-eclampsia. *Clin Genet*, **1995**; 47:17-21.
60. **Hopkins SJ.** The pathophysiological roles of cytokines. *Legal Medicine*, **2003**; 5:45-57.
61. **Rijhsinghani A, Yankowitz J, Strauss RA, Kuller JA, Patil S, Williamson RA.** Risk of preeclampsia in second-trimester triploid pregnancies. *Obstet Gynecol*, **1997**; 90:884-888.
62. **Li HW, Tsao SW, Cheung ANY.** Current understandings of the molecular genetics of gestational trophoblastic diseases. *Placenta*, **2002**; 23:20-31.
63. **Lie RT, Rasmussen S, Brunborg H, Gjessing HK, Lie-Nielsen E, Irgens LM.** Fetal and maternal contributions to risk of pre-eclampsia: population based study. *BMJ*, **1998**; 316:1343-1347.
64. **Skjaerven R, Atten LJ, Wilcox AJ, Rønning T, Irgens LM, Lie RT.** Recurrence of pre-eclampsia across generations: exploring fetal and maternal genetic components in a population based cohort. *Br Med J*, **2005**; 331:877.
65. **Tubbergen P, Lachmeijer AM, Althuisius SM, Vlak ME, van Geijn HP, Dekker GA.** Change in paternity: a risk factor for preeclampsia in multiparous women? *J Reprod Immunol*, **1999**; 45:81-88.
66. **Daly AK, Day CP.** Candidate gene case-control association studies: advantages and potential pitfalls. *Br J Clin Pharmacol*, **2001**; 52:489-499.
67. **Wilson ML, Goodwin TM, Pan VL, Ingles SA.** Molecular epidemiology of preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv*, **2003**; 58:39-66.
68. **Cooper DW, Brennecke SP, Wilton AN.** Genetics of pre-eclampsia. *Hypertens Pregnancy*, **1993**;12:1-23.
69. **Harrison GA, Humphrey KE, Jones N, Badenhop R, Guo G, Elakis G, Kaye JA, Turner RJ, Grehan M, Wilton AN, Brennecke SP, Cooper DW.** A genomewide linkage study of preeclampsia/eclampsia reveals evidence for a candidate region on 4q. *Am J Hum Genet*, **1997**; 60:1158-1167.

70. **Arngrimsson R, Sigurardottir S, Frigge ML, Bjarnadottir RI, Jonsson T, Stefansson H, Baldursdottir A, Einarsdottir AS, Palsson B, Snorraddottir S, Lachmeijer AM, Nicolae D, Kong A, Bragason BT, Gulcher JR, Geirsson RT, Stefansson K.** A genom-wide scan reveals a maternal susceptibility locus for preeclampsia on chromosome 2p13. *Hum Mol Genet*, **1999**; 8:1799-1805.
71. **Moses EK, Lade JA, Guo G, Wilton AN, Grehan M, Freed K, Borg A, Terwilliger JD, North R, Cooper DW, Brennecke SP.** A genom scan in families from Australia and New Zealand confirms the presence of a maternal susceptibility locus for pre-eclampsia on chromosome 2. *Am J Hum Genet*, **2000**; 67:1581-1585.
72. **Lachmeijer AM, Arngrimsson R, Bastiaans EJ, Frigge ML, Pals G, Sigurdardottir S, Stefansson H, Palsson B, Nicolae D, Kong A, Aarnoudse JG, Gulcher JR, Dekker GA, ten Kate LP, Stefansson K.** A genom-wide scan for preeclampsia in the Netherlands. *Eur J Hum Genet*, **2001**; 9:758-764.
73. **Passarge E.** Renkli Genetik Atlası, Formal Genetik: Polimorfizm. Luleci G, Sakizli M. 2.baskı, İstanbul: Nobel Tıp - Yüce Yayınları; **2000**. s.156.
74. **Carey J, White B.** Medical Genetics. 3rd. Ed., Missouri: Mosby, **2006**.p.29.
75. **Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF.** Thompson & Thompson Genetics in Medicine. 6th. Ed., Philadelphia: Saunders Elsevier, **2004**.p.87.
76. **Trotta PP.** Cytokines: An Overview. *Am J Repro Immuno*, **1991**;1 25: 137-141,.
77. **Akyol G, Şengil, Baysal B.** İnterlökinler. *S.Ü. Tıp Fak Derg.* **1994**;10: 117-123,.
78. **Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Diker KS:** İmmünoloji, Medisan Yayınevi, Medisan Yayın Serisi No: 13, Ankara, (1994).
79. **Rees RC:** Cytokines as biological response modifiers. *J Clin Pathol.* **1992**;45: 93-98,.
80. **Imura H, Fukata J, Mori T.** Cytokines and endocrine function: An interaction between the immune and neuroendocrine systems. *Clin Immunol.* **1991**;35: 107-115.
81. **Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S.** Cellular and Molecular Immunology. 6th. Ed., Philadelphia: WB Saunders Company, **1994**.
82. **Rabson A, Roitt IM, Delves PJ.** Really Essential Medical Immunology. 2nd. Ed., Massachusetts: Blackwell Publishing, **2005**.
83. **Cantrell DA, Smith KA (June 1984).** "The interleukin-2 T-cell system: a new cell growth model". *Science* 224 (4655): 1312-6.
84. **Smith KA (May 1988).** "Interleukin-2: inception, impact, and implications".*Science* 240 (4856): 1169-76.
85. **Stern JB, Smith KA (July 1986).** "Interleukin-2 induction of T-cell G1 progression and c-myc expression". *Science* 233 (4760): 203-6.
86. **Beadling C, Johnson KW, Smith KA (April 1993).** "Isolation of interleukin 2-induced immediate-early genes". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90 (7): 2719- 23.
87. **Beadling C, Smith KA (November 2002).** "DNA array analysis of interleukin-2-regulated immediate/early genes". *Med Immunol I (1)*: 2. doi:10.1186/1476-9433-1-2.

88. **Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M (August 1995).** "Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases". *J. Immunol.* 155 (3): 1151–64.
89. **Thornton AM, Shevach EM (July 1998).** "CD4+CD25+ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation in vitro by inhibiting interleukin 2 production". *J. Exp. Med.* 188 (2): 287–96.
90. **Thornton AM, Donovan EE, Piccirillo CA, Shevach EM (June 2004).** "Cutting edge: IL-2 is critically required for the in vitro activation of CD4+CD25+ T cell suppressor function". *J. Immunol.* 172 (11): 6519–23.
91. **Buckley RH, Kalman L, Lindgren ML, Kobrynski L, Vogt R, Hannon H, Lebet T, Schmalstieg FC ve ark.** Genetics Home Reference: IL-2RG Erişim: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/IL2RG> Erişim Tarihi:19.08.2014.
92. **Miller SA, Dykes DD and Polesky HF.** A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.*, 1988; 16(3): 215.
93. **Steegers EA¹, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R.** Pre-eclampsia. *Lancet.* 2010 21;376(9741):631-44.
94. **Wilczyński D R.** Immunological analogy between allograft rejection, recurrent abortion and pre-eclampsia, the same basic mechanism. *Human Immunology.* 2006; 67:492-511.
95. **Lüleyap Ü,** Moleküler Genetiğin Esasları. Adana Nobel Kitabevi 2008.
96. **Haukim N, Bidwell JL, Smith AJ, Keen LJ, Gallagher G, Kimberly R, Huizinga T, McDermott MF, Oksenberg J, McNicholl J ve ark.** Cytokine gene polymorphism in human disease. *Genes Immun.* 2002; 3(6):313-30.
97. **Daher S, Shulzhenko N, Morgun A, Mattar R, Rampim GF, Camano L, DeLima MG.** "Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss." *J. Reprod. Immunol.* 2003;58(1):69-77.
98. **Speer EM¹, Gentile DA, Zeevi A, Pillage G, Huo D, Skoner DP.** Role of single nucleotide polymorphisms of cytokine genes in spontaneous preterm delivery. *Hum Immunol.* 2006;67(11):915-23. Epub 2006 Sep 12.
99. **Choi YK¹, Kwak-Kim J.** Cytokine gene polymorphisms in recurrent spontaneous abortions: a comprehensive review. *Am J Reprod Immunol.* 2008;60(2):91-110.
100. **Telmo H Barbosa de Lima¹, Nelson Sass², Rosiane Mattar², Antonio F Moron², Maria R Torloni², Camila S Franchim² and Silvia Daher².** Cytokine gene polymorphisms in preeclampsia and eclampsia. *Hypertension Research.* 2009; 32, 565–569
101. **Pervin Vural^{1*}, Sevgin Degirmencioglu¹, Neslihan Y. Saral¹ ve ark.** Tumor necrosis factor α , interleukin-6 and interleukin-10 polymorphisms in preeclampsia. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research.* 2010; 36 (1), 64–71
102. **Mütze S, Rudnik-Schöneborn S, Zerres K, Rath W.** Genes and preeclampsia syndrome. *J Perinat Med.* 2008; 36: 38-58.
103. **Lachmeijer AMA, Dekker GA, Pals G, Aarnoudse JG, ten Kate LP, Arngrimsson R.** Searching for preeclampsia genes: the current position. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology.* 2002;105:94–113.

104. **Laivuori H.** Genetic aspects of preeclampsia. *Frontiers in Bioscience*, **2007**; 12: 2372-2382.
105. **Cross JC.** The genetics of pre-eclampsia: a feto-placental or maternal problem? *Clin Genet*, **2003**; 64:96-103.
106. **Chappell S, Morgan L.** Searching for genetic clues to the causes of pre-eclampsia. *Clinical Science*, **2006**:110; 443-458.

EKLER

ÇALIŞMALARDA KULLANILAN KİMYASAL VE SOLÜSYONLARIN HAZIRLANMASI

Kullanılan kimyasal ve solüsyonların hazırlanmasında kaynak olarak “Molecular Cloning” esas alınmıştır. Hazırlanan solüsyonlar genel olarak konsantre stoklar halindedir. Çalışma konsantrasyonlarını elde etmek için stoklardan belli oranlarda alınarak seyreltilir.

Konsantrasyon dönüşümlerinde basitçe şu formülden yararlanılabilir:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

M_1 = Hazırlanan stok konsantrasyon (M, N veya %)

V_1 = Stoktan alınması gereken miktar (V)

M_2 = Çalışma (son) konsantrasyonu (M, N veya %)

V_2 = Hazırlanacak olan çözelti (çalışma çözeltisi) miktarı (V)

EK-1. DNA Elde Edilmesinde Kullanılan Solüsyonları

1.1 Eritrosit Lizis Tamponu (pH=7,5)

1 Litre Solüsyon için;

0,32 M Sükroz	109,563 gr
10 mM Tris-HCl (pH=7,5)	1,211 gr
5mM MgCl ₂	1,015 gr
%1 Triton X 100	10 gr

Bir litre için gereken malzemeler belirtilen oranlarda tartılıp, son hacim 1000 ml olacak şekilde bidistile su ile çözdürülüp otoklavlanır. pH = 7,5 olacak şekilde ayarlanır. Triton X, solüsyona otoklavlandıktan sonra ilave edilir.

1.2. Fizyolojik Tampon (pH=7,5)

1 Litre Solüsyon için;

0,075 M NaCl	4,383 gr
0,025 M EDTA	9,305 gr

Bir litre için gereken malzemeler belirtilen oranlarda tartılıp, son hacim 1000 ml olacak şekilde bidistile su ile çözdürülüp otoklavlandı. pH = 7,5 olarak ayarlanır

1.3. TE-9 (pH=9)

1 Litre Solüsyon için;

500 mM Tris baz	60,5 gr
20 mM EDTA	7,44 gr
10 mM NaCl	0,58 gr

Bir litre için gereken malzemeler belirtilen oranlarda tartılıp, son hacim 1000 ml şekilde bidistile su ile çözdürülüp otoklavlandı. pH = 9 olarak ayarlanır.

1.4. %10'luk SDS

20 ml için;

2 gr SDS tartılıp, üzerine bir miktar saf su ilave edilip iyice çözdürülür. Son hacim 20 ml olacak şekilde ayarlanır.

1.5. Proteinaz-K (10mg/ml)

100 ml için;

10 gr PK tartılır, üzerine bir miktar saf su ilave edilip iyice çözdürülür. Son hacim 100 ml olacak şekilde ayarlanır.

1.6. 6 M NaCl

1 litre için;

321.4 gr NaCl tartılıp, üzerine bir miktar bidistile su ilave edilip iyice çözdürülüp son hacim 1000 ml olacak şekilde ayarlanır.

1.7. % 70 Etil Alkol

100 ml için;

70 ml etil alkol (saf) ve 30 ml bidistile su ilave edilir.

1.8. TE tamponu (Tris/EDTA) (pH= 8)

10 mM Tris-Cl (pH=8)

0,1 mM EDTA (pH=8)

1 litre için gereken malzemeler belirtilen oranlarda tartılıp, son hacim 1000 ml olacak şekilde bidistile su ile çözdürülüp otoklavlanır. pH = 8 olarak ayarlanır.

EK-2. Agaroz Jel Solüsyonları

2.1. 10X TBE (Tris-Borik asit-EDTA) Stok solüsyonu

108 gr Tris baz (890 mM)

55 gr borik asit (890 mM)

40 ml 0,5 M EDTA, pH 8.0 (20 mM)

Az miktardaki bidistile su içinde çözüldükten sonra pH 8.0 olarak ayarlanıp solüsyon 1 litreye tamamlanır.

1 Litre 5X TBE stok solüsyonu için;

500 ml 10X TBE stok solüsyonu ve 500 ml bidistile su karıştırılır.

1 Litre 1X TBE solüsyonu için;

100 ml 10 X TBE stok solüsyonu ve 900 ml bidistile su karıştırılır.

2.2. Etidyum bromid solüsyonu (10 mg/ml)

0,1 gr etidyum bromid, 10 ml bidistile su içinde çözünüp ışık almayan bir cam şişe içinde buzdolabında muhafaza edilir.

2.3. DNA Yükleme Tamponu (Loading dye) (6X)

40 gr sükröz

0,25 gr bromfenol mavisi,

100 ml olacak şekilde bidistile su içinde çözülür. Ependorf tüplere paylaştırılarak buzdolabında muhafaza edilir.

EK-3 Hasta Rıza Formu

DNA ÇALIŞMASI ONAM FORMU

Interlökin-2 geni -384 bölgesindeki polimorfizminin preeklampsi ile ilişkisinin araştırılması

Prof. Dr. H.Ümit LÜLEYAP danışmanlığında, Yüksek Lisans Öğrencisi Özgür TURGUT tarafından yüksek lisans tez çalışması olarak sürdürülecek olan çalışmamızda Çukurova bölgesindeki preeklampsili bireylerin kanlarındaki lökosit hücrelerinden izole edilen DNA'lardan, bireylerin sahip oldukları değişimler (polimorfizm tipleri) belirlenecek, bu polimorfizmlerin preeklampsi ile ilişkisinin olup olmadığı incelenecektir.

Çalışmamız çerçevesinde Ç.Ü.T.F. Balcalı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine başvuran Preeklampsi tanısı almış kadın ve erkek bireylerden kan örneği alınarak Tıbbi biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında değerlendirmeye alınacaktır. Sonuçlar sadece bilimsel amaçlı kullanılacak, kişisel bilgileriniz gizli tutulacaktır. Parasal bir ödeme yapmanızı gerektirmeyen ve size bir ödeme yapılmasının söz konusu olmadığı çalışmaya katılmama hakkınız ve istediğiniz zaman çalışmadan çekilme hakkınız bulunmaktadır.

Araştırmayı katılmayı kabul ettiğiniz takdirde sizden 3ml kan örneği alacağız.

Bu çalışmayla ilgili ek bilgi talebiniz olursa sözlü olarak karşılanacaktır. Aşağıda isimleri ve telefon numaraları bulunan araştırmacılar tarafından gerekli bilgilendirmeler yapılacaktır.

Bio. Özgür TURGUT
3498

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı: (0322) 338 60 60 /

YUKARIDA BELİRTİLEN KOŞULLARI OKUDUM, KANIMDAN GENETİK
İNCELEME YAPILMASINI KABUL EDİYORUM.

Hasta veya hukuksal olarak sorumlu kişi	Şahit Kişi	Kanı alan kişi
Adı-Soyadı:	Adı-Soyadı:	Adı-Soyadı:
İmza:	İmza:	İmza:
Tarih:	Hastaya Yakınlığı:	

ÖZGEÇMİŞ

10 Şubat 1980 Mersin’de doğdu Adana’da büyüdü. İlkokulu Yüreğir PTT Evleri Mahallesi Gazeteci Adem Yavuz İlkokulunda, ortaokulu Gazi Ortaokulu’nda, Liseyi 1998’de Danişmentgazi Süper Lisesi’nde bitirdi. 1999’da Osmangazi Üniversitesi Makine Mühendisliği bölümünü kazandı, iki yıl okuyup bıraktı. 2003’te Çukurova Üniversitesi FEN-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nü kazandı. 2009’da mezun olup Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans programına başladı.